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

Susana Merino

**Marcadores inflamatórios de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática:
níveis sanguíneos e expressão gênica**

Ribeirão Preto
2017

Susana Merino

**Marcadores inflamatórios de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática:
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 doutora

Área de concentração: Investigação Biomédica

Orientadora: Profa. Dra. Selma Freire Carvalho Cunha

Ribeirão Preto
2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Merino, Susana

Marcadores inflamatórios de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática: níveis sanguíneos e expressão gênica, 2017.

125p.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Clínica Médica. Orientadora: Selma Freire de Carvalho da Cunha

1.Neoplasias pancreáticas 2.Citocinas 3.Inflamação 4.Estado nutricional 5.Caquexia

FOLHA DE APROVAÇÃO

Susana Merino

Marcadores inflamatórios de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática: 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.

_____ de _____ de _____.

Banca Examinadora:

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

Prof. Dr. Sebastião José dos Santos
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto –FMRP/USP

Prof. Dra. Fernanda Maris Peria
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto –FMRP/USP

Prof. Dr. Dennys Esper Corrêa Cintra
Universidade Estadual de Campinas –UNICAMP

Prof. Dra. Raquel Alves dos Santos
Universidade de Franca –UNIFRAN

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus sobrinhos João Pedro e Maria Luiza, que trouxeram brilho, esperança e acima de tudo muito amor em minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que não deixou de me amparar e iluminar meu caminho nesses anos de alegrias, mas de tantas dificuldades.

À minha orientadora Dra. Selma Freire Carvalho Cunha pelos conhecimentos transmitidos, pelos desafios lançados, pela paciência e incentivo.

Às minhas amigas de laboratório Paula e Bruna pelos incontáveis conhecimentos transmitidos, principalmente na área de expressão gênica, pelas conversas, desabafos e grande amizade construída. À minha amiga de laboratório Sofia que trilhou comigo praticamente todas as experiências deste doutorado, dividindo as angústias e alegrias. Aos amigos Santana, Lívia, Roberta, Camila Bitu, Fernanda Domenice e Fernanda Leite pelas trocas de experiências e momentos de descontração.

À técnica de laboratório Mônica, pela amizade e auxílio nas dosagens laboratoriais.

Aos meus pais Edmundo e Tânia pelo apoio e amor constantes, independente da situação.

À minha irmã Lidia e ao meu cunhado Eduardo pelo carinho constante, e por me fazerem descobrir o mais puro amor pelos meus sobrinhos Maria Luiza e João Pedro.

Ao meu marido André pela paciência, amor, pelas duras e por muitas vezes não me deixar desistir.

Aos meus avós Edmundo e Elvira (*in Memoriam*) por me ensinarem com louvor a importância de semear boas lembranças e o amor na vida das pessoas, porque tudo se torna insignificante diante da morte.

À CAPES que me concedeu a bolsa de doutorado para a realização do mesmo.

À FAPESP que nos concedeu auxílio financeiro.

EPÍGRAFE

“Minha energia é o desafio, minha motivação é o impossível, e é por isso que eu preciso ser, à força e a esmo, inabalável.”

Augusto Branco

RESUMO

Merino, S. **Marcadores inflamatórios de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática: níveis sanguíneos e expressão gênica.** 2017. 108 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Introdução: O câncer da confluência biliopancreática tem alta letalidade e prognóstico reservado, atribuído à associação da agressividade biológica e ao quadro clínico silencioso. A inflamação tem papel fundamental no desenvolvimento e na progressão da caquexia, induzida pela expressão de citocinas produzidas pelo tumor e/ou liberadas pelo sistema imunológico. Nos últimos anos, tem sido documentada a variabilidade na expressão gênica de citocinas que regulam os mecanismos envolvidos na caquexia neoplásica. **Objetivos:** Em amostras de sangue periférico de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática, avaliar a concentração da interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon-gama (INF- γ) e interleucina 10 (IL-10), além da expressão gênica dessas citocinas, do receptor tipo 1 do fator de necrose tumoral (TNFR1), do receptor tipo 2 do fator de necrose tumoral (TNFR2), 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 classificados de acordo com a presença ou não de caquexia neoplásica. **Casística:** O estudo transversal foi conduzido com 17 pacientes adultos de ambos os gêneros em pré-operatório imediato de neoplasia da confluência biliopancreática (Grupo Câncer), além de 15 indivíduos controles em pré-operatório de herniorrafia (Grupo Controle). Os pacientes com neoplasia foram classificados de acordo com a presença de caquexia (Subgrupo Caquexia, n=8) e aqueles sem diagnóstico de caquexia (Subgrupo Sem-caquexia, n=9). **Métodos:** A ingestão alimentar e a composição corporal foram avaliadas em todos os voluntários. O questionário de fadiga foi aplicado nos indivíduos com neoplasia. O diagnóstico de caquexia foi feito a partir de critérios pré-estabelecidos. As citocinas inflamatórias IL-6, TNF- α , INF- γ e IL-10 foram dosadas no sangue periférico. A expressão gênica dessas citocinas inflamatórias, dos receptores de TNF- α , da ZAG e do PPAR- γ foi feita em sangue total. A análise estatística foi realizada com o auxílio de *software Statistica, versão 8.0®*. **Resultados:** Não houve diferença na ingestão energética [1827 (1489-2166) vs 1691 (1380-2003) kcal, p=0,56] e proteica [91,6 (74-109) vs 101 (89-114) g, p=0,30] dos indivíduos com câncer ou controles, exceto pela maior ingestão de lipídeos [69,0 (53,5-84,5) vs 42,7 (33,4-52,1) g, p=0,01] e menor consumo de vitamina A [382 (152-612) vs 1346 (1032-1659) μ g, p=0,001] no Grupo Câncer em relação ao Grupo Controle, respectivamente. Houve perda de peso em relação ao habitual em 15 dos 17 pacientes ($13,1 \pm 11,0\%$) antes do procedimento cirúrgico, embora as variáveis de composição corporal estivessem semelhantes entre os dois grupos de estudo. Os pacientes com neoplasia apresentavam menores concentrações plasmáticas de albumina [3,8 (3,5-4,0) vs 4,4 (4,3-4,5) g/dL, p<0,001], transferrina [166 (140-192) vs 241 (212-270) mg, p=0,001], ferro [80,8 (67,7-93,9) vs 107 (82-131) μ g/dL, p=0,003], zinco [79,9 (66-93,7) vs 97,4 (88-107) μ g%, p=0,001] e vitamina A [0,7 (0,6-0,8) vs 1,3 (1,0-1,5) μ mol/L, p<0,001], além de maiores níveis de glicemia [115 (118-193) vs 98,6 (82-115) mg/dL, p=0,003], proteína C reativa [2,7 (0,9-4,5) vs 0,2 (0,2-3,3) mg/dL, p<0,001], ferritina [985 (347-1623) vs 170 (85-255) ng/dL, p=0,003] e cobre [147 (122-177) vs 107 (92-121) μ g%, p=0,03] em relação aos controles, respectivamente. A concentração sérica das citocinas IL-6 [7,2 (4,2-10,1) vs 2,0 (1,4-2,5) pg/mL, p<0,001], TNF- α [24,6 (18,7-30,5) vs 15,2 (11,3-19,1) pg/mL, p=0,02] e IL-10 [13,3 (8,5-18,2) vs 4,4 (2,8-6,1) pg/mL, p<0,001] foram maiores no Grupo Câncer. O RNAm do INF- γ (p=0,008),

TNFR1 ($p=0,003$), IL-10 ($p=0,002$) e PPAR- γ ($p=0,002$) foram mais expressos nos pacientes com neoplasia. O Subgrupo Caquexia apresentou menor ingestão energética ($p=0,03$) e proteica ($p=0,04$), maior intensidade de fadiga ($p=0,003$), maior perda de peso ($p=0,02$) e menores níveis séricos de zinco ($p=0,05$). Dentre as citocinas, apenas a concentração de IL-6 ($p=0,04$) foi maior no Subgrupo Caquexia, enquanto que a expressão gênica do INF- γ ($p=0,04$) foi maior nos pacientes com caquexia. **Conclusões:** Apesar da perda de peso, os marcadores de ingestão alimentar e composição corporal foram pouco alterados nos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática. As alterações laboratoriais foram evidentes nos pacientes com neoplasia, mostrando uma resposta inflamatória sistêmica. O aumento da expressão gênica da IL-10 sugere que as células do sangue periférico estão envolvidas no aumento sérico desta citocina. Apesar do aumento da concentração sérica do IL-6 e TNF- α nos pacientes com neoplasia, não houve aumento da expressão gênica dessas citocinas em sangue periférico. Tais dados sugerem que a IL-6 e o TNF- α são produzidos por outras células do sistema imune, distintas dos macrófagos circulantes. O aumento da expressão gênica de INF- γ no sangue periféricos dos pacientes com neoplasia não foi acompanhado por maior concentração sérica dessa citocina, por possíveis mecanismos epigenéticos. Os genes do PPAR- γ e do TNFR1 foram mais expressos nos pacientes com neoplasia. A caquexia foi definida em 8 pacientes, que apresentaram maior perda ponderal e menor ingestão nutricional. A concentração sérica de IL-6 foi maior no Subgrupo Caquexia, indicando a relação entre essa citocina e o estado caquético. Embora a concentração sérica de INF- γ fosse semelhante entre sujeitos com ou sem caquexia, a expressão gênica dessa citocina foi maior nos pacientes caquéticos.

Palavras-chave: Neoplasias pancreáticas. Citocinas. Inflamação. Estado nutricional. Caquexia.

ABSTRACT

Merino, S. **Inflammatory markers of patients with biliopancreatic confluence neoplasia: blood levels and gene expression.** 2017. 108 f. Thesis (Doctorate Degree), Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, Ribeirão Preto.

Introduction: Biliopancreatic confluence cancer has a high lethality and a reserved prognosis, attributed to the association of biological aggressiveness and the silent clinical picture. Inflammation plays a key role in the development and progression of cachexia, induced by the expression of cytokines produced by the tumor and/or released by the immune system. In recent years, it has been documented the variability in the genetics of cytokines regulating the mechanisms involved in neoplastic cachexia. **Objectives:** To evaluate the concentration of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interferon-gamma (INF- γ) and interleukin 10 (IL-10) in samples of peripheral blood from patients with biliopancreatic confluence neoplasia, in addition to the gene expression of these cytokines, tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1), type 2 receptor tumor necrosis factor (TNFR2), zinc receptor alpha2-glycoprotein (ZAG) and peroxisome proliferator-activated gamma (PPAR- γ). Besides, this study aimed to identify possible differences in the data among patients who were classified according to the presence or absence of neoplastic cachexia. **Casuistic:** The cross-sectional study was carried out with 17 patients of both genders in the immediate preoperative period of neoplasia of the biliopancreatic confluence (Cancer Group), in addition to 15 individual control in the preoperative period of hernia removal surgery (Control Group). Patients with neoplasia were classified according to the presence of cachexia (Subgroup Cachexia, n=8) and those without it (Subgroup Without-cachexia, n=9). **Methods:** Food intake and body composition were evaluated in all volunteers. The fatigue questionnaire was applied in individuals with neoplasia. The diagnosis of cachexia was based on pre-established criteria. Inflammatory cytokines IL-6, TNF- α , INF- γ and IL-10 were measured in peripheral blood. The gene expression of inflammatory cytokines, TNF- α ' receptors, ZAG and PPAR were made in whole blood. Statistical analysis was performed using Statistica software, version 8.0®. **Results:** There was no difference in energy intake [1827 (1489-2166) vs 1691 (1380-2003) kcal, p=0.56] and protein [91.6 (74-109) vs 101 (89-114) g, p=0.30] of individuals with cancer or controls, except for the higher lipid intake [69.0 (53.5-84.5) vs 42.7 (33.4-52.1) g, p=0.01] and lower intake of vitamin A [382 (152-612) vs 1346 (1032-1659) μ g, p=0.001] in the Cancer Group related to Control Group, respectively. There was weight loss from the usual in 15 of the 17 patients ($13.1 \pm 11.0\%$) prior to the surgical procedure, although body composition variables were similar between the two study groups. Patients with neoplasia had lower plasma albumin concentrations [3.8 (3.5-4.0) vs 4.4 (4.3-4.5) g/dL, p <0.001], transferrin [166 (140-192) vs 241 (212-270) mg/dL, p=0.001], iron [80.8 (67.7-93.9) vs 107 (82-131) μ g/dL, p=0.003], zinc [79.9 (66-93.7) vs 97.4 (88-107) μ g%, p=0.001] and vitamin A [0.7 (0.6-0.8) vs 1.3 (1, 0-1.5) μ mol/L, p <0.001], as well as higher glycemia levels [115 (118-193) vs 98.6 (82-115) mg/dL, p=0.003], C-reactive protein 2.7 (0.9-4.5) vs 0.2 (0.2-3.3) mg/dL, p <0.001], ferritin [985 (347-1623) vs 170 (85-255) ng/dL, p=0.003] and copper [147 (122-177) vs 107 (92-121) μ g%, p=0.03] relative to the controls, respectively. The serum concentration of IL-6 cytokines [7.2 (4.2-10.1) vs. 2.0 (1.4-2.5) pg/mL, p <0.001], TNF- α [24.6 (18.7-30.5) vs 15.2 (11.3-19.1) pg/mL, p=0.02] and IL-10 [13.3 (8.5-18.2) vs 4.4 (2.8-6.1) pg/mL, p=0.008] were higher in the Cancer Group. The mRNA of INF- γ (p=0.008), TNFR1 (p=0.003), IL-10 (p=0.002) and PPAR- γ (p=0.002) were more expressed in patients

with neoplasia. The Cachexia Subgroup had lower energetic ($p=0.03$) and protein intake ($p=0.04$), higher fatigue intensity ($p=0.003$), greater weight loss ($p=0.02$) and lower serum levels of zinc ($p=0.05$). Among the cytokines, only a concentration of IL-6 ($p=0.04$) was higher than the Cachexia Subgroup, whereas the gene expression of INF- γ ($p=0.04$) was higher in patients with cachexia. **Conclusions:** Despite the weight loss, dietary intake markers and body composition were slightly altered in patients with biliopancreatic confluence neoplasia. In patients with neoplasia, laboratory findings were evident showing a systemic inflammatory response. The increasing gene expression of IL-10 suggests that peripheral blood cells are involved in the serum increase of this cytokine. Despite the increased concentration of IL-6 and TNF- α in neoplasia patients, there was no increase in gene expression in peripheral blood cytokines. These data suggest that IL-6 and TNF- α are produced by other cells of the immune system, other than circulating macrophages. The increasing gene expression of INF- γ in the peripheral blood of patients with neoplasia was not accompanied by a higher serum concentration of this cytokine, due to possible epigenetic mechanisms. The PPAR- γ and TNFR1 genes were more expressed in patients with neoplasia. Cachexia was defined in 8 patients, who presented greater weight loss and lower nutritional intake. The serum concentration of IL-6 was higher in the Cachexia Subgroup, indicating the relation between this cytokine and the cachectic state. Although the serum INF- γ concentration was similar between individuals with or without cachexia, the gene expression of this cytokine was higher in cachectic patients.

Keywords: Pancreatic neoplasms. Cytokines. Inflammation. Nutritional status. Cachexia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fatores contribuintes para a caquexia no câncer.....	19
Figura 2 – Citocinas humorais e derivadas do crescimento tumoral.....	24
Figura 3 – Direcionamento das alterações metabólicas da caquexia por citocinas.....	27
Figura 4 – Posicionamento do paciente para a realização da avaliação da força de preensão palmar	38
Figura 5 – Média e intervalo de confiança 95% da expressão gênica de IL-6, de TNF- α , de INF- γ , de TNFR1, de TNFR2, de ZAG, de IL-10 e de PPAR- γ de pacientes do Grupo Câncer e de voluntários do Grupo Controle.....	52
Figura 6– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da ingestão energética e proteica de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	58
Figura 7– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da pontuação do questionário de fadiga de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	58
Figura 8– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da perda de peso de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	59
Figura 9– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% do peso, do índice de massa corporal, da massa magra e da massa gorda de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	60
Figura 10– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% de albumina, transferrina, ferritina, e proteína C-reativa (PCR) de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	62
Figura 11– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% de ferro, zinco, cobre, vitamina B ₁₂ , vitamina A e vitamina E de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	63
Figura 12– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de TNF- α no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	64
Figura 13– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de IL-6 no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	64

Figura 14– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de INF- γ no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	65
Figura 15– Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de IL-10 no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.....	65
Figura 16– Média e intervalo de confiança 95% da expressão gênica de IL-6, de TNF- α , de INF- γ , de TNFR1, de TNFR2, de ZAG, de IL-10 e de PPAR- γ de pacientes do Grupo Câncer com e sem caquexia.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características demográficas e comorbidades associadas dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática	34
Tabela 2 – Diagnóstico histopatológico, estadiamento tumoral, procedimento de drenagem biliar pré-operatória e classificação de caquexia dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática.....	35
Tabela 3 – Características demográficas e socioeconômicas dos voluntários do Grupo Controle.....	36
Tabela 4 – Sequência dos iniciadores utilizados nos ensaios de PCR em tempo real.....	42
Tabela 5 – Média e intervalo de confiança 95% da ingestão nutricional diária de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e voluntários do Grupo Controle.....	45
Tabela 6 – Média e intervalo de confiança 95% da composição corporal e da força de preensão palmar de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e voluntários do Grupo Controle.....	46
Tabela 7 – Média e intervalo de confiança 95% dos dados laboratoriais dos voluntários do Grupo Câncer e do Grupo Controle.....	48
Tabela 8 – Média e intervalo de confiança 95% das dosagens de citocinas inflamatórias séricas em pré-operatório dos voluntários do Grupo Câncer e do Grupo Controle.....	50
Tabela 9 – Idade, estadiamento tumoral e critérios usados para classificação de caquexia nos pacientes do Subgrupo Caquexia.....	55
Tabela 10 – Idade, estadiamento tumoral e critérios usados para classificação de caquexia nos pacientes no Subgrupo Sem-caquexia.....	57

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

® - Marca registrada

μl: microlitro

AIS: substância indutora de anemia (*anemia-inducing substance*)

ALT: alanina aminotransferase

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

ALT: alanina aminotransferase

AST: aspartatoaminotransferase

BIA: impedância bioelétrica

CB: circunferência do braço

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

CLLFe: capacidade latente de ligação do ferro

CMB: circunferência muscular do braço

CNTF: fator neurotrófico ciliar (*ciliary neurotrophic factor*)

Ct: *Cycle Threshold*

DM2: diabetes melito tipo 2

DNA: ácido desoxirribonucléico (*deoxyribonucleic acid*)

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

EPG: escore prognóstico de Glasgow

F: feminino

FACIT-F: questionário de intensidade de fadiga

Fc: fração cristalizável (*cristal fraction*)

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

HAS: hipertensão arterial sistêmica

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

IL-1β: interleucina 1 beta

IL-1: interleucina 1

IL-10: interleucina 10

IL-15: interleucina 15

IL-1ra: receptor antagonista da interleucina 1

IL-4: interleucina 4

IL-6: interleucina 6

IMC: índice de massa corporal

INF- γ : interferon gama

kcal: quilocalorias

kDa: quilodalton

kg: quilograma

kHz: quilohertz

LIF: fator inibidor de leucemia (*leukemia inhibitory factor*)

LMF: fator mobilizador de lipídios (*lipid mobilizing factor*)

LPS: lipopolissacáride

M: masculino

mF: millifarad

mg: miligrama

miRNA: micro RNA

mi-155: micro RNA-155

mi-17-5p: micro RNA-17-5p

mi-21: micro RNA-21

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

nm: nanômetro

PCR: proteína C-reativa

PCT: prega cutânea tricípital

PIF: fator indutor de proteólise (*proteolysis inducing factor*)

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

SE: sócio-econômica

sIL-6R: receptor solúvel da interleucina 6

STAT1: transdutor de sinal e ativador de transcrição 1 (*signal transducer and activator of transcription 1*)

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

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

TNFR1: receptor tipo 1 do fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor receptor 1*)

TNFR2: 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

VET: valor energético total

VR: valor de referência

WHO: *World Health Organisation*

ZAG: zinco-alfa2-glicoproteína

SUMÁRIO

I	INTRODUÇÃO.....	16
I.1	Epidemiologia das neoplasias da confluência biliopancreática.....	16
I.2	Comprometimento do estado nutricional e caquexia neoplásica.....	17
I.3	Estresse inflamatório na resposta tumoral.....	21
II	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO.....	30
III	OBJETIVOS.....	31
III.1	Objetivo geral.....	31
III.2	Objetivos específicos.....	31
IV	MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
IV.1	Local e aspectos éticos.....	32
IV.2	Casuística e critérios de inclusão e de exclusão.....	32
IV.3	Avaliação da ingestão nutricional e identificação dos sintomas gastrointestinais...	37
IV.4	Avaliação da composição corporal.....	37
IV.5	Força de preensão palmar.....	37
IV.6	Questionário de intensidade da fadiga.....	38
IV.7	Critérios para classificação de caquexia.....	38
IV.8	Avaliação laboratorial.....	39
IV.9	Ensaio multiplex para quantificação de citocinas.....	40
IV.10	Extração de RNA do sangue total.....	41
IV.11	Transcrição reversa (cDNA).....	41
IV.12	qPCR em tempo real.....	41
IV.13	Análise estatística.....	42
V	RESULTADOS.....	44
V.1	Comparação do Grupo Câncer com Grupo Controle.....	44
V.1.1	Avaliação da ingestão alimentar e da composição corporal.....	44
V.1.2	Avaliação laboratorial.....	47
V.1.3	Avaliação das citocinas inflamatórias séricas.....	50
V.1.4	Expressão gênica.....	51
V.2	Análise descritiva e comparativa dos Subgrupos Caquexia e Sem-caquexia.....	54
VI	DISCUSSÃO.....	68
VII	CONCLUSÃO.....	84
	REFERÊNCIAS.....	86
	APÊNDICE A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	106
	APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	110
	APÊNDICE C - Tabelas de valores individuais.....	114
	ANEXO A – Média e intervalo de confiança 95% dos valores de referência da força de preensão palmar (kg) para homens e mulheres.....	121
	ANEXO B – Questionário de qualidade de vida e fadiga.....	122
	ANEXO C – Valores do percentil 10 para a circunferência muscular do braço (cm) para homens e mulheres, de acordo com a faixa etária.....	125

I – INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia das neoplasias da confluência biliopancreática

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. O câncer 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 e Weinberg, 2011; Hajdu; Vadmal; 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). Atualmente, a maioria dos casos de câncer ocorre em países em desenvolvimento, atribuída ao tabagismo e uso de álcool, aos hábitos alimentares caracterizados por ingestão rica em lipídeos e com baixo teor de fibras. Além disso, a obesidade e o sedentarismo, as exposições ambientais e ocupacionais podem modificar os fatores de risco da doença, devido ao acúmulo de mutações genéticas que causam dano ao DNA (Ferlay et al., 2010; Siegel; Miller; Jemal, 2017).

O projeto GLOBOCAN estima que ocorreram 14 milhões de casos novos e 8,2 milhões de óbitos por câncer em todo o mundo no ano de 2012 (WHO, 2012). Nos Estados Unidos da América, a incidência de câncer estimada para 2017 é de 1,7 milhões de casos, com mortalidade de 601 mil pessoas (Siegel; Miller; Jemal, 2017). Segundo a estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA), excluindo-se os cânceres de pele não melanoma, a incidência no Brasil é de 420 mil casos em 2017. Entre as mulheres, os tipos mais frequentes são o câncer de mama (28,1%), cólon e reto (8,6%), colo de útero (7,9%), pulmão (5,3%), estômago (3,7%) e corpo do útero (3,4%). Nos homens, os tipos mais frequentes são próstata (28,6%), pulmão (8,1%), cólon e reto (7,8%), estômago (6,0%), cavidade oral (5,2%) e esôfago (3,7%) (INCA, 2016-2017).

O câncer da confluência biliopancreática compreende o tumor da cabeça do pâncreas, o colangiocarcinoma distal (porção intrapancreática do colédoco), o tumor da ampola de Vater e o adenocarcinoma duodenal. Dentre os tumores da confluência biliopancreática, o câncer de pâncreas é o mais freqüente e tem origem nas células ductais (Freelove; Walling, 2006). O câncer pancreático é o 12º em incidência e 7% em mortalidade. A estimativa para 2012 foi de 337.872 casos novos (2,4% do total) e 330.372 óbitos (4% do

total). Esta neoplasia é mais freqüente em homens e tem apresentado um número crescente de casos nos países desenvolvidos, onde é mais comum e usualmente fatal (WHO, 2014). No Brasil, a neoplasia do pâncreas representa 2% de todos os tipos de câncer e sua taxa de mortalidade é elevada (Weltman et al., 2002). O tumor da ampola de Vater e o colangiocarcinoma são neoplasias raras, com maior prevalência entre adultos do gênero masculino (Rostain et al., 2014; Razumilava; Gores, 2014). As neoplasias duodenais têm incidência de aproximadamente 5,4 por um milhão de habitantes (Buchbjerg; Frstrup; Mortensen, 2015).

Os sinais e sintomas dos tumores da confluência biliopancreática são inespecíficos e geralmente incluem mal estar geral, flatulência, diarreia, vômitos e constipação intestinal (Shaib; Davila; El-Serag, 2013). O prognóstico das neoplasias da confluência biliopancreática é reservado e atribuído à associação da agressividade biológica e ao quadro clínico silencioso, o que retarda o diagnóstico e o início do tratamento (Weltman et al., 2002). A intervenção cirúrgica radical, representada pela duodenopancreatectomia, tem potencial curativo nas neoplasias malignas da confluência biliopancreática. Entretanto, esse procedimento cirúrgico é factível em apenas 10 a 20% dos casos, mesmo nos serviços especializados. A sobrevida é baixa em cinco anos e o prognóstico é pior nos pacientes com tumor irremediável (Postier et al., 2003).

1.2. Comprometimento do estado nutricional e caquexia neoplásica

A perda de peso é freqüente na doença maligna, principalmente nas neoplasias do trato gastrointestinal superior (Butters et al., 1996). Desde o estudo clássico de Studley¹ (1936, p.106 apud Bozzetti., 2007, p. 698-709) é conhecida a relevância da perda de peso no prognóstico, especialmente nas complicações pós-operatórias. Mesmo 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., 1995). 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. Destaca-se a incapacidade na

¹ Studley HO. Percentage of weight loss: a basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. JAMA. 1936;106:458.

ingestão alimentar associada às alterações mecânicas da mastigação e deglutição e os distúrbios absortivos no trato gastrointestinal, além da toxicidade das drogas antineoplásicas (Inui et al., 2002).

A denominação “caquexia” deriva do grego, “*kakos*”, má e “*hexis*”, condição. Apesar desta síndrome ser mais estudada no câncer, ela também atinge pacientes com falência cardíaca congestiva, doenças do trato gastrintestinal, anormalidades renais, queimaduras, sepsis e síndrome da imunodeficiência adquirida (Fearon; Moses, 2002). Há mais de 2400 anos, Hipócrates já falava em caquexia: *"A carne é consumida e transforma-se em água... o abdome se enche de água, os pés e as pernas incham; os ombros, clavículas, peito e coxas definham... essa doença é fatal"* (Waitzberg et al., 2004).

Os mecanismos responsáveis pela caquexia podem ser agrupados em: a) inflamação sistêmica; b) balanço energético; c) regulação do apetite; d) controle do metabolismo e e) função dos tecidos muscular e adiposo (Tan et al., 2011). O mecanismo exato da perda de peso na caquexia não é totalmente compreendido. O hipermetabolismo e a redução na ingestão alimentar pela hiporexia são fatores envolvidos na redução da massa corporal magra (Blum et al., 2011). Ocorre proteólise devido ao desvio metabólico para a produção de proteínas de fase aguda (Tisdale, 2002), com consequente redução da massa muscular (Batista Jr et al., 2012). Estudos longitudinais em seres humanos sugerem que a perda de massa gorda ocorre anteriormente à perda de massa magra na patogênese da caquexia (Arner, 2011; Bing, 2011). A perda de massa muscular e de tecido adiposo precedem a diminuição da ingestão alimentar e acentuam-se durante a evolução da doença neoplásica (Agustsson et al., 2012).

A perda de depósitos de gordura tem sido atribuída ao desequilíbrio entre processos catabólicos e anabólicos em tecidos periféricos, principalmente no tecido adiposo (Bing; Trayhurn, 2009; Agustsson et al., 2007). Tais alterações resultam na caquexia do câncer, que representa uma síndrome multifatorial (Figura 1), de etiologia complexa e desconhecida (von Haehling et al., 2002).

Figura 1. Fatores contribuintes para a caquexia no câncer.

Fonte: Adaptado de Argiles & Busquets (2003).

A síndrome de anorexia-caquexia do câncer é comum em pacientes em estágios finais da doença neoplásica e está associada com perda de peso, fadiga, sonolência, piora da qualidade de vida e do prognóstico (Salsman et al., 2015). Uma vez instalada, a caquexia reduz a tolerância ao tratamento antineoplásico (Bing et al., 2006), aumenta a susceptibilidade às infecções e as complicações pós-operatórias (Tisdale, 2002; Deans; Wigmore, 2005; Walz, 2010). Há evidência de pacientes caquéticos com neoplasia pancreática apresentem um resultado pior no pós-operatório de duodenopancreatectomia (Pausch et al., 2012).

Acredita-se que a caquexia neoplásica afete cerca de metade de todos os pacientes com câncer, está presente em mais de dois terços dos casos de câncer avançado (Silva, 2006; Fearon et al., 2006a) e se desenvolve em aproximadamente 80% dos pacientes com câncer pancreático durante o curso da doença (Fearon et al., 2006b). Entretanto, o diagnóstico de caquexia do câncer varia de acordo com a definição utilizada (Fearon et al., 2011). Cerca de 23% dos pacientes com câncer recebem o diagnóstico de caquexia, representando sem dúvida, uma subestimação na incidência da síndrome (Fox et al., 2009).

A dificuldade da elaboração de critérios que definam caquexia de forma indiscutível se dá pelo seu caráter multifatorial e sistêmico. Na clínica, os sinais e sintomas registrados variam entre os pacientes e a heterogeneidade das manifestações é aceita como uma característica própria da síndrome (Argilés et al., 1997). Em função da ausência de definição de um critério apropriado, na maioria das vezes o clínico não possui meios para a sua detecção. Uma vez não identificada a caquexia, pacientes tornam-se mais vulneráveis à morbidade, ao comprometimento da qualidade de vida e à mortalidade (Fearon; Moses, 2002). Muitas propostas de critérios para definir a caquexia foram apresentadas na última década e

foi possível estabelecer pontos em comum entre elas, proporcionando uma definição consensual (Fearon et al., 2011).

A perda de peso é o critério mais utilizado na detecção da caquexia (Brown, 2002). Bozzetti e colaboradores (2009) definiram a caquexia como processo em que há perda de peso e da massa celular, juntamente com diminuição da ingestão alimentar. Esses autores deram maior importância à redução de massa celular, mesmo quando não há perda de peso. A caquexia também foi definida como uma síndrome multifatorial em que há balanço energético e nitrogenado negativo, concomitante às anomalias metabólicas e a redução da ingestão alimentar (Barber et al., 1999). Segundo a *Society for Cancer and Wasting Disorders*, a caquexia é uma síndrome metabólica complexa, caracterizada pela concomitância ou não de perda de massa muscular, associada à perda de massa gorda, sintomas de anorexia, inflamação, resistência à insulina e proteólise (Fearon et al., 2011).

No estudo *SCRINIO-Screening of the Nutritional Risk of Oncology Patients*, Bozzetti e colaboradores (2009) propuseram dividir a síndrome em fase de pré-caquexia e caquexia, de acordo com a perda de peso corporal maior ou igual a 10%. Estes autores também propuseram outras subdivisões de acordo com a presença de anorexia, fadiga e saciedade precoce (Bozzetti et al., 2009). Um grupo de pesquisadores na área de caquexia neoplásica propuseram o diagnóstico de acordo com os seguintes fatores: perda de peso maior ou igual a 10%, ingestão energética igual ou menor que 1500 kcal/dia e concentração sérica de proteína C-reativa (PCR) igual ou maior que 10 mg/L (von Haehling et al., 2002). Mais recentemente, Fearon e colaboradores (2011) propuseram a classificação de caquexia em três níveis, segundo a sua gravidade: a) pré-caquexia, quando há perda de peso igual ou inferior a 5%, anorexia e alterações metabólicas; b) caquexia propriamente dita, em situações em que há perda de peso superior a 5% ou IMC $<20\text{kg/m}^2$ e c) caquexia refratária quando ocorre processo catabólico intenso, ausência de resposta ao tratamento antineoplásico e tempo de sobrevivência inferior a três meses.

Na classificação de caquexia proposta por Evans e colaboradores (2008), os autores incluíram a história de perda de peso acrescido de três ou mais critérios adicionais como a diminuição da força muscular, redução da massa muscular, fadiga, anorexia e alterações bioquímicas, incluindo a presença de anemia, inflamação e baixa concentração de albumina.

Existem várias definições de fadiga, segundo a *European Association for Palliative Care* (Radbruch et al., 2008). Os pacientes com caquexia apresentam piores escores fadiga (Donnelly et al., 1995), que é caracterizada por uma sensação subjetiva de cansaço, fraqueza ou

falta de energia (Radbruch et al., 2008). A fadiga provavelmente representa o sintoma mais comum em pacientes com câncer (Donnelly et al., 1995), especialmente naqueles sob tratamento oncológico (Stone et al., 1998). A fadiga primária relaciona-se com o aumento de citocinas circulantes, enquanto que a fadiga secundária tem sido atribuída aos sintomas relacionados com a doença, como os distúrbios do sono (Mucke et al., 2016).

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 da caquexia, induzida pela expressão de citocinas pró-inflamatórias produzidas pelo tumor e/ou liberadas pelo sistema imunológico (Argilés et al., 2003; Bing; Trayhurn, 2008; Argilés et al., 2009; Blum et al., 2011; Tan et al., 2011; Roxburgh; McMillan, 2014).

As citocinas produzidas pelo tecido tumoral sensibilizam as células mononucleares do sangue periférico do hospedeiro, induzindo a expressão de citocinas (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). Estudos atuais conduzidos em pacientes com neoplasias têm mostrado que o padrão de função das citocinas é complexo e a expressão de uma citocina pode ser induzida ou suprimida por outra (Roshani et al., 2014).

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 os tecidos de todo o corpo. 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 por todo baço, onde removem as células senescentes do sangue. 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 os 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, 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 e se ligar 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 a superfície de 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). Também constituem importantes sítios de reconhecimento dos macrófagos os receptores de Fc (fração cristalizável) e do complemento, que reconhecem 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 microorganismos 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 (Johnson et al., 1986), liberação de proteases, de componentes do complemento (Leu et al., 1991) e de citocinas (Pullyblank et al., 1995).

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, neuropeptídio 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., 2007).

Alguns mediadores químicos envolvidos na anorexia e em mudanças metabólicas que caracterizam a caquexia estão esquematizados na Figura 2. Os mediadores químicos pró-caquéticos humorais incluem o TNF- α , IL-6, IL-1 β , INF- γ , fator neurotrófico ciliar (CNTF) e fator inibidor de leucemia (LIF). Também são considerados mediadores pró-caquéticos aqueles secretados pelo tumor, como o fator indutor de proteólise (PIF), composto que se mostrou capaz de ativar a degradação de proteínas por meio da via dependente de ubiquitina e proteossomo (Smith et al., 1993). O fator mobilizador de lipídios (LMF) é uma glicoproteína de 43 kDa capaz de degradar tecido adiposo através do aumento dos níveis intracelulares de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), possivelmente em resposta à ativação da adenilato ciclase (Todorov et al., 1996a; 1996b). A substância indutora de anemia (AIS) e o toxohormônio-1 são considerados mediadores pró-caquéticos secretados pelo tumor (Rubin, 2003). Embora seu papel não esteja precisamente determinado, o toxohormônio-1 é um pequeno peptídeo produzido pelas células tumorais que tem sido relacionado aos efeitos da caquexia (Rubin, 2003).

Dentre os fatores anti-caquéticos humorais, cita-se o receptor solúvel de TNF- α (sTNFR), receptor solúvel de IL-6 (sIL-6R), receptor antagonista de interleucina 1 (IL-1ra), interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10) e a interleucina 15 (IL-15) (Batista Jr et al., 2012).

Figura 2. Citocinas humorais e derivadas do crescimento tumoral.

Fonte: Batista Jr et al., 2012.

A IL-6 pode regular a secreção do fator de crescimento endotelial vascular nas células tumorais pancreáticas, estimulando a angiogênese e vascularização do tumor, contribuindo para metástase e progressão tumoral (Wang et al., 2005). Tanto a IL-1 β quanto TNF- α são capazes de induzir a produção de IL-6 a partir de células tumorais e do hospedeiro (Strassmann et al., 1993a, b). Além de ser considerado um fator lipolítico derivado do tecido adiposo, a IL-6, desempenha papel fundamental na promoção da perda de tecido adiposo em pacientes com câncer (Rydén et al., 2008).

TNF- α é uma citocina pró-inflamatória que atua sobre diferentes tipos celulares na fisiologia normal, na doença autoimune assim como na inflamação aguda e crônica e aquela relacionada ao câncer (Chu, 2013). Esta citocina aumenta a capacidade de invasão de células neoplásicas pancreáticas humanas *in vitro* e promove o crescimento tumoral e induz metástase em camundongos com câncer ortotópico (Egberts et al., 2008). O TNF- α possui dois receptores distintos. O receptor tipo 1 do TNF- α (TNFR1) é expresso em todos os tipos celulares e contém um domínio de morte celular que ativa a via envolvida na apoptose. O receptor tipo 2 do TNF- α (TNFR2) é expresso apenas em células hematopoiéticas e não possui o domínio de morte celular (Balkwill, 2009). Os receptores de TNF- α ativam genes inflamatórios, controlam a proliferação e a morte celular. De maneira geral, o TNFR1 está associado com funções citotóxicas e pró-inflamatórias, causando injúria tecidual. Por outro

lado, o TNFR2 promove a ativação, a migração e a proliferação celular, atuando no reparo tecidual e na angiogênese (Bradley, 2008). Acredita-se que o efeito citotóxico do TNF- α seja mediado através de TNFR1. Existe um balanço entre os fatores que influenciam na promoção do crescimento e na citotoxicidade celular, o que pode explicar a ausência de resposta antiproliferativa das células cancerosas e a eficácia limitada do TNF- α no tratamento do câncer pancreático (Friess et al., 1999).

Estudos experimentais usando abordagens distintas têm demonstrado que TNF- α é capaz de reproduzir as diferentes características da caquexia neoplásica (Llovera et al., 1998). Em estudos experimentais com animais de laboratório, a administração intramuscular em longo prazo de TNF- α humano recombinante resulta em perda de peso, anemia e redução de massa muscular e de tecido adiposo (Tracey et al., 1988). Por exemplo, a resposta apoptótica pode ser mimetizada por esta citocina (van Royen et al., 2000). Embora muitos pesquisadores tenham demonstrado associações entre o TNF- α e o aumento da proteólise, os resultados são controversos e admite-se que o efeito não seja direto, mas fruto da interação com outros mediadores (Fearon et al., 2011). O TNF- α também tem papel na etiologia da resistência à insulina que ocorre na caquexia (Tijerina, 2004).

O IFN- γ é produzido por linfócitos T citotóxicos ativados, macrófagos e células *natural killer* ativadas, com atividade biológica sobreposta à do TNF- α . O IFN- γ é uma citocina pró-inflamatória Th1 que tem sido implicada como um mediador de um mecanismo extrínseco de supressão de tumor em hospedeiros imunocompetentes (Kalvakolanu; Borden, 1996; Argilés et al., 2011). Em estudo animal, o emprego do anticorpo monoclonal contra IFN- γ reverteu a síndrome associada com o crescimento do tumor de Lewis pulmonar, o que sugere que ocorre a produção de IFN- γ pelo tumor e elucida algumas alterações metabólicas características da caquexia neoplásica (Matthys et al., 1991). 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).

A IL-1 β , TNF- α e IFN- γ são as principais citocinas envolvidas na indução de apoptose nas células beta pancreáticas devido a capacidade destas citocinas desencadearem mecanismos apoptóticos isoladamente ou em sinergismo (Eizirik; Mandrup-Poulsen, 2001). Ao se ligar ao seu receptor (IFNGR1), o IFN- γ induz a fosforilação de outras quinases, denominadas Janus quinase 1 e 2. Essas quinases ativam o fator nuclear kappa-beta (NF- κ B) e

um fator de transcrição denominado STAT-1, que regula a expressão de outros genes envolvidos no mecanismo apoptótico como o Bcl-2, Pdx1 e MafA (Wang et al., 2010). Quando combinado com a IL-1 β , o IFN- γ aumenta a expressão de genes envolvidos na indução de estresse do retículo endoplasmático em cultura de células beta pancreáticas (Pirrot et al., 2006). Após adição do IFN- γ e o TNF- α na cultura de células beta pancreáticas de ratos, ocorre ativação de uma via apoptótica denominada via p53/p21, o que não acontece se estas citocinas forem adicionadas à cultura separadamente (Kim et al., 2005).

Por outro lado, 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 expressão de TNF- α , IL-6 e IL-1 beta por monócitos cultivados (Batista Jr et al., 2012).

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 lipídico extracelular, na oxidação de ácidos graxos e na inflamação, sendo expresso no tecido adiposo, em macrófagos e em células dendríticas (Tontonoz; Spiegelman, 2008; Michalik et al., 2006).

Em humanos, o PPAR- γ é expresso em células mononucleares periféricas, assim como em linfócitos e monócitos (Macias-Gonzalez et al., 2008). 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- κ B,

sugerindo interação entre NF- κ B 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 (Roman, 2008).

A zinco-alfa2-glicoproteína (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 utilização dos lipídios, atuando como moduladora da lipólise na caquexia (Cabassi; Todeschi, 2013). 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 índice de massa corporal (IMC) (Rydén et al., 2012).

A Figura 3 esquematiza a participação das citocinas pró-inflamatórias nas alterações metabólicas presentes na caquexia neoplásica.

Figura 3. Esquema da participação das citocinas pró-inflamatórias nas alterações metabólicas presentes na caquexia neoplásica.

Fonte: adaptado de Argilés et al., 2005a.

Nos últimos anos, tem sido documentada a variabilidade na expressão de genes que regulam os mecanismos envolvidos na caquexia neoplásica (Tan et al., 2008). A análise da expressão gênica de citocinas anti e pró-inflamatória foi conduzida em alguns estudos (Batista Jr et al., 2013; Matos-Neto et al., 2015; Amor et al., 2016). Pacientes com caquexia apresentam aumento da expressão gênica de proteínas responsáveis pelo *turnover* energético e diminuição da expressão de genes estruturais, como das proteínas do citoesqueleto e da matriz extracelular. Tais alterações são atribuídas às mudanças na expressão de numerosos mediadores inflamatórios derivados de tumor, como TNF- α e LMF (Rydén et al., 2008; Argilés et al., 2009; Bing; Trayhurn, 2009).

A maioria das células imunes intratumorais é recrutada a partir de sangue periférico. Ainda não é claro se elas 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). Durante os eventos fisiológicos ou patológicos ocorre liberação sistêmica de fatores envolvidos na fisiopatologia da doença ou de suas manifestações associadas (Gardinassi et al., 2016). 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 (Ramilo et al., 2007; Anderson et al., 2014). 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, Florecken et al., 2014).

A expressão gênica foi correlacionada com a intensidade da fadiga em pacientes com neoplasia mamária (Landmark-Hoyvik et al., 2009) e com a mudança no peso corporal de mulheres com anorexia nervosa (Kim et al., 2013). Nós não identificamos na literatura estudos que avaliam a expressão gênica de citocinas anti e pró-inflamatórias envolvidas na caquexia neoplásica utilizando amostras de sangue total.

II - JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO

Nossa proposta foi investigar os níveis de citocinas anti e pró-caquéticas em sangue total de pacientes com câncer da confluência biliopancreática. Sabe-se que tais pacientes apresentam comprometimento do estado nutricional, que pode evoluir para caquexia. Simultaneamente, as informações referentes ao consumo alimentar, à composição corporal e à ocorrência de fadiga permitirão identificar o papel das citocinas no processo de caquexia, independente dos outros fatores envolvidos. Embora a sarcopenia seja amplamente estudada, as mudanças na expressão gênica de citocinas inflamatórias, dos receptores de TNF- α e das proteínas relacionadas ao metabolismo lipídico (ZAG e PPAR- γ) são pouco exploradas na etiologia da caquexia neoplásica. Além disso, um aspecto relevante do nosso estudo consiste na avaliação da expressão gênica de citocinas envolvidas na caquexia neoplásica.

O tratamento cirúrgico tem o potencial curativo na neoplasia biliopancreática. Do ponto de vista clínico, a correção da anemia, o tratamento com insulina e o suporte nutricional são intervenções que devem ser consideradas, visto que influenciam no prognóstico. Entretanto, é bem documentado que a terapia nutricional convencional tem poder limitado na prevenção e na reversão da caquexia neoplásica, indicando que a fisiopatogenia desta condição não se limita à oferta nutricional. As dosagens de citocinas e a quantificação dos genes expressos diferencialmente podem indicar novos marcadores moleculares envolvidos na etiopatogenia da caquexia. O estudo poderá dar subsídios para estudos que se proponham avaliar abordagens que possam prevenir ou minimizar os efeitos metabólicos da caquexia neoplásica, seja a partir de suplementação na oferta de nutrientes específicos ou por estratégias farmacológicas ou não farmacológicas.

A hipótese do presente estudo é que os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentam aumento nos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias em decorrência de mudanças na expressão gênica dessas citocinas nas células do sangue periférico. Além disso, nós formulamos a hipótese adicional de que os pacientes com caquexia apresentariam maiores concentrações de citocinas pró-inflamatórias, envolvidas na etiologia dessa condição mórbida.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi quantificar as citocinas TNF- α , IL-6, INF- γ e IL-10 em amostras de sangue periférico, além de analisar a expressão gênica dessas citocinas e dos TNFR1, TNFR2 e de proteínas envolvidas no metabolismo lipídico (ZAG e PPAR- γ) em amostras de sangue total de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática.

III.2. Objetivos específicos

Em pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática e em voluntários controles:

1. Avaliar o estado nutricional a partir dos dados de ingestão alimentar, da composição corporal e de dados laboratoriais;
2. Quantificar as citocinas inflamatórias TNF- α , IL-6, INF- γ e IL-10 em amostras de sangue total;
3. Analisar a expressão gênica de citocinas TNF- α , IL-6, INF- γ e IL-10, dos receptores do TNF- α , das proteínas ZAG e PPAR- γ em amostras de sangue total.

Em pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática classificados de acordo com a presença ou não de caquexia:

1. Descrever as variáveis de avaliação nutricional, os valores sanguíneos das citocinas inflamatórias e a expressão gênica dessas citocinas.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

IV.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) (Apêndice B), apresentado pela pesquisadora responsável. 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.

IV.2. Casuística e critérios de inclusão e de exclusão

A coleta de dados foi feita no período de dezembro de 2014 a março de 2016. Foram elegíveis para o estudo os sujeitos com idade entre 18 e 75 anos, de ambos os gêneros, que apresentassem diagnóstico histopatológico de neoplasia da confluência biliopancreática, com indicação de ressecção tumoral feita pela equipe cirúrgica. Dentre os 51 pacientes inicialmente recrutados, três sujeitos não concordaram com a participação voluntária na pesquisa. Foram excluídos 31 sujeitos do estudo devido à ausência de indicação cirúrgica de ressecção tumoral (pela presença de metástase tumoral diagnosticada antes da cirurgia), escala de *Performance de Karnofsky* < 60% (Crooks et al., 1991), tratamento prévio para câncer nos cinco anos precedentes ao recrutamento, história de doença auto-imune ou inflamatória crônica, quadro infeccioso em atividade, doença hepática ou renal e uso de drogas imunossupressoras.

A casuística final incluiu 17 pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna da confluência biliopancreática (Grupo Câncer), sendo 14 do gênero masculino, $63,4 \pm 8,4$ anos. (Tabela 1). O diagnóstico histopatológico e o estadiamento tumoral foi avaliado individualmente a partir da revisão dos prontuários feita por oncologista experiente (Tabela 2). O estadiamento cirúrgico (patológico) foi feito baseado em normas pré-estabelecidas. A combinação das subcategorias do TNM determinou os estádios clínicos que foram: I (invasão

local inicial), II (tumor primário limitado ou invasão linfática regional mínima) ou III (tumor localmente avançado ou invasão linfática regional extensa).

A identificação dos indivíduos que foram submetidos à drenagem biliar endoscópica pré-operatória foi feita pela análise retrospectiva dos prontuários médicos de cada paciente. Conforme rotina do serviço, o período entre a drenagem biliar endoscópica e o procedimento cirúrgico de ressecção tumoral varia em torno de 3 semanas. Entretanto, no paciente número 9 houve inúmeras complicações após a colocação da prótese metálica (migração da prótese, fístula e infecção secundária), que retardou a realização da cirurgia definitiva. Na paciente número 12, houve um período para esclarecimento do diagnóstico e recusa da paciente ao procedimento cirúrgico, o que retardou a cirurgia. Em ambos os casos, a prótese para drenagem biliar foi colocada em outro serviço. De acordo com os critérios pré-estabelecidos e descritos abaixo, os indivíduos do Grupo Câncer foram subdivididos em: a) Subgrupo Caquexia e b) Subgrupo Sem-caquexia.

Também foram incluídos 15 sujeitos controles (Grupo Controle), sendo 12 do gênero masculino, $58,4 \pm 9,4$ anos (Tabela 3). Os Grupos Câncer e Controle foram pareados quanto o gênero ($p=0,86$), idade ($p=0,19$) e nível socioeconômico. Os voluntários do Grupo Controle foram 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, além dos mesmos critérios aplicados ao Grupo Câncer.

Embora houvesse relatos de tabagismo, no momento da avaliação os sujeitos da pesquisa não estavam fumando por período mínimo de 30 dias. Foi obtida a informação sobre consumo habitual de bebidas alcóolicas mas nós não quantificamos a quantidade diária ingerida, a fim de classificar os sujeitos em etilistas. Entretanto, nenhum voluntário do estudo (grupo câncer ou controle) apresentava antecedentes de doenças associadas ao consumo excessivo de álcool, tais como pelagra, cirrose hepática e pancreatite aguda ou crônica. Os voluntários que apresentavam hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 e hipotireoidismo apresentavam bom controle clínico na ocasião da pesquisa.

Tabela 1- Características demográficas, socioeconômicas e comorbidades associadas dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática.

Caso	Gênero	Idade	Classe SE*	Comorbidades associadas
1	Feminino	55	Média inferior	-
2	Masculino	55	Média Superior	História de tabagismo
3	Masculino	54	Média	História de tabagismo e consumo prévio de bebidas alcoólicas
4	Masculino	72	Média inferior	História de tabagismo e consumo prévio de bebidas alcoólicas
5	Masculino	52	Média inferior	HAS; DM2
6	Feminino	58	Média inferior	HAS; dislipidemia
7	Masculino	64	Média inferior	-
8	Masculino	68	Média inferior	DM2; passado de litíase renal
9	Masculino	78	Média inferior	História de tabagismo; úlcera péptica
10	Masculino	57	Média inferior	-
11	Masculino	63	Média inferior	Úlcera péptica (tratada)
12	Feminino	68	Média inferior	DM2; história de tabagismo
13	Masculino	71	Média inferior	-
14	Masculino	69	Média inferior	HAS
15	Masculino	51	Média	História de tabagismo; HAS; DM2; dislipidemia
16	Masculino	72	Média inferior	História de tabagismo e consumo prévio de bebidas alcoólicas
17	Masculino	71	Média	-

*SE: sócio-econômica, de acordo com critérios de Graciano, 1999.

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

Tabela 2- Diagnóstico histopatológico, estadiamento tumoral, drenagem biliar pré-operatória e tempo entre drenagem biliar e ressecção tumoral dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática.

Caso	Diagnóstico histopatológico	Estadiamento	Drenagem biliar pré-operatória	Tempo entre drenagem biliar e ressecção tumoral (d)
1	Adenocarcinoma de papila duodenal	IIB	Não	-
2	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	IIA	Não	-
3	Adenocarcinoma de papila duodenal	IIA	Não	-
4	Adenocarcinoma papila duodenal	IIA	Não	-
5	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	IIB	Não	-
6	Adenocarcinoma de papila duodenal	IIB	Não	-
7	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	IIB	Não	-
8	Adenocarcinoma ductal	IIB	Não	-
9	Adenocarcinoma de papila duodenal	IB	Sim	207
10	Adenocarcinoma ductal	IB	Não	-
11	Adenocarcinoma ductal	III	Não	-
12	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	III	Sim	198
13	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	IIB	Sim	20
14	Adenocarcinoma de papila duodenal	IB	Não	
15	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	III	Não	
16	Adenocarcinoma de papila duodenal	IB	Sim	98
17	Adenocarcinoma de cabeça de pâncreas	III	Sim	62

Tabela 3- Características demográficas, socioeconômicas e comorbidades associadas dos voluntários do Grupo Controle.

Caso	Gênero	Idade	Classe SE*	Comorbidades associadas
1	Masculino	43	Média	História de tabagismo
2	Masculino	60	Média superior	-
3	Feminino	57	Média inferior	História de tabagismo; DM2; HAS; dislipidemia
4	Masculino	47	Média	-
5	Masculino	65	Média	HAS; dislipidemia
6	Masculino	54	Média inferior	-
7	Masculino	57	Média inferior	-
8	Feminino	63	Média inferior	HAS; DM2; fibromialgia; varizes de membros inferiores
9	Masculino	57	Média	História de tabagismo; DM2
10	Masculino	70	Média	Tabagismo; HAS; hipotireoidismo em tratamento
11	Feminino	59	Média	DM2; dislipidemia
12	Masculino	60	Média inferior	História de tabagismo; consumo prévio de bebidas alcoólicas; HAS; dislipidemia
13	Masculino	43	Média	Consumo prévio de bebidas alcoólicas
14	Masculino	78	Média inferior	HAS
15	Masculino	63	Média inferior	-

*SE: sócio-econômica, de acordo com critérios de Graciano, 1999.

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

IV.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.

IV.4. Avaliação da composição corporal

Os pacientes foram questionados quanto ao peso habitual e à história de perda de peso no período de seis meses precedentes. As medidas antropométricas foram realizadas de acordo com técnicas padronizadas (Jelliffe, 1966) e incluiu aferição da estatura (m) e do peso corporal (kg), a partir das quais foi calculado o índice de massa corporal [$IMC = (\text{peso}/(\text{altura})^2)$]. Foi feita a medida da circunferência braquial (CB, cm) e da prega cutânea tricipital (PCT, mm) e o cálculo da circunferência muscular do braço [$CMB = CB - (\pi \cdot PCT)$, cm].

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.

IV.5. Força de preensão palmar

Todos os indivíduos foram submetidos ao teste de força de preensão palmar, utilizando o aparelho JAMAR hidráulico (Sammons Preston Smedley-Type Hand Dynamometer Rolyan, 4, Sammons Court, Bolingbrook, IL, 60440). Durante o teste, os indivíduos permaneceram sentados em uma cadeira sem braços, com os pés apoiados no chão

e com o quadril e os joelhos flexionados em aproximadamente 90 graus (Figura 4). O ombro do membro testado permaneceu aduzido e em rotação neutra, o cotovelo em flexão de 90 graus, o antebraço na posição neutra, o punho entre 0 e 30 graus de extensão e entre 0 a 15 graus de adução. A mão do membro não testado repousou sobre a coxa do mesmo lado. Os valores obtidos foram comparados com os de referência, conforme mostrado no Anexo A.

Figura 4 - Posicionamento do paciente para a realização da avaliação da força de preensão palmar.

IV.6. Questionário de intensidade da fadiga

Para avaliar a intensidade da fadiga, os pacientes completaram o questionário validado, versão traduzida para português *The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy-Fatigue* (FACIT-F), que é uma ferramenta específica para pessoas com câncer (Anexo B). A subescala de fadiga foi obtida do FACIT-F onde cada resposta é pontuada de acordo com a Escala de Likert, que varia de '0' (não em todos) a '4' (muito). A pontuação final foi calculada pela soma dos escores parciais, guardando a proporcionalidade ao número de itens respondidos. A subescala de fadiga varia de 0 a 52, sendo que pontuações mais altas representam menos fadiga.

IV.7. Critérios para classificação de caquexia

Para identificação da caquexia, foram utilizados os critérios modificados de Evans e colaboradores (2008). A caquexia foi definida nos pacientes que apresentassem pelo menos um dos critérios maiores: a) história de perda de peso de pelo menos 5% (na ausência de edema) no período menor ou igual a 12 meses; b) IMC < 20,0 kg/m² (nos casos em que a

perda de peso não pudesse ser documentada) devido à doença subjacente. Para os pacientes que preenchessem um dos critérios acima, deveriam ser acrescidos pelo menos três dos critérios adicionais:

1. Diminuição da força muscular, considerada quando o indivíduo apresentasse força de preensão palmar menor que o valor mínimo do intervalo de confiança 95% dos valores obtidos para homens e mulheres adultos, de acordo com a faixa etária (Bohannon et al., 2006);
2. Queixa de fadiga, identificada nos pacientes que responderam positivamente uma ou mais das questões do item “Preocupações adicionais” no questionário FACIT-F;
3. Anorexia, definida como limitação na ingestão de alimentos, caracterizada por ingestão energética total diária menor que 20 kcal/kg de peso corporal;
4. Redução na massa livre de gordura, caracterizada circunferência muscular do braço menor que percentil 10 para idade e gênero, cujos valores são mostrados no Anexo C (Frisancho, 1981);
5. Pelo menos um dos dados bioquímicos anormais:
 - a) Aumento da proteína C reativa > 0,5 mg/dL
 - b) Hemoglobina <12 g/dL
 - c) Albumina <3,2 g/dL

IV.8. Avaliação laboratorial

O sangue venoso foi obtido na veia antecubital com agulhas descartáveis e tubos à 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 (Vacuttainer k2 EDTA 7,2mg®, #367861, BD). Os tubos destinados às dosagens de vitaminas foram fotoprottegidos e aqueles destinados às 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 através do 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.

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 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):

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

As concentrações de zinco e cobre plasmáticos foram dosados 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 plasmáticas de vitamina A e E foram dosadas 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. As vitaminas A e E foram detectadas pelo método de Arnaud e colaboradores (1991), em comprimento de onda de 325e 292 nm, respectivamente.

IV.9. Ensaio do Multiplex para quantificação de citocinas

Foram dosadas as citocinas TNF- α , IL-6, INF- γ e IL-10 no aparelho Luminex 200™ (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).

IV.10. Extração de RNA do sangue total

O RNA foi extraído utilizando o kit PAXgene® Blood RNA (#50, v2, Qiagen) de acordo com as orientações do fabricante. Após este procedimento, as amostras foram armazenadas em congelador à -80°C. O RNA total foi quantificado em espectrofotômetro (*Thermo scientific NanoDrop™ 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 meio de eletroforese em gel de agarose 1%. As amostras de RNA total extraído foram armazenadas a -80°C até a sua utilização para síntese de cDNA.

IV.11. 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) Em alta temperatura, o *kit* permite a transcrição reversa em um formato otimizado para a geração de primeira cadeia de cDNA.

IV.12. qPCR em tempo real

As reações de *qPCR* foram realizadas por meio de detecção TaqMan (*Life Technologies*®) em aparelho ABI Prism 7500 Fast (*AppliedBiosystems*®) utilizando placas TaqMan® Array Fast Plates (*Life Technologies Inc.*, Carlsbad, CA, USA), 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 controle. A concentração de cDNA adequada foi a de 50 ng para 20 µl de volume final de reação.

Para a análise de expressão gênica, foram escolhidos 8 pares de sondas (*Life Technologies*®) cujos genes codificam proteínas relacionadas com a via inflamatória. Foram avaliados os genes da IL-6 (Hs00985639_m1), do TNF-α (Hs01113624_g1), do INF-γ (Hs00989291_m1), do IL-10 (Hs00961622_m1), do TNFR1 (Hs01042313_m1), do TNFR2 (Hs00961750_m1), das proteínas ZAG (Hs00426651_m1) e do PPAR-γ (Hs01115513_m1).

Todas as sondas foram adquiridas da *Life Technologies*[®] e foram desenhadas de acordo com dados da literatura e estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Sequência dos iniciadores utilizados nos ensaios de PCR em tempo real.

Primer	NCBI	Direção	Sequência
TNF- α	NM_000594.3	Sense	5'GAA AGCATGATCCGGGACGTGGA3'
TNF- α	NM_000594.3	Antisense	3'ACACTCCTCCTGCTTGTAGGTTG5'
IL-6	NM_000600.3	Sense	5'CCCCAGGAGAAGATTCCAAA3'
IL-6	NM_000600.3	Antisense	5'CCAGTGATGATTTTCACCAGG3'
INF- γ	NM_000619.2	Sense	5'AGCTCTGCATCGTTTTGGGTT3'
INF- γ	NM_000619.2	Antisense	5'GTTCCATTATCCGCTACATCTGAA3'
IL-10	NM_000572.2	Sense	5'GCCGTGGAGCAGGTGAAG3'
IL-10	NM_000572.2	Antisense	5'GAAGATGTCAAACCTCACTCATGGCT3'
TNFR1	NM_001065.3	Sense	5'-ACCAAGTGCCACAAAGGAAC-3'
TNFR1	NM_001065.3	Antisense	5'-CTGCAATTGAAGCACTGGAA-3'
TNFR2	NM_001066.2	Sense	5'-TTCGCTCTTCCAGTTGGACT-3'
TNFR2	NM_001066.2	Antisense	5'-CAC CAG GGG AAG AAT CTG AG-3'
PPAR- γ	NM_005037.5	Sense	5'GAGATCACAGAGTATGCCAA3'
PPAR- γ	NM_005037.5	Antisense	3'CTGTCATCTAATTCCAGTGC5'
ZAG	NC_000007.14	Sense	5'AGGGAAGGTTTGGTTGTG3'
ZAG	NC_000007.14	Antisense	3'GGCTGGGATTTCTTTGTT5'

Os dados de expressão gênica foram analisados em triplicata pelo método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak e Schmittgen, 2001), utilizando inicialmente o *Thermo Fisher Cloud software* (Thermo Fisher Scientific[®], Waltham, MA, EUA). A partir dos valores da média Ct do gene alvo, os valores da expressão gênica relativa foram calculados pelo método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak e Schmittgen, 2001).

IV.13. Análise estatística

Para o tratamento estatístico foi empregado o programa estatístico *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. O teste não paramétrico Mann-Whitney foi empregado na comparação entre os Grupos Câncer e Controle e os dados são apresentados como média e intervalo de confiança 95%. Quando os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática foram divididos em subgrupo Caquexia e Sem-

caquexia, os dados foram expressos individualmente e foi feita a análise descritiva e comparativa dos resultados obtidos, utilizando o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Na análise comparativa, foi considerada diferença estatística quando $p \leq 0,05$.

V. RESULTADOS

V.1. Comparação do Grupo Câncer com Grupo Controle

V.1.1. Avaliação da ingestão alimentar e da composição corporal

Os pacientes com câncer da confluência biliopancreática apresentaram maior ingestão de lipídeos e menor consumo de vitamina A em relação aos sujeitos do Grupo Controle (Tabela 5). Não houve diferença no consumo dos demais nutrientes entre os grupos de estudo.

No momento da avaliação, o excesso de peso foi observado em 8 pacientes do Grupo Câncer e em 6 pacientes do Grupo Controle. A perda ponderal foi observada em 15 dos 17 pacientes do Grupo Câncer, com média de redução ponderal de $13,1 \pm 11,0$ % em relação ao peso habitual. No Grupo Controle, 6 dentre os 15 voluntários apresentaram perda de peso discreta, atribuída à orientação médica visando facilidade no acesso cirúrgico ($1,7 \pm 3,4$ %). Os Grupos Câncer e Controle não apresentaram diferença nos dados de composição corporal obtidos na antropometria e na impedância bioelétrica (Tabela 6). A média da força de preensão palmar foi semelhante entre os grupos Câncer e Controle.

Tabela 5 – Média e intervalo de confiança 95% da ingestão nutricional diária de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e voluntários do Grupo Controle.

	Grupo Câncer (n=17)	Grupo Controle (n=15)	Valor de p	Recomendação
VET (kcal)	1827 (1489-2166)	1691 (1380-2003)	0,56	
VET (kcal/kg)	26,2 (20,6-31,8)	22,9 (19,1-26,6)	0,30	20-35
Proteínas (g)	91,6 (74-109)	101 (89-114)	0,30	
Carboidratos (g)	210 (168-252)	225 (170-280)	0,75	
Lipídios (g)	69,0 (53,5-84,5)	42,7 (33,4-52,1)	0,01	
Vitamina A (µg)	382 (152-612)	1346 (1032-1659)	< 0,001	M: 900 F: 700
Vitamina E (mg)	11,4 (7,5-15,3)	9,8 (3,0-16,5)	0,06	15
Vitamina B ₁₂ (µg)	6,3 (4,8-7,8)	6,4 (5,0-7,8)	0,69	2,4
Vitamina C (mg)	77,1 (44-110)	92,0 (24-159)	0,25	M: 90 F: 75
Folato (µg)	155 (132-178)	162 (122-202)	0,72	400
Ferro (mg)	15,9 (13,1-18,7)	15,8 (13,1-18,5)	0,97	M: 8 F: 18
Zinco (mg)	16,1 (12,8-19,4)	17,8 (14,3-21,2)	0,46	M: 11 F: 8
Cobre (mg)	1,4 (1,1-1,6)	1,3 (1,1-1,5)	0,89	0,9

IMC: Índice de massa corporal; VET: Valor energético total

Fontes: Recomendação de energia (ASPEN, 2002); macronutrientes (DRI 2002/2005); vitamina A (DRI, 2001); vitamina C, vitamina E, vitamina B₁₂ e folato (DRI, 2000); ferro, cobre e zinco (DRI, 1997).

Tabela 6 - Média e intervalo de confiança 95% da composição corporal e da força de preensão palmar de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e voluntários do Grupo Controle.

	Grupo Câncer (n=17)	Grupo Controle (n=15)	Valor de p	Valores de referência
Antropometria				
Peso (kg)	73,8 (65,1-82,6)	74,5 (66,3-82,7)	0,65	
IMC (kg/m ²)	25,8 (23,3-28,4)	26,1 (24,3-27,9)	0,51	Adultos: 18,5-25 Idosos: 22-27
PCT (mm)	16,7 (11,6-21,8)	15,7 (12,9-18,5)	0,88	M: 7,5-12,5 F: 10-16,5
CMB (cm)	25,5 (23,7-27,4)	25,9 (24,0-27,8)	0,86	M: 23-25,5 F: 21-23
Impedância bioelétrica				
Massa magra (kg)	51,6 (46,8-56,4)	53,7 (47,2-60,2)	0,42	-
Massa magra (%)	70,7 (67,0-74,5)	71,8 (69,2-74,5)	0,69	M: 80-85 F: 70-80
Massa gorda (kg)	22,2 (17,1-27,3)	20,8 (18,1-23,6)	0,94	-
Massa gorda (%)	29,3 (25,5-33,0)	28,2 (25,5-30,8)	0,69	M:15-20 F: 20-30
Força de preensão palmar				
Mão direita (kg)	27,4 (17,0-47,5)	32,7 (25,3-40,2)	0,37	M: 36,8-46,7 F: 22,2-29,6
Mão esquerda (kg)	25,8 (16,0-41,0)	31,4 (23,9-39,0)	0,29	M: 33,4-44 F: 18,6-27,3

IMC: índice de massa corporal; PCT: prega cutânea tricipital; CMB: circunferência muscular do braço

V.1.2. Avaliação laboratorial

O Grupo Câncer apresentou maiores valores de glicemia, AST, ALT, PCR, ferritina e cobre quando comparado ao Grupo Controle. Além disso, os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram menores valores de albumina, transferrina, zinco e vitamina A em relação ao Grupo Controle (Tabela 7). Os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram altos valores de bilirrubina total [8,9 (4,0-13,8) mg/dL] e bilirrubina direta [5,7 (2,5-8,9) mg/dL].

Tabela 7 - Média e intervalo de confiança 95% dos dados laboratoriais dos voluntários do Grupo Câncer e Grupo Controle.

	Grupo Câncer (n=17)	Grupo Controle (n=15)	Valor de p	Valores de referência
Glicemia (mg/dL)	155 (118-193)	98,6 (82-115)	0,003	70-100
Uréia (mg/dL)	33,5 (27,5-39,4)	33,2 (27,4-39,0)	0,92	10-50
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,8-1,0)	1,0 (0,9-1,1)	0,06	0,7-1,5
AST (U/L)	66,1 (42,0-90,2)	22,1 (18,5-25,6)	<0,001	M:<38 F:<32
ALT (U/L)	73,7 (43-104)	19,2 (15,5-22,9)	<0,001	M:<41 F:31
Hemoglobina (g/dL)	12,8 (12,0-13,5)	14,1 (12,7-15,4)	0,07	M:13,5-17,5 F:12-15,5
VCM (fL)	90,9 (88,5-93,3)	90,0 (84,4-95,5)	0,78	M:81-95 F:82-98
Leucócitos (10 ³ /μL)	7,6 (6,0-9,2)	6,7 (5,9-7,4)	0,58	3,5-10,5
Linfócitos totais (10 ³ /uL)	1,8 (1,3-2,4)	2,2 (1,8-2,5)	0,11	0,9-2,9
Proteínas totais (g/dL)	6,7 (6,4-7,1)	7,0 (6,8-7,2)	0,23	6,0-8,5
Albumina (g/dL)	3,8 (3,5-4,0)	4,4 (4,3-4,5)	<0,001	3,5-4,8
Transferrina (mg/dL)	166 (140-192)	241 (212-270)	0,001	170-340
Ferritina (ng/dL)	985 (347-1623)	170 (85-255)	0,003	M:28-397 F:6-159

Continuação da Tabela 7

PCR (mg/dL)	2,7 (0,9-4,5)	0,2 (0,2-0,3)	<0,001	<0,5
Ferro (µg/dL)	80,8 (67,7-93,9)	107 (82-131)	0,03	65-175
Zinco (µg%)	79,9 (66,0-93,7)	97,4 (88-107)	0,001	50-120
Cobre (µg%)	149 (122-177)	107 (92-121)	0,03	70-140
Ácido fólico (ng/dL)	9,3 (7,7-11,0)	9,7 (7,8-11,7)	0,44	3-17
Vitamina B₁₂ (pg/mL)	682 (528-835)	366 (263-468)	0,34	271-813
Vitamina A (µmol/L)	0,7 (0,6-0,8)	1,3 (1,0-1,5)	<0,001	1,05-2,8
Vitamina E (µmol/L)	31,3 (22,9-39,7)	28,2 (21,5-34,9)	0,72	23-27

PCR: Proteína C Reativa; AST: Aspartatoaminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase; VCM: Volume corpuscular médio; M: Masculino; F: Feminino

V.1.3. Avaliação das citocinas inflamatórias séricas

Os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram maiores concentrações séricas de IL-6, TNF- α e IL-10 em relação ao Grupo Controle. Nós não encontramos diferença nos valores séricos de INF- γ entre os dois grupos avaliados. (Tabela 8).

Tabela 8 - Média e intervalo de confiança 95% das dosagens de citocinas inflamatórias séricas em pré-operatório dos voluntários do Grupo Câncer e do Grupo Controle.

	Grupo Câncer (n=17)	Grupo Controle (n=15)	Valor de p
IL-6 (pg/mL)	7,2 (4,2-10,1)	2,0 (1,4-2,5)	<0,001
TNF-α (pg/mL)	24,6 (18,7-30,5)	15,2 (11,3-19,1)	0,02
INF-γ (pg/mL)	1,7 (1,2-2,1)	2,8 (0,8-4,8)	0,16
IL-10 (pg/mL)	13,3 (8,5-18,2)	4,4 (2,8-6,1)	<0,001

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL-6: interleucina 6; INF- γ : interferon -gama; IL-10: interleucina 10

V.1.4. Expressão gênica

Houve maior expressão gênica do IL-10, do INF- γ , do TNFR1 e do PPAR- γ nos indivíduos do Grupo Câncer quando comparado com o Grupo Controle. Não houve diferença estatística na expressão gênica do IL-6, do TNF- α , do TNFR2 e de ZAG entre os grupos Câncer e Controle (Figura 5).

IL-6 (p=0,36)

TNF- α (p=0,80)

INF- γ (p=0,008)

TNFR1 (p=0,003)

TNFR2 (p=0,86)

ZAG (p=0,77)

Continuação Figura 5

Figura 5: Média e intervalo de confiança 95% da expressão gênica de IL-6, de TNF- α , de INF- γ , de TNFR1, de TNFR2, de ZAG, de IL-10 e de PPAR- γ de pacientes do Grupo Câncer e de voluntários do Grupo Controle.

V.2. Análise descritiva e comparativa do Subgrupo Caquexia e Subgrupo Sem-caquexia

A partir dos critérios pré-estabelecidos, a caquexia foi diagnosticada em oito dentre os 17 pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática. A Tabela 9 mostra a idade, o estadiamento, os critérios positivos essenciais para o diagnóstico de caquexia ($IMC < 20 \text{ kgm}^2$) ou perda de peso maior que 5% em relação ao peso habitual nos últimos 6 meses), além dos critérios adicionais quando estes estivessem presentes. Conforme observado, não houve correlação entre o estadiamento tumoral e a idade com a presença de caquexia.

Tabela 9 - Idade, estadiamento tumoral e valores dos critérios usados para classificação dos pacientes no Subgrupo Caquexia.

Caso	Idade	Estadiamento	Critérios para caquexia*	
			Critérios essenciais	Critérios adicionais
1	55	IIA-B	IMC: 26,4 kg/m ² ou Perda de peso: 6%	1. Força de preensão palmar = 24 kg (VR: 26,4-33,6) 2. Ingestão energética = 18,5 kcal/kg 3. Queixa de fadiga no FACIT-F 4. Hemoglobina= 10,9 g/dL; PCR= 3,3 mg/dL
3	54	IIA-B	IMC: 21,8 kg/m ² ou Perda de peso: 26,6%	1. Força de preensão palmar = 33,5 kg (VR: 44,2-56,9) 2. Ingestão energética = 19,2 kcal/kg 3. Queixa de fadiga no FACIT-F
4	72	IIA-B	IMC: 20,9 kg/m ² ou Perda de peso: 21,5%	1. Força de preensão palmar = 23,0 kg (VR: 32,0-44,5) 2. Queixa de fadiga no FACIT-F 3. PCR= 0,99 mg/dL
5	52	IIA-B	IMC: 26,2 kg/m ² ou Perda de peso: 36,9%	1. Força de preensão palmar = 35 kg (VR: 44,2-56,9) 2. Ingestão energética = 18,1 kcal/kg 3. Queixa de fadiga no FACIT-F 4. Albumina= 3,1 g/dL; PCR= 6,1 mg/dL
8	68	IIA-B	IMC: 28,1 kg/m ² ou Perda de peso: 17,2%	1. Força de preensão palmar = 22 kg (VR: 35,4-47,9) 2. Queixa de fadiga no FACIT-F 3. PCR= 4,2 mg/dL
13	71	IIA-B	IMC: 20,2 kg/m ² ou Perda de peso: 19,7%	1. Força de preensão palmar = 20,3 kg (VR: 32,0-44,5) 2. Queixa de fadiga no FACIT-F 3. Hemoglobina= 11,4 g/dL; Albumina= 2,9 g/dL; PCR= 1,3 mg/dL

Continuação da Tabela 9

15	51	IV	IMC: 40,6 kg/m ² ou Perda de peso: 12,2%	<ol style="list-style-type: none"> 1. Força de preensão palmar = 36,0 kg (VR: 44,2-56,9) 2. Ingestão energética = 5,65 kcal/kg 3. Queixa de fadiga no FACIT-F 4. PCR= 3,3 mg/dL
16	72	IA-B	IMC: 23,8 kg/m ² ou Perda de peso: 13,2%	<ol style="list-style-type: none"> 1. Força de preensão palmar = 27,0 kg (VR: 32,0-44,5) 2. Ingestão energética = 18,4 kcal/kg 3. Queixa de fadiga no FACIT-F

* de acordo com Evans e colaboradores, 2008

VR: valor de referência; PCR: Proteína C-reativa.

Tabela 10 - Idade, estadiamento tumoral e valores dos critérios usados para classificação dos pacientes no Subgrupo Sem-caquexia.

Caso	Idade	Estadiamento	Critérios para caquexia*	
			Critérios essenciais	Critérios adicionais
2	55	IIA-B	IMC: 27,1 ou Perda de peso: 1,1%	-
6	58	IIA-B	IMC: 29,9 kg/m ² ou Perda de peso: 9,2%	1. Força de preensão palmar = 17,0 kg (VR: 26,4-33,6) 2. Hemoglobina= 11,9 g/dL
7	64	IIA-B	IMC: 21,3 kg/m ² ou Ganho de peso de 6,8%	-
9	78	IA-B	IMC: 21,1 kg/m ² ou Perda de peso: 9,8%	1. Massa livre de gordura: CMB= 22,36 cm
10	57	IA-B	IMC: 24,2 kg/m ² ou Perda de peso: 10,7%	1. PCR= 2,5 mg/dL; IL6= 11,5 pg/mL
11	63	IV	IMC: 23,2 kg/m ² ou Perda de peso: 5,9%	1. PCR= 3,3 mg/dL; IL6= 5,8 pg/mL
12	68	IV	IMC: 25,6 kg/m ² ou Perda de peso: 27,7%	1. Força de preensão palmar = 20,0 kg (VR: 22,5-28,8) 2. PCR= 14,7 mg/dL
14	69	IA-B	IMC: 30,9 kg/m ² ou Perda de peso: 0%	-
17	71	III	IMC: 27,8 kg/m ² ou Perda de peso: 11,8%	1. Força de preensão palmar = 24,0 kg (VR: 32,0-44,5) 2. Hemoglobina= 11,1 g/dL; PCR= 3,0 mg/dL; IL6= 9,0 pg/mL

* de acordo com Evans e colaboradores, 2008; VR: valor de referência; PCR: Proteína C-reativa; CMB: circunferência muscular do braço

Conforme mostrado na Figura 6, a ingestão energética e proteica foram mais baixas nos indivíduos com caquexia, tendo maior destaque em um indivíduo, que apesar de obeso, ingeriu quantidades restritas de energia (735 kcal) e de proteína (21,9 g). Houve diferença estatística na pontuação do questionário de fadiga entre os indivíduos com ou sem caquexia (Figura 7).

Figura 6: Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da ingestão energética e proteica de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Figura 7: Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da pontuação do questionário de fadiga de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Os valores individuais da variação ponderal são apresentados na Figura 8. Exceto dois sujeitos do Subgrupo Sem-caquexia, houve perda de peso nos demais pacientes com

neoplasia da confluência biliopancreática. Nos pacientes do Subgrupo Caquexia, a média de perda de peso foi mais acentuada.

Os dados individuais das variáveis antropométricas são apresentados na Figura 9. Para o peso e o IMC, observa-se que um indivíduo apresentou valores muito acima da mediana. A análise desse caso mostrou que se tratava de um paciente com obesidade prévia (IMC = 46,2 kg/m²) que havia perdido 18 kg nos meses precedentes, de forma que no momento da avaliação ele ainda continuava obeso (IMC = 40,6 kg/m²) e com valores aumentados de massa magra e de massa gorda. Fica evidente que este paciente preenchia os demais critérios de inclusão para caquexia, embora não apresentasse baixo peso. Os demais sujeitos da pesquisa apresentaram pequena variação dos valores antropométricos em relação à mediana, sem diferença aparente entre os subgrupos. Os valores numéricos individuais são apresentados na Tabela 11 do Apêndice C.

Figura 8 - Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da perda de peso de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Figura 9: Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% do peso, do índice de massa corporal, da massa magra e da massa gorda de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Os dados da Figura 10 mostram que a albumina foi mais reduzida nos pacientes caquéticos em relação aos demais grupos, especialmente em dois pacientes com redução expressiva na concentração sérica de albumina (2,9 e 3,1 g/dL). Esse comportamento foi observado também na transferrina, onde dois pacientes apresentaram valores bastante reduzidos (78,6 e 99,4 mg/dL). Observamos que os pacientes que apresentaram hipoalbuminemia marcante não tinham redução importante nos valores de transferrina, como seria de se esperar. A ferritina estava aumentada nos pacientes com caquexia, destacando-se os valores de dois pacientes (3225 e 2870 ng/dL). Os valores de PCR não foram diferentes entre os indivíduos com ou sem caquexia, mas uma paciente Sem-caquexia apresentou aumento expressivo (14,7 mg/dL) desse marcador do estado inflamatório. Os valores individuais do ferro sérico não foram diferentes entre os Subgrupos com e Sem-caquexia (Figura 11). Embora sem diferença aparente entre os subgrupos com ou sem caquexia, observamos que os níveis séricos de cobre foram aumentados em oito pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática. Por outro lado, a concentração sérica de zinco foi reduzida nos pacientes com caquexia. Em relação às vitaminas séricas, os pacientes classificados como tendo caquexia apresentaram valores mais baixos de vitamina A, enquanto que a concentração de vitamina B₁₂ e de vitamina E foram maiores nestes casos. Dentre os pacientes avaliados, a deficiência concomitante de vitamina A e vitamina E ocorreu em apenas uma paciente do Subgrupo Sem-caquexia (0,34 e 3,55 umol/L, respectivamente).

Figura 10 - Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% de albumina, transferrina, ferritina e proteína C-reativa (PCR) de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Figura 11 - Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% de ferro, zinco, cobre, vitamina B₁₂, Vitamina A e Vitamina E de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Os valores individuais de TNF- α foram maiores nos indivíduos caquéticos (Figura 12). Assim como o ocorrido com TNF- α , a Figura 13 mostra maiores valores de IL-6 nos indivíduos com caquexia, destacando-se um paciente (24,0 pg/mL), que também apresentou elevados valores de ferritina (2870 ng/dL).

Figura 12- Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de TNF- α no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Figura 13- Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de IL-6 no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Os valores INF- γ não diferiram entre os Subgrupos Com e Sem caquexia (figura 14). Um voluntário do Grupo Controle apresentou aumento na concentração sérica de INF- γ , que não pode ser atribuída com qualquer evento ou alteração observada.

Figura 14- Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de INF- γ no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

A IL-10 foi mais elevada nos indivíduos com caquexia. Um paciente do Subgrupo Sem caquexia apresentou valor de IL-10 aumentado (27,4 pg/mL) concomitante a elevada concentração sérica de IL-6 (11,5 pg/mL) (Figura 15).

Figura 15- Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% da concentração de IL-10 no soro de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática de acordo com a presença ou não de caquexia.

Na comparação entre os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática classificados como caquéticos e não caquéticos, apenas o INF- γ mostrou diferença estatística entre os subgrupos (Figura 16).

Continuação Figura 16

Figura 16: Média e intervalo de confiança 95% da expressão gênica de IL-6, de TNF- α , de INF- γ , de TNFR1, de TNFR2, de ZAG, de IL-10 e de PPAR- γ de pacientes do Grupo Câncer com e sem caquexia.

VI. DISCUSSÃO

No presente estudo, 8 entre os 17 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática foram classificados como caquéticos. Em estudo recente conduzido com 20 indivíduos com adenocarcinoma pancreático inoperável, Bye e colaboradores (2016) avaliaram a ingestão energética e as concentrações de biomarcadores inflamatórios em pacientes com ou sem caquexia utilizando dois sistemas de classificação, ou seja, Classificação de Caquexia baseada no Consenso de 2011 (Fearon et al., 2011) e o “Escore Prognóstico de Glasgow modificado (EPG)” (Douglas; McMillan, 2014). O número de pacientes com caquexia variou de acordo com o critério utilizado, sendo 11 no Sistema de Classificação baseada no Consenso e 7 indivíduos no EPG (Bye et al., 2016). A prevalência do diagnóstico de caquexia neoplásica varia de acordo com o critério de definição utilizado, com extremos de 12% (Fearon et al., 2006) a 85% (Fearon et al., 2011). A caquexia foi observada em mais de 50% dos pacientes durante o tratamento oncológico, especialmente em tumores do trato digestivo superior, incluindo a neoplasia pancreática (Tuca et al., 2013).

Acreditamos que a classificação de caquexia de acordo com os critérios de Evans e colaboradores (2008) reduz a subestimativa na síndrome por abranger vários itens. No presente estudo, não foi possível a classificação da intensidade da caquexia (pré-caquexia, caquexia e caquexia refratária) conforme proposto por Fearon e colaboradores (2011) já que nossa casuística não incluiu pacientes que foram submetidos a quimioterapia e/ou radioterapia.

Similar aos nossos achados, não foi encontrada diferença na ingestão energética de pacientes com câncer de pulmão, ovário e mama (Ovesen et al., 1991; Verde, 2007) e câncer cervical uterino (Lisboa, 2006) em relação aos controles saudáveis. Quando há fator mecânico dificultando a ingestão alimentar, os estudos mostram menor ingestão energética, como em pacientes com câncer de cabeça e pescoço (Nourissat et al., 2011; Kubrak et al., 2013). Muniz e colaboradores (2012) encontraram maior ingestão energética em paciente no pós-operatório tardio de neoplasia pancreática, atribuída à hiperfagia pela má-absorção intestinal decorrente da redução de enzimas pancreáticas. No presente estudo, a média de ingestão energética no Subgrupo Caquexia (1447 kcal) foi baixa e insuficiente para manter o peso corporal, como tem sido documentado em outros estudos (Thoresen et al., 2002). Diferente dos nossos resultados, Bye e colaboradores (2016) não documentaram diferença na ingestão energética dos pacientes caquéticos e não caquéticos independente do critério utilizado para a classificação.

Nós documentamos maior ingestão de lipídios em relação ao valor energético total nos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática do que os sujeitos controles. O presente estudo não teve como objetivo avaliar os fatores de risco associados ao desenvolvimento da neoplasia da confluência biliopancreática. Entretanto, o maior consumo de lipídios sugere que os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentam um padrão alimentar habitual peculiar. Foi encontrada associação positiva entre ingestão de gordura total e o risco de câncer de mama em estudo de meta-análise (Boyd et al., 2003) e em coorte (Thiebaut et al., 2007). Entretanto, em um grande estudo de coorte (n=49261), os autores não mostraram associação entre o risco de câncer de mama com a ingestão de gorduras totais, ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e saturados (Lof et al., 2007). Em um estudo europeu, não houve associação do risco de carcinoma hepatocelular com a ingestão de gordura poliinsaturada e saturada, embora a gordura total e a monoinsaturada tenham apresentado associação inversa com o risco desta neoplasia (Duarte-Salles et al., 2015). Especificamente em relação às neoplasias pancreáticas, tem sido sugerido que esse tipo de câncer está associado com alto consumo de lipídios (Howe; Burch, 1996). No presente estudo, não podemos afirmar que o maior consumo de lipídios possa estar envolvido na etiologia da neoplasia, por tratar-se de estudo caso-controle que avalia a ingestão alimentar habitual referente ao mês precedente à cirurgia. Não podemos atribuir as diferenças no consumo de macronutrientes às possíveis orientações dietéticas devido ao Diabetes melito tipo 2, considerando que a ocorrência dessa comorbidade foi semelhante em ambos os grupos.

O método utilizado para avaliar a ingestão alimentar habitual baseou-se na análise de apenas um inquérito, devido à impossibilidade de uma aplicação seriada, justificada pelo curto período entre a avaliação inicial e o procedimento cirúrgico. Esta pode ser uma limitação do estudo, considerando que aplicado de forma seriada, o método de avaliação da ingestão alimentar poderia fornecer melhor estimativa da dieta habitual. A aplicação de um único questionário alimentar pode não estimar a dieta habitual, devido à elevada variabilidade diária (Fisberg; Marchioni; Colucci, 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 (Fisberg; Marchioni; Colucci, 2009). Pode haver sub-registro além da dificuldade em recordar e quantificar a ingestão alimentar habitual (Margetts; Nelson, 1997).

No presente estudo, houve perda de peso na maioria dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática, com média de redução ponderal de 13% em relação ao habitual.

Perda de peso maior que 5% em um mês ou maior ou igual a 10% durante seis meses tem sido considerada um fator de risco nutricional (Meguid et al., 1990). O câncer pode ter efeito deletério no estado nutricional em função do tipo de neoplasia (Marian; Roberts, 2010). Em 576 pacientes hospitalizados com diferentes tipos de câncer, a perda de peso foi documentada em 60% dos casos (Cunha et al., 2015). Menores frequências de perda de peso foram documentadas nos linfomas, leucemias, neoplasia mamária e sarcoma de partes moles, enquanto que cerca de 50% dos pacientes com linfomas mais agressivos e neoplasia de cólon, próstata e pulmão apresentam perda de peso mais evidente (Huhmann; August, 2008).

Nós documentamos maior perda ponderal nos indivíduos com caquexia, sem diferença na força de preensão palmar entre os indivíduos com ou sem caquexia. A classificação de caquexia utilizada em nossa pesquisa baseou-se na presença de pelo menos 4 critérios modificados de Evans e colaboradores (2008), o que explica o fato que um paciente do Subgrupo Sem-caquexia apresentou grande perda ponderal mas não preencheu os demais critérios pré-estabelecidos. Chama a atenção o fato de que um paciente ganhou peso, o que pode ser atribuído a maior ingestão alimentar após o diagnóstico, por provável orientação da equipe médica. A perda ponderal foi observada apenas nos pacientes caquéticos que foram agrupados de acordo com o Sistema de Classificação baseada no Consenso, mas não quando se utilizou o EPG (Bye et al., 2016). Um estudo recente demonstrou que a perda de peso corporal em pacientes com tumor avançado de pulmão se correlacionou com redução na força de preensão palmar (Takayama et al., 2016).

Em pacientes cirúrgicos com doenças malignas e benignas do trato gastrointestinal, Windsor e colaboradores (1988) documentaram perda de peso maior que 10% em 59 dentre os 102 casos avaliados. As maiores incidências e gravidades da perda de peso foram documentadas no câncer pancreático e gástrico, em que aproximadamente 85% dos pacientes vivenciam caquexia (Huhmann; August, 2008). Apesar da perda de peso, nossos pacientes apresentaram composição corporal dentro da faixa normal, o que é compatível com a história anterior de obesidade, que tem sido apontada como um fator de risco para o desenvolvimento de câncer de pâncreas (Majumder et al., 2016). O estado inflamatório crônico devido à obesidade pode estar relacionado ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (como a IL-6) e adipocinas (como adiponectina e leptina), hiperinsulinemia, resistência à insulina e altas concentrações de fatores de crescimento similares à insulina (Bao et al., 2013; Gukovsky et al., 2013). Recentemente, foi estabelecido que a inflamação pode ser tanto um

fator de risco como também a consequência do câncer de pâncreas (American Cancer Society, 2013).

A composição corporal dentro da faixa de normalidade observada nos pacientes do presente estudo também pode ser atribuída à fase da evolução da doença neoplásica. No início da doença e no pós-operatório tardio, é possível que não haja grandes modificações na composição corporal de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática. Em estudo conduzido em nosso serviço, os pacientes em pós-operatório tardio de duodenopancreatectomia por neoplasia pancreática apresentaram perda de peso inicial, com recuperação de 91% do peso perdido (Muniz et al., 2012).

Em nosso estudo, a perda de peso não pode ser explicada pela baixa ingestão alimentar, considerando que a ingestão energética foi semelhante entre os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática quando comparados aos sujeitos controles. As razões mais comuns para a perda de peso são tipicamente a redução na ingestão de nutrientes, o aumento das necessidades induzido pelo tumor e o aproveitamento ineficiente dos nutrientes (Barber et al., 2000). A perda de peso tem sido atribuída às mudanças no apetite, mesmo antes do diagnóstico de câncer (Khalid et al., 2007). Em pacientes recém diagnosticados com neoplasia de pulmão ou gastrointestinal, a perda de peso foi associada com diminuição do apetite e não se correlacionou com o estadiamento tumoral (Nelms et al., 2007).

Nós não observamos redução da massa corporal magra ou gorda nos pacientes com neoplasia em relação aos controles. Homens e mulheres com sobrepeso e obesidade apresentam um aumento de massa corporal magra, documentado no raio-x de dupla energia (DXA) e na impedância bioelétrica (BIA) (Völgyi et al, 2008). Considerando que havia em nossa casuística sujeitos que apresentavam sobrepeso e obesidade prévios, é possível que tenha havido perda de pequena quantidade de massa muscular e adiposa, que não resultou em diferença na composição corporal com os sujeitos controles. É descrito que a perda do músculo esquelético deve-se à redução da síntese proteica e aumento da degradação de proteínas musculares. A redução da síntese proteica pode ser atribuída à inatividade, juntamente com a redução da oferta ou balanço de aminoácidos devido à produção de proteína de fase aguda. O aumento da degradação proteica parece ser devido a um aumento da expressão da via metabólica proteolítica ubiquitina-proteasoma no músculo esquelético (Argilés, 2005). Na nossa casuística, os escores de intensidade da fadiga foram mais baixos nos pacientes com neoplasia classificados com Caquexia.

Em adultos normais, a gordura constitui 90% das reservas energéticas, armazenada na forma de triacilglicerol. A redução da massa corporal gorda no paciente com caquexia parece ser decorrente do aumento da lipólise ao invés da redução da lipogênese (Barber; Ross; Fearon, 1999; Tisdale, 2002). A concentração plasmática de glicerol, que indica lipólise no tecido adiposo periférico, está aumentada no percurso da doença, e relata-se aumento do *turnover* de ácidos graxos e glicerol em pacientes com caquexia neoplásica, em relação aos que não desenvolvem a síndrome (Shaw; Wolfe, 1987). A lipólise é induzida por substâncias produzidas pelo tumor, pelo fator mobilizador de lipídeos (*lipid-mobilizing factor*, LMF), que age por meio de adrenoreceptor $\beta 3$ (Tisdale, 2002). A perda de massa gorda pode atingir 85% em pacientes que perderam 30% do peso inicial (Fearon, 1992). Os ácidos graxos liberados, especialmente os poliinsaturados, podem promover o crescimento tumoral pela inativação da proteína ativadora da GTPase e a apoptose de adipócitos (Bing e Trayhurn, 2009).

Nossos pacientes apresentavam hiperglicemia, que é uma manifestação comum em pacientes sob estresse inflamatório, cujos mecanismos incluem a resistência à insulina relacionada às citocinas, ação dos hormônios circulantes contra-regulatórios, ativação da glicogenólise hepática e da gliconeogênese (Gheorghită et al., 2015). A intolerância à glicose é sintoma frequente, estando presente em 37% de todos os pacientes de câncer (Argilés; Alvarez; López-Soriano, 1997).

Os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram níveis mais baixos de albumina, transferrina e níveis mais altos de proteína C-reativa, semelhante à que ocorre na resposta inflamatória de pacientes com neoplasia colorretal (Daniele et al., 2017) e câncer de esôfago (Jagadesham et al., 2017). Em 20% dos pacientes com neoplasia pancreática houve redução moderada na concentração de transferrina e em 10% destes a redução foi mais acentuada (Butters et al., 1996). A hipoalbuminemia (Baumann, Gauldie, 1994) e o aumento da proteína C reativa (Durham et al., 2009; Maccio et al., 2015) refletem o desvio da síntese da proteína hepática, como ocorre na resposta da fase aguda no trauma, na inflamação e na infecção grave. Semelhante a estas condições patológicas, a resposta de fase aguda desencadeada pela presença do tumor também gera aumento da proteína C reativa (Durham; Dillon; Sheffield-Moore, 2009).

Quando os indivíduos foram subdivididos de acordo com a presença ou ausência de caquexia, não observamos diferença nos níveis séricos de albumina e proteína C-reativa, o que está de acordo com os resultados de Bye e colegas (2016) quando eles usaram o consenso Sistema de classificação (Fearon et al., 2011). No entanto, quando os mesmos autores usaram a

Classificação Prognóstica de Glasgow modificada, eles documentaram níveis mais baixos de albumina e mais altos em proteína C reativa no soro (Bye et al., 2016). A divergência entre o sistema de duas classificações pode estar relacionada aos critérios utilizados e ao fato de esses marcadores serem alterados no câncer, independentemente da presença ou ausência de caquexia.

Embora a inflamação sistêmica seja considerada um denominador comum de inúmeras manifestações clínicas e metabólicas da caquexia (Seelaender et al., 2012), nós não observamos diferenças na concentração de albumina e de proteína C reativa que fazem parte do Escore Prognóstico de Glasgow, para avaliar o grau de inflamação em pacientes com câncer (Mcmillan, 2009). Semelhante aos nossos achados que mostraram menores concentrações séricas de ferro nos pacientes com neoplasia, em vários tipos de câncer em estágio avançado há redução de ferro sérico em decorrência do sequestro deste mineral, concomitante ao aumento na concentração plasmática de marcadores da inflamação como a ferritina (Maccio et al., 2015). A redução na concentração de zinco foi também documentada em pacientes com câncer cervical uterino (Cunzhi et al., 2003) e câncer de intestino (Federico et al., 2001). Nossos resultados não podem ser atribuídos à baixa ingestão alimentar, considerando que o consumo de zinco foi semelhante entre os grupos e dentro de faixa de recomendação. Os pacientes com câncer do presente estudo apresentaram maiores concentrações plasmáticas de cobre em relação aos controles, semelhante ao documentado em pacientes com neoplasia colorretal (Ribeiro et al., 2016). Aproximadamente 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).

Os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática do nosso estudo apresentaram concentrações séricas de vitamina A abaixo da faixa de normalidade e menores que o Grupo Controle. Embora a hipovitaminose A tenha sido documentada em neoplasias de várias localizações no trato gastrointestinal (esôfago, estômago, fígado e cólon), valores diminuídos de vitamina A não foram encontrados em 10 pacientes com neoplasia pancreática (Mózsik et al., 2005). Sob condições normais, o retinol armazenado no fígado se liga 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 da

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). Nós também não podemos afastar a hipótese de que a menor ingestão de vitamina A tenha refletido nas concentrações séricas dessa vitamina nos pacientes com neoplasia.

Em relação aos sujeitos do Grupo Controle, os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram maiores concentrações séricas de IL-6, da IL-10 e TNF- α . Vários estudos avaliaram a concentração de citocinas no plasma (Batista Jr et al., 2013; Amor et al., 2016; Bye et al., 2016), em tecido tumoral (Matos-Neto et al., 2015) e adiposo (Matos-Neto et al., 2015; Batista Jr et al., 2013) de pacientes com diferentes tipos de neoplasias.

A IL-6 é o principal indutor da produção de proteínas de fase aguda em hepatócitos humanos (Strassmann et al., 1993a, b). Em pacientes com câncer, os marcadores da resposta de fase aguda podem ser usados como indicadores indiretos da atividade de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 β e TNF- α) (Deans et al., 2006). No câncer de pâncreas, as concentrações séricas altas de IL-6 têm sido associadas com pior prognóstico, maior tamanho do tumor e a intensidade de perda de peso (Ebrahimi et al., 2004). 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 da confluência biliopancreática. 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., 2013) e associado com a incapacidade funcional da vida diária (Costanzo et al., 2005).

Em nossa pesquisa, as análises da expressão do RNAm de IL-6 dosadas no sangue periférico dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática não mostraram diferença em relação aos indivíduos do Grupo Controle. Semelhante aos nossos achados, 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. Em estudos *in vitro*, a expressão de RNAm de IL-6 nas células mononucleares de sangue periférico diferiu de acordo com o acréscimo de duas diferentes linhagens de células tumorais pancreáticas (células Panc-1 e T3M4) (Martignoni et al., 2005). Em pacientes com câncer de pâncreas, a IL-6 produzida pelo tecido tumoral sensibilizou as células mononucleares do sangue periférico e assim induziram a superexpressão de IL-6 nessas

células (Martignoni et al., 2005). Houve aumento de 14 vezes no nível de expressão de RNAm de IL-6 apenas quando as células mononucleares de sangue periférico foram ativadas pela linhagem T3M4 (Martignoni et al., 2005), enquanto que a cultura com células Panc-1 resultou em um aumento discreto e não significativo na expressão gênica do IL-6.

Embora seja claro que a IL-6 plasmática está aumentada na caquexia neoplásica em humanos (Kemik et al., 2012; Rydén et al., 2008) e roedores (Bonetto et al., 2011), a fonte dessa citocina não foi estabelecida. As altas concentrações séricas de IL-6 sugerem que o tumor primário é uma fonte importante de citocinas pró-caquéticas, em pacientes com neoplasia gastrointestinal (Batista Jr et al., 2013). Neste contexto, é possível que a linhagem das células tumorais pancreáticas possam influenciar na expressão gênica da IL-6, justificando parcialmente nossos resultados. Neste contexto, Deans e colaboradores (2006) mostraram que houve maior expressão gênica de IL-6 em tecido tumoral de neoplasia gastroesofágica em relação ao tecido obtido de controles sem tumor. Contrariamente a esse raciocínio, houve maior expressão gênica do IL-6 em tecido adiposo peritumoral de tumor colorretal após estímulo com lipopolissacáride (LPS) (Amor et al., 2016). Entretanto, resultados semelhantes foram observados em pessoas obesas sem neoplasia (Amor et al., 2016), de forma que o aumento da expressão dessas citocinas foi atribuído à maior infiltração de macrófagos no tecido adiposo visceral em resposta à obesidade (Fontana et al., 2007). Além disso, a LPS aumenta ainda mais a secreção dos fatores solúveis dos adipócitos em resposta ao estímulo inflamatório (Nakarai et al., 2012).

A concentração plasmática de IL-6 foi 11,4 vezes mais alta em pacientes com vários tipos de neoplasias gastrointestinais que apresentavam caquexia quando comparados com aqueles controles com peso estável (Batista Jr et al., 2013). Quando pacientes com neoplasia pancreática foram subdivididos em caquéticos e não caquéticos de acordo com o Escore Prognóstico de Glasgow, os pacientes com caquexia apresentaram maiores concentrações de IL-6 (Bye et al., 2016). Pacientes caquéticos com neoplasia gastrointestinal apresentaram maiores concentrações séricas de IL-6 em relação aos pacientes com peso estável, mas não apresentaram diferenças na expressão gênica da IL-6 tanto em amostras de tecido subcutâneo quanto tumoral (Matos-Neto et al., 2015). Martignoni e colaboradores (2005) encontraram baixa expressão de RNAm de IL-6 em células mononucleares de sangue periférico de pacientes com caquexia quando essas células eram cultivadas sozinhas *in vitro* e aumentavam de forma significativa quando eram cultivadas com linhagem celular T3M4 de câncer de pâncreas. Além disso, foi encontrada uma relação positiva entre a expressão de RNAm de IL-6

no tecido adiposo subcutâneo e as concentrações plasmáticas desta citocina, o que indica que os depósitos subcutâneos podem ser uma importante fonte de IL-6 na caquexia neoplásica (Batista Jr et al., 2013).

Em nosso estudo, os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram maiores concentrações séricas de TNF- α em relação ao Grupo Controle. Estudos em pacientes com tumores sólidos e doenças malignas hematológicas encontraram associação entre altas concentrações plasmáticas de TNF- α e o estado clínico mais comprometido (Ferrajoli et al., 2002; Michalaki et al., 2004). As concentrações séricas de TNF- α foram mais elevadas em pacientes com câncer de pâncreas quando comparado com sujeitos com pancreatite crônica e controles saudáveis (Robinson Jr. et al., 2008). Pacientes com câncer apresentam elevadas concentrações séricas de TNF- α , correlacionando-se com o maior comprometimento do estado nutricional (Nakashima et al., 1998). Apenas os pacientes caquéticos com vários tipos de cânceres e também indivíduos com caquexia por outras etiologias apresentaram aumento de 6,5 vezes da concentração plasmática de TNF- α em relação aos sujeitos sem caquexia (Batista Jr. et al., 2013). Em uma pesquisa feita com 41 pacientes com adenocarcinoma pancreático e 50 voluntários saudáveis, os autores encontraram uma maior concentração plasmática de TNF- α nos pacientes em relação aos controles (Talar-Wojnarowska et al., 2008). Em estudo conduzido com pacientes em estágio avançado de câncer pancreático, documentou-se maiores concentrações séricas de TNF- α e redução proporcional do IMC e da albumina sérica, indicando que esta citocina está diretamente relacionada com os marcadores do estado nutricional (Karayiannakis et al., 2001).

Em nossa pesquisa, nós não encontramos diferença na expressão gênica de TNF- α entre os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e os indivíduos do Grupo Controle ou entre os pacientes classificados com e Sem-caquexia. Comparados com tecidos obtidos de indivíduos normais, houve maior expressão do RNAm de TNF- α em tecido de neoplasia gastroesofágica (Deans et al., 2006) e em adipócitos da área peritumoral de pacientes com câncer colorretal (Amor et al., 2016).

Quando foram avaliados indivíduos com câncer gastrointestinal com e sem caquexia, Matos-Neto e colaboradores (2015) não encontraram diferença na expressão gênica de TNF- α entre os indivíduos caquéticos e não-caquéticos tanto em tecido adiposo subcutâneo quanto em tecido tumoral. Por outro lado, Batista Jr. e colaboradores (2013) conduziram uma pesquisa em pacientes com diferentes tumores gastrointestinais (estômago, cólon, pâncreas, reto e outros) e sujeitos sem neoplasia que foram submetidos à cirurgia eletiva de hérnia, sendo que alguns

indivíduos desse grupo controle apresentavam concomitância de cirrose hepática, pancreatite crônica ou úlcera gástrica ou duodenal. Os sujeitos com ou sem neoplasia foram divididos em subgrupos com e sem caquexia. Os autores observaram que o RNAm do TNF- α foi 70 vezes mais expresso no tecido adiposo subcutâneo nos pacientes caquéticos em relação aos controles com peso estável, independente do diagnóstico de neoplasia (Batista Jr. et al., 2013).

Os dados obtidos no presente estudo indicam que os níveis sanguíneos aumentados IL-6 e TNF- α observados nos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática são decorrentes da maior produção destas interleucinas pelas células tumorais ou outros tecidos, sem participação das células periféricas.

No presente estudo, nós encontramos aumento da expressão do RNAm de TNFR1 no sangue periférico dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática quando comparados com os indivíduos do grupo Controle, que vai de acordo com a literatura que associa o TNFR1 com funções citotóxicas e pró-inflamatórias, responsabilizando-o por injúria tecidual (Bradley, 2008). Por outro lado, não houve diferença na expressão do RNAm do TNFR2 no sangue periférico dos pacientes com câncer quando comparada aos controles.

O TNF- α e seus receptores (TNFR1 e TNFR2) têm sido associados com a carcinogênese (Arnott et al., 2004; Gupta; Sharma; Das., 2008). No modelo experimental de tumor induzido por raios ultravioleta, a ausência tanto de TNFR1 quanto do TNFR2 no desenvolvimento de câncer de pele inibiram o desenvolvimento do tumor (Starcher, 2000). Em modelo animal de tumor hepático, sugeriu-se que a carcinogênese depende apenas da expressão de TNFR1 (Knight et al., 2000). No tumor pancreático, a ligação de TNF- α com o TNFR2 pode ativar o receptor do fator de crescimento epidérmico, que promove a proliferação de células cancerígenas (Friess et al., 1999).

Tem sido avaliada a associação entre polimorfismos de nucleotídeos únicos do gene TNF- α e o risco do desenvolvimento de diferentes tipos de câncer, como de bexiga, carcinoma de células renais (Nakajima et al., 2001), carcinoma pulmonar de não pequenas células (Shih et al., 2006), câncer cervical (Govan et al., 2006) e carcinoma de mama (Mestiri et al., 2001). Acredita-se que os polimorfismos da região promotora sejam responsáveis por uma maior transcrição de TNF- α (Das; Baniyasi; Kapuria, 2006). Foram encontrados polimorfismos de nucleotídeos únicos na região promotora de TNFR1 (-383, -609) exon 1 e introns 2, 4, 6, 7 e 8, além de polimorfismos em quatro exons (4, 6, 9 e 10) no TNFR2 (Bazzoni et al., 2000). Uma pesquisa com 94 pacientes com carcinoma de células escamosas orais da língua e mucosa bucal, examinou os polimorfismos -238 e -308 nos locais promotores do gene TNF- α . O

polimorfismo de nucleotídeo único no promotor -308 AG de TNF- α pode estar associado com maior risco de carcinoma oral relacionado ao tabaco, possivelmente devido à expressão excessiva de TNF- α (Gupta; Sharma; Das, 2008), enquanto que houve menor frequência do genótipo TT no polimorfismo de nucleotídeo único -609 G/T de TNFR1. Esse polimorfismo no gene TNFR2 parece ser importante em região 3' UTR (*untranslated region*) do RNAm, que está relacionado à expressão de TNFR afetando a estabilidade de transcrição do RNAm ou seu processamento (Bayley et al., 2003). O TNFR1 tem um papel crítico no desenvolvimento do tumor, mas a co-expressão TNFR1 e TNFR2 é necessária para a atividade do desenvolvimento do tumor induzido pelo TNF- α (Arnott et al., 2004). Houve redução na expressão de RNAm de TNFR1 e TNFR2 em amostras de carcinoma hepatocelular no tecido tumoral comparado com tecido hepático morfológicamente normal distante do tumor (Zekri et al., 2008). Por outro lado, esses receptores foram correlacionados com a progressão da infecção crônica pelo vírus da hepatite C (Zylberberg et al., 1999). Acredita-se que o complexo TNFR2 pode facilitar a interação do TNF- α com o TNFR1, postulando que o TNFR2 é o principal transdutor de sinal TNF- α . No entanto, outros dados demonstraram que o TNFR2 é capaz de mediar a atividade biológica de TNF- α de forma independente (Herbein; O'Brien, 2000).

Nós não encontramos diferença na concentração sérica de INF- γ em pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e indivíduos do Grupo Controle. Também em pacientes com neoplasia gastrointestinal, não houveram diferenças nas concentrações séricas de INF- γ em relação aos controles (Matos-Neto et al., 2015). Diferente dos nossos achados, os pacientes com adenocarcinoma pancreático apresentaram maior concentração plasmática de INF- γ em relação aos controles. Também foi encontrada uma associação positiva entre as elevadas concentrações séricas de INF- γ e TNF- α nos pacientes com adenocarcinoma pancreático (Talar-Wojnarowska et al., 2008). 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).

Em nossa pesquisa não houve diferença na concentração sérica de INF- γ entre os pacientes com câncer com ou sem caquexia. Semelhante aos nossos resultados, Bye e colaboradores (2016) não encontraram diferença na concentração sérica de INF- γ entre pacientes com câncer de pâncreas classificados com e sem caquexia tanto pelo Escore Prognóstico de Glasgow modificado (EPG) (Douglas; McMillan, 2014) e quanto utilizando o

Consenso de Caquexia de 2011 (Fearon et al., 2011). Tem sido descrito que o INF- γ pode causar caquexia em decorrência do hipercatabolismo e da anorexia, devido ao aumento da atividade de hormônios hipotalâmicos envolvidos na inibição do apetite (Martignoni et al., 2005; Argilés et al., 2011).

Em nossa pesquisa, nós encontramos uma maior expressão do RNAm de INF- γ no sangue dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em relação aos indivíduos do Grupo Controle. Houve maior expressão do RNAm de INF- γ em amostras de tecido tumoral pancreático quando comparada com amostras de tecido pancreático saudável (Loos et al., 2009). No presente estudo, o INF- γ foi a única citocina em que houve maior expressão gênica no sangue periférico dos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática classificados como caquéticos quando comparados com aqueles não caquéticos. Diferente dos nossos achados, em amostras de tecido adiposo subcutâneo de tecido tumoral de pacientes com câncer gastrointestinal, Matos-Neto e colaboradores (2015) não encontraram diferença na expressão gênica de INF- γ de acordo com a presença de caquexia. Mecanismos epigenéticos tais como atuação de microRNAs (miRNAs) e a metilação do DNA poderiam justificar a maior expressão gênica de INF- γ no sangue periférico de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática.

Os miRNAs são pequenos RNAs endógenos não-codificadores de proteínas que atuam como reguladores de diversos processos celulares, como a proliferação, a diferenciação, o desenvolvimento e a morte celular, o metabolismo celular, a conformação cromossômica, a oncogênese, entre outros (Costa e Pacheco, 2012). Quando incorporados a um complexo proteico de silenciamento induzido por RNA, os miRNAs podem promover a repressão traducional, induzir a degradação do RNAm ou o armazenamento do RNAm em sítios citoplasmáticos para tradução posterior (Costa e Pacheco, 2012). Os RNAm silenciados pelos miRNAs se acumulam no citoplasma celular em corpos de processamento, cujas enzimas promovem deadenilação, decapamento ou degradação do RNAm (Cowland; Hother; Grønbæk, 2007). A compartimentalização do RNAm nos corpos de processamento constitui um mecanismo importante no controle do processo de tradução (Liu, 2008). Diferentes tipos de tumores mostram padrões de expressão de miRNAs distintos, estando associados a características clinicopatológicas específicas (Takamizawa et al., 2004). Os miRNAs presentes em níveis elevados no tecidos neoplásicos podem inibir os genes supressores tumorais e/ou genes que controlam a diferenciação e a apoptose e assim promover o desenvolvimento do tumor (Iorio et al., 2007). Os genes que apresentam expressão diminuída

em tecidos tumorais são considerados genes supressores tumorais, previnem o desenvolvimento tumoral inibindo negativamente a expressão de oncogenes e/ou genes que controlam a diferenciação celular e a apoptose (Zhang et al., 2007).

A metilação do DNA desempenha um papel vital no desenvolvimento de tumores em humanos (Gaudet et al., 2003; Berman et al., 2012). Tanto a hipo quanto a hipermetilação podem predispor ao desenvolvimento do câncer; a hipometilação do DNA causa instabilidade cromossômica e a hipermetilação local-específica da região promotora rica em ilhas CpG pode silenciar os genes supressores do tumor, (Gaudet et al., 2003). Tan e colaboradores (2009) documentaram hipometilação do DNA do INF- γ de pacientes com câncer pancreático. A partir desses achados, nós levamos a hipótese que houve hipometilação do DNA do INF- γ nos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática, possibilitando uma maior expressão deste gene em relação aos indivíduos do Grupo Controle.

Em nossa pesquisa nós não encontramos diferenças na expressão gênica do ZAG entre os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática e os voluntários controles. A expressão da ZAG está aumentada no câncer de mama (Diez-Itza et al., 1993), de próstata (Hale et al., 2001) e de pulmão (Albertus et al., 2008). Além disso ZAG foi mais expressa no tecido de carcinoma de células escamosas da cavidade oral (Brysk et al., 1999) e no adenocarcinoma pulmonar (Albertus et al., 2008). Por outro lado, a expressão da ZAG foi diminuída em amostras teciduais de adenocarcinoma ductal pancreático primário ou metastático (Kong et al., 2010). Em pacientes com carcinoma hepatocelular a expressão do RNAm de ZAG foi cerca de 15,5 vezes menor no tecido hepático tumoral quando comparada com tecido hepático adjacente ao tumor (Huang et al., 2012). Além disso, a baixa expressão do RNA de ZAG foi associada com maior prevalência de pacientes com cirrose hepática grave e menor tempo de sobrevivência (Huang et al., 2012).

A ZAG pode ter um papel na mobilização de lipídios na caquexia do câncer (Bing et al., 2004) por mecanismo que envolve a expressão da proteína de desacoplamento (Sanders; Tisdale, 2004). Bing e colaboradores (2004) mostraram que a concentração proteica e o RNAm da ZAG são aumentados no tecido adiposo de camundongos com caquexia do câncer. No tecido adiposo subcutâneo de pacientes com câncer gastrointestinal superior e pancreático, a expressão de RNAm de ZAG foi maior nos 17 sujeitos caquéticos quando comparada com os 8 pacientes com peso estável (Mracek et al., 2011). Além disso, o RNAm de ZAG mostrou correlação negativa com o IMC e positiva com a perda de peso (Mracek et al., 2011). Considerando que nós não encontramos diferença na expressão gênica de ZAG no sangue

periférico de pacientes com e sem caquexia, é possível que esta citocina seja um marcador de caquexia em tecido adiposo, mas não em sangue periférico.

Em relação aos sujeitos do Grupo Controle, os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram maiores concentrações séricas de IL-10. A maior produção desta citocina está associada com pior prognóstico na doença neoplásica (Ebrahimi et al., 2004). Bye e colaboradores (2016) documentaram aumento da IL-10 nos 3 meses que antecederam o óbito dos pacientes com adenocarcinoma pancreático. Diferente de nossos achados, Batista Jr e colaboradores (2013) não encontraram alteração nas concentrações plasmáticas de IL-10 em pacientes com câncer gastrointestinal. Embora a IL-10 seja considerada uma citocina antiinflamatória, seu aumento em pacientes com câncer pode ser atribuído à retroalimentação positiva em resposta ao aumento da concentração das citocinas pró-inflamatórias (Ebrahimi et al., 2004).

Nós não observamos diferença na concentração sérica da IL-10 quando os pacientes com neoplasia foram classificados em caquéticos e não caquéticos. Semelhante aos nossos achados, Bye e colaboradores (2016) não documentaram diferença nos níveis séricos de IL-10 entre pacientes caquéticos e não caquéticos com neoplasia pancreática, classificados a partir de dois diferentes métodos de definição de caquexia. O tempo decorrido entre o início dos sintomas e o diagnóstico, o estágio tumoral, o grau de invasão, o acometimento dos linfonodos, a presença de metástase à distância e altas concentrações séricas de IL-10 apresentaram associação com baixa sobrevida no câncer colorretal (Miteva et al., 2014). Outros estudos também demonstraram que a IL-10 tem valor prognóstico independente nos tumores sólidos e que esta citocina pode ser útil para monitorar a progressão da doença (Miteva; Stanilova, 2008; Szaflarska et al., 2009).

Em nosso trabalho, os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática apresentaram maior expressão gênica do RNAm de IL-10 que os sujeitos do grupo Controle. Semelhante aos nossos achados, a expressão de RNAm de IL-10 no sangue periférico foi maior em 19 pacientes no pré-operatório de câncer colorretal em comparação aos voluntários saudáveis (Stanilov et al., 2016). Houve maior expressão gênica do IL-10 em tecido adiposo peritumoral após estímulo com lipopolissacáride (Amor et al, 2016).

É possível que outros fatores possam influenciar na expressão gênica das citocinas avaliadas. Dentre as limitações do presente estudo, nós não avaliamos a presença de polimorfismos genéticos. Por exemplo, Miteva e colaboradores (2014) avaliaram o papel funcional do polimorfismo de nucleotídeo único -1082 A/G do gene promotor da IL-10 nas

concentrações sistêmicas e locais de IL-10 e na expressão do RNAm dessa citocina em pacientes com câncer colorretal e controles saudáveis. No pré-operatório, a expressão de IL-10 foi elevada, independente do genótipo -1082 A/G. Para o genótipo AG/GG houve elevação de 2,766 do RNAm de IL-10 no sangue dos pacientes enquanto que genótipo AA o aumento foi de 2,079, após calibração para a quantidade de RNAm de IL-10 entre controles saudáveis para cada genótipo (Miteva et al., 2014). A produção elevada de IL-10, parcialmente determinada pelo polimorfismo de nucleotídeo único -1082 A/G, poderia contribuir para a supressão da inflamação nos estágios iniciais do câncer colorretal, influenciando na progressão da doença (Miteva et al., 2014).

Em nosso estudo nós não encontramos diferença na expressão gênica de IL-10 entre os pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática com e sem caquexia. Estudo conduzido com amostras de tecido adiposo subcutâneo e visceral de pacientes com diferentes tipos de tumor do trato gastrointestinal não mostrou diferença na expressão gênica de IL-10 entre os sujeitos caquéticos e os não caquéticos (Batista Jr. et al., 2013).

No presente estudo, houve maior expressão de RNAm de PPAR- γ no sangue de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em relação aos indivíduos do Grupo Controle. Em 274 mulheres obesas ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) documentou-se menor expressão relativa do gene PPAR- γ em células mononucleares de sangue periférico no grupo com história familiar de câncer colorretal quando comparado com as obesas sem história familiar de câncer (Hossein-Nezhad et al., 2013). Em pesquisa conduzida com 18 pacientes com câncer colorretal e 18 voluntários sem câncer classificados como obesos ($\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$) e não obesos ($\text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$), Amor e colaboradores (2016) encontraram maior expressão gênica de PPAR- γ em adipócitos da área peritumoral dos pacientes com câncer comparados com os controles obesos, mas sem diferenças entre obesos e não-obesos do grupo câncer.

O pequeno tamanho amostral consiste em uma limitação do nosso estudo. Entretanto, os pacientes consistiam em um grupo homogêneo de pacientes com o mesmo tipo de neoplasia e estadiamento tumoral semelhante. Nós não incluímos pacientes em cuidado paliativo e todos os sujeitos estavam em pré-operatório de cirurgia curativa, de forma que nos permitiu avaliar os pacientes em uma fase relativamente precoce da evolução da doença. Embora vários estudos tenham demonstrado interação entre a presença do tumor, a produção de algumas citocinas (como a IL-6) e o desenvolvimento da caquexia, a expressão de alguns compostos envolvidos na resposta inflamatória parece ser bloqueada durante a caquexia (Batista Jr et al., 2013).

Como força do estudo, nós citamos o fato que as amostras do sangue periférico apresentam a vantagem de ser de fácil acesso e obtenção é menos invasiva que o tecido tumoral, peritumoral e o tecido adiposo subcutâneo. A obtenção do sangue periférico pode ser realizada em qualquer etapa do diagnóstico da neoplasia, precedendo o procedimento cirúrgico. A partir dos resultados obtidos em fase preliminar do diagnóstico da neoplasia será possível elaborar opções terapêuticas com o objetivo de minimizar os efeitos deletérios da caquexia.

VII. CONCLUSÕES

Apesar da perda de peso, os pacientes com câncer apresentaram composição corporal semelhante aos controles, o que é compatível com a história anterior de obesidade e com a similaridade na ingestão energética e proteica entre os grupos de estudo. A neoplasia da confluência biliopancreática provoca efeitos sistêmicos caracterizados por resposta à inflamação sistêmica. A caquexia foi definida em oito pacientes, principalmente às custas da redução do peso corporal, da presença de fadiga, da diminuição de massa muscular e alterações laboratoriais.

Os dados obtidos sugerem que o aumento da concentração sérica da IL-6 e TNF- α não é decorrente do aumento na expressão gênica dessas citocinas por células do sangue periférico, sugerindo produção aumentada em tecido tumoral ou outros tecidos. A concentração sérica de IL-6 foi maior nos indivíduos com caquexia em comparação com aqueles sem caquexia, o que está de acordo com os dados da literatura que apontam para o papel dessa citocina como marcador de caquexia neoplásica.

Embora a concentração sérica de INF- γ nos pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática tenha sido semelhante àquela obtida nos sujeitos controles, a expressão desta citocina foi aumentada, que pode ser explicado pela ocorrência de um possível mecanismo epigenético como interferência de miRNAs ou metilação do DNA. Além disso, essa foi a única citocina cuja expressão gênica foi maior nos pacientes classificados no Subgrupo Caquexia em relação aos Sem-caquexia.

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 caquéticos com neoplasia.

O gene do PPAR- γ apresentou-se mais expresso em sangue periférico de pacientes com câncer 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.

O gene do TNFR1 apresentou-se mais expresso em sangue periférico de pacientes com câncer em relação aos controles sem neoplasia. É possível que o aumento da expressão do TNFR1 esteja associado à progressão do tumor pancreático, conforme tem sido documentado em outros tipos de neoplasia.

Analizados 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.

REFERÊNCIAS

Agustisson T, Wikrantz P, Rydén M, Brismar T, Isaksson B. Adipose tissue volume is decreased in recently diagnosed cancer patients with cachexia. *Nutrition*. 2012;28(9):851-5.

Agustsson T, Rydén M, Hoffstedt J, van Harmelen V, Dicker A, Laurencikiene J, Isaksson B, Permert J, Arner P. Mechanism of increased lipolysis in cancer cachexia. *Cancer Res*. 2007;67(11): 5531-5537.

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;3:1236–1244.

American Cancer Society. Cancer facts & figures - 2013, 2013. Available from: <http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfactsfigures2013/index>

American Society for Parenteral and Enteral Nutrition Board of Directors and the Clinical Guidelines Task Force. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. *J Parenter Enteral Nutr*. 2002;26(Suppl1):SA22.

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;31:365–375.

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):1712-1723.

Antvorskov JC, Fundova P, Buschard K, Funda DP. Dietary gluten alters the balance of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in T cells of BALB/c mice. *Immunology* 2012.

Argilés JM, Alvarez B, López-Soriano FJ. The metabolic basis of cancer cachexia. *Med Res Rev*. 1997;17(5):477-98.

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

Argilés JM, Busquets S, Felipe A, López-Soriano FJ. Molecular mechanisms involved in muscle wasting in cancer and ageing: cachexia versus sarcopenia. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2005a;37:1084-1104.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. Anti-inflammatory therapies in cancer cachexia. *European Journal of Pharmacology*. 2011;668:81-86.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. Cytokines in the pathogenesis of cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003;6(4):401-406.

Argilés JM, Busquets S, Toledo M, López-Soriano FJ. The role of cytokines in cancer cachexia. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2009;3(4):263-268.

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):103-116.

Arner P. Medicine. Lipases in cachexia. *Science*. 2011;333(6039):163-4.

Arnott CH, Scott KA, Moore RJ, Robinson SC, Thomson RG, Balkwill FR. Expression of both TNF-alpha receptor subtypes is essential for optimal skin tumour development. *Oncogene*. 2004;23:1902-10.

Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer, *Nat. Rev. Cancer*. 2009;9:361-371.

Bao Y, Giovannucci EL, Kraft P, et al. A prospective study of plasma adiponectin and pancreatic cancer risk in five US cohorts. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105:95-103.

Barber MD, Ross JA, Fearon KC. Changes in nutritional, functional, and inflammatory markers in advanced pancreatic cancer. *Nutr Cancer*. 1999;35(2):106-10.

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

Batista Jr ML, Peres SB, McDonald ME, Alcantara PS, Oliván 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, Oliván 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):532-539.

Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today*. 1994 Feb;15(2):74-80.

Bayley JP, Bakker AM, Kaijzel EL, Huizinga TW, Verweij CL. Association of polymorphisms of the tumour necrosis factor receptors I and II and rheumatoid arthritis. *Rheumatol (Oxford)*. 2003;42:969-71.

Bazzoni F, Gatto L, Lenzi L, Vinante F, Pizzolo G, Zanolin E, De Gironcoli M. Identification of novel polymorphisms in the human TNFR1 gene: distribution in acute leukemia patients and healthy individuals. *Immunogenetics*. 2000;5:159-63.

Beard JL, Murray-Kolb LE, Rosales FJ, Solomons NW, Angelilli ML. Interpretation of serum ferritin concentrations as indicators of total-body iron stores in survey populations: the role of biomarkers for the acute phase response. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:1498-505.

Berman BP, Weisenberger DJ, Aman JF, Hinoue T, Ramjan Z, Liu Y, Noushmehr H, Lange CP, van Dijk CM, Tollenaar RA, Van Den Berg D, Laird PW. Regions of focal DNA hypermethylation and long-range hypomethylation in colorectal cancer coincide with nuclear lamina-associated domains. *Nat Genet*. 2012;44:40–6.

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, Russell S, Becket E, Pope M, Tisdale MJ, Trayhurn P, Jenkins JR. Adipose atrophy in cancer cachexia: morphologic and molecular analysis of adipose tissue in tumour-bearing mice. *Br J Cancer*. 2006; 95(8):1028-1037.

Bing C, Trayhurn P. New insights into adipose tissue atrophy in cancer cachexia. *Proc Nutr Soc*. 2009;68(4):385-392.

Bing C, Trayhurn P. Regulation of adipose tissue metabolism in cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11(3):201-207

Bing C. Lipid mobilization in cachexia: mechanisms and mediators. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2011;5(4):656-60.

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.

Blanchard JA II, Barve S, Joshi-Barve S, Talwalker R, Gates LK Jr. Cytokine production by CAPAN-1 and CAPAN-2 cell lines. *Dig Dis Sci*. 2000;45(5):927–932.

Blum D, Omlin A, Baracos VE, Solheim TS, Tan BH, Stone P, et al. 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.

Bohannon RW, Peolsson A, Massy-Westropp N, Desrosiers J, Bear-Lehman J. Reference values for adult grip strength measured with a Jamar dynamometer: a descriptive meta-analysis. *Physiotherapy*. 2006; 92(1):11-15.

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.

Bonetto A, Aydogdu T, Kunzevitzky N, Guttridge DC, Khuri S, Koniaris LG, et al. STAT3 activation in skeletal muscle links muscle wasting and the acute phase response in cancer cachexia. *PLoS ONE*. 2011;6:e22538.

Boyd NF, Stone J, Vogt KN, Connelly BS, Martin LJ, Minkin S. Dietary fat and breast cancer risk revisited: a meta-analysis of the published literature. *Br J Cancer*. 2003;89:1672–1685.

Bozzetti F; on behalf of the SCRINIO Working Group. Screening the nutritional status in oncology: a preliminary report on 1,000 outpatients. *Support Care Cancer*, 2009;17:279-284.

Bozzetti F, Gianotti L, Braga M, Carlo VD, Mariani L. Postoperative complications in gastrointestinal cancer patients: The joint role of the nutritional status and the nutritional support. *Clinical Nutrition*, 2007;26:698–709.

Bradley J. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*, 2008;214(2):149- 160.

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

Brysk MM, Lei G, Adler-Storthz 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; 137:117–120.

Brown JK. A systematic review of the evidence on symptom management of cancer-related anorexia and cachexia. *Oncol Nurs Forum*. 2002;29(3):517-32.

Buchbjerg T, Frstrup C, Mortensen MB. The incidence and prognosis of true duodenal carcinomas. *Surg Oncol*. 2015;24(2):110-116.

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):905-913.

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.

Bye A, Wesseltoft –Rao N, Iversen PO, Skjægstad G, Holven KB, Ulven S, Hjermstad MJ. Alterations in inflammatory biomarkers and energy intake in cancer cachexia: a prospective study in patients with inoperable pancreatic cancer. *Med Oncol*. 2016;33(6):54.

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):267-271.

Cavaillon JM. Cytokines and macrophages. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1994;48:445-453.

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):746-754.

Charney P, Cranganu A. Nutrition Screening and Assessment in Oncology. In: Marian M & Roberts S. *Clinical Nutrition for Oncology Patients*. Jones and Bartlett. 2010. p21-44.

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

Chu WM. Tumor necrosis factor, *Cancer Lett.* 2013;328:222–225.

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;11:661-672.

Costa EBO, Pacheco C. Micro-RNAs: Perspectivas atuais da regulação da expressão gênica em eucariotos. *Biosaúde.* 2012;14(2):81-93.

Costanzo ES, Lutgendorf SK, Sood AK, Anderson B, Sorosky J, Lubaroff DM. Psychosocial factors and interleukin-6 among women with advanced ovarian cancer. *Cancer.* 2005;104:305–13.

Cowland JB, Hother C, Grønbæk K. MicroRNAs and cancer. *APMIS,* 2007;115: 1090-1106.

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;139:135-141.

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):139-144.

Cunha SFC, Tanaka LS, Salomão RG, Macedo DM, Santos TD Peria FM. Nutritional Screening in a University Hospital: Comparison between Oncologic and Non-Oncologic Patients. *Food and Nutrition Sciences.* 2015;6:75-82.

Cunzhi H, Jiexian J, Xianwen Z, Jingang G, Shumin Z, Lili D. Serum and tissue levels of six trace elements and copper/zinc ratio in patients with cervical cancer and uterine myoma. *Biol Trace Elem Res.* 2003;94(2):113-22. PMID:12958402.

Daniele A, Divella R, Abbate I, Casamassima A, Garrisi VM, Savino E, Casamassima P, Ruggieri E, Luca R. Assessment of Nutritional and Inflammatory Status to Determine the Prevalence of Malnutrition in Patients Undergoing Surgery for Colorectal Carcinoma. *Anticancer Research.* 2017;37:1281-88.

Das SN, Baniasadi V, Kapuria V. Association of γ 308 TNF- α promoter polymorphism with type 1 diabetes in North Indians. *Int J Immunogenet.* 2006;33:411–6.

Deans C, Wigmore SJ. Systemic inflammation, cachexia and prognosis in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005;8(3):265-269.

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 – 1575.

Diez-Itza I, Sanchez LM, Allende MT, Vizoso F, Ruibal A, Lopez-Otin C. Zn-alpha 2-glycoprotein levels in breast cancer cytosols and correlation with clinical, histological and biochemical parameters. *Eur J Cancer*. 1993;29:1256–1260.

Donnelly S, Walsh D, Rybicki L. The symptoms of advanced cancer: identification of clinical and research priorities by assessment of prevalence and severity. *J Palliat Care*. 1995;11(1):27-32.

Douglas E, McMillan DC. Towards a simple objective framework for the investigation and treatment of cancer cachexia: the Glasgow Prognostic Score. *Cancer Treat Rev*. 2014;40(6):685–1.

Duarte-Salles T, Fedirko V, Stepien M, Aleksandrova K, Bamia C, Lagiou P, Laursen AS, Hansen L, Overvad K, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, His M, Boeing H, Katzke V, Kühn T, Trichopoulou A, Valanou E, Kritikou M, Masala G, Panico S, Sieri S, Ricceri F, Tumino R, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Hjartåker A, Skeie G, Weiderpass E, Ardanaz E, Bonet C, Chirlaque MD, Dorronsoro M, Quirós JR, Johansson I, Ohlsson B, Sjöberg K, Wennberg M, Khaw KT, Travis RC, Wareham N, Ferrari P, Freisling H, Romieu I, Cross AJ, Gunter M, Lu Y, Jenab M. Dietary fat, fat subtypes and hepatocellular carcinoma in a large European cohort. *Int J Cancer*. 2015;137(11):2715-28.

Durham WJ, Dillon EL, Sheffield-Moore M. Inflammatory burden and amino acid metabolism in cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009;12(1):72-7.

Ebrahimi B, Tucker SL, Li D, Abbruzzese JL, Kurzrock R. Cytokines in pancreatic carcinoma: correlation with phenotypic characteristics and prognosis. *Cancer*. 2004;101(12):2727–36.

Egberts JH, Cloosters V, Noack A, Schniewind B, Thon L, Klose S, Kettler B, von Forstner C, Kneitz C, Tepel J, Adam D, Wajant H, Kalthoff H, Trauzold A. Anti-tumor necrosis factor therapy inhibits pancreatic tumor growth and metastasis. *Cancer Res*. 2008;68:1443–1450.

Eizirik DL, Mandrup-Poulsen T. A choice of death--the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia*. 2001;44:2115-2133.

Enos RT, Velazquez KT, McClellan JL, Cranford TL, Nagarkatti , Nagarkatti PS, Davis JM, Murphy EA. High-Fat Diets Rich in Dietary Saturated Fat Protect Against Azoxymethane/Dextran Sulfate Sodium Induced Colon Cancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016;310(11):906-19.

Evans WJ, Morley JE, Argiles J, Bales C, Baracos V, Guttridge D, Jatoi A, Kalantar-Zadeh K, Lochs H, Mantovani G, Marks D, Mitch WE, Muscaritoli M, Najand A, Ponikowski P, Fanelli FR, Schambelan M, Schols A, Schuster M, Thomas D, Wolfe R, Anker SD. Cachexia: a new definition. *Clin Nutr*. 2008; 27(6):793–799.

Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. En: *Textbook of Clinical Chemistry*. 1986:1495-1588. Ed: N. W. Tietz. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1919 p.

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):325–331.

Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, Jatoi A, Loprinzi C, MacDonald N, Mantovani G, Davis M, Muscaritoli M, Ottery F, Radbruch L, Ravasco P, Walsh D, Wilcock A, Kaasa S, Baracos VE. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol*. 2011;12(5):489–95.

Fearon KC, Barber MD, Moses AG, Ahmedzai SH, Taylor GS, Tisdale MJ, Murray GD. Double-blind, placebo-controlled, randomized study of eicosapentaenoic acid diester in patients with cancer cachexia. *J Clin Oncol*. 2006a;24(21):3401–3407.

Fearon KC, Voss AC, Hustead DS; Cancer Cachexia Study Group. Definition of cancer cachexia: effect of weight loss, reduced food intake, and systemic inflammation on functional status and prognosis. *Am J Clin Nutr*. 2006b;83(6):1345–1350.

Fearon, K. C. H. The mechanisms and treatment of weight loss in cancer. *Proc. Nutr. Soc*. 1992;51,:251–265.

Federico A, Iodice P, Federico P, Del Rio A, Mellone MC, Catalano G, Federico P. Effects of selenium and zinc supplementation on nutritional status in patients with cancer of digestive tract. *Eur J Clin Nutr*. 2001;55(4):293–7. PMID:11360134.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer*. 2010;127:2893–2917.

Ferrajoli A, Keating MJ, Manshouri T, Giles FJ, Dey A, Estrov Z, Koller CA, Kurzrock R, Thomas DA, Faderl S, Lerner S, O'Brien S, Albitar M. The clinical significance of tumor necrosis factor- α plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002;100:1215–9.

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;83:513–20.

Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by the TH1 clones. *J Exp Med*. 1989;170(6):2081–2095.

Fisberg RM, Marchioni DML, Colucci ACA. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53(5):617–24.

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.

Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes*. 2007;56(4):1010–1013.

Fox KM, Gerber Pharmd RA, Bolinder B, Chen J, Kumar S. Prevalence of inadequate glycemic control among patients with type 2 diabetes in the United Kingdom general practice research database: A series of retrospective analyses of data from 1998 through 2002. *Clin Ther*. 2006;28(3):388-95.

Freelove R, Walling AD. Pancreatic Cancer: Diagnosis and Management. *American Family Physician*. 2006;73(3):485-492.

Friess H, Guo XZ, Nan BC, Kleeff J, Buchler MW. Growth factors and cytokines in pancreatic carcinogenesis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999;880:110–121.

Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr*. 1981;34(11):2540-2545.

Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures. *Immunity*. 2013;39(1):11-26.

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.

Gaudet F, Hodgson JG, Eden A, Jackson-Grusby L, Dausman J, Gray JW, Leonhardt H, Jaenisch R. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation. *Science*. 2003;300:489–92.

Gheorghiță V, Barbu AE, Gheorghiu ML, Căruntu FA. Endocrine dysfunction in sepsis: a beneficial or deleterious host response? *GERMS*. 2015;5(1):17-25.

Goldman R. Characteristics of the β -glucan receptor of murine macrophages. *Experimental Cell Research*. 1988;174:481-490.

Gordon S. The macrophage home page. 1996 <Disponível em <http://www.path.ox.ac.uk/sg/>> Acesso em 14 set. 2005.

Govan VA, Constant D, Hoffman M, Williamson AL. The allelic distribution of α_308 tumor necrosis factor- α gene polymorphism in South African women with cervical cancer and control women. *BMC Câncer*. 2006;6:24.

Gukovsky I, Li N, Todoric J, et al. Inflammation, autophagy, and obesity: common features in the pathogenesis of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2013;144:1199-1209.

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

Gupta R, Sharma SC, Das SN. Association of TNF- α and TNFR1 promoters and 3' UTR region of TNFR2 gene polymorphisms with genetic susceptibility to tobacco-related oral carcinoma in Asian Indians. *Oral Oncology*. 2008;44:455–463.

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 Aug 1;121(15):2480–513.

Hale LP, Price DT, Sanchez LM, Demark-Wahnefried W, Madden JF. Zinc α -2-glycoprotein is expressed by malignant prostatic epithelium and may serve as a potential serum marker for prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2001;7:846–853.

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

Herbein G, O'Brien WA. Tumor necrosis factor (TNF)- α and TNF receptors in viral pathogenesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*. 2000;223:241–57.

Hordyewska A, Popiolek L, Kocot J. The many “faces” of copper in medicine and treatment. *Biometals*. 2014;27(4):611–21. PMID:24748564.

Hosseini-Nezhad A, Mirzaei K, Keshavarz SA, Ansari H, Saboori S, Tootee A. Evidence of dual role of vitamin D through cellular energy homeostasis and inflammation pathway in risk of cancer in obese subjects. *Minerva Med*. 2013;104:295–307.

Howe GR, Burch JD. Nutrition and pancreatic cancer. *Cancer Causes Control*. 1996;7:69–82.

Huang Y, Li LZ, Zhang CZY, Yi C, Liu LL, Zhou X, Xie GB, Cai MY, Li Y, Yun JP. Decreased expression of zinc- α 2-glycoprotein in hepatocellular carcinoma associates with poor prognosis. *Journal of Translational Medicine*. 2012;10:106.

Huhmann MB, August DA. Review of American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.) clinical guidelines for nutrition support in cancer patients: Nutrition screening and assessment. *Nutr. Clin. Pract*. 2008;23:182–188.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington (DC): National Academy Press; 1997.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Washington DC: National Academy Press; 2000.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington DC: National Academy Press; 2001.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids (macronutrients). Washington DC: National Academy Press; 2002.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids (macronutrients). Washington DC: National Academy Press; 2005.

Internatinal committee for standar-dization in haematology (ICSH). Recommendations for measurement of serum iron in human blood. Br. J. Haem. 1978;38:291-294.

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

Iorio, MV; Visone, R; Di Leva, G; Donati, V; Petrocca, F; Casalini, P; Taccioli, C; Volinia, S; Liu, C; Alder, H; Calin, GA; Menard, S; Croce, CM. MicroRNAs signatures in human ovarian cancer. Cancer Res. 2007;67:8699-8707.

Ishikawa T, Kokura S, Sakamoto N, Okajima M, Matsuyama T, Sakai H, et al. Relationship between circulating cytokine levels and physical or psychological functioning in patients with advanced cancer. Clin Biochem. 2012;45:207-11.

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

Jelliffe DB. The assessment of the nutritional status of the community (with special reference to field surveys in developing regions of the world). Monogr Ser World Health Organ 1966;53:3-271.

Jernås M, Palming J, Sjöholm K, Jennische E, Svensson PA, Gabrielsson BG, Levin M, Sjögren A, Rudemo M, Lystig TC, Carlsson B, Carlsson LM, Lönn M. Separation of human adipocytes by size: hypertrophic fat cells display distinct gene expression. Faseb J. 2006; 20(9):1540-1542.

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):610-621.

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

Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Polychronidis A, Simopoulos C. Expression patterns of alpha, beta and gamma-catenin in pancreatic cancer: correlation with E-cadherin expression, pathological features and prognosis. Anticancer Res. 2001;21(6A):4127-4134.

Kemik O, Kemik AS, Begenik H, Erdur FM, Emre H, Sumer A, Purisa S, Tuzun S, Kotan C. The relationship among acute-phase response proteins, cytokines, and hormones in various gastrointestinal cancer ypes patients with cachectic. Hum. Exp. Toxicol. 2012;31(2):117-25.

Khalid U, Spiro A, Baldwin C, Sharma B, McGough C, Norman AR, Elisen T, O'Brien ME, Cunningham D, Andreyev HJ. Symptoms and weight loss in patients with astrointestinal and lung cancer at presentation. Support Care Cancer. 2007;15:39-46.

Kim WH, Lee JW, Gao B, Jung MH. Synergistic activation of JNK/SAPK induced by TNF- α and IFN- γ : apoptosis of pancreatic beta-cells via the p53 and ROS pathway. *Cell Signal*. 2005;17(12):1516-32.

Kim Y, Trace SE, Crowley JJ, Brownley KA, Hamer RM, Pisetsky DS, Sullivan PF, Bulik CM. Assessment of gene expression in peripheral blood using RNAseq before and after weight restoration in anorexia nervosa. *Psychiatry Res*. 2013;210(1):287-293.

Klimp AH, Vries EGE, Scherphof G, Daement TA. A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. *Critical Reviews in oncology/hematology*. 2002;44:143-161.

Knight B, Yeoh GC, Husk KL, Ly T, Abraham LJ, Yu C, Rhim JA, Fausto N. Impaired preneoplastic changes and liver tumor formation in tumor necrosis factor receptor type 1 knockout mice. *J Exp Med* 2000;192:1809–18.

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; 29:5146–5158

Kubrak C, Olson K, Jha N, Scrimger R, Parliament M, McCargar L, Koski S, Baracos VE. Clinical determinants of weight loss in patients receiving radiation and chemoradiation for head and neck cancer: a prospective longitudinal view. *Head Neck*. 2013;35:695-703.

Landmark-Hoyvik H, Reinertsen KV, Loge JH, Fossa SD, Borresen-Dale AL, Dumeaux V. Alterations of gene expression in blood cells associated with chronic fatigue in breast cancer survivors. *Pharmacogenomics J*. 2009;9(5):333-340.

Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPAR γ . *Cell*. 2005;123(6):993-999.

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;146:1233-1239.

Lisboa, AQ. Estado nutricional e ácidos graxos plasmáticos de pacientes com câncer de colo uterino [dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde;2006.

Liu J. Control of protein synthesis and mRNA degradation by microRNAs. *Curr Opin Cell Biol*, 2008; 20: 214-221.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using RealTime Quantitative PCR and the 2⁻DDCT Method. *Methods*. 2001;25:402–408.

Llovera M, García-Martínez C, López-Soriano J, Carbó N, Agell N, López-Soriano FJ, Argiles JM. Role of TNF receptor 1 in protein turnover during cancer cachexia using gene knockout mice. *Mol Cell Endocrinol*. 1998;142(1-2):183-9.

Lof M, Sandin S, Lagiou P, Hilakivi-Clarke L, Trichopoulos D, Adami HO, Weiderpass E. Dietary fat and breast cancer risk in the Swedish women's lifestyle and health cohort. *Br J Cancer*. 2007;97: 1570-6.

Loos M, Hedderich DM, Ottenhausen M, Giese NA, Laschinger M, Esposito I, Kleeff J, Friess H. Expression of the costimulatory molecule B7-H3 is associated with prolonged survival in human pancreatic cancer. *BMC Cancer*. 2009;9:463.

Lukaski HC, Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr*. 1985;41(4):810-817.

Lukaski HC. Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr*. 1987;46(4):537-556.

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.

Macias-Gonzalez M, Cardona F, Queipo-Ortuño M, Bernal R, Martin M, Tinahones F. PPARgamma mRNA expression is reduced in peripheral blood mononuclear cells after fat overload in patients with metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*. 2008;138:903-7.

Majumder K, Gupta A, Arora N, Singh PP, Singh S. Premorbid Obesity and Mortality in Patients With Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;14:355–368.

Margetts BM, Nelson M. Design concepts in nutritional epidemiology. 2 ed. New York: Oxford University Press; 1997.

Martignoni ME, Kunze P, Hildebrandt W, Kunzli B, Berberat P, Giese T, Kloters O, Hammer J, Buchler MW, Giese NA, Friess H. Role of mononuclear cells and inflammatory cytokines in pancreatic cancer-related cachexia. *Clin Cancer Res*. 2005;11:5802–5808.

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.

Matthys P, Heremans H, Opdenakker G, Billiau A. Anti-interferon-gamma antibody treatment, growth of Lewis lung tumours in mice and tumour-associated cachexia. *Eur. J. Cancer*. 1991;27:182–187.

McMillan DC. An inflammation-based prognostic score and its role in the nutrition-based management of patients with cancer. *Proc Nutr Soc*. 2008;67:257-62.

McMillan DC. Systemic inflammation, nutrition status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009;12(3):223-6.

Meguid MM, Campos AC, Hammond WG: Nutritional support insurgical practice: Part I. *Am J Surg.* 1990;159:345-358.

Mestiri S, Bouaouina N, Ahmed SB, Khedhaier A, Jrad BB, Remadi S, Chouchane L. Genetic variation in the tumor necrosis factor α promoter region and in the stress protein hsp70-2: susceptibility and prognostic implications in breast carcinoma. *Cancer.* 2001;91:672–8.

Michalaki V, Syrigos K, Charles P, Waxman J. Serum levels of IL-6 and TNF- α correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer.* 2004;90:2312–6.

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):726-741.

Miteva L, Stanilova S. The combined effect of interleukin (IL)-10 and IL-12 polymorphisms on induced cytokine production. *Hum Immunol.* 2008;69:562–6.

Miteva LD, Stanilov NS, Deliysky TS, Stanilova SA. Significance of –1082A/G polymorphism of IL10 gene for progression of colorectal cancer and IL-10 expression. *Tumor Biol.* 2014;35:12655–12664.

Mózsik HG, 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;11(48):7646-7650.

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):441-447.

Mücke M, Mochamat, Cuhls H, Peuckmann-Post V, Minton O, Stone P, Radbruch L. Pharmacological treatments for fatigue associated with palliative care: executive summary of a Cochrane Collaboration systematic review. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle.* 2016;7:23-27.

Muniz CK, Braga CBM, Kemp , Santos JS, SFCda Cunha. Clinical and nutritional status in the late postoperative of pancreaticoduodenectomy. Influence of pylorus preservation procedure. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2012;27 (2):123-130.

Nakajima K, Sasaki M, Nojima D, Oh BR, Ishii N, Miura K, Dahiya R. Tumor necrosis factor- α gene mutations and genotype changes in renal cell carcinoma. *J Urol.* 2001;165:612–5.

Nakarai H, Yamashita A, Nagayasu S, Iwashita M, Kumamoto S, Ohyama H, Hata M, Soga Y, Kushiyaama A, Asano T, Abiko Y, Nishimura F. Adipocyte-macrophage interaction may mediate LPS-induced low-grade inflammation: potential link with metabolic complications. *Innate Immun.* 2012;18(1):164-170.

Nakashima J, Tachibana M, Ueno M, Miyajima A, Baba S, Murai M. Association between tumor necrosis factor in serum and cachexia in patients with prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 1998 Jul;4(7):1743-8.

Nathan CF. Secretory products of macrophages. *The Journal of Clinical Investigation*, New Haven. 1987;79:319-326.

Nelms M, Sucher K, Long S. *Nutrition Therapy and pathophysiology*. Belmont, CA: Thomson Higher Learning. 2007:101-135,751-783.

Nichita C, Ciarloni L, Monnier-Benoit S, Hosseini 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):507-517.

Nourissat A, Bairati I, Fortin A, Glinas M, Nabid A, Brochet F, Ttu B, Meyer F. Factors associated with weight loss during radiotherapy in patients with stage I or II head and neck cancer. *Support Care Cancer*. 2012;20:591-9.

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.

Ovesen L, Hannibal J, Sorensen M, Allingstrup L. Food intake, eating-related complaints, and smell and taste sensations in patients with cancer of the lung, ovary and breast undergoing chemotherapy. *Clin Nutr*. 1991;10:336-41.

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.

Pausch T, Hartwig W, Hinz U, Swolana T, Bundy BD, Hackert T, Grenacher L, Bchler MW, Werner J. Cachexia but not obesity worsens the postoperative outcome after pancreatoduodenectomy in pancreatic cancer. *Surgery*. 2012;152:S81–S88.doi: 10.1016/j.surg.2012.05.028

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):371-376.

Peng P, Hyder O, Firoozmand A, Kneuer 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;16:1478–1486.

Pirot P, Eizirik DL, Cardozo AK. Interferon-gamma potentiates endoplasmic reticulum stress-induced death by reducing pancreatic beta cell defence mechanisms. *Diabetologia*. 2006;49(6):1229-36.

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.

Postier RG. The challenge of pancreatic cancer. *Am J Surg* 2003; 186(6):579-582.

Pullyblank AM, Guillou PJ, Monson JR. Interleukin-1 and tumornecrosis factor alpha may be responsible for the lytic mechanism during anti-tumourantibody-dependent cell-mediate cytotoxicity. *British Journal of Cancer.* 1995;72:601-606.

Radbruch L, Strasser F, Elsner F, Gonçalves JF, Løge J, Kaasa S, et al. Fatigue in palliativecare patients—an EAPC approach.*Palliat Med.* 2008;22:13–32.

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):2066-2077.

Razumilava N, Gores GJ. Cholangiocarcinoma. *Lancet.* 2014;383:2168-2179.

Ribeiro SMF, MoyaII AMTM, Braga CBM, Domenici FA, Feitosa MR, Feres O, Rocha JJR, Cunha SFC. Copper-Zinc ratio and nutritional status in colorectal cancer patients during the perioperative period. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2016;31(supl. 1):24-28.

Robinson Jr. DW, Eisenberg DF, Cella D, Zhao N, Boer C, DeWitte M. Theprognostic significance of patient-reported outcomes in pancreatic cancercachexia, *J. Support Oncol.* 2008;6:283–290.

Roman J. Peroxisome proleferator-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):157-163.

Rostain F, Hamza S, Drouillard A, Faivre J, Bouvier AM, Lepage C. Trends in incidence and management of cancer of the ampulla of Vater. *World J Gastroenterol.* 2014;20(29):10144-10150.

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

Rubin H. Cancer caquexia: its correlations and causes. *Proceedings of theNational Academy of Sciences.* 2003;100:5384-5389.

Rydén M, Agustsson T, Andersson J, Bolinder J, Toft E, Arner P. Adipose zinc-a2-glycoprotein is a catabolic marker in cancer and noncancerous states. *J Intern Med.* 2012; 271(4):414-420.

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):1695-1704.

Salsman JM, Beaumont JL, Wortman K, Yan Y, Friend J, Cella D. Brief versions of the FACIT-fatigue and FAACT subscales for patients with non-small cell lung cancer cachexia. *Support Care Cancer*. 2015;23:1355-1364.

Sanders PM, Tisdale MJ. Effect of zinc- α 2-glycoprotein (ZAG) on expression of uncoupling proteins in skeletal muscle and adipose tissue. *Cancer Lett*. 2004;212:71 – 81.

Seelaender M, Batista M Jr, Lira F, Silverio R, Rossi-Fanelli F. Inflammation in cancer cachexia: to resolve or not to resolve (is that the question?). *Clin Nutr*. 2012;31(4):562-6.

Shaib YH, Davila JA, El-Serag HB. The epidemiology of pancreatic cancer in the United States: changes below the surface. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24:87-94.

Shaw JH, Wolfe RR. Fatty acid and glycerol kinetics in septic patients and in patients with gastrointestinal cancer. The response to glucose infusion and parenteral feeding. *Ann Surg*. 1987;205(4):368-76.

Shepherd VL, Lee YC, Schlesinger PH, Stahl PD. L-Fucose-terminated glycoconjugates are recognized by pinocytosis receptors on macrophages. *Proceedings of National Academy of Sciences*. 1981;78:1019-1022.

Shih CM, Lee YL, Chiou HL, Chen W, Chang GC, Chou MC, Lin LY. Association of TNF- α polymorphism with susceptibility to and severity of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2006;52:15–20.

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017 ;67(1):7–30.

Silva MPN. Síndrome da anorexia-caquexia em portadores de câncer. *Rev Bras Cancerol*. 2006; 52(1):59-77.

Singh SK, Bhadra MP, Girschick HJ, Bhadra U. MicroRNAs – micro in size but macro in function. *FEBS Journal*. 2008;275:4929-4944.

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):667-676.

Smith KL, Tisdale MJ. Mechanism of muscle protein degradation in cancer cachexia. *British Journal of Cancer*. 1993;68:314-318.

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): 458–462.

Stanilov N, Miteva L, Dobрева 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.

Starcher B. Role for tumour necrosis factor- α receptors in ultraviolet-induced skin tumours. *Br J Dermatol* 2000;142:1140–7.

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 P, Richards M, Hardy J. Fatigue in Patients with Cancer. *European Journal of Cancer*. 1998;34(11):1670–1676.

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):2152–2159.

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): 2341–2345.

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

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;29:5005–12.

Takamizawa, J; Konishi, H; Yanagisawa, K; Tomida, S; Osada, H; Endoh, H; Harano, T; Yatabe, Y; Nagino, M; Nimura, Y; Mitsudomi, T; Takahashi, T. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*. 2004;64:3753–3756.

Takayama K, Atagi S, Imamura F, Tanaka H, Minato K, Harada T, Katakami N, Yokoyama T, Yoshimori K, Takiguchi Y, Hataji O, Takeda Y, Aoe K, Kim YH, Yokota S, Tabeta H, Tomii K, Ohashi Y, Eguchi K, Watanabe K. Quality of life and survival survey of cancer cachexia in advanced non-small cell lung cancer patients—Japan nutrition and QOL survey in patients with advanced non-small cell lung cancer study. *Support Care Cancer*. 2016; DOI 10.1007/s00520-016-3156-8.

Talar-Wojnarowska R, Gasiorowska A, Smolarz B, Romanowicz-Makowska H, Kulig A, Malecka-Panas E. Tumor necrosis factor α and interferon γ genes polymorphisms and serum levels in pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasma*. 2008;56(1):56–62.

Tan AC, Jimeno A, Lin SH, Wheelhouse J, Chan F, Solomon A, Rajeshkumar NV, Rubio-Viqueira B, Hidalgo M. Characterizing DNA methylation patterns in pancreatic cancer genome. *Mol Oncol*. 2009;3(5–6):425–38.

Tan BH, Deans DA, Skipworth RJ, Ross JA, Fearon KC. Biomarkers for cancer cachexia: is there also a genetic component to cachexia? *Support Care Cancer*. 2008;16(3):229–234.

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):165-177.

Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomed Pharmacother*. 2003;57(9):386-98.PMID:14652164.

Thiebaut AC, Kipnis V, Chang SC, Subar AF, Thompson FE, Rosenberg PS, Hollenbeck AR, Leitzmann M, Schatzkin A. Dietary fat and postmenopausal invasive breast cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study Cohort. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99:451-462.

Thoresen L, Fjeldstad I, Krogstad K, Kaasa S, Falkmer UG. Nutritional status of patients with advanced cancer: the value of using the subjective global assessment of nutritional status as a screening tool. *Palliat Med*. 2002;16(1):33-42.

Tijerina AJ. The biochemical basis of metabolism in cancer cachexia. *Dimens Crit Care Nurs*. 2004;23(6):237-43.

Tisdale MJ. Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(11):862-871.

Todorov P, Cariuk P, McDevitt T, Coles B, Fearon K, Tisdale M. Characterization of a cancer cachectic factor. *Nature*. 1996a; 379:739-742.

Todorov PT, McDevitt T, Cariuk P, Coles B, Deacon M, Tisdale MJ. Induction of muscle protein degradation and weight loss by a tumor product. *Cancer Research*. 1996b;56:1256-1261.

Tontonoz P, Spiegelman BM. Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. *Annu Rev Biochem*. 2008;77:289-312.

Tracey KJ, Wey HE, Manogue KR, Fong Y, Hesse DG, Nguyen HT, Kuo GC, Beutler B, Cotran RS, Cerami A, Lowry SF. Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia, and inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*. 1988;167(3):1211-1227.

Tuca A, Jimenez-Fonseca P and Gascon P: Clinical evaluation and optimal Management of cancer cachexia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88:625-636.

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;2:236-140.

Vadiveloo PK, Vairo G, Hertzog P, Kola I, Hamilton JA. Role of type I interferons during macrophage activation by lipopolysaccharide. *Cytokine*. 2000;12:1639-1646.

van Royen M, Carbó N, Busquets S, Alvarez B, Quinn LS, López-Soriano FJ, Argilés JM. DNA fragmentation occurs in skeletal muscle during tumor growth: A link with cancer cachexia? *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;270(2):533-7.

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]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.

Völggi E, Tylavsky FA, Lyytikäinen A, Suominen H, Alén M, Cheng S. Assessing Body Composition With DXA and Bioimpedance: Effects of Obesity, Physical Activity, and Age. *Obesity*. 2008;16:700–705.

von Haehling S, Genth-Zotz S, Anker SD, Volk HD. Cachexia: a therapeutic approach beyond cytokine antagonism. *Int J Cardiol*. 2002;85(1):173-183.

Waitzberg DL, Nardi L, Ravacci G, Torrinhas R. Síndromeda anorexia e caquexia em câncer: abordagem terapêutica. In: Waitzberg DL. *Dieta, nutrição e câncer*. São Paulo: Atheneu; 2004. p. 334-52.

Wallengren O, Lundholm K, Bosaeus I. Diagnostic criteria of cancer cachexia: relation to quality of life, exercise capacity, and survival in unselected palliative care patients. *Support Care Cancer*. 2013;21:1569–1577.

Walz DA. Cancer-related anorexia-cachexia syndrome. *Clin J Oncol Nurs*. 2010;14(3):283-287.

Wang C, Guan Y, Yang J. Cytokines in the Progression of Pancreatic β -Cell Dysfunction. *International Journal of Endocrinology*. 2010:1-10.

Wang SX, Tang RF, Zhang FR, Peng L, Wang SX, Xiao Y, Zhang M. Interleukin-1alpha, 6 regulate the secretion of vascular endothelial growth factor A, C in pancreatic cancer, Hepatobiliary Pancreat Dis. *Int*. 2005;4:460–463.

Weltman E, Salvajoli JV, Hanriot Rde M, Prisco FE, Oliveira SN, Cruz JC, Borges SR, Lagatta M, Wajsbrot DB. [Radiotherapy for pancreatic cancer]. *Rev Assoc Med Bras*. 2002;48(2):118-128.

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

Windsor JA, Hill GL. Weight loss with physiologic impairment. A basic indicator of surgical risk. *Ann Surg*. 1988;207:290-296.

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

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):3360-3367.

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;24:416–428.

Zhang, B; Pan, X; Cobb, GP; Anderson, TA. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Developmental Biol*. 2007;302:1-12.

Zylberberg H, Rimaniol AC, Pol S *et al*. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic HCV: a correlation with histological fibrosis and activity. *J. Hepatol*. 1999; 30: 185–91.

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 Comite 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

RIBEIRAO 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: RIBEIRAO 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

APÊNDICE C- Tabelas de valores individuais

Tabela 10. Valores individuais do consumo nutricional diário dos voluntários dos Subgrupos Caquexia e Sem caquexia.

Caso	Energia (kcal)	Proteína (g)
Caquexia		
1	1299,05	79,20
3	1198,49	67,63
4	1839,69	92,26
5	1487,26	61,09
8	1994,06	90,74
13	1819,3	113,01
15	735,01	21,93
16	1204,24	53,43
TODOS	1447 (1095 – 1799)	72,4 (49,0 – 95,8)
Sem caquexia		
2	1631,06	102,37
6	1521,87	76,68
7	2998,33	139,98
9	2613,87	149,02
10	2507,12	135,78
11	2463,91	101,5
12	1424,79	77,28
14	1399,79	65,81
17	2931,60	129,91
TODOS	2166 (1656 – 2676)	109 (85 – 133)

Tabela 11. Valores individuais dos dados de composição corporal e de fadiga dos voluntários dos Subgrupos Caquexia e Sem caquexia.

Caso	Estadiamento	Peso (kg)	IMC (kg/m ²)	MM (kg)	MG (kg)	Fadiga
Caquexia						
1	IIA-B	70,2	26,4	43,10	27,10	34,0
3	IIA-B	62,4	21,8	49,9	12,5	30,0
4	IIA-B	53,4	20,9	41,7	11,7	39,0
5	IIA-B	82,0	26,2	62,9	19,1	29,0
8	IIA-B	72,0	28,1	50,3	21,7	39,0
13	IIA-B	61,8	20,2	49,6	12,2	37,0
15	IV	130	40,6	77,1	52,9	16,0
16	IA-B	65,5	23,8	44,00	21,50	17,0
TODOS		54,7 (54,7 - 94,6)	26,0 (20,5 – 31,5)	52,3 (42,3- 62,4)	22,3 (11,0 - 33,6)	30,1 (22,4 – 37,8)
Sem caquexia						
2	IIA-B	86	27,1	60,2	25,8	51,0
6	IIA-B	69,0	30,0	41,2	27,8	37,0

Continuação da Tabela 11

7	IIA-B	63,0	21,3	51,5	11,5	38,0
9	IA-B	59,5	21,1	42,00	15,90	39,0
10	IA-B	75,0	24,2	55	20	49,0
11	IV	75,3	23,2	56,8	18,5	43,0
12	IV	68,0	25,6	44	24	44,0
14	IA-B	83,0	30,9	54,1	28,9	48,0
17	III	79,4	27,8	53,20	26,20	48,0
TODOS		73,1 (66,2 – 80,0)	25,7 (23,0 – 28,4)	50,9 (45,6 – 56,1)	22,1 (17,5 – 26,6)	44,1 (40,1 – 48,1)

Tabela 12. Valores individuais da concentração sanguínea de proteína total, albumina, transferrina, ferritina e PCR de voluntários dos Subgrupos Caquexia e Sem caquexia.

Caso	Albumina (g/dL)	Transferrina (mg/dL)	Ferritina (ng/dL)	PCR (mg/dL)
Caquexia				
1	3,4	216	-	3,3
3	4,1	138	311	0,22
4	3,7	78,6	277	1,0
5	3,1	146	2870	6,1
8	3,9	99,4	3225	4,2
13	2,9	121	1457	1,3
15	4,1	241	-	3,3
16	3,5	153	92,4	0,49
TODOS	3,6 (3,2 – 4,0)	149 (103 – 196)	1372 (-85,6 – 2830)	2,5 (0,7 – 4,2)
Sem-caquexia				
2	4,6	221	865	1,9
6	3,9	245	15,0	0,31
7	3,2	159	696	0,35
9	4,1	189	216	0,25
10	3,6	135	3193	2,5
11	4,1	237	562	3,3
12	3,4	156	151	14,7
14	4,5	137	358	0,07
17	3,8	141	483	3,0
TODOS	3,9 (3,5 – 4,3)	180 (146 – 214)	727 (-13,9 – 1467)	2,9 (-0,6 – 6,5)

PCR: Proteína C-reativa

Tabela 13. Valores individuais dos níveis sanguíneos de minerais e vitaminas de voluntários dos Subgrupos Caquexia e Sem caquexia.

Caso	Ferro (µg/dL)	Zinco (µg %)	Cobre (µg %)	Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	Vitamina A (µmol/L)	Vitamina E (mg/dL)
Caquexia						
1	101,0	96,5	164,2	1000,0	0,8	48,8
3	76,0	44,0	100,8	777,0	0,6	20,6
4	50,0	64,0	112,0	357,0	0,9	21,7
5	84,0	71,0	107,4	868,0	0,5	53,2
8	96,0	61,0	155,4	981,0	0,5	43,5
13	60,0	69,0	187,0	566,0	0,6	59,6
15	71,0	65,0	214,2	569,0	0,9	60,3
16	80,0	59,5	106,6	175,0	0,6	18,4
TODOS	77,2 (62,9 – 91,6)	66,2 (53,9 – 78,6)	143 (107 – 179)	662 (413 – 910)	0,68 (0,54 - 0,81)	40,8 (25,9 – 55,7)

Continuação da Tabela 13

Sem-caquexia

2	62,0	88,0	130,8	460,0	0,9	29,7
6	50,0	101,0	128,0	238,0	0,9	16,1
7	73,0	71,5	112,8	1000,0	0,6	20,6
9	54,0	59,0	89,0	298,0	1,0	26,2
10	139,0	138,5	237,2	1000,0	0,8	28,8
11	66,0	102,5	199,4	1000,0	0,8	22,3
12	82,0	64,0	107,6	613,0	0,3	3,5
14	124,0	-	62,8	689,0	1,0	22,3
17	106,0	123,5	224,0	1000,0	0,9	36,8
TODOS	84,0 (59,5 – 108,4)	93,5 (69,8 – 117,2)	155 (105 – 204)	700 (457 – 943)	0,81 (0,65 – 0,98)	22,9 (15,7 – 30,1)

Tabela 14. Valores individuais da concentração sanguínea de citocinas nos voluntários dos Subgrupos Caquexia e Sem caquexia.

Caso	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	INF- γ (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
Caquexia					
1	38,02	8,44	1,02	1,64	35,42
3	19,96	3,65	0,89	1,29	5,97
4	11,78	3,65	1,57	1,29	6,82
5	32,79	24,03	0,89	1,29	24,85
8	26,86	11,61	0,77	1,64	23,28
13	43,71	14,21	0,89	4,03	16,83
15	18,68	7,17	1,15	1,64	8,23
16	41,66	6,76	0,95	1,29	7,27
TODOS	29,2 (4,3 – 15,6)	9,9 (4,3 – 15,6)	1,0 (0,8 – 1,2)	1,8 (1,0 – 2,5)	16,1 (7,0 – 25,2)
Sem-caquexia					
2	30,19	2,67	0,89	3,47	9,79
6	10,49	3,65	0,89	0,98	2,41
7	36,35	1,88	0,77	0,98	9,25
9	7,56	1,43	1,43	1,64	2,92
10	23,62	11,46	0,89	1,29	27,43
11	22,54	5,84	0,89	1,29	14,75
12	14,92	3,76	0,89	1,29	10,35
14	10,49	3,09	1,15	1,64	5,57
17	28,88	9,02	1,02	1,64	15,46
TODOS	20,6 (12,7 – 28,4)	4,8 (2,1 - 7,4)	0,98 (0,83 – 1,13)	1,6 (1,0 - 2,2)	10,9 (4,9 – 16,8)

ANEXO A– Média e intervalo de confiança 95% dos valores de referência da força de preensão palmar (kg) para homens e mulheres

Faixa etária (anos)	Homens		Mulheres	
	Esquerda	Direita	Esquerda	Direita
20–24	47,4 (38,8-56,1)	53,3 (45,2-61,5)	27,9 (23,1-32,6)	30,6 (26,7-34,4)
25–29	50 (41,1-58,9)	53,9 (44,3-63,6)	30,8 (27,2-34,5)	33,8 (29,5-38,1)
30–34	49,2 (40,4-57,9)	52,8 (44,1-61,5)	31,8 (29,0-34,4)	33,8 (28,9-38,6)
35–39	51,6 (44,0-59,3)	53,3 (44,0-62,6)	30,2 (25,8-34,5)	33,2 (28,6-37,8)
40–44	49,8 (42,5-57,1)	54,1 (47,1-62,2)	29,3 (24,5-34,0)	32,8 (28,0-37,6)
45–49	48,7 (40,3-57,2)	50,4 (42,5-58,3)	30,8 (25,8-35,7)	33,9 (28,9-39,0)
50–54	45,2 (39,4-51,1)	50,6 (44,2-56,9)	28,8 (24,0-33,5)	30,9 (26,7-35,2)
55–59	41,0 (33,7-48,4)	44,1 (36,7-51,4)	27,2 (24,6-29,5)	29,9 (26,4-33,6)
60–64	38,7 (33,4-44,0)	41,7 (36,8-46,7)	23,0 (18,6-27,3)	25,9 (22,2-29,6)
65–69	38,2 (32,0-44,4)	41,7 (35,4-47,9)	22,9 (19,6-26,2)	25,6 (22,5-28,8)
70–74	36,2 (30,3-42,1)	38,2 (32,0-44,5)	22,5 (19,1-25,8)	24,2 (20,7-27,8)
> 75	29,8 (24,8-34,7)	28,0 (12,7-31,0)	16,4 (14,7-18,1)	18,0 (16,0-19,9)

Fonte: Bohannon *et al*, 2006

ANEXO B– Questionário de qualidade de vida e fadiga

The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy – Fatigue, FACIT-F

BEM-ESTAR FÍSICO		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou Menos	Muito	Muitíssimo
GP1	Estou sem energia	0	1	2	3	4
GP2	Fico enjoado/a	0	1	2	3	4
GP3	Por causa do meu estado físico, tenho dificuldade em atender às necessidades da minha família	0	1	2	3	4
GP4	Tenho dores	0	1	2	3	4
GP5	Sinto-me incomodado/a pelos efeitos secundários do tratamento	0	1	2	3	4
GP6	Sinto-me doente	0	1	2	3	4
GP7	Sinto-me forçado/a a passar tempo deitado/a	0	1	2	3	4

BEM-ESTAR SOCIAL/FAMILIAR		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou Menos	Muito	Muitíssimo
GS1	Sinto que tenho uma boa relação com os meus amigos	0	1	2	3	4
GS2	Recebo apoio emocional da minha família	0	1	2	3	4
GS3	Recebo apoio dos meus amigos	0	1	2	3	4
GS4	A minha família aceita a minha doença	0	1	2	3	4
GS5	Estou satisfeito/a com a maneira como a minha família fala sobre a minha doença	0	1	2	3	4
GS6	Sinto-me próximo/a do/a meu/minha parceiro/a (ou da pessoa que me dá maior apoio)	0	1	2	3	4

BEM-ESTAR EMOCIONAL		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou Menos	Muito	Muitíssimo
<u>GE1</u>	<u>Sinto-me triste</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>GE2</u>	<u>Estou satisfeito/a com a maneira como enfrento a minha doença</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>GE3</u>	<u>Estou perdendo a esperança na luta contra a minha doença</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>GE4</u>	<u>Sinto-me nervoso/a</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>GE5</u>	<u>Estou preocupado/a com a ideia de morrer</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>GE6</u>	<u>Estou preocupado/a que o meu estado venha a piorar</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>

BEM-ESTAR FUNCIONAL		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou Menos	Muito	Muitíssimo
GF1	Sou capaz de trabalhar (inclusive em casa)	0	1	2	3	4
GF2	Sinto-me realizado/a com o meu trabalho (inclusive em casa)	0	1	2	3	4
GF3	Sou capaz em sentir prazer em viver	0	1	2	3	4
GF4	Aceito a minha doença	0	1	2	3	4
GF5	Durmo bem	0	1	2	3	4
GF6	Gosto das coisas que normalmente faço para me divertir	0	1	2	3	4
GF7	Estou satisfeito/a com a qualidade da minha vida neste momento	0	1	2	3	4

PREOCUPAÇÕES ADICIONAIS		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou Menos	Muito	Muitíssimo
HI 7	Sinto-me fatigado/a	0	1	2	3	4
HI 12	Sinto fraqueza generalizada	0	1	2	3	4
AN 1	Sinto-me sem forças (sem vontade para nada)	0	1	2	3	4
AN 2	Sinto-me cansado/a	0	1	2	3	4
AN 3	Tenho dificuldade em começar as coisas porque estou cansado/a	0	1	2	3	4
AN 4	Tenho dificuldade em acabar as coisas porque estou cansado/a	0	1	2	3	4
AN 5	Tenho energia	0	1	2	3	4
AN 7	Preciso (de) dormir durante o dia	0	1	2	3	4
AN 8	Estou cansado/a demais para comer	0	1	2	3	4
AN 12	Preciso de ajuda para fazer as minhas atividades habituais	0	1	2	3	4
AN 14	Estou frustrado/a por estar cansado/a demais para fazer as coisas que quero	0	1	2	3	4
AN 15	Tenho que limitar as minhas atividades sociais por estar cansado/a	0	1	2	3	4
AN 16	Tenho que limitar as minhas atividades sociais por estar cansado/a	0	1	2	3	4

FACIT-F Scoring Guidelines (Version 4)

- Instructions:*
1. Record answers in "item response" column. If missing, mark with an X
 2. Perform reversals as indicated, and sum individual items to obtain a score.
 3. Multiply the sum of the item scores by the number of items in the subscale, then divide by the number of items answered. This produces the subscale score.
 4. Add subscale scores to derive total scores (TOI, FACT-G & FACIT-F).
 5. **The higher the score, the better the QOL.**

Subscale	Item Code	Reverse item?	Item response	Item Score	
PHYSICAL WELL-BEING (PWB)	GP1	4	-	_____	= _____
	GP2	4	-	_____	= _____
	GP3	4	-	_____	= _____
	GP4	4	-	_____	= _____
	GP5	4	-	_____	= _____
	GP6	4	-	_____	= _____
	GP7	4	-	_____	= _____

Score range: 0-28

Sum individual item scores: _____
 Multiply by 7: _____
 Divide by number of items answered: _____ = **PWB subscale score**

SOCIAL/FAMILY WELL-BEING (SWB)	GS1	0	+	_____	= _____
	GS2	0	+	_____	= _____
	GS3	0	+	_____	= _____
	GS4	0	+	_____	= _____
	GS5	0	+	_____	= _____
	GS6	0	+	_____	= _____
	GS7	0	+	_____	= _____

Score range: 0-28

Sum individual item scores: _____

Multiply by 7: _____
 Divide by number of items answered: _____ = **SWB subscale score**

EMOTIONAL WELL-BEING (EWB)	GE1 4	-	_____	=	_____
	GE2 0	+	_____	=	_____
	GE3 4	-	_____	=	_____
	GE4 4	-	_____	=	_____
	GE5 4	-	_____	=	_____
	GE6 4	-	_____	=	_____

Score range: 0-24

Sum individual item scores: _____
 Multiply by 6: _____
 Divide by number of items answered: _____ = **EWB subscale score**

FUNCTIONAL WELL-BEING (FWB)	GF1	0	+	_____	=	_____
	GF2	0	+	_____	=	_____
	GF3	0	+	_____	=	_____
	GF4	0	+	_____	=	_____
	GF5	0	+	_____	=	_____
	GF6	0	+	_____	=	_____
	GF7	0	+	_____	=	_____

Score range: 0-28

Sum individual item scores: _____
 Multiply by 7: _____
 Divide by number of items answered: _____ = **FWB subscale score**

Subscale Item Code Reverse item? Item response Item Score

FATIGUE SUBSCALE (FS)		HI7	4	-	_____	=	_____
		HI12	4	-	_____	=	_____
		An1	4	-	_____	=	_____
	An2	4	-	_____	=	_____	
	An3	4	-	_____	=	_____	
	An4	4	-	_____	=	_____	
	An5	0	+	_____	=	_____	
	An7	0	+	_____	=	_____	
	An8	4	-	_____	=	_____	
	An12	4	-	_____	=	_____	
	An14	4	-	_____	=	_____	
	An15	4	-	_____	=	_____	
	An16	4	-	_____	=	_____	

Score range: 0-52

Sum individual item scores: _____
 Multiply by 13: _____
 Divide by number of items answered: _____ = **F Subscale score**

To derive a FACIT-F Trial Outcome Index (TOI):

Score range: 0-108

$$\frac{\text{PWB score}}{\text{PWB score}} + \frac{\text{FWB score}}{\text{FWB score}} + \frac{\text{FS score}}{\text{FS score}} = \text{_____} = \text{FACIT-F TOI}$$

To Derive a FACT-G total score:

Score range: 0-108

$$\frac{\text{PWB score}}{\text{PWB score}} + \frac{\text{SWB score}}{\text{SWB score}} + \frac{\text{EWB score}}{\text{EWB score}} + \frac{\text{FWB score}}{\text{FWB score}} = \text{_____} = \text{FACT-G Total score}$$

To Derive a FACIT-F total score:

Score range: 0-160

$$\frac{\text{PWB score}}{\text{PWB score}} + \frac{\text{SWB score}}{\text{SWB score}} + \frac{\text{EWB score}}{\text{EWB score}} + \frac{\text{FWB score}}{\text{FWB score}} + \frac{\text{FS score}}{\text{FS score}} = \text{_____} = \text{FACIT-F Total score}$$

*For guidelines on handling missing data and scoring options, please refer to the Administration and Scoring Guidelines in the manual or on-line at www.facit.org

ANEXO C– Valores do percentil 10 para a circunferência muscular do braço (cm) para homens e mulheres, de acordo com a faixa etária

Faixa etária (anos)	Homens	Mulheres
18,0-18,9	23,7	17,9
19,0-24,9	24,5	18,5
25,0-34,9	25,0	18,8
35,0-44,9	25,5	19,2
45,0-54,9	24,9	19,3
55,0-64,9	24,5	19,6
65,0-74,9	23,5	19,5

Fonte: Frisancho, 1981