UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

EMILIANA DE OMENA BOMFIM

Correlações entre citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, o
padrão de sono e a qualidade de vida em crianças e adolescentes com
câncer

Ribeirão Preto
2014

EMILIANA DE OMENA BOMFIM

Correlações entre citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, o padrão de sono e a qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem em Saúde Pública.

Linha de Pesquisa: Genômica e Imunobiologia Aplicadas à Saúde Pública

Orientadora: Milena Flória-Santos

Ribeirão Preto
2014

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

Bomfim, Emiliania de Omena

Correlações entre citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer. Ribeirão Preto, 2014.

148 p.: il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP – Área de Concentração: Enfermagem em Saúde Pública.

Orientadora: Flória-Santos, Milena.

1. Neuroimunomodulação. 2. Citocinas. 3. Fadiga. 4. Transtornos do sono. 5. Oncologia Médica.

BOMFIM, EMILIANA DE OMENA

Correlações entre citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem em Saúde Pública.

Aprovado em//

Comissão Julgadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura _____

DEDICATÓRIA

Decido este trabalho à minha mãe, ao meu pai e à minha irmã, que como gigantes se mantiveram firmes ao meu lado, me amparando e me guiando na conquista dos meus objetivos. Obrigada por me ensinarem a guerilhar com nobreza e, principalmente, por me ensinarem a seguinte lição: "coloque amor e gratidão em tudo o que você fizer".

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a verdadeira fonte de luz e o princípio supremo da sabedoria, por toda a inspiração e força para concluir esse trabalho. Obrigada, também, pela oportunidade de observar o sistema biológico das suas criaturas por um ângulo molecular fascinante.

À minha mãe, pela imensurável dedicação, pela sua força e amor incondicional. 'Mainha', obrigada por ter acreditado em mim ininterruptamente. Obrigada por ser uma mãe que faz acontecer, e que não "faz de conta". Você é o meu maior exemplo de amor, coragem e paciência.

À minha irmã, por toda a sua doação, exemplo de ser humano, pelo seu carinho e zelo sempre à disposição. Obrigada por ser a irmã incrível que você é! Você é uma verdadeira fonte de paz e amor na minha vida.

Ao meu pai, por todo o seu esforço, apoio e paciência nos momentos mais difíceis. Suas sempre breves e simples palavras escondem uma abundância de verdades.

Ao meu namorado Josias, um agradecimento muito especial pela sua presença constante, a qual tornou a minha caminhada mais leve e curta. Obrigada, meu amor, pelo apoio, compreensão e imensuráveis incentivos.

À minha orientadora, Profa. Dra. Milena Flória-Santos, pela paciência nos momentos mais desafiadores, pelos ensinamentos e, principalmente, pela oportunidade de ter trabalhado com a senhora. Muito obrigada por ter acreditado em mim.

Aos meus amigos queridos Luís, Camila e Danielle. Muito obrigada pela paciência, pelo apoio e, principalmente, pela grande amizade que construímos. Desejo ao nosso grupo, denominado entre nós por um carinhoso ícone da nossa amizade, que nunca se desfaça dos laços afetivos. Laços que construímos a preço de tantas alegrias, retaliações, choros e sorrisos! Anseio que o destino continue nos unindo e que o nosso espírito e matéria continuem se alegrando, multiplicando nossa amizade, a cada reencontro.

Agradeço, ainda, a algumas pessoas que assumiram um papel importante no decorrer desses dois anos e que me ajudaram, de modo consistente, na realização desse trabalho. Expresso aqui o meu reconhecimento e sinceros agradecimentos às

funcionárias Letícia (Pediatria HCFMRP/USP), Veridiana Santa'ana (FMRP/USP) e Rosane Queiroz (FMRP/USP), à pós-doutoranda Elen Anatriello (EERP/USP) e às alunas Michelle Darezzo (EERP/USP), Camila Bernardes (EERP/USP) e Juliane Azevedo (EERP/USP). Muitíssimo obrigada pela ajuda de vocês, cada uma a seu modo!

À Profa. Dra. Lucila Castanheira Nascimento (EERP/USP), pela presença constante e, de modo especial, obrigada pela sua solidariedade e suporte na reta final. Foi um imenso prazer ter trabalhado com a senhora.

À Profa. Dra. Beatriz Rossetti Ferreira (EERP/USP) e ao Prof. Dr. Carlos Alberto Scrideli (FMRP/USP), pelos preciosos apontamentos durante o exame de qualificação.

Expresso um agradecimento especial à Profa. Dra. Fernanda Maranhão, pelos implacáveis conselhos e orientações ao final da minha graduação, em 2011, os quais, me fizeram procurar a Universidade de São Paulo para realização do mestrado. Agradeço, ainda, à minha amiga e ex-orientadora de iniciação científica Giani Cavalcante por ter se mantido presente, mesmo que distante! Obrigada pelo suporte, conselhos e pelo imenso carinho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado.

Finalmente, agradeço a confiança e a cooperação de todas as crianças, adolescentes e seus familiares, que muitas vezes, em meio as suas dores, permitiram-se participar dessa pesquisa.

*"Temos aprendido a voar como os pássaros,
A nadar como peixes,
Mas ainda não aprendemos a sensível arte
de viver como irmãos"*

Martin Luther King.

RESUMO

BOMFIM, E, O. **Correlações entre citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer.** 2014. 148f Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Diversos trabalhos têm explorado a hipótese de participação do sistema imunológico, via liberação de citocinas, na fadiga e nas alterações no padrão de sono, em adultos com câncer. Entretanto, estudos com crianças e adolescentes acometidos por neoplasias malignas são escassos internacionalmente e ausentes no Brasil. O objetivo desta pesquisa foi investigar os níveis plasmáticos das citocinas IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , IL-12p70 e correlacioná-los com a fadiga, o padrão de sono e a qualidade de vida (QV) em crianças e adolescentes com câncer. Trata-se de um estudo quantitativo, do tipo descritivo, transversal, realizado no Serviço de Oncologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, de janeiro de 2013 a março de 2014. Foram coletados 4ml de sangue para dosagem das citocinas, além de dados clínicos para caracterização dos pacientes e identificação de variáveis confundidoras para a fadiga, alterações no padrão de sono e citocinas. A técnica utilizada para dosagem das citocinas foi a citometria de fluxo. A amostra final foi composta de 33 crianças e adolescentes hospitalizados, com idade entre 8 e 18 anos. Considerando os 14 domínios do instrumento utilizado para avaliar a fadiga (PedsQLTM), seis se correlacionaram entre si, o que confirma que o mesmo paciente pode experimentar a fadiga de forma multidimensional. Os resultados mostraram ainda uma correlação negativa entre os escores da "fadiga geral" e a citocina IL-1 β ($r=-0,361$, $p=0.039$). Observou-se uma correlação entre o padrão de sono e as citocinas IL-10 e IL-12p70. A eficiência do sono ($r=0.452$, $p=0.018$) e a porcentagem do sono ($r=0.384$, $p=0.048$) se correlacionaram positivamente com a citocina IL-10. Enquanto que a duração do sono se correlacionou positivamente com a citocina IL-12p70 ($r=0.604$, $p=0.001$). Observou-se uma correlação negativa entre a IL-1 β e o escore total de qualidade de vida ($r=-0.382$, $p=0.028$). Os resultados dessa pesquisa indicam fortemente que pode haver uma relação entre as citocinas com a fadiga, o padrão de sono e a QV em crianças e adolescentes com câncer.

Palavras chave: Neuroimunomodulação. Citocinas. Fadiga. Transtornos do Sono. Oncologia Médica.

ABSTRACT

BOMFIM, E. O. **Correlations among pro and anti-inflammatory cytokines with fatigue, sleep patterns and life quality in children and adolescents with cancer** 2014. 148f. Master's thesis – University of São Paulo at Ribeirão Preto College of Nursing, 2014.

Several studies have explored the hypothesis of involvement of the immune system in the fatigue and changes in sleep patterns in adults with cancer via release of cytokines. However, studies with children and adolescents affected by malignant neoplasms are globally scarce and absent in Brazil. The objective of this research was to investigate the plasma levels of IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , IL-12p70 and correlate them with fatigue, sleep patterns and quality of life (QoL) in children and adolescents with cancer. This is a quantitative, descriptive cross-sectional study, conducted at the Pediatric Oncology Service at the University Hospital of the Ribeirão Preto School of Medicine, from January 2013 to March 2014. It was collected 4ml of blood for measurement of cytokines, and clinical data for patients characterization and identification of misleading variables for fatigue, sleep patterns and cytokines. The technique used for the cytokines dosage was flow cytometry. The final sample consisted of 33 hospitalized children and adolescents aged between 8 and 18 years. Considering the 14 domains of the instrument used to assess fatigue (PedsQLTM), six correlated with each other, confirming that the same patient may experience fatigue in a multidimensional way. The results also demonstrated a negative correlation between the scores of general tiredness and cytokine IL-1 β ($r=-0.361$, $p=0.039$). There was a correlation between the sleep pattern and IL-10 and IL-12p70 cytokines. The sleep efficiency ($r=0.452$, $p=0.018$) and percentage of sleep ($r=0.384$, $p=0.048$) were positively correlated with IL-10 cytokine. While the duration of sleep was positively correlated with the cytokine IL-12p70 ($r=0.604$, $p=0.001$). There was a negative correlation between IL-1 β and quality of life total score ($r=-0.382$, $p=0.028$). The results of this research indicate that there may be a relationship between cytokines and fatigue, sleep patterns and QoL in children and adolescents with cancer.

Keywords: Neuroimmunomodulation. Cytokines. Fatigue. Sleep Disorders. Medical Oncology.

RESUMEN

BOMFIM, E, O. **Correlaciones entre citosinas pró y antiinflamatorias con la fatiga, patrón de sueño y calidad de vida en niños y adolescentes con cáncer.** 2014. 148f Disertación (Maestría) – Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Diversos trabajos tienen explorado la hipótesis de participación del sistema inmunológico, por medio de la liberación de citosinas, en la fatiga y alteraciones en el patrón de sueño, en adultos con cáncer. Sin embargo, estudios con niños y adolescentes acometidos por neoplasias malignas son escasos internacionalmente y ausentes en Brasil. El objetivo de este trabajo ha sido investigar los niveles plasmáticos de las citosinas IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , IL-12p70 y correlacionarlos con la fatiga, el patrón de sueño y la calidad de vida (QV) en niños y adolescentes con cáncer. Se trata de un estudio cuantitativo, del tipo descriptivo, transversal, realizado en el Servicio de Oncología Pediátrica del Hospital de las Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, a partir de enero 2013 a marzo 2014. Fueron colectados 4ml de sangre para dosificación de las citosinas, además de datos clínicos para caracterización de los pacientes e identificación de variables confundidoras para la fatiga, alteraciones en el patrón de sueño y citosinas. La técnica utilizada para la dosificación de las citosinas fue la citometría de flujo. La muestra final fue compuesta de 33 niños y adolescentes hospitalizados entre 8 y 18 años. Teniendo en cuenta los 14 dominios del instrumento utilizado para evaluar la fatiga, seis fueron correlacionados entre sí, lo que confirma que el mismo paciente puede experimentar fatiga de una manera multidimensional. Los resultados también mostraron una correlación negativa entre los scores de la "fatiga general" y la citosina IL-1 β ($r=-0,361$, $p=0.039$). Se percibió una correlación entre el patrón de sueño y las citosinas IL-10 e IL-12p70. La eficiencia del sueño ($r=0.452$, $p=0.018$) y el porcentaje del sueño ($r=0.384$, $p=0.048$) se correlacionaron positivamente con la citosina IL-10. Mientras la duración del sueño se correlacionó positivamente con la citosina IL-12p70 ($r=0.604$, $p=0.001$). Se percibió una correlación negativa entre la IL-1 β y el score total de calidad de vida ($r=-0.382$, $p=0.028$). Los resultados de esa investigación indican fuertemente que puede existir una relación entre las citosinas con la fatiga, el patrón de sueño y la QV en niños y adolescentes con cáncer.

Palabras clave: Neuroinmunomodulación. Citosinas. Fatiga. Trastornos del Sueño. Oncología Médica.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Dendograma representativo dos sintomas associados com o câncer e o seu tratamento.....	24
Figura 2 -	Atuação das citocinas pró e anti-inflamatórias na inflamação.....	31
Figura 3 -	Algoritmo com as variáveis do estudo.....	46
Figura 4 -	Fatores confundidores ou modificadores de efeito para as variáveis fadiga, padrão de sono, qualidade de vida e níveis de citocinas.....	47
Figura 5 -	Fluxograma do protocolo utilizado para obtenção do plasma para dosagem das citocinas.....	50
Figura 6 -	Distribuição em <i>box plot</i> dos valores das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α . Ribeirão Preto, 2014	62
Figura 7 -	Gráficos de dispersão das citocinas IL-1 β e IL-6 em relação ao tempo de tratamento. Ribeirão Preto, 2014.....	69
Figura 8 -	Gráficos de dispersão das citocinas IL-8 e IL-10 em relação ao tempo de tratamento. Ribeirão Preto, 2014.....	70
Figura 9 -	Gráficos de dispersão das citocinas IL-8 e IL-10 em relação ao tempo de tratamento. Ribeirão Preto, 2014.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Descrição das variáveis demográficas, características clínicas e dados do hemograma, segundo o diagnóstico. Ribeirão Preto, 2014.....	56
Tabela 2 -	Média (MD) e desvio padrão (DP) das citocinas e dados do hemograma geral, segundo a idade e os grupos de diagnóstico. Ribeirão Preto, 2014.....	61
Tabela 3 -	Média (MD) e desvio padrão (DP) dos escores da PedsQL™-Escala Multidimensional do Cansaço e do Inventário Pediátrico de Qualidade de Vida, módulo genérico e módulo câncer, quanto ao diagnóstico e idade. Ribeirão Preto, 2014.....	65
Tabela 4 -	Média (MD), desvio (DP), número máximo (Máx.) e mínimo (Mín.) dos parâmetros do sono obtidos por meio do <i>actigraph</i> , em minutos e porcentagem. Ribeirão Preto, 2014.....	66
Tabela 5 -	Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla, considerando como variável dependente a dimensão “dificuldades cognitivas”. Ribeirão Preto, 2014.....	67
Tabela 6 -	Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla, considerando como variável dependente a dimensão “fadiga mental”. Ribeirão Preto, 2014.....	67
Tabela 7 -	Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla, considerando como variável dependente a dimensão “fadiga em relação ao sono”. Ribeirão Preto, 2014.....	68
Tabela 8 -	Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla, considerando como variável dependente o escore “fadiga total”. Ribeirão Preto, 2014.....	68
Tabela 9 -	Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla, considerando como variável dependente a dimensão “fadiga geral”. Ribeirão Preto, 2014.....	68
Tabela 10 -	Resultado da correlação entre tipo de tratamento e níveis de citocinas pela comparação das médias com o teste Mann-Whitney U. Ribeirão Preto, 2014.....	69
Tabela 11 -	Correlações estatisticamente significativas encontradas por meio do coeficiente de correlação de postos de <i>Spearman</i> ρ (rho).....	72

LISTA DE SIGLAS

GEPEG	Grupo de Estudos e Pesquisas em Enfermagem em Genética e Genômica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
INCA	Instituto Nacional do Câncer
QV	Qualidade de Vida
FRC	Fadiga Relacionada ao Câncer

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	20
	2.1 O câncer infanto-juvenil.....	21
	2.2 <i>Clusters</i> de sintomas neuropsicológicos no câncer infanto-juvenil.....	23
	2.3 Aspectos imunológicos e moleculares da fadiga relacionada ao câncer e alterações no padrão de sono.....	27
3	JUSTIFICATIVA.....	39
4	OBJETIVOS.....	41
	4.1 Objetivo geral.....	42
	4.2 Objetivos específicos.....	42
5	MÉTODO.....	43
	5.1 Delineamento metodológico.....	44
	5.2 Local do estudo.....	44
	5.3 Amostra.....	44
	5.3.1 Critérios de Inclusão.....	45
	5.3.2 Critérios de Exclusão.....	45
	5.4 Variáveis utilizadas no estudo.....	45
	5.5 Coleta de dados.....	46
	5.5.1 Instrumentos utilizados para coleta de dados.....	48
	5.6 Coleta de sangue.....	49
	5.6.1 Processamento e armazenamento das amostras biológicas.....	50
	5.7 Quantificação das citocinas.....	50
	5.8 Análise dos dados.....	52

	5.9 Aspectos Éticos.....	54
6	RESULTADOS.....	55
	6.1 Características clínicas e demográficas da amostra.....	56
	6.2 Níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em crianças e adolescentes com câncer.....	59
	6.3 Escores PedsQL™ Escala Multidimensional do CansaçoPedsQL™ e do Inventário Pediátrico de Qualidade de Vida, módulo genérico e módulo câncer.....	63
	6.4 Padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer.....	66
	6.5 Correlação entre os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, com o padrão de sono e com os fatores confundidores.....	66
7	DISCUSSÃO.....	75
	7.1 Níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em crianças e adolescentes com câncer.....	76
	7.2 Correlação entre citocinas e a fadiga relacionada ao câncer em crianças e adolescentes com câncer.....	83
	7.3 Correlação entre citocinas e o padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer.....	88
	7.4 Correlação entre citocinas e a qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer.....	93
	7.5 Fatores confundidores relacionados à fadiga e às alterações no padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer.....	94
	7.5.1 Níveis de hemoglobina e anemia.....	96
	7.5.2 Tipo de câncer e tratamento.....	97
	7.5.3 Contagem de leucócitos.....	100
	7.5.4 Fase do tratamento.....	105
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	108
	REFERÊNCIAS.....	112
	APÊNDICES.....	138
	ANEXOS.....	142

INTRODUÇÃO

A progressão do câncer e o tratamento dessa doença podem levar ao desenvolvimento de múltiplos sintomas ao longo da vida do paciente oncológico (KIM, et al., 2013). Alguns desses sintomas são a fadiga, as alterações no padrão do sono, a dor neuropática, a disfunção cognitiva e a depressão. Esses sintomas podem dirimir o estado funcional do indivíduo e a sua qualidade de vida e podem ocorrer isoladamente ou como um *cluster* de sintomas (KIM et al., 2013).

A fadiga é uma experiência subjetiva e difusa que envolve aspectos físicos, psicológicos e cognitivos. Esse sintoma é considerado uma sensação física desagradável, cuja duração e intensidade variam, sendo capaz de reduzir em diferentes graus a capacidade de realizar atividades habituais (STONE; MINTON, 2008). Apesar de a fadiga ser um sintoma que pode ser experimentado tanto por pessoas saudáveis como doentes, estudos anteriores sugerem que os estressores relacionados ao câncer, tais como o diagnóstico, o estigma da doença, as intervenções cirúrgicas, os tratamentos, dentre outros, provocam um declínio na capacidade de cognição, no sono, na força muscular e nos hábitos nutricionais do paciente (OLSON et al., 2008; OLSON, 2007). Esses fatores associados podem levar a fadiga que, em oncologia, passou a ser designada de Fadiga Relacionada ao Câncer (FRC) (OLSON, 2007). Esse é o principal sintoma experimentado por adultos, crianças e adolescentes com câncer durante o tratamento, apresentando-se com frequência e magnitude variáveis, de acordo com o curso da doença (BAGGOTT et al., 2010; MIASKOWSKI et al., 2010; CAMPOS; RIECHELMANN; DEL GIGLIO, 2011).

Alguns fatores físicos podem contribuir para o desenvolvimento da FRC, tais como: o estado hipermetabólico associado com o crescimento tumoral; anemia (a principal causa reversível de FRC), a competição entre o organismo e o tumor por nutrientes; a ingestão nutricional inadequada (associada a náuseas e vômitos decorrentes da terapêutica antineoplásica); os efeitos deletérios da quimioterapia e da radioterapia; o aumento do trabalho respiratório (maior atividade da musculatura acessória respiratória); e as alterações no padrão do sono (JEAN-PIERRE et al., 2007; JONG et al., 2006). Ademais, também destacam-se aspectos emocionais como: a incerteza quanto ao futuro; o medo da morte e das mutilações e, em alguns casos, a perda dos papéis de manutenção da família também têm sido associados à FRC (JEAN-PIERRE et al., 2007; JONG et al., 2006).

Trabalhos pregressos já demonstraram uma relação inversamente proporcional entre o nível de fadiga em pacientes oncológicos e o sono durante a noite, ou seja, quanto maior a fadiga, menor o período de sono (BERGER, 1998; MORMONT, 1997). Essa relação surgiu por se acreditar que a fadiga pode afetar a quantidade e a qualidade dos ciclos de sono ou vigília e vice-versa. Os distúrbios do sono, tais como a insônia, apresentam alta taxa de prevalência em pacientes oncológicos, a qual varia de 24 a 95% (GRACI, 2005; GEDALY-DUFF et al., 2006).

Em um estudo recente com 398 pacientes com câncer de mama identificou-se diferentes níveis de perturbações do sono. Os pacientes que eram mais jovens e tinham maior número de comorbidades e performance funcional diminuída eram mais propensos a ter distúrbios do sono mais severos. Variações em três genes de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-13 e NF-k β também foram encontradas nessa população (ALFARO et al., 2013).

Uma pesquisa realizada com o objetivo de determinar a gravidade do distúrbio do sono e alterações no ciclo circadiano constatou que, além desse distúrbio correspondera terceira comorbidade mais frequente nos sujeitos em tratamento de câncer, depois da dor e da fadiga, este foi um dos problemas mais associado à perda da qualidade de vida. Adicionalmente, no paciente com câncer a presença da fadiga pode desencadear episódios de sonolência diurna, os quais podem acarretar alterações no padrão do sono noturno (GRUTSCH et al., 2011).

A fisiopatologia e a gênese tanto da fadiga como de alterações no padrão do sono, ainda não foram completamente compreendidas em pacientes oncológicos (KIRKOVA; AKTAS; WALSH, 2010). Acredita-se que essa incompreensão possa influenciar o fato de esses sintomas serem frequentemente ignorados e subestimados clinicamente (MIASKOWSKI et al., 2010; VARNI et al., 2002).

Grupos de pesquisa em todo o mundo têm coordenado esforços para alcançar um consenso sobre a progressão do câncer e o aparecimento, assim como, a permanência dos seus *clusters* de sintomas. O sistema imunológico tem sido reconhecido como um importante elemento no desenvolvimento desses sintomas durante a doença (BOWER et al., 2003; SERUGA et al., 2008, BARSEVICK et al., 2010; LAINE; IYENGAR; PANDITA, 2013; LANG; BORGWARDT, 2013).

De forma geral, as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias são componentes centrais no processo de inflamação e muitas podem permanecer em atividade durante toda a trajetória do câncer; em adição, essas moléculas participam

da interação entre as células do microambiente tumoral em resposta ao tratamento e progressão da neoplasia (SERUGA, et al., 2008). O processo de inflamação induzido pelo câncer altera os níveis de mediadores celulares, tais como as citocinas inflamatórias, os radicais livres, os fatores de crescimento, as espécies reativas de oxigênio, as prostaglandinas e microRNAs específicos (CHOW; MÖLLER; SMYTH, 2011). Diversas doenças crônico-degenerativas, tais como o câncer, diabetes, obesidade e o infarto do miocárdio, têm sido caracterizadas pela instalação de um quadro inflamatório crônico, com consequente aumento nas concentrações plasmáticas de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF- α) (PEDERSEN; FISCHER, 2007; SERUGA et al., 2008; BARSEVICK et al., 2010).

O papel dos fatores imunológicos no desenvolvimento de sintomas como a fadiga e alterações no padrão do sono tem sido investigado nas últimas décadas por pesquisadores de diversas áreas, incluindo enfermeiros (SALIGAN; KIM, 2012; MIASKOWSKI, et al. 2010). A maioria dessas investigações relatam que alterações nos genes que codificam algumas citocinas pró-inflamatórias, bem como concentrações elevadas dessas proteínas, podem contribuir para as diferenças na gravidade de diversos sintomas em pacientes com câncer (REYES-GIBBY et al., 2008; LYON et al., 2011; ILLI et al., 2012; MIASKOWSKI et al. 2010). Estudos consideram que os níveis de citocinas e polimorfismos genéticos dos genes codificadores dessas proteínas podem, portanto, ter um papel na etiologia da fadiga e de outros sintomas (SALIGAN; KIM, 2012; MIASKOWSKI et al., 2010).

2.1 O câncer infanto-juvenil

As neoplasias malignas figuram como a segunda causa de morte por doença no mundo, no Brasil, e no município de Ribeirão Preto (WHO, 2014; BRASIL, 2014, RIBEIRÃO PRETO, 2001). O câncer infanto-juvenil corresponde entre 1% a 3% de todos os tumores malignos. No mundo são diagnosticados mais de 160.000 casos por ano (WHO, 2014). Essa é uma doença crônica, com elevado ônus socioeconômico e por isso tem sido considerada como uma importante questão de saúde pública global (NASCIMENTO, 2003).

Em nosso país, dados da última estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA), apontaram que o câncer já representa a primeira causa de morte por doença entre crianças e adolescentes de 1 a 19 anos, para todas as regiões brasileiras (BRASIL, 2011). A partir dos cinco anos, o óbito por câncer corresponde à primeira causa de morte por doença em meninos e meninas. Estima-se, no Brasil, para o ano de 2014 a ocorrência de aproximadamente 11.840 casos novos de câncer em crianças e adolescentes até os 19 anos (BRASIL, 2014).

O câncer infantil, de modo análogo ao câncer em adultos, corresponde a um grupo de várias doenças que tem em comum a proliferação descontrolada de células anormais e que pode ocorrer em qualquer sítio anatômico (BAILEY; SKINNER, 2010). A neoplasia mais frequente nessa fase da vida é a leucemia, correspondendo a 25% e 35% de todos os tipos de malignidades pediátricas, principalmente a leucemia linfóide aguda (LLA) que é a de maior ocorrência entre 0 a 14 anos (BRASIL, 2014). Em países em desenvolvimento, os linfomas ocupam o segundo lugar e os tumores do sistema nervoso central (SNC) o terceiro, os quais ocorrem principalmente em crianças menores de 15 anos, com um pico na idade de 10 anos e correspondem a cerca de 8% a 15% das neoplasias pediátricas (BRASIL, 2014). No Brasil a incidência do câncer infantil se assemelha a dos demais países em desenvolvimento (BRASIL, 2014).

A etiologia das neoplasias pediátricas ainda não está completamente esclarecida (BRASIL, 2014). Do ponto de vista clínico, os tumores pediátricos apresentam menores períodos de latência, em geral crescem rapidamente e são mais agressivos, porém respondem melhor ao tratamento e são considerados de bom prognóstico (BRASIL, 2014). Nas faixas etárias mais precoces (0 a 4 anos)

há maior propensão ao desenvolvimento do câncer, regra que não se aplica aos linfomas, carcinomas e tumores ósseos. Esses cânceres predominam em crianças entre 10 e 14 anos (BRASIL, 2014).

Os tumores infantis correspondem a um grupo altamente específico, quando comparado ao câncer em adulto. Entretanto, os sinais e sintomas são inespecíficos e tornam o câncer infantil de difícil diagnóstico (BAILEY; SKINNER, 2010). O câncer pediátrico geralmente afeta as células do sistema sangüíneo e dos tecidos de sustentação, enquanto que o de adultos acomete as células do epitélio, que recobrem os diferentes órgãos. Geralmente de origem embrionária, o câncer na faixa etária pediátrica pode se originar a partir do sistema reticuloendothelial, do sistema nervoso central, do tecido conectivo e de vísceras, ao passo que tumores epiteliais são extremamente raros. Por ser predominantemente de natureza embrionária, e constituídos de células indiferenciadas, o câncer infantil tem em geral uma melhor resposta aos métodos terapêuticos atuais (BRAGA; LATORRE; CURADO, 2002; LINET; WACHOLDER, 2003).

Graças à moderna abordagem multidisciplinar, o câncer infantil pode atingir índices de cura de 60% a 70%, mas, para tal, é imprescindível o diagnóstico precoce e realização do tratamento em centros especializados (BRASIL, 2014). Os avanços terapêuticos têm resultado em maior sobrevida e declínio substancial da mortalidade (SCHEURER; BONDY; GURNEY, 2010).

Os progressos nos regimes de quimioterapia e planos de radiação refinados são exemplos de variáveis que têm permitido o aumento da sobrevida desses pacientes. Em números, já é possível dizer que a taxa média de 5 anos de sobrevida para o câncer infantil é esperada, hoje, em mais de 80% dos casos (PARTAP, 2012; HOWLADER et al., 2012).

Aumentar a sobrevida desses pacientes significa repensar a qualidade de vida pós-tratamento. Essa preocupação deve estar impressa durante todo o tratamento, antes mesmo do prognóstico e cura. Apesar dos avanços em procedimentos diagnósticos específicos e a introdução e melhoria contínua de estratégias de tratamento multimodal, o câncer infantil permanece um desafio tanto do ponto de vista da saúde pública, bem como, para os pacientes, sua família e para os oncologistas (KAATSCH, 2010).

2.2 *Clusters* de sintomas neuropsicológicos no câncer infanto-juvenil

Crianças e adolescentes geralmente apresentam um conjunto ou *cluster* de sintomas em resposta a variações no seu estado de saúde (HENLY; KALLAS; KLATT et al., 2003; RODGERS; HOOKE; HOCKENBERRY, 2013), de modo que cada doença apresentará um conjunto de sintomas específicos, quer sejam sintomas físicos ou subjetivos (GIBSON et al., 2005; RODGERS; HOOK; HOCKENBERRY, 2013). Em pacientes oncológicos, esses sintomas podem ser físicos (isto é, a fadiga, dor, náuseas, vômito), neurocognitivos (distúrbios do sono e distúrbios cognitivos) e psicossociais (depressão e ansiedade) (RODGERS; HOOK; HOCKENBERRY, 2013).

Um *cluster* de sintomas é definido como um conjunto de sintomas emocionais, comportamentais e físicos que se agrupam, dois a dois ou mais. Ocorrem simultaneamente, estão relacionados entre si e podem se manifestar independentemente de outros grupos. Os sintomas de um *cluster* mantêm relações mais fortes entre si do que com aqueles fora do *cluster* (DODD; MIASKOWSKI; LEE, 2004; KIM et al., 2005; KIM et al., 2012).

Apesar de já terem transcorrido mais de 20 anos desde que o termo "*cluster* de sintomas" foi aplicado no contexto dos sintomas relacionados ao câncer (DODD, 2001; DODD, PAUL, 2001), ainda há controvérsias conceituais e metodológicas acerca desse assunto (BARSEVICK, ATKAS, 2013). A investigação desses *clusters* se mantém como campo emergente capaz de lançar luz aos mecanismos e manejo dos sintomas descritos na literatura (BAGGOTT et al., 2012). Entretanto, a identificação dos *clusters* de sintomas tornou-se mais comum em pacientes adultos; assim, pesquisas em crianças e adolescentes com câncer são limitadas (MIASKOWSKI, et al., 2007; SKERMAN; YATES; BATTISTUTTA, 2009).

A figura 1 apresenta um dendograma elaborado a partir do agrupamento de sintomas reportados por 527 adultos em tratamento para o câncer, bem como dos sintomas que ocorreram em conjunto ou independentemente. Foi utilizada a análise de agrupamento hierárquico para agregar os sintomas referidos. Por meio dessa representação é possível identificar os sintomas que estão relacionados (linhas verticais conectadas) e as distâncias entre os mesmos. Os valores de distância de 0 a 25 referem-se às distâncias relativas entre os sintomas, a qual, representa a

probabilidade deles serem encontrados em um mesmo *cluster*. Da esquerda para a direita, os dados mostram uma estreita relação entre os clusters de sintomas cognitivos e afetivos. Os nós no diagrama representam as ligações entre os sintomas. Os *clusters* de sintomas estão codificados por cores. Por exemplo, o grupo de sintomas da fadiga está associado de forma mais próxima com os distúrbios afetivos e de comprometimento cognitivo, do que com os grupos de sintomas gastrointestinais e respiratórios. Inversamente, dor e perturbações do sono continuaram separados de outros sintomas por várias etapas na análise, o que indica que eles são identificados de forma independente (DANTZER; MEAGHER; CLEELAND, 2012).

Figura 1 - Dendrograma representativo dos sintomas associados com o câncer e o seu tratamento. Fonte: (DANTZER; MEAGHER; CLEELAND, 2012).

As pesquisas em oncologia estão, em sua maioria, concentradas no estudo da prevalência e do tratamento de sintomas isolados, ao invés de considerá-los de modo concomitante. Entretanto, sabe-se que, na prática clínica, os sintomas

raramente ocorrem separadamente (BAGGOTT, 2010; HOCKENBERRY, et al., 2011). Eles podem se agrupar criando um efeito sinérgico, que leva a um aumento da sua intensidade, ou um efeito antecessor, o qual pode predizer o desenvolvimento de sintomas futuros, como por exemplo a dor, que na maioria dos casos precede a instalação da fadiga (DODD; MIASKOWSKI; LEE, 2004).

A fadiga é o sintoma mais comumente experimentado durante o tratamento do câncer infantil e, do ponto de vista sintomatológico, fornece a base para explorar as associações e interações com outros sintomas. Sabe-se, por exemplo, que a fadiga está frequentemente associada com as perturbações do sono e a dor (HOCKENBERRY-EATON; HINDS, 2000; HOCKENBERRY; HOOKE, 2007).

A definição mais utilizada de fadiga relacionada ao câncer (FRC) foi proposta pelo *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), que a define como um sintoma persistente, uma sensação de cansaço físico, emocional e cognitivo. Pode ser entendida como uma exaustão relacionada ao câncer, ou ao seu tratamento, que não é proporcional à atividade recentemente realizada, e que poderia interferir na capacidade funcional habitual do paciente (NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK, 2014).

Na população oncológica pediátrica a FRC ocorre em 35,6% a 93% dos casos (COLLINS et al., 2000) com maior nível de fadiga experimentado por aqueles submetidos a tratamento quimioterápico (YEH et al., 2009). As taxas de incidência e prevalência da fadiga também devem ser consideradas a partir do tipo de câncer, tratamentos realizados e o método de mensuração utilizado (JACOBSEN, 2004).

Em um estudo desenvolvido em Taiwan com um total de 144 pacientes pediátricos de câncer, a frequência dos sintomas investigados variou de 52% para a fadiga até a frequência de 10% para "sentir-se nervoso". Os sintomas mais comuns cuja ocorrência foi maior que 40% foram: fadiga, disfagia, sonolência, suor, preocupação, náusea, boca seca, dor e falta de concentração (YEH et al., 2009).

A partir de uma amostra de 39 crianças hospitalizadas com diagnóstico de vários tipos de câncer, detectou-se que os sintomas mais prevalentes foram náusea, fadiga, diminuição do apetite, dor e sensação de sonolência (MILLER; JACOB; HOCKENBERRY, 2011).

Em uma revisão da literatura cujo objetivo foi identificar pesquisas que avaliassem sintomas relacionados ao câncer, quer seja utilizando uma metodologia de medida objetiva do sintoma ou autorrelato de adolescentes. Foram identificados

51 estudos que forneceram evidências de que os sintomas mais comuns em adolescentes com câncer foram fadiga, distúrbios do sono-vigília, dor, náusea, disfagia, distúrbios de humor e desconforto com alterações na aparência (ERICKSON; MACPHERSON; AMERINGER, 2013).

Em um grupo de 121 crianças com câncer, os sintomas mais reportados durante o tratamento foram fadiga, dor e náuseas (HEDSTORM et al., 2003). Collins et al. (2000) apontaram que os sintomas físicos mais comuns cuja prevalência era >35% em um grupo de 160 crianças com câncer, foram: fadiga, dor, sonolência, náusea, tosse e disfagia.

Na população pediátrica com câncer a presença da fadiga pode desencadear episódios de sonolência diurna, os quais podem acarretar alterações no padrão do sono noturno (ANCOLI-ISRAEL; MOORE; JONES, 2001). Esse fato foi confirmado por um estudo sobre fadiga em pacientes com câncer na infância, o qual apontou que elevados escores de fadiga estavam significativamente relacionados com a duração do sono (HINDS et al., 2007).

Em populações saudáveis há relativamente pouco conhecimento sobre as diversas manifestações dos distúrbios do sono. Em pacientes com câncer, em especial nas crianças, menos ainda se conhece (BERGER et al., 2005). Sabe-se que a prevalência de problemas de sono em crianças, na população em geral, é de 30% (ARCHBOLD et al., 2002; VAN LITSENBURG et al., 2010). A prevalência dos distúrbios do sono varia de 30% a 45% entre as crianças e adolescentes com câncer (BAGGOTT et al., 2010; BHATIA et al., 2004; COLLINS et al., 2000; WALKER, GEDALY-DUFF; MIASKOWSKI; NAIL, 2010).

A classificação dos distúrbios do sono na infância segue a nomenclatura empregada para adultos. Para a *International Classification of Sleep Disorders* (ICSD-2), existem oito grandes categorias de distúrbios do sono, cada uma dividida em várias subcategorias. As principais categorias são: insônia, distúrbios respiratórios relacionados ao sono (incluindo apnéia obstrutiva do sono), hipersonia de origem central, distúrbios do sono relacionados ao ritmo circadiano, parassonias, distúrbios do movimento relacionados com o sono, os sintomas isolados e variantes normais, e outros distúrbios do sono (AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE, 2005).

Vários estudos têm demonstrado má qualidade do sono secundário ao tratamento em grande parte dos cânceres (GORDIJN et al., 2013). Zupanec et al.

(2010) relatam que os distúrbios do sono durante a terapia de manutenção, para os casos de LLA na infância, são comuns (87% dos casos) e contribuem para o aumento da fadiga.

Em um estudo que avaliou 70 crianças e analisou a história completa do sono, isto é: polissonografia, o teste múltiplo de latência do sono e uso do *actigraph* (método não invasivo para monitorar o sono), constatou-se que as crianças com problemas mais frequentes e graves do sono foram aquelas com neoplasias do sistema nervoso central, que acometiam o hipotálamo, o tálamo e o tronco cerebral. Dentre essas crianças, a sonolência diurna excessiva foi o problema do sono mais comum, detectado em 60% das crianças com câncer e em 80% das crianças com tumores cerebrais envolvendo o hipotálamo, tálamo e tronco cerebral. Em crianças com leucemia, a insônia esteve presente em 39% e foi o problema do sono mais comum identificado (KALEYIAS; MANLEY; KOTHARE, 2012).

Dada a agressividade do câncer e o enfoque na cura, efeitos colaterais importantes, como a fadiga e os transtornos do sono podem ser ignorados pela equipe de saúde, ou considerados como conseqüências inevitáveis da doença e sua terapêutica, os quais precisam ser suportados (GIBSON et al., 2005; HOCKENBERRY-EATON; HINDS, 2000).

2.3 Aspectos imunológicos da fadiga relacionada ao câncer e alterações no padrão do sono

A maioria dos estudos reportados na literatura, tem abordado a questão dos *clusters* de sintomas com a finalidade de determinar suas taxas de ocorrência e/ou o escore de gravidade do(s) sintoma(s) avaliado(s) (ERICKSON et al., 2011; BAGGOT et al., 2010). No entanto, nos últimos anos, tem sido crescente a produção científica de pesquisadores, em todo o mundo, que investigam os princípios biológicos subjacentes a esses sintomas (KUHN et al., 2009; WALKER; GEDALY-DUFF; MIASKOWSKI, 2010; BAGGOTT et al., 2010; GOEDENDORP et al., 2013). Entender os mecanismos biológicos, bem como entender as especificidades de cada um deles, individualmente e em *clusters*, poderá fornecer ferramentas para o manejo integral dessa experiência vivida por adultos, crianças e adolescentes com câncer.

Compreender a gênese e a etiologia desses sintomas na população pediátrica é particularmente importante, devido a sua potencial influência sobre o desenvolvimento da criança. Acredita-se que alguns desses sintomas podem perdurar por até 10 anos após o tratamento e a cura da doença (KUHNT et al., 2009; WALKER; GEDALY-DUFF; MIASKOWSKI, 2010; BAGGOTT et al., 2010; GOEDENDORP et al., 2013).

Alguns dos sintomas que compõem o *cluster* de sintomas neuropsicológicos foram observados pela primeira vez em animais de laboratório, submetidos à indução de quadros infecciosos e à expressão de citocinas pró-inflamatórias. O resultado dessa indução foi a instalação de um fenômeno denominado *sickness behavior* ou “comportamento doentio”. Esse termo foi cunhado em 1992 por Stephen Kent e colaboradores e é caracterizado pelos seguintes sintomas: fadiga, disfagia, sonolência e comportamento depressivo (KENT et al., 1992). De modo bastante semelhante, em humanos, quadros de fadiga, dor, insônia, depressão e distúrbios cognitivos foram observados em pacientes com câncer, que apresentaram altos níveis de citocinas pró-inflamatórias (BARSEVICK, 2007).

O papel das citocinas e do SNC no desenvolvimento de sintomas subjetivos como a fadiga, a depressão e os transtornos cognitivos pode ser explicado, em parte, pela presença de receptores de citocinas pro-inflamatórias expressos no cérebro. Acredita-se que o fenômeno de *sickness behavior* é mediado pela indução de citocinas no SNC, ativadas por citocinas periféricas, por meio da via endócrina tradicional, através do sangue ou por transmissão direta via nervo vago aferente (DANTZER; KELLE, 2007). A concepção de que o *sickness behavior* ocorre em todos os mamíferos indica que, provavelmente, a comunicação entre o sistema imune e o cérebro tenha sido conservada evolutivamente podendo constituir uma importante resposta adaptativa fisiológica, que favorece a sobrevivência do organismo durante os quadros inflamatórios (DANTZER; KELLE, 2007). Desse modo, quando aplicado a humanos, o termo *cluster* de sintomas neuropsicológicos tem sido proposto analogamente ao estado de *sickness behavior* em animais. Em pacientes com câncer, os sintomas que compõem o referido *cluster* não são os mesmos associados ao *sickness behavior*. Compõem o *cluster* de sintomas neuropsicológicos em adultos, os sintomas: fadiga, dor, insônia, depressão e distúrbio cognitivo (AKTAS, 2013). Pesquisadores sugerem que o *cluster* de sintomas neuropsicológicos compartilha, em parte, de um mesmo mecanismo

biológico do estado de *sickness behaviore* esse mecanismo biológico parece ser orquestrado por componentes do sistema imune denominados citocinas (CLEELAND et al., 2003).

Assim, citocinas relacionadas à indução do *sicknes behavior*, dentre outras, têm sido exploradas como um possível mecanismo subjacente aos *clusters* de sintomas neuropsicológicos (BARSEVICK; FROST; ZWINDERMAN et al., 2010; LIU et al., 2012; DANTZER; MEAGHER; CLEELAND, 2012; BOWER; LAMKIN, 2013; AKTAS, 2013).

As citocinas são pequenas proteínas sinalizadoras liberadas por uma variedade de células que atuam no desenvolvimento e no crescimento celular. Essas proteínas exercem papel central no sistema imune, no qual influenciam as respostas do hospedeiro a infecções, inflamações, doenças crônicas e agudas (CORWIN, 2000; DHABHAR; BURKE; EPEL et al., 2009; BARSEVICK; AKTAS, 2013).

Alguns parâmetros influenciam de modo consistente nas propriedades e classificação dessas moléculas, tais como: o tipo de célula-alvo, a natureza do sinal de ativação, a sua cascata de atuação e o contexto fisiopatológico de ação das mesmas (CAVAILLON, 2001). Quanto a sua constituição, as citocinas são polipeptídeos ou glicoproteínas extracelulares hidrossolúveis (LIN; CALVANO; LOWRY, 2000; SOMMER; WHITE, 2010).

Os membros dessa grande e diversificada família de polipeptídeos de sinalização, produzidas por células de diversas origens embrionárias, não podem ser classificados quanto à célula de origem, pois diferentes tipos de células secretam a mesma citocina. Assim, as citocinas são classificadas, tradicionalmente, como: (1) interleucinas (IL), as quais são identificadas por ordem numérica de descoberta, IL-1 a IL-35; (2) pela atividade funcional que desempenham, por exemplo, os fatores de necrose tumoral (TNF); (3) quimiocinas, que são citocinas quimiotáticas; além dos (4) interferons e fatores de crescimento mesenquimal (RANSOHOFF; BENVENISTE, 2006; JANSSEN et al., 2010). O fenômeno denominado de pleiotropia é observado no comportamento fisiológico dessas proteínas, o que significa que uma única citocina pode agir em diversos tipos de células. Essas são também moléculas de ação redundante, em que ações semelhantes podem ser desencadeadas por diferentes citocinas (ZHANG, AN, 2007). Outra característica importante relacionada à função e cinética das citocinas são as diferentes formas de comunicação que ocorrem quando da produção dessas moléculas (THOMSON; LOTZE, 2003). A

comunicação parácrina ocorre quando uma citocina age em células vizinhas àquelas que a produziram, e que, para tanto, não utilizam a circulação sanguínea. A comunicação autócrina se dá quando uma citocina atua na própria célula que a produziu. Na perspectiva de sinalização celular, ocorre quando o sinal age sobre a própria célula que o emitiu. Essa característica das citocinas é muito presente na intenção de amplificação de sinais, como na retroalimentação positiva e/ou negativa. A comunicação endócrina é aquela na qual a citocina é lançada na corrente sanguínea, atuando em outro sítio celular distante daquele que a produziu (THOMSON; LOTZE, 2003).

Quanto a sua atividade biológica, as citocinas podem ser divididas em pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (CAVAILLON, 2001). Cabe ressaltar, entretanto, que essa classificação apesar de amplamente aceita, é considerada simplista por alguns imunologistas, uma vez que alguns fatores podem influenciar no comportamento de algumas citocinas, ou seja, se elas atuarão como anti ou pró-inflamatórias. Alguns desses fatores são: o tipo da célula-alvo, a natureza do sinal de ativação, a cascata de atuação das citocinas e o contexto fisiopatológico de ação das mesmas (CAVAILLON, 2001).

De modo geral, o grupo de citocinas pró-inflamatórias é composto pelas citocinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, e TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*) (SCHELLERA et al., 2011; KOORTS et al., 2011; SU et al., 2012). O outro grupo é composto por citocinas que são conhecidas por regularem a resposta imune pela diminuição da ativação celular e da produção de mediadores (pró) inflamatórios. Esse é o grupo de citocinas anti-inflamatórias que inclui as citocinas IL-4, IL-10, IL-13 e FTC β (fator transformador de crescimento β) (SCHELLERA et al., 2011; KOORTS et al., 2011; SU et al., 2012). A interação entre citocinas pró e anti-inflamatórias no local da lesão, tumor ou qualquer sítio inflamatório é uma das características da inflamação (CAVAILLON, 2001). Conforme mostra a figura 2, a inflamação é uma resposta biológica complexa a estímulos nocivos, que envolve tanto o aporte vascular local, quanto do sistema imune. Durante uma resposta inflamatória, células migram da corrente sanguínea para os tecidos. Essas células secretam citocinas pró-inflamatórias e contribuem para que uma cascata de sinais inicie e propague a resposta até que, posteriormente, ocorrerá um equilíbrio entre a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias (BURAS; HOLZMANN; SITKOVSKY, 2005; ABBAS, LICHTMAN, 2005).

Figura 2 – Atuação das citocinas pró e anti-inflamatórias na inflamação (BURAS; HOLZMANN; SITKOVSKY, 2005; CULTLER, 2014; R&D SYSTEMS, 2014).

A relação entre câncer e inflamação é descrita na literatura de modo consistente. A inflamação é capaz de induzir a proliferação celular, um processo intrinsecamente relacionado à progressão tumoral (ALLAVENA et al., 2008; MORGENSTERN; ANDERSON, 2012; MA et al., 2010; MATKOWSKYJ, 2013). As citocinas pró-inflamatórias também têm um papel de destaque na instalação do quadro inflamatório e na carcinogênese, o que inclui o desenvolvimento e a latência de sintomas relacionados ao câncer. Dessa forma, estudos demonstram a relação entre altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, bem como polimorfismos genéticos

dessas citocinas, em adultos e crianças com câncer, desde o aparecimento do tumor, até o surgimento de sintomas relacionados à doença, tais como fadiga e alterações no padrão do sono (VALLANCE et al., 2011; CONSTANZO et al., 2012).

Durante a carcinogênese, células inflamatórias do tumor infiltrado irão produzir uma variedade de citocinas, as quais, ora podem contribuir para a progressão do tumor, ora contribuir para a remissão e controle do mesmo. A compreensão de como o sistema imune se comporta durante o processo carcinogênico e nos estágios dos diversos tipos de câncer é um importante passo para o desenvolvimento de novos tratamentos e a concepção mais aprofundada da relação que existe entre o sistema imune e o câncer é parte fundamental dessa compreensão. Por meio da capacidade de imunovigilância, que significa identificar e destruir células tumorais, esse sistema pode ser capaz de inibir o processo neoplásico (TORREZIN; ATHANAZIO, 2008; TRAVÉS; LUQUE; HORTELANO, 2012). Além disso, a pressão seletiva exercida pelo sistema imune sobre as células tumorais, fazendo com que apenas sobrevivam células capazes de burlar a resposta imune dirigida contra elas, integra a capacidade de imunoseleção desse sistema, o qual, tem sido proposto como um modulador do perfil antigênico dos tumores (TORREZIN; ATHANAZIO, 2008).

A inflamação crônica, mediada por citocinas, pode surgir em função do próprio tratamento ou da própria fisiopatologia do câncer, pois esses induzem mudanças a longo prazo na homeostase imunológica, incluindo alterações nos subconjuntos imunes celulares, alterações na expressão e sinalização de receptores *toll-like* e reativação de vírus latente (BOWER, 2007a; BOWER; LAMKIN, 2013).

Em função dos efeitos que essas moléculas exercem sobre os diversos sistemas biológicos, incluindo o SNC, as citocinas podem contribuir para o surgimento de um amplo espectro de sintomas e/ou sinais clínicos. Em relação ao câncer, estudos têm investigado desde o risco que altos níveis dessas citocinas podem oferecer para infecção em crianças com câncer (KARAKURT, et al., 2014). Além do seu papel no desenvolvimento da caquexia, anorexia, febre, dor, fadiga, transtorno do sono e depressão, tanto em adultos como em crianças e adolescentes (BOWER et al., 2003; SERUGA; ZHANG, 2007; BARSEVICK et al., 2010; VALLANCE et al., 2011; LAINE; IYENGAR; PANDITA, 2013; LANG; BORGWARDT, 2013).

Algumas citocinas, tais como, a IL-1, IL-6, TNF- α , destacam-se por estarem

relacionadas à fisiopatologia da fadiga, tanto quanto às alterações no padrão do sono (BARSEVICK et al., 2010). Ademais, há evidências sugestivas de uma associação entre a fisiopatologia da depressão, da ansiedade, da caquexia e a presença de altos níveis das citocinas IL-1, IL-6, INF- γ , TNF- α , TGF- β , IL-10 e fractalina (CX3X) em pacientes adultos com câncer (BOWER et al., 2003; SERUGA et al., 2008; LAINE; IYENGAR; PANDITA, 2013; LANG; BORGWARDT, 2013; BARSEVICK et al., 2010). Essas moléculas são mediadores importantes da resposta imune e estão intrinsecamente relacionadas ao desenvolvimento do câncer, devido ao seu papel no microambiente tumoral, como na possível sinalização da tumorigênese propriamente dita e do processo metastático (ZAROMYTIDOU, 2011).

A IL-1 é primariamente produzida por macrófagos e monócitos, assim como por células não imunológicas, tais como fibroblastos e células endoteliais ativadas durante lesão celular, infecção, invasão e inflamação. Há dois tipos mais conhecidos: IL-1 α e IL-1 β , com 31 a 33 kDa cada. As formas α e β da IL-1 têm atividades semelhantes, suas ações podem ser diretas ou através de mediadores. (ABBAS; LICHTMAN, 2005; OLIVEIRA, et al. 2011; VARELLA, FORTE, 2001). A IL-1 β atua no hipotálamo, exercendo a função de pirógeno endógeno. Também origina um mecanismo de *feedback* de inibição da sua própria produção, pois estimula a liberação de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pela hipófise posterior. O CRH atua na hipófise anterior fazendo com que haja liberação de hormônio adrenocorticotrófico, o qual estimula a região fasciculada do córtex da adrenal, aumentando a produção de corticosteroides, que irão inibir a síntese primária de IL-1 (ABBAS; LICHTMAN, 2005; OLIVEIRA, et al. 2011; VARELLA, FORTE, 2001). Altos níveis da subunidade IL-1 α também têm sido encontrados em crianças diagnosticadas com síndrome de apnéia obstrutiva do sono (ISRAEL et al., 2013).

A IL-6 é uma glicoproteína de 22 a 27 kDa que pode ser produzida por vários tipos celulares, sendo que as células B, células T e monócitos são as principais fontes (ABBAS, LICHTMAN, 2005). A IL-6 é uma citocina pleiotrópica que influencia a resposta imune a antígenos específicos e a reações inflamatórias, sendo um dos maiores mediadores da fase aguda da inflamação (THOMSON; LOTZE, 2003). A IL-6 tem uma ampla gama de atividades biológicas com destaque para a hematopoiese, inflamação, oncogênese, maturação de células B, macrófagos e diferenciação celular (THOMSON; LOTZE, 2003). A IL-6 tem um papel essencial na origem e manutenção da febre, além de ativar o eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal.

Assim como a IL-1, a IL-6 também estimula a produção de ACTH pela hipófise, estabelecendo um mecanismo de *feedback* negativo entre o sistema imune e o eixo neuroendócrino (ABBAS; LICHTMAN, 2005; OLIVEIRA, et al. 2011; VARELLA; FORTE, 2001).

Essa interleucina é uma das mais importantes mediadoras de indução e controle da síntese e liberação de proteínas de fase aguda pelos hepatócitos, sobretudo durante estímulos dolorosos, como trauma, infecção, operação e queimadura (LIN; CALVANO; LOWRY, 2000; HONG; LIM, 2008). Resultados de um estudo realizado em ratos indicam que a inibição contínua de IL-6, entre as fases iniciais e subaguda, após uma lesão medular, leva à recuperação neurológica e à supressão de hiperalgesia (MURAKAMI; KANCHIKU; SUZUKI et al., 2013). Concentrações plasmáticas de IL-6 são detectáveis 60 minutos pós-lesão, com pico entre 4 e 6 horas, podendo persistir por 10 dias. É considerado o marcador mais relevante do grau de lesão tecidual durante um procedimento cirúrgico, cujo aumento excessivo e prolongado está associado a uma morbidade pós-operatória maior (LIN; CALVANO; LOWRY, 200; HONG; LIM, 2008). Um estudo pioneiro em crianças com câncer concluiu que pacientes que apresentaram polimorfismo genético na região promotora de IL-6 (-174 G>C) apresentaram um número menor de minutos diários do sono ($p=0.028$) (VALLANCE et al., 2011). Além da relação com o sono, estudos tem correlacionado fortemente os níveis plasmáticos e séricos de IL-6 com a fadiga (CHO et al., 2013; ROHLEDER; ARINGER; BOENTERT, 2012).

O TNF- α é uma proteína de 17kDa constituída de 157 aminoácidos, também conhecido como caquetina. É uma citocina pró-inflamatória produzida principalmente por monócitos, macrófagos e linfócitos-T, também presente nos neurônios e células da glia, onde desempenha funções importantes tanto na hiperalgesia inflamatória quanto na neuropática (ABBAS; LICHTMAN, 2005; OLIVEIRA et al., 2011; VARELLA; FORTE, 2001).

Alterações endoteliais, principalmente a perda da função de diminuição de coagulação, a atividade quimiotática e estímulo ao metabolismo oxidativo de fagócitos são ações do TNF- α , compartilhadas com a IL-1 (OLIVEIRA et al., 2011). Essa citocina também apresenta atividade de pirógeno endógeno, além de aumentar a reabsorção óssea, a atividade de adipócitos e a expressão do complexo principal de histocompatibilidade I e II (MHCI e II) (ABBAS; LICHTMAN, 2005; OLIVEIRA et

al., 2011; VARELLA; FORTE, 2001). Após procedimento cirúrgico, trauma ou durante as infecções, o TNF- α é um dos mediadores iniciais e potentes da resposta inflamatória (BITTAR et al., 2006). Embora sua meia-vida plasmática seja de apenas 20 minutos, é suficiente para provocar mudanças metabólicas e hemodinâmicas importantes e ativar distalmente outras citocinas. O TNF- α é um potente indutor de metabolismo muscular e caquexia, por estimular a lipólise e inibir a lipoproteína lipase, sendo considerado o principal mediador na caquexia das neoplasias malignas (LAINE; IYENGAR; PANDITA, 2013). Entretanto, devido a sua atividade biológica de acentuar a citólise e a citoestase, em diferentes linhagens neoplásicas, essa citocina também apresenta ação antitumoral (LAINE; IYENGAR; PANDITA, 2013). Atualmente ele é usado no tratamento de alguns cânceres como o sarcoma de tecidos moles, os tumores irresssecáveis de vários tipos histológicos e metástases de melanoma (EGGERMONT; WILT; HAGEN, 2003). Cumpre ressaltar, que o uso clínico TNF- α , como uma droga anticâncer, tem sua ação limitada, devido a sua toxicidade sistêmica (CURNIS; SACCHI; BORGNA, 2000).

O TNF- α tem sido associado com alterações de neurotransmissão no sistema nervoso central e pode estar associado a variações no padrão de sono em adultos (RYAN et al., 2007). O TNF- α e a IL-1 β são citocinas multifuncionais, que têm sido reconhecidas não apenas pelo seu papel crucial na inflamação, mas como elementos importantes na regulação do sono, aprendizado e até no envelhecimento (KRUEGER, 2008; PAREDES et al., 2010; REN et al., 2011). Há descrito que o TNF- α e a IL-1 β melhoram o sono profundo, porém a inibição dessas moléculas reduzem o sono espontâneo. Esse fato foi ratificado pela demonstração de que a injeção exógena de TNF- α e IL-1 β , em animais ou humanos, induziu a sonolência e provocaram o excesso de sono (KRUEGER, 2008). A comunicação entre o cérebro e o sistema imunológico orquestram as respostas fisiológicas e comportamentais. Essa comunicação ativa uma cascata de citocinas pró-inflamatórias, tais como, IL-1 β , IL-6, TNF α (CLEELAND; BENNETT; DANTZER, 2003; WOOD; WEYMANN, 2013). Quando liberadas na periferia, essas citocinas poderão agir no cérebro por meio do nervo vago, do plexo coróide e de órgãos circunventriculares ou poderão atravessar diretamente a barreira hematoencefálica causando neuroinflamação (DANTZER, 2001; MAIER, 2003).

A IL-8 foi originalmente caracterizada e isolada pela primeira vez pela sua habilidade de induzir a ativação de neutrófilos. A variedade de células produtoras de

IL-8 e de células estimuladas por essa citocina tem se estendido de modo consistente desde a sua descoberta em 1987 (THOMSON; LOTZE, 2003). Os principais produtores dessa citocina são monócitos/macrófagos, células endoteliais e em menor quantidade os fibroblastos, queratinócitos, melanócitos, hepatócitos e condrócitos. É normalmente estimulada por IL-1 α e β , TNF- α e IFN- γ (VARELLA; FORTES, 2001; THOMSON; LOTZE, 2003). A sua principal ação é o significativo estímulo migratório das células do sistema imune, principalmente neutrófilos, determinando ainda um aumento da expressão de moléculas de adesão, como a L-selectina, por células endoteliais (VARELLA; FORTES, 2001; THOMSON; LOTZE, 2003). A descoberta de que a IL-8 pode desempenhar o papel de mitógeno e fator angiogênico levou os pesquisadores a identificar o seu papel na progressão do câncer, de modo que o pH baixo no sítio do tumor contribui para a expressão aumentada de IL-8 (SHI et al., 2000; XIE, 2001).

Em 16 pacientes com síndrome da fadiga crônica, foram encontrados altos níveis de citocinas IL-8, IL-10, TNF- α e IL-1 α e β , além disso, a intensidade da fadiga correlacionou-se com os níveis de IL-8 (NEU et al., 2014). Em uma pesquisa com pacientes com câncer em estágio avançado, foi encontrado que polimorfismos no gene que codifica a IL-8 foi o fator genético que contribuiu com maior relevância para a fadiga (OR=2.07, IC 95%=1.16-3.70) (REYES-GIBBY et al., 2013).

A IL-12 é um heterodímero de 70 kDa (p70), formada por duas cadeias ligadas de forma covalente e glicosiladas de aproximadamente 40 (p40) e 35 (p35) kDa (THOMSON; LOTZE, 2003). A expressão simultânea de dois genes que codificam a IL-12, ou seja, os genes das cadeias p35 e p40 é necessária para a produção da IL-12. O controle da produção de IL-12 é complexo. As células mononucleares do sangue periférico humano produzem níveis baixos de IL-12, a qual pode ser aumentada para até 1 ng/ml na presença de produtos bacterianos (THOMSON; LOTZE, 2003). Esta é uma citocina central na resposta imune, produzida principalmente por células fagocíticas e outros tipos celulares, e que, no processo inflamatório, está relacionada a apresentação de antígenos. Em um estudo que analisou a produção de IL-12 a partir de células polimorfonucleares, identificou-se que as principais células produtoras foram os monócitos, ou macrófagos derivados de monócitos, embora células B também tenham sido detectadas como produtoras. Fontes já estabelecidas de IL-12 são os macrófagos, neutrófilos e células B estimuladas (HEUFLER et al., 1996). A IL-12 induz a produção de várias

citocinas, de células T e NK, incluindo IFN- γ , TNF- α , OM-CSF, M-CSF, IL-3. Assim, a IL-12 representa uma ponte entre a resistência inata e a resposta imune adaptativa. Está envolvida na diferenciação de células T *naïve* e células do padrão T_H1 (THOMSON; LOTZE, 2003). É produzida no início da resposta inflamatória a agentes infecciosos ou outros antígenos, e induz a produção de IFN- γ principalmente pelas células NK e pelas células T (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A IL-4 e a IL-10 inibem a indução de IFN- γ por IL-12 e a IL-6 não trabalha de modo convergente à IL-12 na produção de IFN- γ (THOMSON; LOTZE, 2003).

Em um estudo com 75 indivíduos com adenocarcinoma de pâncreas com e sem depressão diagnosticada, foi detectada uma correlação entre a severidade da dor e a citocina IL12p70 (BREITBART et al., 2014). Além disso, evidências tem mostrado que a IL-12, assim como a IL-10, pode desempenhar um papel importante no padrão de sono de indivíduos saudáveis e/ou doentes (LANGE; DIMITROV; BORN, 2010; BESEDOVSKY et al., 2012; HIROTSU et al., 2012). Muitos parâmetros imunológicos mostram flutuações, no período de 24 horas, nos seus níveis sistêmicos detectáveis. Os níveis circulantes de células T *naïve* e a produção de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-12, com pico de produção durante a noite, têm sido estudadas principalmente no período noturno do sono, a fim de entender as implicações clínicas dessa proteína durante o sono. Por essa razão, alguns estudos tem proposto o estudo mais aprofundado do ciclo circadiano de citocinas relacionadas ao sono. (LANGE; DIMITROV; BORN, 2010).

A IL-10 é uma das principais citocinas anti-inflamatórias e tem um papel importante na inflamação (THOMSON; LOTZE, 2003). Controla processos inflamatórios, dentre várias ações, por meio da supressão da expressão de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, moléculas de adesão, assim como a apresentação de alguns antígenos e supressão da fagocitose. A IL-10 foi originalmente chamada de fator inibitório da síntese de citocinas, como por exemplo, o IFN- γ , IL-6, IL-1, IL-2, IL-12 e TNF- β . Estudos adicionais apoiaram a hipótese de que a IL-10 atenua a expressão do receptor de TNF. Em conjunto, essas evidências indicam que a IL-10 é um potente imunorregulador capaz de contribuir significativamente para diminuir a intensidade da resposta inflamatória local (VARELLA; FORTES, 2001; THOMSON; LOTZE, 2003; OLIVEIRA et al., 2011).

Essa é uma proteína de 34-40 kDa e subunidades de 18kDa, produzida principalmente por células do padrão T_H2, especificamente, macrófagos e linfócitos T

(sobretudo linfócitos T reguladores) (ABBAS; LICHTMAN, 2005). Seus principais alvos celulares são os macrófagos e células dendríticas, sendo seus efeitos biológicos a inibição da produção de IL-12 e da expressão de moléculas coestimuladoras, bem como, moléculas de MHC I e II (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A IL-10 e a IL-4 são citocinas reguladoras importantes. A síntese de IL-10 é inibida por IL-4 e pela sua própria autorregulação. Adicionalmente, a IL-4 inibe o desenvolvimento de células T_H1 , mas aumenta a resposta T_H2 (THOMSON; LOTZE, 2003).

Em indivíduos saudáveis, existe um equilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias. A IL-6 medeia a fase inicial do processo inflamatório, e, em seguida, induz a liberação de IL-10, que exerce efeitos de imunorregulação capazes de debelar a inflamação (KIM et al., 2012). Assim, o sistema imunológico pode responder rapidamente aos fatores agressores e, posteriormente, retornar à homeostase (DHABHAR et al., 2009). Em uma pesquisa com pacientes com câncer em estágio avançado, foi encontrado que polimorfismos no gene que codifica a IL-10 aumentavam o risco para fadiga. Mulheres com o genótipo L/G neste gene tinham 0,49 vezes menos risco de fadiga severa em comparação com aquelas com o genótipo L/L (OR = 0.49, 95% CI = 0.25-0.92, $p=0.027$) (REYES-GIBBY et al., 2013).

Como diversos trabalhos vêm confirmando a hipótese de participação do sistema imunológico, via liberação das citocinas, na indução e manutenção de quadros de fadiga e transtornos de sono em adultos com câncer e os estudos com crianças e adolescentes acometidos por neoplasias malignas são escassos internacionalmente e ausentes no Brasil, faz-se necessário testar a hipótese apresentada por esta proposta de investigação científica, que consiste em verificar se os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias se correlacionam com o sintoma de fadiga e alterações no padrão de sono de crianças e adolescentes com câncer.

JUSTIFICATIVA

A importância de se avaliar sintomas relacionados ao câncer, não se justifica apenas em face do aumento da sobrevida do paciente, mas também em termos de sua qualidade de vida durante e após o tratamento. Esse campo de estudo é atualmente parte integrante dos pilares da pesquisa em oncologia clínica e prioridade para pesquisas em enfermagem oncológica.

A escassez de estudos sobre o *cluster* de sintomas neuropsicológicos minimiza as possibilidades de se estabelecer estratégias para o seu diagnóstico e tratamento bem sucedidas. Os mecanismos que desencadeiam esses sintomas são pouco conhecidos, projetando-se como um desafio à pesquisa nacional e internacional. Desse modo, a necessidade de compreender a patogênese dos sintomas, bem como, a correlação entre eles é algo iminente no campo da enfermagem oncológica, em especial quando essa correlação é sustentada por métodos de investigação de base experimental. Por meio de pesquisas translacionais, ou seja, que buscam integrar a pesquisa clínica e as ciências básicas, traduzindo-se no percurso da bancada do laboratório à cabeceira do paciente, muitos processos fisiopatológicos foram explicados e associados à prática clínica.

Nos últimos anos, o crescimento substancial da pesquisa experimental abriu perspectivas de conhecimento em múltiplas direções. Dessa forma, é imprescindível que também a enfermagem esteja envolvida com essa abordagem de pesquisa, a qual é capaz de subsidiar, por meio de evidências científicas, o cuidado qualificado do enfermeiro. A aplicação das descobertas e dos resultados das investigações realizadas por esses profissionais dão suporte à enfermagem baseada em evidência, prestigiando a autonomia e cientificidade do cuidado em saúde.

Apesar do reconhecimento de sua alta prevalência entre os pacientes oncológicos, a fadiga tem recebido discreta atenção na literatura clínica de enfermagem. Os resultados apresentados por este trabalho poderão colaborar para o desenvolvimento de futuras investigações, que favoreçam o estudo das citocinas como biomarcadores da FRC e das alterações no padrão de sono. Ademais, poderá ser avaliado o efeito de tratamentos antagonistas ou inibidores das citocinas pró-inflamatórias no controle da fadiga, além de propostas de intervenções não-farmacológicas que visem minimizar esses sintomas em crianças e adolescentes com câncer.

OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a existência de correlação entre os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias(IL-1 β , IL-6, IL-8,IL-10, IL-12p70, TNF- α ,) com a fadiga e o padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer.

4.2 Objetivos específicos

- Descrever as características clínicas e os resultados de exames laboratoriais de crianças e adolescentes com câncer.
- Mensurar os níveis plasmáticos de citocinas pró e anti-inflamatórias(IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α ,) em crianças e adolescentes com câncer.
- Avaliar a existência de correlações entre citocinas pró e anti-inflamatórias em crianças e adolescentes com câncer.
- Discutir a influência de fatores confundidores ou modificadores de efeito, relacionados aos níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias, à fadiga e às alterações no padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer.

MÉTODO

5.1 Delineamento metodológico

Esse é um estudo quantitativo, do tipo descritivo e transversal. Polit e Beck (2011) definem estudo de corte transversal como uma metodologia projetada para obter informações sobre uma ou mais variáveis sendo a coleta de dados realizada em um ponto do tempo, ou seja, em determinada época bem delimitada (POLIT; BECK, 2011).

5.2 Local do Estudo

Os dados foram coletados no Serviço de Oncologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP/USP) no período de janeiro de 2013 a março de 2014.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Genômica e Imunobiologia (LGBIO) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP e no Laboratório de Pediatria do Departamento de Puericultura e Pediatria da FMRP/USP.

5.3 Amostra

A amostra final desse estudo foi constituída de 33 crianças e adolescentes com câncer, convidadas a participar da pesquisa de acordo com as internações programadas para quimioterapia e/ou radioterapia. Os casos novos eram convidados a participar da pesquisa após terem realizado pelo menos um ciclo de quimioterapia, posteriormente à confirmação do diagnóstico.

Os pacientes foram selecionados seguindo os critérios de exclusão e inclusão.

5.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas crianças e adolescentes com idade entre 8-18, que tivessem passado por pelo menos um ciclo de quimioterapia e/ou radioterapia; e que apresentassem condições cognitivas para compreender o tipo do estudo e responder às escalas a serem aplicadas.

5.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes com história prévia de doença autoimune ou doença inflamatória crônica; pacientes com doença hepática, renal ou diabetes *mellitus* e pacientes em período pós-operatório imediato.

5.4 Variáveis utilizadas no estudo

As variáveis desse estudo foram os níveis plasmáticos das citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , IL-12p70), as características clínicas dos pacientes como tipo de tratamento (quimioterapia, radioterapia ou cirurgia), diagnóstico (leucemias/linfomas, tumores ósseos, tumores do sistema nervoso central e outros tumores sólidos), e os níveis de hemoglobina, hematócrito, leucócitos, linfócitos, neutrófilos e monócitos. Essas variáveis foram correlacionadas às variáveis fadiga e padrão de sono, tendo sido essas coletadas em colaboração com o projeto de doutorado (processo FAPESP 2010/20055-6) (Figura 3).

Figura 3 - Algoritmo com as variáveis do estudo.

5.5 Coleta de dados

A realização desta pesquisa foi conduzida em colaboração com o projeto de doutorado (processo FAPESP 2010/20055-6), com vigência de: 01/03/2011 à 28/02/2014, intitulado: “Avaliação da fadiga em crianças e adolescentes com câncer e sua relação com padrão de sono e qualidade de vida”. Os objetivos do referido projeto de doutorado foram: a) validar o instrumento utilizado para mensurar a fadiga na faixa etária de 8 a 18 anos. b) avaliar a fadiga, padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer; c) descrever as relações entre fadiga, padrão de sono e qualidade de vida. O projeto foi desenvolvido para obtenção do título de doutor pela aluna Michelle Darezzo Rodrigues Nunes, e foi orientado pela Profa. Dra. Lucila Castanheira Nascimento, tendo como colaboradoras a Profa Dra. Regina Aparecida Garcia de Lima e a pesquisadora estrangeira Profa. Dra. Eufemia Jacob (*University of California – UCLA, Los Angeles, School of Nursing, CA, USA*).

A coleta de dados de ambos os projetos ocorreu de modo concomitante e integrado, por meio da aplicação dos instrumentos para mensuração da fadiga e sono, conforme descrito a seguir junto aos pais das crianças e adolescentes com câncer. Os dados sócio-demográficos e clínicos foram obtidos utilizando-se um instrumento elaborado para esta finalidade (Apêndice 1). Foram realizadas consultas aos prontuários dos participantes do estudo para obtenção dos seguintes dados clínicos: resultados do hemograma mais recente; registro do uso de dexametasona (*on dex* e *off dex*) no momento da pesquisa; diagnósticos (leucemias, linfomas, tumores ósseos, tumores do SNC e outros tumores sólidos) e tratamentos (quimioterapia, radioterapia e cirurgia). Os dados clínicos foram considerados como fatores confundidores ou modificadores de efeito para as variáveis fadiga, padrão de sono, qualidade de vida e níveis de citocinas, uma vez que, segundo reportado na literatura, muitos fatores podem interferir na avaliação dessas variáveis (ERICKSON, 2008; SALIGAN; KIM, 2012). A figura 4 mostra sucintamente quais desses fatores confundidores foram analisados quanto a sua possível correlação com a fadiga, o padrão de sono, qualidade de vida e os níveis de citocinas. As setas vermelhas indicam a possível correlação entre as citocinas e as variáveis centrais (fadiga, padrão de sono e qualidade de vida). As setas pretas indicam a possível interferência dos fatores confundidores, tanto sob as variáveis centrais quanto sob os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias.

Figura 4 - Fatores confundidores ou modificadores de efeito para as variáveis fadiga, padrão de sono, qualidade de vida e níveis de citocinas.

5.5.1 Instrumentos utilizados na coleta de dados

Os instrumentos utilizados foram: o PedsQL™ Inventário Pediátrico de Qualidade de vida- Módulo Genérico versão 4.0 (*The Pediatric Quality of Life Inventory – Generic Core 4.0*), um instrumento modular projetado para medir a qualidade de vida relacionada à saúde em crianças e adolescentes. Foram empregadas as versões do autorrelato da criança (de 8 a 12 anos) e do autorrelato do adolescente (de 13 a 18 anos)(VARNI et al., 2002).

O PedsQL™ Módulo Genérico 4.0 gera o escore total para qualidade de vida a partir da média dos escores de quatro sub-escalas: funcionamento físico, funcionamento emocional, funcionamento social e escolar. Cada escala utiliza uma escala Likert de cinco pontos para perguntar à criança quanto um problema de cada item tem sido ao longo do mês passado (0 = nunca um problema, 1 = quase nunca um problema, 2 = às vezes um problema, 3 = muitas vezes um problema, e 4 = quase sempre um problema). Os escores brutos são transformados em escalas de 0 a 100, sendo 1=100, 2=75, 3=50, 4=25, 5=0. Escores mais altos indicam melhor qualidade de vida relacionada à saúde (VARNI et al., 2002).

O segundo instrumento utilizado foi o PedsQL™ Módulo de Câncer versão 3.0(*PedsQL Cancer Module 3.0*) que avalia o impacto do câncer sobre a qualidade de vida relacionada à saúde de crianças e adolescentes. O PedsQL™ 3.0 Módulo de Câncer é um instrumento de doença específica desenvolvido para medir o impacto dos sintomas e tratamento na qualidade de vida de pacientes pediátricos com câncer. Utilizamos as versões do autorrelato da criança (de 8 a 12 anos) e do autorrelato do adolescente (de 13 a 18 anos). Cada escala utiliza uma escala Likert de 5 pontos. Os escores brutos foram transformados em escalas de 0 a 100, sendo 1=100, 2=75, 3=50, 4=25, 5=0. Escores mais altos indicam menos problemas (VARNI et al., 2002).

Para mensurar a fadiga, foi utilizado o PedsQL™Escala Multidimensional de Cansaço (*PedsQL Multidimensional Fatigue Scale*), que é constituído por três sub-escalas, que inclui a avaliação de fadiga geral; fadiga e sono/repouso e fadiga cognitiva. Todos os itens utilizam uma escala Likert de cinco pontos para as respostas, variando de 1 "nada" a 5 "sempre". Os escores brutos foram transformados em escalas de 0 a 100, sendo 1=100, 2=75, 3=50, 4=25, 5=0. Maior

pontuação indica menores sintomas da fadiga. Utilizamos as versões do autorrelato da criança (de 8 a 12 anos) e do autorrelato do adolescente (de 13 a 18 anos) (VARNI et al., 2002).

Para avaliar o sono, foi utilizado o *actigraph* de pulso (*Wrist Actigraphy*) um dispositivo em formato de relógio com capacidade de armazenamento de dados e períodos de duração programáveis. Esse dispositivo foi usado para monitorar o sono em crianças e adolescentes, pois é profundamente sensível, não incômodo, barato, pode ser usado no hospital ou em casa, e produz dados mais precisos e objetivos do que fazer uma análise dos registros (BRINGHURT et al., 2004).

O uso do *actigraph* permite que uma série de variáveis relacionadas ao sono sejam geradas no momento de análise dos dados. Um programa de pontuação que acompanha este sistema calcula a eficiência e duração do sono. Os pacientes permaneceram com o relógio por pelo menos três dias e usando o software padronizado, foi possível analisar o padrão de sono com base nas seguintes variáveis: *%Sleep* que representa a porcentagem em minutos do sono marcado, considerando também o período de sono leve para cálculo da duração total do sono; *Efficiency*, que significa a eficiência do sono considerada em minutos dormidos por meio da análise dos intervalos e subintervalos do período de sono real, ou seja, considera desde o momento real de início do sono - latência do sono - até o final do último intervalo de sono registrado pelo *actigraph*; *Wake after sleep onset (WASO)* que diz respeito ao acordar após o início do sono ou número de despertares mostrado por meio dos minutos em que o paciente acordou após início do sono real (SADEH;RAVIV; GRUBERI, 2000).

5.6 Coleta de sangue

Paralelamente à coleta dos dados clínicos e sociodemográficos, foram realizadas as coletas de sangue. Após orientações sobre o estudo e leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), cada participante doou uma amostra de sangue venoso periférico (4ml), coletado por meio de punção venosa na fossa cubital (COMISSÃO DE TERMINOLOGIA ANATÔMICA, 2001) realizada paralelamente a uma coleta já solicitada pela equipe médica. Para isso,

foram utilizados tubos a vácuo *Vacutainer® ethyl diamine tetra-acetic acid (EDTA)*, *Becton Dickinson (BD)*, *Franklin Lakes*, EUA.

5.6.1 Processamento e armazenamento das amostras biológicas

Para obtenção do plasma as amostras biológicas coletadas foram processadas seguindo o seguinte protocolo: centrifugaram-se os tubos *vacutainer* contendo sangue por 10 minutos a 4°C, 581.2 g/ 2.000 r.p.m. (*Eppendorf Centrifuge 5810R*). Aliquotou-se com uma pipeta o plasma, o qual foi transferido para microtubos de estocagem. Todo o material aliquotado foi armazenado no freezer a -80°C até a etapa de quantificação das citocinas (Figura 5).

Figura 5 - Fluxograma do protocolo utilizado para obtenção do plasma para dosagem das citocinas.

5.7 Quantificação das citocinas

Foi utilizada a técnica de citometria de fluxo para avaliar os níveis das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α , utilizando BD™ *Cytometric Bead Array (CBA) flex kits* da BD Bioscience. O CBA é uma técnica que utiliza a citometria de fluxo para dosar até 30 moléculas solúveis ao mesmo tempo e em uma pequena

quantidade de amostra. A quantificação é feita por meio da comparação da intensidade de fluorescência da amostra e de uma curva padrão de concentrações conhecidas. O citômetro de fluxo utilizado foi o *BD FACSCanto II*, Becton & Dickson.

O citômetro de fluxo é um aparelho de detecção óptico-eletrônica por meio do qual é possível analisar características físicas e/ou químicas de uma partícula. O princípio básico do citômetro de fluxo é avaliar a emissão de fluorescência das células (FACS - *Fluorescence Activated Cell Sorter*). É constituído por um conjunto de sistemas: (1). Fluídos: introduz as células em suspensão, alinhando-as em um fluxo laminar para serem interceptadas por um par de feixe de luz. (2). Óptico: gera e coleta os sinais de luz. (3). Eletrônico: converte os sinais ópticos em sinais eletrônicos para análise em computador por meio de *softwares* específicos (ORMEROD, 2000, SHAPIRO, 2003).

O kit utilizado foi o *Human Inflammatory Cytokines Kit* (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α - Cat.: 551811; Lot.3281696). De acordo com as instruções do fabricante, a execução da técnica é dividida em três etapas: (1) preparo dos padrões; (2) preparo da mistura das *beads* e (3) execução da reação propriamente dita. Em resumo, inicia-se com a reconstituição das *standard spheres* (padrões) em 2mL de Diluente de Ensaio (*Assay Diluent* - G). Após isso são realizadas diluições seriadas, exceto no tubo controle negativo (CN), de acordo com a seguinte sequência para os tubos: *Top Standard* (TS), 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 e CN. Na etapa de mistura das *beads*, um *pool* dos reagentes (*Beads* de detecção A1 a A6) foi ressuspendido no Tampão de Intensificação de Plasma. Para realização da reação propriamente dita o plasma e as *standard spheres* (padrões) de citocinas do *kit* foram acrescidas da mistura de *beads*. Após incubação (1h30min.), lavagem e centrifugação (1300 rpm por 7 minutos), o sobrenadante foi cuidadosamente, aspirado e descartado. Em seguida foi adicionado o Reagente de Detecção PE, e logo após incubado (3h). Após a incubação (3h), foi acrescentada a solução de lavagem e centrifugação por 7 minutos a 1300 rpm. O sobrenadante foi desprezado. Após esse processo as amostras seguiram para a detecção em citômetro de fluxo.

Os limites de detecção para cada proteína usando o *Kit CBA Human Cytokine Inflammation* foram de: IL-1 β (7.2 pg/mL), IL-6 (2.5 pg/mL), IL-8 (3.6 pg/mL), IL-10 (3.3 pg/mL), IL-12p70 (1.9 pg/mL) e TNF- α (3.7 pg/mL).

5.8 Análise dos dados

Após a coletados dados sociodemográficos e clínicos, bem como dos escores e dos resultados da quantificação das citocinas, essas informações foram codificadas e armazenadas em uma planilha do *software* Excel® (Microsoft Office). As variáveis foram codificadas por dupla digitação, por pesquisadores independentes, e exportadas para o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 19.0 para Windows, onde foram processadas algumas análises e para o *software* R onde foram feitas análises adicionais (SPSS, 2010; R TEAM CORE, 2013).

Variáveis numéricas foram apresentadas como média e desvio padrão, mínimos e máximos. Foi utilizado o teste Shapiro-Wilke a análise gráfica de histogramas para verificar se a distribuição teórica dos dados era normal. Considerou-se normalmente distribuídos os valores de significância superiores a 0.05. A partir desses resultados, testes não-paramétricos foram utilizados para as variáveis cuja normalidade foi rejeitada e que não assumiram nenhuma distribuição teórica para os dados.

Os instrumentos utilizados para mensurar a fadiga e a qualidade de vida (módulo genérico e módulo câncer) geraram ao todo, 3 escores totais, 14 escores relacionados aos domínios de cada instrumento e 69 itens. Identificou-se os escores e domínios mais relevantes para essa pesquisa, uma vez que além de avaliar a fadiga e o sono como objetivo geral, fatores confundidores podem estar relacionados a esses sintomas, os quais, do ponto de vista dos *clusters* de sintomas neuropsicológicos também são relevantes para alcançar resposta às perguntas aqui estabelecidas.

Dessa forma, foram incluídos nas análises estatísticas os seguintes escores da PedsQL: escore "fadigatotal", escore "fadiga geral", escore "fadiga com relação ao sono", escore "fadiga mental" (PedsQL™ Escala Multidimensional de Cansaço); escore "dores e machucados", escore "dificuldades cognitivas" (domínios do PedsQL™ Módulo de Câncer versão 3.0); escore "qualidade de vidatotal" (PedsQL™ Modulo Genérico versão 4.0).

Para avaliar a correlação das citocinas, bem como dos efeitos confundidores, sob os escores obtidos com a PedsQL e padrão de sono foram realizados os procedimentos descritos abaixo.

Análise de correlação foi feita por meio do coeficiente de correlação de postos de Spearman utilizando-se uma matriz de correlação capaz de avaliar como todas as variáveis se relacionam entre si. Foram avaliadas as correlações das variáveis do sono (porcentagem, eficiência e o número de despertares após início do sono), os escores obtidos por meio do PedsQL, as concentrações das citocinas e os possíveis fatores confundidores (dosagem de hemoglobina; hematócrito; contagem de glóbulos brancos, de neutrófilos, de linfócitos, de monócitos, idade e tempo de tratamento).

Foram ajustadas ao método de regressão linear múltipla (considerando todas as citocinas) e simples (considerando cada citocina individualmente) as variáveis obtidas por meio do PedsQL já descritas.

A diferença entre as médias dos valores do hemograma, a relação do uso de dexametasona, os escores da PedsQL e os dados do sono foram avaliados por meio dos seguintes procedimentos: para as variáveis numéricas em que ocorreu a rejeição de normalidade foi utilizado o teste Mann-Whitney U (para as variáveis classificadas em duas categorias) e Kruskal-Wallis (para as variáveis classificadas em mais de duas categorias). Para as variáveis distribuídas normalmente foi utilizado o teste *t* de Student (para as variáveis categorizadas em duas categorias) e o teste ANOVA (para as variáveis categorizadas em mais de duas categorias). Os procedimentos por meio do teste ANOVA foram feitos em duas etapas. Na primeira etapa foi testada a igualdade entre todos os grupos (níveis dos fatores). Quando ocorreu rejeição da hipótese nula então foi efetuada a segunda etapa (o procedimento de comparações múltiplas de Tukey) que realiza a comparação das médias duas a duas.

Para avaliar a comparação entre as médias das citocinas e o tipo de tratamento (quimioterapia, radioterapia, cirurgia) foi utilizado o teste Mann-Whitney U.

Diferenças entre as variáveis foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0.05$ (para $\alpha=5\%$; $\beta=0.2$ e IC=95%) para todas as análises.

5.9 Aspectos Éticos

Buscando zelar pela integridade ética dos sujeitos envolvidos no estudo, e com base nas diretrizes da resolução CNS 196/96 (BRASIL, 1996), o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP sob protocolo de pesquisa nº 085/2012 e parecer consubstanciado via Plataforma Brasil (número CAAE 01399112.2.00005393) (Anexos1 e 4).

Todos os participantes e seus responsáveis legais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), com concomitante assentimento da criança e/ou adolescente em participar da pesquisa (Apêndice2). Esses termos foram redigidos em linguagem clara e objetiva, por meio da qual os sujeitos foram informados sobre os objetivos do estudo, os procedimentos de coleta de dados, possíveis constrangimentos ou benefícios, sendo garantido o sigilo e respeitado o seu desejo ou não de participar.

RESULTADOS

6.1 Características clínicas e demográficas da amostra

Os resultados da tabela 1 caracterizam a amostra desse estudo a partir dos dados obtidos pela ficha de caracterização (Apêndice 1) dos 33 pacientes avaliados e por meio de consulta aos seus prontuários.

Tabela 1 - Distribuição das variáveis demográficas, características clínicas e dados do hemograma segundo o diagnóstico. Ribeirão Preto, Brasil, 2014.

(continua)

Classificação Variável	Total	Leucemias/ Linfomas		Tu ¹ ósseo		Tu SNC		Outros tu sólidos	
	n	n	%	n	%	n	%	n	%
Demográficas									
Idade									
8 a 12	15	5	33.3	3	20	4	26.7	3	20
13 a 18	18	6	33.3	8	44.4	2	11.1	2	11.1
Raça									
Branco	20	5	25	8	40	2	10	5	25
Mulato	7	3	42.9	2	28.6	2	28.6	0	0
Outro	6	3	50	1	16.7	2	33.3	0	0
Sexo									
Feminino	12	5	41.7	4	33.3	1	8.3	2	16.7
Masculino	21	6	28.6	7	33.3	5	23.8	3	14.3
Características Clínicas									
Classificação da doença									
Neoplasia 1 ^{aria}	28	9	32.1	10	35.7	5	17.9	4	14.3
Recidiva	5	2	40	1	20	1	20	1	20
Motivo da internação									
Quimioterapia	18	6	33.3	10	55.6	1	5.6	1	5.6
Neutropenia	6	3	50	1	16.7	1	16.7	1	16.7
Outros	9	2	22.2	0	0	4	44.4	3	33.3

Tabela 1 - Distribuição das variáveis demográficas, características clínicas e dados do hemograma segundo o diagnóstico. Ribeirão Preto, Brasil, 2014.

(continuação)

Classificação Variável	Total	Leucemias/ linfomas		Tu ¹ ósseo		Tu SNC		Outros tu sólidos	
	n	n	%	n	%	n	%	n	%
Tratamento realizado ²									
Quimioterapia	31	11	35.5	11	35.5	6	19.4	3	9.7
Radioterapia	7	2	28.6	2	28.6	3	42.9	0	0
Cirurgia	13	1	7.7	4	30.8	6	46.2	2	15.4
Uso de dexametasona ³									
Off Dex	17	5	45.5	6	54.5	4	66.7	2	40
OnDex	14	6	54.5	5	45.5	2	33.3	3	60
Dados hemograma ⁴									
Hematócrito (Ht)									
Normal	7	1	9.1	4	36.4	1	16.7	1	20
Alterado	26	10	90.9	7	63.6	5	83.3	4	80
Hemoglobina (Hb)									
Normal	8	1	9.1	9	81.8	5	16.7	1	20
Alterada	25	10	90.9	2	18.2	1	83.3	4	80
Leucócitos									
Normal	13	4	36.4	4	36.4	2	33.3	3	60
Leucocitose	7	0	0	2	18.2	3	50	2	40
Leucopenia	13	7	63.6	5	45.5	1	16.7	0	0
Neutrófilos									
Normal	17	4	36.4	4	36.4	6	100	3	60
Neutrofilia	2	0	0	3	27.3	0	0	2	40
Neutropenia	11	7	63.6	4	36.4	0	0	0	0
Linfócitos									
Normal	10	2	18.2	2	18.2	2	33.3	4	80
Linfocitose	1	0	0	0	0	0	0	1	20
Linfopenia	22	9	81.8	9	81.8	4	66.7	0	0

Tabela 1 - Distribuição das variáveis demográficas, características clínicas e dados do hemograma segundo o diagnóstico. Ribeirão Preto, Brasil, 2014.

(conclusão)

Classificação Variável	Total	Leucemia/ Linfomas		Tu ¹ ósseo		Tu SNC		Outros tu sólidos	
	n	n	%	n	%	n	%	n	%
Monócito									
Normal	17	6	54.5	8	72.7	3	50	3	60
Monocitose	4	0	0	1	9.1	1	16.7	2	40
Monocitopenia	9	5	45.5	2	18.2	2	33.3	0	0

¹ Tu: tumor² O mesmo paciente pode ter realizado mais de um tratamento.³ Off dex: sem uso de dexametasona; On dex: em uso de dexametasona.⁴ Valores de referência (VR): Ht: Entre 37% e 44% (normal); Leucócitos (normal): 3.600 a 9.100 10³/ uL; Linfócitos (normal): 1.200 a 5.200 10³/ uL; Neutrófilos (normal): 1.800 a 8.000 10³/ uL; Monócitos (normal): 0 a 800 10³/ uL.

A maioria dos pacientes estudados eram do sexo masculino (n=21), com idade entre 13 a 18 anos (n = 18), e idade média de 12.6 anos e desvio padrão de 2.9. A maioria dos pacientes eram brancos (n=20).

Quanto às características clínicas, a maioria dos pacientes tinha diagnóstico de neoplasia primária (n=28). O grupo das leucemias/linfomas, junto aos tumores ósseos foram os diagnósticos mais frequentes se consideradas ambas as faixas etárias. O motivo de internação da maioria dos sujeitos foi para a realização da quimioterapia (n=18). Porém, se considerarmos a divisão por grupo de diagnóstico, 44.4% dos pacientes com tumor do SNC e 33.3% dos pacientes com outros tumores sólidos internaram em sua maioria por outros motivos, dentre eles, a realização de cirurgias e devido a outras intercorrências.

O tratamento mais empregado foi a quimioterapia (n=31) seguido da cirurgia (n=13). O grupo que mais realizou cirurgias foi o dos pacientes com tumor do SNC (n=6). Vale salientar que o mesmo paciente pode ter realizado mais de um tratamento.

A maioria dos pacientes (n=17) não estava fazendo uso do glicocorticoesteróide dexametasona (off dex) que possui a capacidade de suprimir ou prevenir processos inflamatórios. Porém, dentre os pacientes que fizeram uso dessa droga, a maioria estava entre os pacientes do grupo leucemia/linfoma,

seguido do grupo de tumores ósseos (n=6 e n=5, respectivamente). O grupo menos exposto a essa droga no momento da coleta dos dados foi o grupo de tumores ósseos e outros tumores sólidos (n=6). A maioria dos pacientes (n=26) apresentou resultado de hematócrito alterado, 10 desses, pertencentes ao grupo das leucemias/linfomas .

O número de pacientes leucopênicos (n=13) e com contagem de leucócitos normal (n=13) foi idêntico, sendo que a maioria daqueles que apresentaram leucopenia concentrava-se no grupo das leucemias/linfomas (n=7).

Quanto a contagem de neutrófilos, grande parte dos pacientes apresentou contagem normal (n=17), considerando que muitos daqueles que apresentaram neutropenia concentrava-se no grupo dos tumores sólidos (n=7). Nenhum paciente do grupo dos tumores de SNC apresentou alteração na contagem de neutrófilos.

A linfopenia foi a alteração hematológica mais frequente, com 22 casos no total (66.6%). O grupo das leucemias/linfomas, junto aos tumores ósseos foram os grupos com o maior número de leucopênicos com frequência idêntica (n=9). O grupo dos outros tumores sólidos não apresentou nenhum paciente com linfopenia.

Quanto a contagem de monócitos, a maioria dos pacientes estava com contagem normal (n=17). O grupo dos outros tumores sólidos não apresentou nenhum paciente com monocitopenia e o grupo que apresentou a maior frequência de monocitopênicos foi o grupo das leucemias/linfomas (n=5). Ainda no que diz respeito a contagem de monócitos, o grupo que apresentou a prevalência de indivíduos com contagem normal foi o grupo dos tumores sólidos (n=8).

6.2 Níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em crianças e adolescentes com câncer

A tabela 2 apresenta a média (MD) e o desvio padrão (DP) da citocinas IL-1 β , IL- 6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α e os dados do hemograma geral segundo a idade e os grupos de diagnóstico.

A citocina encontrada em maiores níveis foi a IL-6 com uma média geral de detecção de 6.72 pg/mL (tabela 2), tendo atingido o maior nível de detecção no grupo de 8 a 12 anos (11pg/mL) e entre o grupo dos outros tumores sólidos (27.3

pg/mL), seguido do grupo de tumores do SNC (11.2 pg/mL). As citocinas IL-1 β e IL-12p70 tiveram seus níveis de detecção muito baixos em ambas as faixas etárias. Isso ocorreu também para a IL-10 na faixa etária de 13 a 18 anos.

Todas as citocinas tiveram seus níveis mais elevados detectados em sujeitos na faixa etária de 8 a 12 anos, entretando, quando essa análise foi estratificada de acordo com os grupos de diagnóstico, observou-se que isso não aconteceu para a citocina IL-6 no grupo das leucemias e linfomas, uma vez que nos pacientes desse grupo, aqueles entre 13 a 18 anos apresentaram maiores níveis de IL-6 (tabela 2).

Os pacientes com tumores de SNC foram os que apresentaram maiores níveis de IL-8 (19.2 pg/mL), em especial, na faixa etária de 8 a 12 anos. Nesse grupo também foram detectados os maiores níveis da citocina IL-1 β (0.75 pg/mL) na faixa etária de 8 a 12 anos (tabela 2).

O grupo que apresentou os maiores níveis de IL-12p70 (1.5 pg/mL) foi o grupotumores do SNC, não havendo diferença entre os valores detectados entre as faixas etárias (tabela 2).

A IL-6 foi detectada em maior quantidade no grupo outros tumores sólidos na faixa etária de 8 a 12 anos (27.3 pg/mL). Já os maiores níveis de IL-10 foram detectados no grupo das leucemias/linfomas (31.6 pg/mL) (tabela 2).

Acitocina TNF- α apresentou seus níveis mais elevados no grupo dos tumores do SNC.

Tabela 2 - Média (MD) e desvio padrão (DP) das citocinas e dados do hemograma, segundo a idade e os grupos de diagnóstico. Ribeirão Preto, 2014.

Variável (pg/mL)	Total		Leucemias / linfomas		Tu ósseo		Tu SNC		Outros tu sólidos		
	Média geral	(8 a 12) MD±DP	(13 a 18) MD±DP	(8 a 12) MD	(13 a 18) MD	(8 a 12) MD	(13 a 18) MD	(8 a 12) MD	(13 a 18) MD	(8 a 12) MD	(13 a 18) MD
Citocinas											
IL- 1β	0.21	0.3 ± 0.9	0.1 ± 0.5	0.4	0	0	0.2	0.75	0	0	0
IL- 6	6.72	11 ±19.5	3.1 ± 3.8	2.8	4.7	8	2.6	11.2	1.5	27.3	2.5
IL-8	5.69	9.8 ±16.7	2.2 ± 2.3	4.8	2.5	8.7	2.6	19.2	0.5	6.6	2
IL-10	5.57	11.6 ± 40	0.5 ± 0.8	31.6	1	0.7	0.2	20.2	0.5	1.7	0.5
IL-12p70	0.69	1.0 ± 1.1	0.4 ± 0.6	0.8	0.5	0.7	0.1	1.5	1.5	1	0.5
TNF-α	2.09	2.9 ± 3.4	1.4 ± 1.7	2.4	1.3	1.7	1.5	4.5	2.5	3	0
Hemograma											
Hb	10.39	10.1 ± 1.9	10.6 ± 2.3	10.2	9.8	9.3	10.8	10.5	10.5	10.3	12
Ht	32.00	31.3 ± 5.3	32.5 ± 6.6	32.6	30.3	23.3	33.3	32	32	31.3	36.5
Neutrófilos	3.55	2.7 ± 2.6	4.2 ± 4.5	1	1.5	2.3	5.5	3.5	5	5	6.5
Linfócitos	0.58	0.5 ± 0.7	0.6 ±1.0	0.4	0.1	0.3	0.4	0.7	2	0.6	1.5
Monócitos	0.27	0.3 ± 1.0	0.2 ± 0.8	0	0	0	0.4	0	1	1.3	0
Glób. Branc.	6.27	5.8 ± 7.4	6.6 ± 7.4	1.8	2.6	3.3	6.4	12	17	6.6	9.5

Figura 6 - Distribuição em *box plot* dos valores das citocinas IL-1 β , IL- 6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF- α . Ribeirão Preto, 2014.

A variação encontrada nos níveis das citocinas detectadas na amostra está demonstrada nos gráficos *box plot*. Todas as citocinas apresentaram *outliers* (valores discrepantes). Sem considerar os *outliers* e considerando apenas 50% da

população apresentada na caixa do *box plot*, bem como a linha superior ao terceiro quartil, (figura 6), verificou-se que as citocinas TNF- α e IL12p70 apresentaram maior dispersão quanto aos níveis detectados, ou seja, maior amplitude interquartil (figura 6).

Por outro lado, a citocina IL-10 teve seus valores detectados com menor dispersão e também o *outlier* que assumiu o maior valor dentre todas as citocinas. Os valores máximos e mínimos de IL-10 e IL-8 estiveram próximos da mediana (figura 6).

Quanto à citocina IL-1 β o valor da mediana foi igual ao valor mínimo. Isso acontece quando mais de 50% dos sujeitos do grupo assume valores iguais, nesse caso, o valor 0.0, o que demonstra a baixa detecção de IL-1 β na amostra deste estudo (figura 6).

6.3 Escores PedsQL™ Escala Multidimensional do Cansaço PedsQL™ e do Inventário Pediátrico de Qualidade de Vida, módulo genérico e módulo câncer

A tabela 3 mostra os escores obtidos para todas as variáveis da PedsQL. Ratifica-se que os valores da PedsQL variam de 0-100, dado que quanto maior o valor do escore, menor será a fadiga e melhor a qualidade de vida apresentada pelo paciente.

No que diz respeito a fadiga, os indivíduos mais fatigados se concentraram, em sua maioria, na faixa etária de 8 a 12 anos. A menor média encontrada, que representa os indivíduos mais fatigados, foi de 34.7 para o escore fadiga cognitiva no grupo de tumores do SNC e na faixa etária 8 a 12 anos. De forma geral, os indivíduos do grupo de tumores do SNC apresentaram as menores médias dos escores de fadiga. Os indivíduos menos fatigados concentraram-se na faixa etária de 13 a 18 anos e, principalmente, no grupo das leucemias e linfomas, que apresentou os maiores scores para essa faixa etária.

Os indivíduos com pior qualidade de vida se concentraram, em sua maioria, na faixa etária de 8 a 12 anos. A menor média encontrada, que representa os indivíduos com pior qualidade de vida, foi de 18.7 para o escore “sobre a escola” no grupo de tumores do SNC e na faixa etária de 8 a 12 anos. De forma geral, os

indivíduos do grupo de tumores do SNC apresentaram as menores médias dos escores de qualidade de vida. Os indivíduos com melhor qualidade de vida concentraram-se na faixa etária de 13 a 18 anos e, sobretudo, no grupo das leucemias e linfomas, que apresentou os maiores escores para essa faixa etária.

Todos os escores da PedsQL utilizados para realizar os testes de comparação entre as médias, bem como o teste de correlação e regressão lineares estavam distribuídos normalmente, com exceção do escore "Dores e Machucados" ($p=0.004$).

Tabela 3 - Média (MD) e desvio padrão (DP) dos escores da PedsQL™ Escala Multidimensional do CansaçoPedsQL™ e do Inventário Pediátrico de Qualidade de Vida, módulo genérico e módulo câncer, quanto ao diagnóstico e idade. Ribeirão Preto, Brasil, 2014.

Variável	Total	Leucemias/ linfomas		Tu ósseo		Tu SNC		Outros tu sólidos	
		(8 a 12) MD±DP	(13 a 18) MD±DP	(8 a 12) MD±DP	(13 a 18) MD±DP	(8 a 12) MD±DP	(13 a 18) MD±DP	(8 a 12) MD±DP	(13 a 18) MD±DP
Fadiga									
Escore fadiga total	62.8	58.8 ± 14.1	78.0 ± 12.7	74.6 ± 76.1	56.1 ±17.8	41.0 ± 26.3	63.0 ± 8.4	68.3 ± 22.5	71.5 ± 17.6
Fadiga em geral	64.2	52.8 ± 16.8	81.5 ± 15.7	80.3 ± 36.1	59.5 ± 13.9	46.5 ± 26.0	55.5 ± 14.8	73.3 ± 18.5	66.5 ± 12.0
Fadiga em relação ao sono	57.7	63.0 ± 19.2	72.3 ± 16.8	59.0 ± 15.7	48.1 ± 16.8	41.5 ± 34.4	60.0 ± 2.8	66.3 ± 29.9	55.5 ± 14.8
Fadiga cognitiva	66.4	60.4 ± 16.0	80.0 ± 19.8	84.6 ± 26.5	61.7 ± 31.3	34.7 ± 20.1	76.5 ± 9.1	66.6 ± 28.8	85.0 ± 14.1
Qualidade de Vida (QV)									
Módulo Genérico									
Escore QV total	59.8	51.6 ± 18.0	70.5 ± 13.3	63.6 ±18.0	56.2 ± 16.1	46.0 ±16.2	63.0 ± 29.6	64.0 ± 12.7	76.0 ± 11.3
Saúde física e atividades	58.2	38.4 ± 25.5	71.1 ± 79.8	66.0 ± 23.8	51.8 ± 30.1	55.2 ±20.9	48.0 ± 46.6	66.0 ± 4.5	87.0 ± 0.0
Sobre os meus sentimentos	58.1	56.0 ± 24.3	69.1 ± 23.9	63.3 ± 12.5	43.1 ± 22.1	53.7 ±13.1	72.5 ± 10.6	71.6 ± 33.2	57.5 ± 24.7
Convívio com outras pessoas	71.6	70.0 ± 23.4	82.5 ± 18.6	68.3 ± 46.4	73. 7 ± 9.9	52.5 ± 37.9	75.0 ± 35.3	66.6 ± 11.5	82.5 ± 24.7
Sobre a escola	56.0	51.0 ± 20.1	70.8 ± 14.6	55.0 ± 15.0	62.8 ± 18.4	18.7 ± 19.3	67.5 ± 17.6	51.6 ± 24.6	72.5 ± 3.5
Módulo Câncer									
Escore Total	57.1	52.2 ± 13.1	67.0 ± 15.7	65.3 ± 37.7	51.3 ±15.0	35.2 ± 11.7	67.5 ± 9.19	65.6 ± 14.7	72.0 ± 14.1
Dores e machucados	65.9	49.0 ± 34.0	91.5 ± 10.2	62.3 ± 45.3	73.2 ± 20.5	21.5 ± 28.8	75.0 ± 35.3	79.0 ± 6.9	68.5 ± 9.1
Náusea	52.0	49.4 ± 23.8	57.5 ± 19.4	62.0 ± 20.2	38.7 ± 26.2	42.5 ± 17.0	67.5 ± 24.7	51.6 ± 27.5	85.0 ± 7.0
Ansiedade frente aos procedimentos	55.6	38.2 ± 31.3	70.5 ± 24.0	75.0 ± 25.0	55.8 ± 39.1	29.0 ± 23.9	62.5 ± 17.6	69.3 ± 39.3	50.0 ± 35.3
Ansiedade frente ao tratamento	61.1	61.4 ± 24.7	76.1 ± 26.8	74.6 ± 22.3	56.0 ± 27.6	12.5 ± 25.0	75.0 ± 0.0	75.0 ± 43.3	78.5 ± 17.6
Preocupações	45.2	38.4 ± 43.7	48.3 ± 29.6	41.3 ± 21.7	22.7 ± 20.6	66.5 ± 28.2	66.5 ± 12.0	66.3 ± 36.0	54.0 ± 29.6
Dificuldades cognitivas	61.4	56.2 ± 17.9	71.8 ± 23.5	83.3 ± 2.8	50.6 ± 20.2	31.6 ± 23.0	62.5 ± 3.5	76.6 ± 28.4	72.5 ± 17.6
Percepção da aparência física	67.9	91.5 ± 17.0	77.5 ± 19.6	69.0 ± 12.7	64.2 ± 21.8	38.3 ± 29.0	62.0 ± 41.0	63.6 ± 79.8	62.0 ± 5.6
Comunicação	65.0	33.0 ± 13.8	81.5 ± 19.2	69.3 ± 33.8	65.6 ± 32.5	33.0 ± 8.0	70.5 ± 28.9	86.0 ± 24.2	83.0 ± 24.0

6.4 Padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer

Na tabela 4 estão descritas as variáveis descritivas (média, desvio padrão, número máximo e mínimo) dos parâmetros do sono obtidos por meio do *actigraph*, em minutos e porcentagem.

Os pacientes apresentaram uma duração média do sono de 204.4 ± 112.0 minutos, o equivalente a 3.4 ± 1.8 horas. Quanto à variável despertares após o início do sono, o número médio de minutos acordado foi de 28.19 ± 16.63 minutos. A eficiência do sono foi em média de $89.9\% \pm 4,1\%$. A porcentagem do sono foi de $86,2\% \pm 8,09\%$ (Tabela 4).

Tabela 4 -Média (MD), desvio padrão (DP), número máximo (Máx.) e mínimo (Mín.) dos parâmetros do sono obtidos por meio do *actigraph*, em minutos e porcentagem. Ribeirão Preto, 2014.

Variável	MD	DP	Máx	Mín.
Duração (min.)	204.44	112.07	471	52
Porcentagem (%)	86.26	8.09	96	66
Eficiência (%)	89.93	4.14	96	80
Despertares após o início do sono (min)	28.19	16.63	69	16

6.5 Correlação entre os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias com a fadiga, com o padrão de sono e com os fatores confundidores

As tabelas 5, 6, 7, 8 e 9 mostram os resultados ajustados ao método de regressão linear múltipla às variáveis obtidas por meio do PedsQL (considerando todas as citocinas). Cada tabela considerou um domínio ou escore da PedsQL como

variáveis dependentes para ajuste do modelo de regressão, as variáveis independentes consideradas foram as citocinas.

Nenhuma correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre as variáveis dependentes e independentes por meio dos modelos de regressão (tabelas 5, 6, 7, 8 e 9).

Tabela 5 - Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla considerando como variável dependente a dimensão dificuldades cognitivas. Ribeirão Preto, 2014.

Variável	Parâmetros da regressão		<i>t</i>	<i>p</i> valor
	β	Estimativa do erro padrão		
Dificuldades cognitivas				
IL-8	1.578	1.311	1.204	.240
IL-1β	-7.181	8.646	-.831	.414
IL-6	.213	.373	.572	.573
IL-10	-.014	.157	-.087	.931
TNFα	-.303	2.620	-.116	.909
IL-12p70	-2.781	5.849	-.476	.639

Tabela 6 - Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla considerando como variável dependente a dimensão fadiga mental. Ribeirão Preto, 2014.

Variável	Parâmetros da regressão		<i>t</i>	<i>p</i> valor
	β	Estimativa do erro padrão		
Fadiga mental				
IL-8	-.282	.446	-.632	.533
IL-1 β	-9.514	9.688	-.982	.335
IL-6	.368	.385	.955	.349
IL-10	-.030	.183	-.165	.871
TNF α	-1.060	2.841	-.373	.712
IL-12p70	1.706	6.590	.259	.798

Tabela 7 - Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla considerando como variável dependente a dimensão fadiga em relação ao sono. Ribeirão Preto, 2014.

Variável	Parâmetros da regressão		<i>t</i>	<i>p</i> valor
	B	Estimativa do erro padrão		
Fadiga em relação ao sono				
IL-8	-.015	.366	-.042	.967
IL-1β	-9.421	7.939	-1.187	.246
IL-6	.310	.316	.982	.335
IL-10	.066	.150	.437	.666
TNFα	1.850	2.328	.795	.434
IL-12p70	2.792	5.400	.517	.610

Tabela 8 - Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla considerando como variável dependente o escore total da fadiga. Ribeirão Preto, 2014.

Variável	Parâmetros da regressão			
	B	Estimativa do erro padrão	<i>t</i>	<i>p</i> valor
Escore total da fadiga				
IL-8	-.180	.322	-.557	.582
IL-1β	-10.324	6.997	-1.475	.152
IL-6	.346	.278	1.245	.224
IL-10	.022	.132	.169	.867
TNFα	.298	2.052	.145	.886
IL-12p70	2.801	4.759	.589	.561

Tabela 9 - Resultados ajustados ao modelo de regressão linear múltipla considerando como variável dependente a dimensão fadiga geral. Ribeirão Preto, 2014.

Variável	Parâmetros da regressão		<i>t</i>	<i>p</i> valor
	B	Estimativa do erro padrão		
Fadiga Geral				
IL-8	-.243	.315	-.771	.448
IL-1β	-13.151	6.845	-1.921	.066
IL-6	.361	.272	1.328	.196
IL-10	.028	.130	.217	.830
TNFα	.743	2.007	.370	.714
IL-12p70	2.732	4.655	.587	.562

Tabela 10 -Correlação entre tipo de tratamento e níveis de citocinas pela comparação entre as médias com o testeMann-Whitney U. Ribeirão Preto, 2014.

Tipo de tratamento	<i>p</i> valor					
	IL-8	IL-1 β	IL-6	IL-10	TNF	IL_12p70
Quimioterapia	.304	.650	.039*	.750	.872	.675
Radioterapia	1.000	.354	.533	.036*	.385	.557
Cirurgia	.098	.301	.867	.235	.753	.526

* $p < 0.05$

¹O mesmo paciente pode ter realizado mais de um tratamento.

A tabela 10 mostra que as médias da IL-6 foram estatisticamente diferentes para o tratamento quimioterápico ($p=0.039$), bem como, as médias de IL-10 que foram estatitisticamente diferentes para a radioterapia 10 ($p=0.036$).

Figura 7 - Gráficos de dispersão das citocinas IL-1 β e IL-6 em relação ao tempo de tratamento. Ribeirão Preto, 2014.

Os gráficos apresentados na figura 7 mostram que a maioria dos participantes encontrava-se a 13 meses em tratamento, com variação de 0 a 400 dias. Tanto para IL-1 β quanto para IL-6, os sujeitos que apresentaram os maiores níveis de expressão dessas citocinas estavam com menos de 100 dias de tratamento. Já, os

sujeitos com aproximadamente dois anos e meio de tratamento, apresentaram baixos níveis dessa citocina, quando comparados aos demais.

Figura 8 - Gráficos de dispersão das citocinas IL-8 e IL-10 em relação ao tempo de tratamento. Ribeirão Preto, 2014.

Tanto para IL-8 quanto para IL-10, os sujeitos que apresentaram os maiores níveis dessas citocinas estavam a mais de 800 dias de tratamento (aproximadamente 26 meses). O sujeito com maior tempo de tratamento (aproximadamente dois anos e meio) apresentou baixos níveis de IL-8, quando comparado aos demais (figura 8).

Figura 9- Gráficos de dispersão das citocinas IL-8 e IL-10 em relação ao tempo de tratamento. Ribeirão Preto, 2014.

Assim como observado em relação à IL-1 β e a IL-6, os sujeitos que apresentaram os maiores níveis de IL-12p70 e de TNF- α , também estavam com menos de 100 dias de tratamento. Para IL-12p70, o sujeito com maior tempo de tratamento (aproximadamente dois anos e meio), apresentou um nível intermediário dessa citocina quando comparado aos demais. Todavia, o sujeito com maior tempo de tratamento apresentou baixos níveis de TNF- α , quando comparado aos demais (figura 9).

Por meio do teste *t* de *Student* foi encontrada uma diferença significativa para o escore "dificuldades cognitivas" entre os pacientes que fizeram uso de dexametasona quando comparados aos que não fizeram uso dessa droga. A média do escore "dificuldades cognitivas" no grupo *on dex* foi maior (MD = 70.1), o que significa que o grupo que usou dexametasona apresentou menos dificuldades cognitivas, sendo essa diferença entre os grupos significativa ($p=0.046$).

Os valores do hemograma não mostraram diferença significativa quando comparadas as médias aos escores da PedsQL por meio do teste *t* de *Student*, ANOVA, Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

A análise de correlação realizada por meio do coeficiente de correlação de postos de Spearman ρ (rho) gerou uma matriz de correlação capaz de avaliar como as variáveis se relacionaram entre si. A matriz correlacionou 21 variáveis e dadaa extensão queatingiu não foi possível inserí-la na secção de resultados. Entretanto,

as correlações estatisticamente significativas que foram indicadas por essa matriz, estão descritas na tabela 11.

Tabela 11 - Correlações estatisticamente significativas encontradas por meio da matriz de correlação entre as variáveis utilizando o coeficiente de correlação de postos de Spearman ρ (rho). Ribeirão Preto, 2014.

	Variáveis	p valor	Coeficiente de correlação (r)
IL-8	Idade	0.014	- 0.422
	IL-10	0.004	0.492
	Neutrófilos	0.002	- 0.523
	Glóbulos Brancos	0.029	- 0.381
IL-1β	Fadiga geral	0.039	- 0.361
	Dores e machucados	0.015	- 0.418
	Qualidade de vida	0.028	- 0.382
IL-6	IL-8	0.004	0.488
IL-10	Idade	0.014	- 0.443
	Porcentagem do sono	0.048	0.384
	Eficiência do sono	0.018	0.452
	IL-12p70	0.015	0.422
	Idade	0.010	- 0.443
TNF-α	IL-1 β	0.004	0.492
IL-12p70	Duração do sono	0.001	0.604
	IL-10	0.015	0.422
Fadiga mental Eficiência do Sono	Neutrófilos	0.040	- 0.360
	Hemoglobina	0.031	- 0.417
	Linfócitos	0.010	0.487
Despertares após o início do sono	Linfócitos	0.010	0.487
Dores e Machucados	Idade	0.025	0.389

Observou-se uma correlação negativa entre os escores da "fadiga geral" e a citocina IL1- β ($r=-0,361$, $p=0.039$), ou seja, quanto maior o escore da "fadiga geral", menor foram os níveis de IL1- β . A IL-1 β também se correlacionou com os escores do domínio "dores e machucados" ($r=-0.418$, $p=0.015$), ou seja, quanto maior o escore "dores e machucados", menor foram os níveis de IL1- β (tabela 11)

As citocinas IL-8, IL-6, IL-10, TNF- α e IL-12p70 mensuradas não apresentaram qualquer correlação com a fadiga. Houve correlação entre o padrão de sono e as citocinas IL-10 e IL-12p70. A eficiência do sono ($r=0.452$, $p=0.018$) e a porcentagem do sono ($r=0.384$, $p=0.048$) se correlacionaram positivamente com a citocina IL-10. Enquanto que a duração do sono se correlacionou positivamente com a citocina IL-12p70 ($r=0.604$, $p=0.001$). Quanto melhor o sono, segundo os parâmetros eficiência, porcentagem e duração, maiores foram os níveis das citocinas IL -10 e IL-12p70 (tabela 11).

Tanto a IL-10 quanto a porcentagem do sono, se correlacionaram negativamente com a idade ($r=-0.443$, $p=0.010$), ou seja, quanto maior a idade das crianças e adolescentes, menor foram os níveis dessa citocina e menor a porcentagem de sono. Isso demonstra que, as crianças mais velhas tiveram uma menor porcentagem de sono.

Os níveis de hemoglobina estavam correlacionados negativamente com a eficiência do sono ($r=-0.417$, $p=0.031$) (tabela 11).

O escore "fadiga mental" correlacionou-se negativamente com o número de neutrófilos ($r=-0.360$, $p=0.004$). A quantificação dos monócitos se correlacionou positivamente com o escore total de qualidade de vida ($r=0.346$, $p=0.048$), que por sua vez se correlacionou negativamente com IL-1 β ($r=-0.381$, $p=0.039$) (tabela 11).

O número de linfócitos se correlacionou positivamente com a variável eficiência do sono ($r=0.487$, $p=0.01$) e essa variável se correlacionou positivamente com a IL-10 ($r=0.452$, $p=0.018$). A quantidade de linfócitos, por sua vez, se correlacionou negativamente com o número de despertares após o início do sono ($r=-0.026$, $p=-0.026$). A contagem de glóbulos brancos se correlacionou negativamente com a IL-8, a qual se correlacionou negativamente com a contagem de neutrófilos ($r=0.-381$, $p=0.029$; $r=-0.523$, $p=-0.002$, respectivamente) (tabela 11).

Correlações entre as citocinas também foram encontradas. A citocina IL1- β correlacionou-se positivamente com os níveis de TNF- α ($r=,492$, $p=0.004$), sendo a média de detecção de ambas as citocinas de 0.21 pg/mL para IL-1 β e de 2.09

pg/mL para TNF- α . Foi verificada ainda correlação positiva entre a citocina IL-10 e a IL-12p70 ($p=0.015$). Outra correlação positiva encontrada foi entre a IL-10 e as citocinas IL-6 e IL-8 ($p=0.004$ e $p=0.001$, respectivamente). A IL-8, por sua vez, correlacionou-se positivamente com a IL-6 ($r=0.488$ e $p=0.004$) (Tabela 11).

Nenhuma correlação entre as variáveis da tabela 11 foi encontrada em relação ao tempo de tratamento.

DISCUSSÃO

7.1 Níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em crianças e adolescentes com câncer

Citocinas geralmente circulam em quantidades muito pequenas (10-12 picomolar/mL ou dL), no entanto, sua concentração pode aumentar rapidamente em até 1000 vezes quando necessário (BURSKA; BOISSINOT; PONCHEL, 2014). Elas são proteínas que podem estar presentes no plasma, soro, líquido cefalorraquidiano, sobrenadantes celulares e outros meios. Podem ser estudadas por meio da quantificação da própria proteína, do RNA (expressão gênica) e DNA (genotipagem). Muitas têm sido exploradas como biomarcadores em potencial (BURSKA; BOISSINOT; PONCHEL, 2014).

Essas moléculas podem ser mensuradas de diversas formas. Cada uma delas pode ter implicações importantes na geração e, principalmente, na interpretação dos resultados como os limites de sensibilidade e especificidade. Além disso, as citocinas podem ser medidas a partir de diferentes amostras biológicas como plasma, soro e cultura de células. Alguns estudos utilizaram técnicas de ativação celular *in vitro* (monócitos e linfócitos, principalmente) para então quantificar as citocinas (ZHOU et al., 2010).

O ensaio imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) é o imunoensaio mais tradicional para dosagem das citocinas. O sistema IMMULITE® 1000 é também um imunoensaio utilizado para essa finalidade (ZHOU et al., 2010), mas as matrizes de *multiplex bead array*, também conhecidos como ensaios multiplex baseado na interação entre *beads*, representam provavelmente o formato mais utilizado na atualidade. O *Cytometric Bead Array* (CBA® - *Becton, Dickinson and Company* BD™) e a *Luminex® multi-analyte profiling* (xMAP - *Life Technologies*™), empregam a técnica de interação entre *beads* capaz de distinguir as citocinas sob um fluxo de citometria e, então, quantificar um grande número de citocinas simultaneamente. Os *arrays multiplex* oferecem a possibilidade de avaliar melhor e de modo mais rápido a complexidade e natureza dinâmica das respostas das citocinas quando comparados aos ensaios que utilizam ELISA (ZHOU et al., 2010).

As citocinas, de forma geral, no que diz respeito ao seu desempenho e funcionamento são caracterizadas por três aspectos importantes: a interdependência (são moléculas que agem num sistema de *feedback* regulatório), a pleiotropia (uma mesma citocina têm vários efeitos), e a redundância (várias citocinas tem o mesmo efeito). Assim, além de cada citocina exercer o seu papel propriamente dito, elas podem atenuar ou acentuar os efeitos de outras citocinas, fazendo com que o contexto em que a molécula está atuando seja tão importante de se avaliar como qualquer medição individual (OZAKI; LEONARD, 2002). No que diz respeito aos nossos resultados, a citocina IL-1 β correlacionou-se positivamente com os níveis de TNF- α ($r=0.492$, $p=0.004$), sendo a média de detecção de ambas as citocinas de 0.21 pg/mL para IL-1 β e de 2.09 pg/mL para TNF- α .

Pesquisas realizadas em animais sugerem fortemente que a IL-1 β é o fator crucial para determinar o equilíbrio entre a imunidade e a inflamação na progressão tumoral (VORONOV et al., 2010).

Em doenças inflamatórias, a IL-1 β e o TNF α desempenham, principalmente, o papel de citocinas pró-inflamatórias. Apesar dessas citocinas serem estruturalmente não-relacionadas, a IL-1 β e TNF- α estão intimamente relacionadas do ponto de vista funcional (DINARELLO et al., 1997). Alterações endoteliais, principalmente a perda da função ou diminuição de coagulação, a atividade quimiotática e estímulo ao metabolismo oxidativo de fagócitos são ações do TNF- α compartilhadas com a IL-1 β . O TNF- α tem também atividade de pirógeno endógeno, aumenta a reabsorção óssea, a atividade de adipócitos e a expressão do complexo principal de histocompatibilidade I e II (MHC I e II) (THOMSON; LOTZE, 2003; ABBAS; LICHTMAN, 2005; OLIVEIRA et al., 2011; VARELLA; FORTE, 2001).

Em nos nossos resultados foi verificada correlação positiva entre a citocina IL-10 e a IL-12p70 ($p=0.015$). Essa correlação também foi identificada em 234 pacientes com início de pancreatite aguda grave, em que as concentrações de IL-12 se correlacionaram significativamente com as concentrações de IL-10 ($r=0.552$, $p<0.001$). Entretanto, esse mesmo estudo identificou uma correlação negativa entre IL-10 e IL-12p70 em crianças com tumor de partes moles. A mesma correlação não foi identificada em controles saudáveis. Esse estudo utilizou soro de sangue periférico para dosar as citocinas por meio da técnica de ELISA (BIEN et al., 2013b).

Essa é uma correlação interessante do ponto de vista imunológico, uma vez que essas duas citocinas, junto à IL-4, interagem no desempenho de suas funções

podendo uma ter efeito sobre a outra. Dados indicam que a IL-4 desempenha um papel fundamental na indução do processo de diferenciação de algumas células. Ao induzir as células dendríticas a diminuir a produção de IL-10, a IL-4 induz esse mesmo conjunto de células a produzir IL-12p70 (YAO et al., 2005).

A IL-10 é uma potente citocina anti-inflamatória, que tem múltiplas funções biológicas e afeta muitos tipos celulares, dentre eles monócitos, células T, células B, células *natural killer*, neutrófilos, células endoteliais e células mononucleadas do sangue periférico. Células T_H1, mas principalmente T_H2, são fontes importantes de IL-10, que tem a função principal de inibir as células dendríticas e os macrófagos e, por *feedback* negativo, suprimir a ação do próprio padrão T_H1 (ABBAS; LITCHMAN, 2011). Essa citocina é capaz de inibir a transcrição dos genes de algumas proteínas, dentre eles, os genes de citocinas pró-inflamatórias, incluindo a da IL-12p40. A IL-10 também é capaz de inibir a produção de citocinas incluindo a IL-12p35, IL-12p40, IL-1 β , IL-1 α , IL-6, IL-8 (ZHOU; NAZARIAN; SMALE, 2004).

Outra correlação importante, do ponto de vista clínico, que foi encontrada em nossos resultados, foi a correlação entre IL-8 e a IL-6 ($r=0.488$ e $p=0.004$) (tabela 11). Essa correlação positiva entre IL-8 e IL-6 tem sido bastante estudada, uma vez que pode estar relacionada com a neutropenia febril em pacientes com câncer, entretanto, esse dado ainda é inconsistente e alvo de investigações (PHILLIPS, et al., 2012). Entretanto, essa correlação tem sido encontrada em outros estudos, por exemplo, em uma amostra de pacientes com Leucemia Mielóide Aguda (LMA) e Leucemia Linfóide Aguda (LLA), foi encontrada uma correlação entre essas duas citocinas ($r=0.62$). A concentração plasmática de IL-6 e IL-8 estavam significativamente aumentadas em pacientes em quimioterapia e neutropenia febril, quando comparados aos indivíduos com febre de origem não bacteriana ($p=0.043$ e $p=0.022$, respectivamente) (BONT et al., 1999).

Em uma pesquisa com pacientes pediátricos com tumor ósseo, tumor de SNC, LMA, linfoma de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, com recidiva de leucemia e pacientes submetidos a transplante de medula óssea, foi encontrado que os níveis de IL-6 e IL-8 mensurados no início da febre foram úteis para definir um possível grupo de pacientes com baixo risco de sepse e que a IL-6 foi a melhor preditora de bacteremia ou infecção bacteriana grave (DIEPOLD et al., 2008).

Baixos níveis de IL-8 correlacionaram-se com episódios de neutropenia e febre não bacteriana. Entretanto, níveis mais elevados dessa citocina

correlacionaram-se em pacientes com cultura de sangue positiva e episódio de infecção documentada ($p < 0.001$) (EL-MAGHRABY et al., 2007). Um estudo recente, entretanto, demonstrou que as citocinas IL-6 e IL-8 não foram bons preditores de infecção em crianças com câncer e neutropenia febril ($n=48$) (AGGARWAL et al., 2013).

Além de compreender as correlações entre as citocinas de uma forma geral, entender as diferenças entre os níveis de citocinas na população de crianças com câncer e na população saudável, é uma etapa importante do processo de interpretação dos nossos resultados. A literatura reporta os resultados de alguns trabalhos que avaliaram os níveis de citocinas em crianças e adolescentes, tanto em sujeitos saudáveis, como em crianças com câncer.

Um estudo avaliou em uma amostra de recém-nascidos saudáveis ($n=18$), lactentes e crianças jovens ($n=54$), com idades entre 1 mês e 8 anos, além de controles adultos ($n=19$), a expressão da citocina IL-12 por monócitos. Os resultados demonstraram que a expressão dessa citocina correlacionou-se positivamente com a idade (HARTEL et al., 2005). Nenhuma correlação com a idade foi encontrada no nosso estudo, porém, ao contrário do que ocorreu na amostra de Hartel et al. (2005), os níveis da citocina IL-12p70 diminuíram com o aumento da idade.

Outra correlação encontrada no nosso estudo foi entre a IL-10 e as citocinas IL-6 e IL-8 ($p=0.004$ e $p=0.001$, respectivamente). Além de se correlacionarem entre si, as citocinas IL-10 e IL-8 foram as únicas que se correlacionaram com a idade dos participantes, ambas apresentando uma correlação negativa ($r=-0.433$, $p=0.010$; $r=-0.422$, $p=0.014$, respectivamente), ou seja, quanto maior a idade do paciente, é esperada uma menor concentração dessas citocinas. Nossos resultados parecem refutar as evidências apresentadas na literatura, as quais, sugerem que as diferenças encontradas entre os níveis de citocinas nas diferentes faixas etárias devem tender para níveis menores de detecção em crianças mais novas. Evidências sustentam a hipótese de que algumas citocinas aumentam a sua circulação no sangue periférico com o aumento da idade, o que possivelmente ocorre em função da maturação do sistema imune (BEILE et al., 1995; LILIC et al., 1997; SHEARER et al., 2003). Níveis mais baixos de citocinas em faixa etárias menores, pode ser reflexo de uma resposta imune imatura ou como resultado, em tese, do mínimo contato do sistema imune com antígenos em comparação com crianças numa faixa

etária superior, bem como em adolescentes (BEILE et al., 1995; LILIC et al., 1997; SHEARER et al., 2003).

Um estudo objetivou estabelecer o perfil de produção intracelular de IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ e TNF- α em subconjuntos de células T CD4⁺ e CD8⁺ de crianças saudáveis de 0 a 18 anos, e em adultos saudáveis. Foi utilizada a técnica de quantificação intracelular de células T CD4⁺ e CD8⁺ por *Cytometric Bead Array* (CBA) para dosagem das citocinas a partir de células do sangue total, 46 crianças e 33 adultos participaram do estudo, cujas células do sangue total foram estimuladas com os antígenos PMA, ionomicina e monensin. Na população pediátrica, encontrou-se uma correlação positiva significativa entre a idade e os níveis intracelulares apenas das citocinas IFN- γ , a IL-2, IL-4 e TNF- α em células CD4⁺, bem como para o IFN- γ e TNF- α em células CD8⁺ (HOFFMANN et al., 2005).

A média dos níveis de IL-10 intracelular, tanto para os subconjuntos de células T CD4⁺ e CD8⁺ (n=11 e n=10, respectivamente) mantiveram-se estáveis para as faixas etárias de 6-12 anos (1.10 para CD4⁺ e 0.04 para CD8⁺) e 13-17 anos (1.07 para CD4⁺ e 0.04 para CD8⁺) (HOFFMANN et al., 2005).

Mesmo que o estudo de Hoffmann et al. (2005), tenha apresentado resultados para a população pediátrica saudável, de modo geral, ao compararmos os nossos dados com os dados de Hoffmann et al. (2005), observamos que, além de termos encontrado uma correlação negativa entre IL-10 e IL-8 e a variável idade, detectou-se uma diminuição dos níveis de IL-10 no grupo de 13-18 anos, 0.5 ± 0.8 pg/mL, quando comparado ao grupo mais novo de 8 a 12 anos, 11.6 ± 4.0 pg/mL (Tabela 2). Nos nossos resultados, os níveis da maioria das demais citocinas diminuiu com o aumento da idade, ao invés de aumentar, conforme foi observado em crianças saudáveis.

Ainda no que diz respeito às diferenças entre grupos de idade e produção de citocinas, no mesmo estudo conduzido por Hoffmann et al. (2005), foi encontrada diferença entre a expressão de TNF- α quanto à idade tanto em células CD4⁺ como CD8⁺, mostrando que quanto maior a faixa etária, maior a detecção dessa citocina (6-12 anos, 19.81 para CD4⁺ e 10.30 para CD8⁺, 13-17 anos, 26.58 para CD4⁺ e 17.02 para CD8⁺). Esse dado também se distingue dos nossos resultados, nos quais, ao contrário do que foi apresentado por Hoffmann et al. (2005), detectou-se uma diminuição nos níveis de TNF- α no grupo de 13-18 anos, 1.4 ± 1.7 pg/mL, quando comparado ao grupo mais novo de 8 a 12 anos, 2.9 ± 3.4 pg/mL (Tabela 2).

Outro trabalho demonstrou em uma amostra de recém-nascidos saudáveis, lactentes (n=54), crianças jovens (n=18) e adultos (n=19), que a expressão intracelular de IFN- γ (r=0.748, p<0.0001), TNF- α (r=0.784, p<0.0001) e IL-2 (r=0.384, p=0.008) aumentou progressivamente com a idade. Nesse estudo as citocinas foram dosadas por meio da técnica de CBA, utilizando-se sobrenadantes celulares (HARTEL et al., 2005).

Além de diferenças na produção de citocinas por faixa etária, tem sido proposto que diferenças em células produtoras e/ou relacionadas à sinalização das mesmas também podem se diferenciar entre crianças, adolescentes e adultos. Um estudo que buscou determinar a distribuição de subpopulações de linfócitos, avaliou marcadores de superfície celular para diferenciação de linfócitos no sangue periférico, por meio da técnica de CBA, em uma amostra de 851 indivíduos saudáveis com idade entre 0 a 18 anos de idade. A análise de marcador de superfície celular demonstrou que a idade foi uma variável importante quando observada as 24 distribuições de subconjuntos de linfócitos (SHEARER et al., 2003).

Quando comparada a produção das citocinas IL-1 α , IL-1 β , IL-2, TNF- α e IFN- γ , dosadas por meio da técnica de ELISA, entre grupos saudáveis de crianças mais jovens (1 a 9 anos) e crianças mais velhas (10 a 17 anos), verificou-se que no grupo das crianças mais jovens as diferenças foram significativas para todas as citocinas mensuradas. Apesar de no grupo de crianças mais velhas os valores terem sido mais elevados do que nas crianças mais jovens, os valores desse último grupo foi menor do que em adultos. Os resultados indicam que a competência imunológica celular é ou pode ser reduzida em crianças e adolescentes, principalmente em crianças abaixo de 10 anos de idade. Isso demonstra que parece haver um desenvolvimento gradual da produção de citocinas durante a infância (ELSÄSSER-BEILE et al., 1995).

Um trabalho desenvolvido com 486 crianças de 3 meses a 18 anos com diagnóstico leucemia aguda, anemia aplásica, púrpura trombocitopênica, linfoma e neuroblastoma, comparado com um grupo controle com 550 crianças saudáveis (6 meses a 14,5 anos), avaliou os níveis das citocinas IL-6, TNF- α e IL-10 por meio do soro, utilizando-se a técnica de CBA. O TNF- α foi detectado com uma média de 4.6 pg/ml (Mín.: 1.7- Máx.: 65.6) no grupo com câncer e grupo controle com média de 4.1 pg/ml (Mín.: 1.3- Máx.: 9.9) (TANG et al., 2011).

O mesmo acontece com a citocina IL-6 com uma média de 9.4 pg/ml (Mín: 3.0-Máx.: 77.8) e no grupo controle com 6.1 pg/ml (Min.: 1.3- Máx.: 40.6). No nosso estudo, a IL-6 foi detectada com uma média de 6.72 pg/mL, valor próximo, apenas, da média de crianças saudáveis segundo o estudo de Tang et al. (2011).

Esse mesmo estudo mensurou ainda IL-10 obtendo uma média de 10.4 pg/ml (Mín.: 3.6-Máx.: 72.3) e no grupo controle 6.6 pg/ml (Mín.: 1.9 - Máx.: 27.4) (TANG et al., 2011).

Uma amostra de 150 crianças entre 5 e 18 anos com leucemia linfoblástica aguda (LLA) e um grupo controle de 30 crianças saudáveis de 5 a 18 foram comparados quanto ao perfil de citocinas no soro e quantificadas por ELISA. Os pacientes com LLA foram divididos em cinco grupos de acordo com o período de tempo decorrido desde a conclusão do tratamento: grupo I, 1 mês após a conclusão do tratamento; grupo II, três meses depois; grupo III, 6 meses depois; o grupo IV, 9 meses depois e o grupo V, após 12 meses (MAZUR et al., 2004).

A concentração média de TNF- α (em pg/ml) foi de $6,86 \pm 1,77$ no grupo I; $6,17 \pm 1,57$ no grupo II; $6,94 \pm 1,43$ no grupo III; $7,16 \pm 2,74$ no grupo IV e $6,28 \pm 1,31$ no grupo V. Esses valores foram significativamente maiores ($p < 0,00001$), em comparação com os dos controles saudáveis ($3,12 \pm 2,23$ pg/ml) (MAZUR et al., 2004). A concentração média de IL-6 (em pg/ml) foi de $2,81 \pm 2,44$ no grupo I; $1,99 \pm 1,9$ no grupo II; $2,34 \pm 3,95$ no grupo III; $1,15 \pm 0,63$ no grupo IV; $1,61 \pm 1,89$ no grupo V e não foi significativamente diferente em comparação com os controles saudáveis ($1,37 \pm 0,50$ pg/ml) (MAZUR et al., 2004). As concentrações médias de IL-8 (em pg/mL) foram de $44,9 \pm 24,4$ no grupo I ($p < 0,006$); $18,7 \pm 20,2$ no grupo III ($p < 0,0001$); $19,93 \pm 15,5$ no grupo IV ($p < 0,0005$); $21,9 \pm 20,5$ no grupo V ($p < 0,001$), as quais foram significativamente menores em comparação com o grupo controle ($47,57 \pm 26,6$ pg/ml) (MAZUR et al., 2004). A concentração média de IL-10 (em pg/mL) foi de $3,34 \pm 1,51$ no grupo I; $4,13 \pm 4,63$ no grupo II; $4,01 \pm 3,02$ no grupo III; $2,95 \pm 1,39$ no grupo IV e $3,16 \pm 1,58$ no grupo V. Não houve diferença significativa entre os grupos de pacientes e grupo controle ($3,60 \pm 2,58$ pg/ml) (MAZUR et al., 2004).

Cumprе ressaltar que os nossos pacientes, assim como os de Mazur et al. (2004), também encontravam-se em diferentes momentos de tratamento, de modo que 24.2% dos nossos pacientes (n=8) estavam no primeiro trimestre de tratamento,

15.2% (n=5) estavam no segundo trimestre e a grande maioria, 54.2% (n=18), estava a mais de seis meses em tratamento.

Em um grupo de crianças com câncer composto por 10 crianças (LLA, LMA, linfoma e outros tumores sólidos) com idade média de 7.2 ± 5.1 e que tivessem completado a quimioterapia ou transplante de células tronco, foram mensurados os níveis séricosplasmáticos de IL-12p70, TNF- α e IL-10 por meio do plasma e quantificadas utilizando-se a técnica de ELISA (LEE; HAH; KIM, 2012).

Outro estudo comparou os níveis das citocinas IL12p70 e IL-10 em um grupo de 59 crianças com sarcoma de tecidos moles entre 2 e 15 anos (média de idade 8.5 anos) e um grupo controle de 30 crianças saudáveis de 4 a 17 anos (média de idade 11 anos). Os pacientes oncológicos foram divididos em 4 grupos: grupo I pacientes que estavam no momento do diagnóstico (n=59); grupo II - em remissão completa durante a terapia oncológica (n=34); grupo III - durante recidiva ou com resposta deficiente a terapia (n=31); grupo IV, em remissão completa, com pelo menos 3 meses após a interrupção do tratamento oncológico (n=34) (BIEN et al., 2013a).

Os níveis séricos de IL-12p70 detectados foram de 54.7 ± 20.3 pg/ml no grupo controle e de 65.2 ± 30.2 pg/ml no grupo I, 93.0 ± 13.3 pg/ml no grupo II, 52.7 ± 17.5 pg/ml no grupo III e 98.8 ± 11.2 pg/ml no grupo IV (BIEN et al., 2013a). Quanto aos níveis de IL-10, detectados por Bien et al. (2013a) foram de 6.3 ± 2.6 pg/ml no grupo controle e de 12.7 ± 8.7 pg/ml no grupo I, 6.96 ± 3.48 pg/ml no grupo II, 14.2 ± 5.75 pg/ml no grupo III e 5.94 ± 2.88 pg/ml no grupo IV.

7.2 Correlação entre citocinas e a fadiga relacionada ao câncer em crianças e adolescentes com câncer

Diversos trabalhos têm proposto a hipótese de participação do sistema imunológico, via liberação de citocinas, na fadiga em adultos com câncer (BOWER et al., 2007b; WRATTEN et al., 2014; INAGAKI et al., 2008; SALIGAN; KIM, 2012). Entretanto, esses estudos em crianças e adolescentes com câncer são escassos internacionalmente e ausentes no Brasil. Por essa razão, a maioria dos nossos resultados com crianças e adolescentes foram discutidos com base em evidências provenientes de estudos em adultos.

Dado o número escasso de estudos em crianças e adolescentes, pesquisadores tem ratificado de modo consistente a alta prioridade no desenvolvimento de pesquisas que elucidem sobre os mecanismos biológicos e etiologia da FRC e demais sintomas relacionados a essa doença nessa população (BARSEVICK et al., 2013).

Em razão dessa escassez literária e a necessidade de se compararmos nossos resultados, em sua maioria, com estudos desenvolvidos em adultos, considera-se de suma importância registrar que já existem evidências na literatura que constata diferenças entre a produção de citocinas em crianças, adolescentes e adultos. De modo geral, os estudos têm reportado que quando comparada a produção das citocinas pró e anti-inflamatórias entre crianças e adultos saudáveis, bem como entre aqueles acometidos por situações clínicas diversas, tais como câncer, doença de Crohn e queimaduras, verificou-se que, a produção relativa das citocinas mensuradas foi menor em crianças quando comparadas aos adultos (ELSÄSSER-BEILE et al., 1995; BUCK et al., 2002; McNERLAN; REA; ALEXANDER, 2002; MAZUR et al., 2004; HARTEL et al., 2005; TANG et al., 2011; PAK et al., 2012).

Os nossos resultados apontaram uma correlação negativa entre os escores da "fadiga geral" e a citocina IL-1 β ($r=-0.361$, $p=0.039$), ou seja, quanto maior o escore "fadiga geral", menor foram os níveis de IL-1 β . Isso significa que crianças menos fatigadas apresentaram menores níveis de IL-1 β , e, consequentemente as mais fatigadas apresentaram maiores níveis de IL-1 β .

O escore da "fadiga geral" é um dos domínios da PedsQL™ Escala Multidimensional de Cansaço composto dos seguintes itens: 1. Eu me sinto cansado/a; 2. Eu me sinto fisicamente fraco/a; 3. Eu me sinto cansado/a demais para fazer o que gosto de fazer; 4. Eu me sinto cansado/a demais para ficar com meus amigos; 5. Eu tenho dificuldade para terminar o que comecei a fazer e 6. Eu tenho dificuldade para começar a fazer alguma coisa (VARNI et al., 2002).

A média do escore "fadiga geral" encontrada na nossa amostra foi de 64.2. Outros estudos que avaliaram a fadiga em crianças e adolescentes oncológicos por meio da PedsQL encontraram valores superiores aos nossos para esse mesmo escore com uma amostra de 20 pacientes (ERICKSON et al., 2011), 99 pacientes (PALMER et al., 2007) e 220 pacientes (VARNI et al., 2002). Essas pesquisas detectaram crianças e adolescentes com menores escores "fadiga geral" quando comparados aos nossos resultados. Na população pediátrica saudável ($n=52$) esse

escore foi detectado com uma média de 85.34, o que demonstra níveis da "fadiga geral" mínimos se comparado com a população oncológica (VARNI et al., 2002).

No que diz respeito a correlação entre a fadiga e a IL-1 β , corrobora os dados do nosso estudo, o resultado encontrado em uma amostra de mulheres com câncer de mama (n=44, estágio 0 a IIIa) em quimioterapia adjuvante e radioterapia, onde se observou uma correlação entre os altos níveis de IL-1 β e os escores de fadiga ($r=0.32$) de modo que quanto maior os níveis de IL-1 β , maior o nível da fadiga (VON AH et al., 2008).

Outra correlação positiva foi encontrada em um estudo longitudinal que objetivou avaliar a resposta inflamatória ao estresse psicológico entre mulheres com câncer de mama fatigadas (n=10) em estágio 0, I e II e mulheres não fatigadas (n=15), identificou que os níveis de IL-6 ($p=0.006$) e IL-1 β ($p=0.02$) estavam aumentados nas pacientes que reportaram fadiga (BOWER et al., 2007b). Esses dados também se assemelham aos nossos, uma vez que, apesar de a correlação encontrada por Bower et al. (2007a) ter sido positiva, a interpretação do escore para avaliar a fadiga utilizado por Bower et al. (2007a) não é feito por transformação linear, assim como são os escores da PedsQL, para o qual quanto maior o escore, menor a fadiga.

Bower et al. (2009) em uma amostra de 28 mulheres com câncer de mama e 20 homens com câncer de próstata em vários estágios da doença, detectou que altas concentrações do antagonista do receptor de IL-1(IL-1ra) estavam correlacionadas com altos níveis de fadiga ($p<0.03$). A família da IL-1 é composta por dois agonistas, a IL-1 α e IL-1 β , dois receptores IL-1rI e IL-1rII, e um antagonista específico do receptor, IL-1ra. É interessante notar que a IL-1 e IL-1ra estão relacionadas a uma variedade de doenças, como artrite, leucemia mieloblástica aguda, doenças renais, pulmonares, dentre outras. O equilíbrio entre IL-1ra e IL-1 nos tecidos humanos exerce influência sob os efeitos fisiológicos e fisiopatológicos da IL-1 (AREND, 2002).

A IL-1 β também se correlacionou com os escores do domínio "dores e machucados" ($r=-0.418$, $p=0.015$), ou seja, quanto maior o escore "dores e machucados", menores foram os níveis de IL-1 β . Esse é um dos domínios da PedsQL™ Inventário Pediátrico de Qualidade de vida - Módulo de Câncer 3.0, composto pelos itens: 1. Eu sinto dor, eu me machuco nas minhas "juntas" (articulações) e músculos e 2. Eu me machuco muito. Esse mesmo domínio

também se correlacionou positivamente com a idade ($r=0.389$, $p=0.025$), ou seja, os pacientes na faixa etária superior (13-18) apresentaram os maiores escores para esse domínio. Por meio da média e desvio padrão apresentados na tabela 3 essa correlação pode ser claramente constatada do ponto de vista descritivo, uma vez que em todos os grupos, exceto no grupo "outros tumores sólidos", os pacientes nas faixa etária de 13-18 reportaram os maiores escores.

A correlação negativa da IL-1 β com o domínio "dores e machucados" não está de acordo com os dados encontrados na literatura na população oncológica, os quais, apontam uma correlação positiva entre a dor e a IL-1 β . Essa citocina quando produzida pelas células da glia e neurônios, aceleram a sensibilização à dor central, do mesmo modo que a inibição dessa citocina no sistema nervoso central (SNC) e no sistema nervoso periférico (SNP) reduz eficazmente a dor neuropática (RAMESH; MACLEAN; PHILIPP, 2013).

Um estudo *in vitro* investigou o efeito da IL-1 β sobre a excitabilidade de culturas de neurônios de gânglios da espinha dorsal. O potencial limiar excitatório dos neurônios (-21 ± 5 mV, $n=25$) foi estável ao longo do tempo, mas na presença de IL-1 β (10 ng/ml) foi observado um aumento da excitabilidade da população de neurônio. A IL-1 β , para além participar da inflamação e de induzir a síntese de vários sensibilizadores de nociceptores, também ativa nociceptores para gerar potenciais de ação e induzir hipersensibilidade a dor (BINSHTOK et al., 2008).

Essa diferença entre os nossos resultados e os dados da literatura pode ser explicada pela seguinte hipótese: o domínio da PedsQL que se propõe a mensurar a dor é, na verdade, parte de um instrumento para avaliar qualidade de vida em crianças e adolescentes, que dispõe de um módulo específico para avaliar a qualidade de vida em crianças com câncer (Módulo de Câncer 3). O domínio "dores e machucados" se propõe a avaliar a dor de modo simplista, dispondo apenas de dois itens, dado que se trata de uma pequena parte desse módulo que contém mais 14 itens e outros 4 domínios não relacionados a dor. Portanto, a ausência de uma correlação positiva entre IL-1 β pode ser explicada pelo fato de o escore da dor não ter sido obtido com um instrumento específico para avaliar esse sintoma em crianças e adolescentes com câncer.

Cumprе ressaltar, entretanto que a dor é um sintoma bastante comum entre crianças e adolescentes com câncer e que vários estudos tem investigado essa possível correlação entre IL-1 β e a dor, inclusive como um biomarcador para medir a

eficácia de tratamentos para aliviar esse sintoma (MILLER; JACOB; HOCKENBERRY, 2011; STEPHENS et al., 2014; IAKOVOU et al., 2014).

Dado que, evidências a respeito dessa possível correlação permanecem inconclusivas, as evidências literárias que já existem apresentam resultados dissemelhantes entre os mais diversos tipos de estudos e inconsistentes quando comparados entre si, de modo que, há trabalhos que apontam para uma correlação estatisticamente significativa entre algumas dessas citocinas e a FRC, e outros em que não se identificou essa correlação.

Em relação a ausência de correlação entre as citocinas e a fadiga, Orre et al. (2009), em um estudo longitudinal com uma amostra de 92 pacientes fatigados e sobreviventes de câncer testicular, não identificou qualquer correlação entre os níveis plasmáticos de IL-6 com a FRC. Outro estudo do mesmo grupo com pacientes sobreviventes de câncer de mama (n=299), tratados a pelo menos 9 anos, também não identificou correlação entre a FRC e a citocina IL-6 (ORRE et al., 2011).

Em uma pesquisa longitudinal com 83 pacientes com câncer avançado e inoperável (estádios III e IV) ou carcinoma de pulmão de células não pequenas, não foi encontrada correlação entre a FRC e os níveis plasmáticos das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (SCHEEDE-BERGDAHL et al., 2012).

Em outro estudo longitudinal, amostras do soro de pacientes adultos com leucemia mielóide aguda, após um ano de diagnóstico, em quimioterapia ou cuidados paliativos, não apresentaram diferença significativa quanto à correlação entre as citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α e a FRC (PANJU et al., 2009).

Os parâmetros imunológicos em adolescentes saudáveis fatigados foram avaliados a fim de correlacionar os níveis de citocinas com a ocorrência da fadiga e da síndrome de fadiga crônica, que é quando a fadiga persiste por mais de seis meses e não é atribuída a um diagnóstico ou doença específica. Há a hipótese de que alterações hormonais, dentre outros fatores relacionados à puberdade, podem ser fatores subjacentes ao aparecimento desse sintoma nessa população (WOLBEEK et al., 2007; KLIMAS; BRODERICK; FLETCHER, 2012; MORENO, 2014). Wolbeek et al. (2007) realizaram um estudo com um total de 67 pacientes do sexo feminino fatigadas (idade média de 15 anos) e um grupo controle de 61 meninas não fatigadas (idade média de 14 anos). Para análise imunológica, células do sangue periférico foram utilizadas para detectar a produção de citocinas por meio do estímulo com fitohemaglutina, e avaliou-se também a proliferação de células T *in*

vitro, além da contagem de leucócitos e subconjuntos dessa célula. O estudo foi longitudinal, com duração de um ano e avaliou as pacientes em três períodos: na primavera (T1), outono (T2) e primavera do ano seguinte (T3) (WOLBEEK et al., 2007). Foi observado que as participantes apresentaram níveis mais elevados de fadiga no período T3 comparados a T1, apresentando uma diminuição nos níveis de IL-6 e TNF- α (respectivamente, $r=0,31$, $p<0,05$, $r=0,30$, $p<0,05$). Além disso, os resultados de um pequeno grupo de pacientes com síndrome de fadiga crônica ($n=11$), apresentaram um perfil imunológico distinto quando comparado com os participantes que apresentaram apenas fadiga ou aqueles não fatigados. Nesse grupo específico, observou-se uma diminuição nos níveis das citocinas inflamatórias IL-6 e TNF- α em todos os períodos analisados (WOLBEEK et al., 2007).

Em uma investigação longitudinal que se propôs a avaliar a correlação de fatores biológicos com a fadiga durante a radioterapia (RT) adjuvante de pacientes com câncer de mama, em estágio inicial ($n=52$), identificou-se uma correlação entre a fadiga e altos níveis de IL-6 antes da RT ($p=0.05$) e na quinta semana de RT ($p=0.03$) (WRATTEN et al., 2014).

Ahlberg et al. (2004) avaliaram em pacientes com câncer de útero ($n=15$), em estágio I e em radioterapia, os níveis plasmáticos da citocina IL-6 e os escores da fadiga antes do início da RT e em quatro momentos durante o tratamento. Foi identificada uma correlação positiva entre os níveis de IL-6 e escores de fadiga entre o período pré RT e 3 semanas após início da RT ($p=0.04$ e $r=-0.65$).

Em uma amostra de pacientes em estágio terminal de diversos cânceres ($n=27$, com média de sobrevivência de 64.5 dias) identificou-se alto nível de IL-6 ($r=0.01$) associado a maiores escores de fadiga física, mas não ao escore de "fadiga total", no grupo fatigado comparado ao grupo controle ($n=19$) (INAGAKI et al. 2008).

7.3 Correlação entre citocinas e o padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer

Os nossos resultados apresentaram correlação entre o padrão de sono e as citocinas IL-10 e IL-12p70. A eficiência do sono ($r=0.452$, $p=0.018$) e a porcentagem do sono ($r=0.384$, $p=0.048$) se correlacionaram positivamente com a citocina IL-10.

Enquanto que a duração do sono se correlacionou positivamente com a citocina IL-12p70 ($r=0.604$, $p=0.001$). Quanto melhor o sono, segundo os parâmetros eficiência, porcentagem e duração, maiores foram os níveis das citocinas IL-10 e IL-12p70.

Nesse contexto, é importante citar que, além de se correlacionaram com o padrão de sono dos pacientes da nossa amostra, as citocinas IL -10 e IL-12p70 se correlacionaram entre si positivamente ($p=0.015$), conforme já foi discutido.

É interessante notar que tanto a IL-10, quanto a porcentagem do sono, se correlacionaram negativamente com a idade. Ou seja, quanto maior a idade das crianças e adolescentes, menor foram os níveis dessa citocina e menor a porcentagem de sono. Isso demonstra que as crianças mais velhas tiveram uma menor porcentagem de sono.

Foi observado que as crianças e adolescentes que compuseram nossa amostra dormiram menos de 4 horas (204.44 minutos, em média) durante a noite (Tabela 4). Esse valor é inferior a média de minutos dormidos por crianças hospitalizadas com tumores sólidos ou leucemia mielóide aguda (HINDS et al. de 2007).

As citocinas IL-10 e IL-12p70 desempenham um papel importante no padrão de sono (OBÁL; KRUEGER, 2003; ANDERSON et al., 2014). Em um estudo que avaliou o sono por meio da polissonografia em crianças com apneia obstrutiva do sono (AOS) após terem sido submetidos a tonsilectomia, testou-se a hipótese de que o aumento dos níveis de células T efetoras das amígdalas resultaria em uma resposta inflamatória capaz de produzir resistência das vias aéreas, resultando na AOS. O processo de fenotipagem dos linfócitos T foi realizado para mensurar os níveis de citocinas. Os resultados mostraram um aumento na produção de IL-10, IL-12p70 e IL-17a nos pacientes com AOS (ANDERSON et al., 2014).

Os resultados de Obál e Krueger (2003), demonstraram que a citocina IL-10 desempenhou uma função inibitória do sono não REM (REM - do inglês, movimentos rápidos dos olhos).

Em uma amostra de 14 homens fisicamente e mentalmente saudáveis (idade média de 24,4 anos), com ritmo de sono-vigília regular, por pelo menos 6 semanas antes dos experimentos, foram comparados os níveis das citocinas do padrão T_H1/T_H2 durante o sono noturno regular (23:00 - 07:00h). Os resultados demonstraram que a produção in vitro de IL-10 em amostras de sangue total

estimuladas por mitógenos, teve seu pico de detecção às 22:00h para IL-1 (DIMITROV et al., 2004).

Um outro trabalho alcançou resultados diferentes, mostrando que em uma amostra de 11 homens saudáveis com uma média de idade de 25 anos, dos quais amostras de sangue foram coletadas em diferentes períodos do dia (em 24 horas), as citocinas IL-12 e a IL-10, dosadas da expressão celular de monócito, se correlacionaram positivamente com o padrão de sono. A liberação dessas citocinas mantiveram-se sob efeito do ritmo circadiano. Durante o sono regular, o pico de detecção para a IL-12 foi às 2:20 horas da manhã, e o pico de detecção da IL-10 foi às 11:30 da manhã. A IL-12 manteve-se completamente ausente quando os participantes permaneceram acordados durante a noite (vigília contínua) (LANGE et al., 2006). Sabe-se que o ritmo circadiano, um dos reguladores da liberação das citocinas, deve ser considerado quando do uso de citocinas para a avaliação do sono. Já se sabe também que o ritmo diurno e noturno de liberação dessas citocinas se distinguem. A maioria dos estudos apontam que as citocinas pró-inflamatórias como IL-12, IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α e IFN γ tem o seus respectivos picos de liberação no período noturno e a maioria das citocinas anti-inflamatórias incluindo a IL-10 tem seu pico de liberação durante o dia (KAPSIMALIS et al., 2005; LANGE; DIMITROV; BORN, 2010).

As mudanças temporais, em função do ritmo circadiano de cada citocina, originam mudanças que, somadas às demais variações no sistema endócrino, como os níveis circulantes de melatonina, parecem regular o padrão de sono. Assim, o sistema circadiano e o ato de adormecer evocam uma cascata de atividades do sistema endócrino capaz de aumentar o tráfego de leucócitos e uma mudança na produção de citocinas (KAPSIMALIS et al., 2005; LANGE; DIMITROV; BORN, 2010).

A interrelação existente entre a fadiga e alterações no padrão do sono já está bem estabelecida. Em um estudo onde 20 adolescentes com câncer responderam um questionário para fadiga e alterações no padrão de sono, antes e depois do primeiro ciclo de quimioterapia, foram observados os seguintes problemas de sono-vigília: sonolência diurna, diminuição do estado de alerta e má qualidade do sono (ERICKSON et al., 2011).

Um fato interessante é que a IL-10 tem sido descrita como uma citocina que também se relaciona à fadiga. Corrobora a esse dado, uma correlação potencialmente importante entre a fadiga e a IL-10 ($r=0,326$, $p=0,091$), que foi

identificada entre dois períodos (T1 e T2) de um estudo que considerou uma amostra de 90 pacientes, com mais de 50 anos, diagnosticados com leucemia mieloide aguda. Esses sujeitos foram abordados em dois pontos do tratamento: T1, antes do tratamento ou entre a indução e consolidação, ou ainda, depois do tratamento; e o T2, em que os pacientes foram abordados de 4 a 6 semanas após T1. Amostras de sangue e avaliação da fadiga foram realizadas em ambos os períodos (PANJU et al., 2009).

Em uma amostra de pacientes oncológicos pediátricos foi demonstrado que períodos maiores de vigília noturna estavam associados a maiores escores de fadiga e períodos mais longos e menos efetivos de sono (HINDS et al., 2007). O mesmo foi observado em 197 pacientes com câncer de mama fatigadas e não fatigadas, em que aquelas com maior nível de fadiga relataram níveis significativamente mais altos de distúrbios do sono ($p=0,029$), do que aquelas pacientes menos fatigadas (HO; FONG; CHEUNG, 2014).

O sono ineficaz, reconhecido como não reparador, está relacionado a um aumento da fadiga e pior qualidade de vida (BERGER et al., 2005; BERGER; YENNU; MILLION, 2013). Vários fatores, podem, portanto, estar relacionados à fadiga, e conforme demonstram estudos recentes, sintomas que compõem os *clusters* têm sido investigados para identificar possíveis relações de predição entre eles. Esses sintomas podem agrupar-se entre si, criando um efeito sinérgico que leva a um aumento da intensidade dos mesmos, ou um efeito antecessor, como por exemplo a dor, que na maioria dos casos precede a instalação de um quadro de fadiga (DODD; MIASKOWSKI; LEE, 2004). Além disso, uma má qualidade do sono pode predizer um quadro de fadiga severa. Isso significa que dentro de um *cluster* pode existir um único sintoma, considerado um sintoma preditor, associado com a probabilidade de ocorrência dos demais sintomas desse *cluster* (KIRKOVA; AKTAS; WALSH, 2010; BROWN et al., 2011; AKTAS, 2013; BERGER; YENNU; MILLION, 2013).

Quando esse sintoma preditor é identificado ele é denominado sintoma sentinela. Esse entendimento pode ajudar a simplificar a avaliação e manejo dos *clusters*, uma vez que o sintoma sentinela ocorre como um indicador ou marcador da presença de um grupo de sintomas que podem levar à avaliação de outros sintomas relevantes (KIRKOVA; AKTAS; WALSH, 2010; BROWN et al., 2011; AKTAS, 2013). Assim, recomendações para pesquisas futuras incluem a necessidade de se

consolidar o conhecimento sobre as relações entre os sintomas dos mais diversos *clusters*.

Ainda que não tenham sido identificadas demais correlações com o padrão de sono e as citocinas, outras citocinas, que não a IL-10 e IL12p70, também têm sido correlacionadas a alterações no padrão de sono, como por exemplo, as citocinas pró-inflamatórias TNF- α , a IL-1 β que estão envolvidos na regulação do sono.

O TNF- α tem sido associado à alterações de neurotransmissão no SNC e pode estar associado a variações no padrão de sono em adultos (RYAN et al., 2007). A IL-1 β é uma citocina multifuncional e ambas tem sido reconhecidas não apenas pelo seu papel crucial na inflamação, mas como elementos importantes na regulação do sono, aprendizado e até no envelhecimento (KRUEGER, 2008; PAREDES et al., 2010; GUO et al., 2011). O TNF- α e a IL-1 β melhoram o sono profundo; por outro lado, a inibição dessas moléculas reduz o sono espontâneo. Esse fato foi ratificado pela demonstração de que a injeção exógena de TNF- α e IL-1 β em murinos ou humanos induz a sonolência e provocou um excesso de sono (KRUEGER, 2008). Altos níveis da subunidade IL-1 α também têm sido encontrados em crianças diagnosticadas com síndrome de apneia obstrutiva do sono (ISRAEL et al., 2013).

Além dos níveis de citocinas, estudos recentes têm demonstrado também uma correlação entre o sono e variações genóticas. Em um estudo que avaliou 88 crianças e adolescentes com idade entre 5 e 18 anos, quanto à qualidade do sono, detectou-se que os pacientes com o polimorfismo para IL-6 no alelo C (-174 G>C) apresentaram menos minutos de sono total ($p=0,028$). Os pacientes com o genótipo AA para o TNF- α (-308 G>A) apresentaram 28,2 minutos a mais de despertares após o início do sono ($p=0,015$) e uma taxa 5% menor de eficiência do sono ($p=0,03$) quando comparados aos genótipo GA (-308 G>A) (VALLANCE et al., 2011).

Aouizerat et al. (2009) estudaram um polimorfismo funcional na região promotora da expressão gênica do TNF- α e reportaram que, indivíduos com alelos homozigotos comuns referiam maiores níveis de fadiga e distúrbios de sono quando comparados com portadores de alelos menores. Variação genética no gene da citocina IL-6, assim como altas concentrações séricas dessa citocina, também podem contribuir com diferenças, tanto no padrão de sono como na severidade da fadiga em pacientes oncológicos (MIAKOSWSKI et al., 2012).

7.4 Correlação entre citocinas e a qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer

O escore total de qualidade de vida encontrado na população do nosso estudo foi de 59.8, muito abaixo da média encontrada em crianças com câncer conforme reporta outros estudos (VARNI et al., 2002; PALMER et al., 2007). Em crianças saudáveis, essa média também foi superior ao escore encontrado por nós (VARNI et al., 2002). Observamos em nossos resultados uma correlação negativa entre a IL-1 β e o escore total de qualidade de vida ($r=-0.382$, $p=0.028$). A IL-1 β também se correlacionou negativamente com o escore "fadiga geral" conforme já discutido anteriormente.

Já foi discutido o trabalho que avaliou 90 pacientes, com mais de 50 anos, diagnosticados com leucemia mieloide aguda e abordados em pontos distintos do tratamento, quanto à fadiga e níveis de IL-10 (PANJU et al., 2009). Além da fadiga, esse mesmo trabalho avaliou a qualidade de vida. Foi observado nesse estudo que não houve diferença entre os períodos T1 e T2, tanto para as médias dos escores de QV, bem como para os diferentes níveis das citocinas IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α . No entanto, correlações potencialmente importantes foram identificadas entre QV global e o IFN- γ ($r=-0.376$, $p=0.031$), IL-2 ($r=-0.340$, $p=0.053$), a IL-5 ($r=-0.368$, $p=0.035$), a IL-8 ($r=-0.312$, $p=0.077$), e TNF- α ($r=-0.326$, $p=0.064$). Em adição não foi observada nenhuma correlação entre a QV e a citocina IL-10 (PANJU et al., 2009).

Em um estudo piloto que avaliou a correlação entre QV e IL-1, em 54 pacientes recentemente diagnosticados com leucemia mieloide aguda ou síndrome mielodisplásica, foi encontrado uma correlação negativa e significativa entre QV e os níveis de IL-1 ($r=-0.49$) quando comparados aos controles normais. Detectou-se também que os níveis de IL-6 ($r=0.62$ e $r=-0.42$), IL-1ra ($r=0.52$ e $r=-0.49$) e TNF- α ($r=0.41$ e $r=-0.39$) se correlacionaram significativamente com a fadiga e a QV, respectivamente (MEYERS; ALBITAR; ESTEY, 2005).

Um total de 74 pacientes, com idade média de 54,8 anos (amplitude de 22-81 anos) com diagnóstico de leucemia mieloide aguda tiveram amostras de sangue coletadas para dosagem de citocinas. Além disso, os pacientes responderam um instrumento para avaliar QV e fadiga. O sangue foi coletado em dois momentos:

visita A, que ocorreu antes do início de qualquer quimioterapia e visita B, que aconteceu um mês depois da quimioterapia de indução e antes de qualquer quimioterapia de consolidação. Os resultados mostraram correlações importantes entre o TNF- α e a fadiga ($r=-0,366$, $p=0,017$) e o TNF- α e a QV. ($r=-0,313$, $p=0,008$) no *baseline* (visita A) (FUNG et al., 2013).

Um estudo identificou que os quatro sintomas mais comuns entre pacientes com câncer de pulmão, submetidos à cirurgia, foram: a dor, a fadiga, os distúrbios do sono e o estresse. Todos os sintomas se correlacionaram negativamente com a QV e com o índice de *Karnofsky Performance Scale* (que avalia o estado funcional do paciente) (LIN et al., 2013).

Em crianças com câncer, além da correlação entre as citocinas e a QV, é possível que os sintomas fadiga, sono e qualidade de vida também estejam correlacionados entre si. Essa correlação foi observada em um estudo com adolescentes (entre 12 e 19 anos, $n=20$), no qual, observou-se que a fadiga se correlacionou com uma pior qualidade do sono e uma pior qualidade de vida (especificamente com o domínio QV psicossocial da PedsQLTM), antes do início do tratamento. Após um mês do fim da quimioterapia, uma pior qualidade do sono correlacionou-se com uma pior QV (ERICKSON et al., 2011).

Em nossos resultados foram encontradas correlações positivas significativas entre o escore "QVtotal" e o escore "fadiga total" ($r=0.635$, $p=0.000$), o escore "fadiga mental" ($r=0.502$, $p=0.003$), o escore "fadiga geral" ($r=0.706$, $p=0.000$), escore "dificuldades cognitivas" ($r=0.387$, $p=0.031$) e com o escore "dores e machucados" ($r=0.416$, $p=0.016$). Esses dados corroboram a possível correlação existente entre a qualidade de vida e outros sintomas comuns na trajetória do câncer, os quais acompanham os pacientes mesmo após a cura ou remissão conforme demonstrou Bower et al. (2002).

7.5 Fatores confundidores relacionados à fadiga e às alterações no padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer

Embora o mecanismo exato seja desconhecido, a etiologia e os mecanismos biológicos que levam à fadiga e as alterações no padrão de sono, já podem ser

considerados como parte de um complexo sistema de *feedback* ao nível celular e sistêmico. Esse sistema é caracterizado por fatores regulatórios fisiopatológicos, psicológicos, genéticos e fatores situacionais/ambientais (ERICKSON, 2008; SALIGAN; KIM, 2012).

Quanto aos fatores fisiopatológicos, além dos níveis de citocina, outros fatores podem interferir de modo consistente no desenvolvimento da FRC. Dentre esses fatores, estão: os níveis de hemoglobina e hematócrito; a dor crônica; os níveis de albumina; os níveis de proteína C-reativa; os níveis de prostaglandias capazes de alterar a permeabilidade da barreira hematoencefálica para passagem de proteínas como as citocinas; a contagem de leucócitos; a contagem de monócitos; o desequilíbrio hidroeletrólítico; o desequilíbrio ácido-básico; a desidratação; a hipóxia; a presença de anormalidades cardíacas; os distúrbios na tireóide; além de fatores intrinsecamente relacionados ao câncer. Dentre os fatores relacionados ao câncer, destacam-se: o estado hipermetabólico associado com o crescimento tumoral; os efeitos deletérios da quimioterapia e da radioterapia; e a competição entre o organismo e o tumor por nutrientes, que pode ser agravada por uma nutrição inadequada, resultando em problemas gastrointestinais, tais como náusea e vômito (JEAN-PIERRE et al., 2007; ERICKSON, 2008; WANG, 2002; SCHENK; SABERI; OLEFSKY, 2008; PADDISON et al., 2009; ORRE et al., 2011).

Os fatores psicológicos associados à FRC incluem: ansiedade, depressão, estresse, medo e isolamento social, dado ao estigma social atribuído ao câncer. Já os fatores situacionais relacionados à FRC incluem: o tipo de tratamento e protocolo utilizado, padrão de sono e vigília do paciente, infecções, padrão de atividade e descanso, dentre outros fatores ambientais (ERICKSON, 2008).

Todos esses fatores quando somados são capazes de criar uma carga cumulativa sob os sistemas biológicos já sobrecarregados (ERICKSON, 2008). Por sua potencial interferência na FRC, alguns deles serão aqui discutidos e chamados de fatores confundidores ou modificadores de efeito. Os resultados dessas pesquisas devem ser devidamente ajustados aos fatores confundidores, para evitar que as conclusões alcançadas sejam revestidas de viéses de confundimento e impeçam a correlação independente entre as citocinas, a fadiga e as alterações no padrão de sono.

7.5.1 Níveis de hemoglobina e anemia

A maioria dos nossos pacientes apresentou alteração nos níveis de hemoglobina (75.7%) e hematócrito (78.7%) (Tabela 1). Verificamos ainda que os níveis de hemoglobina estavam correlacionados negativamente com a eficiência do sono ($r=-0.417$, $p=0.031$). Entretanto, estudos que avaliam a correlação entre sono e níveis de hemoglobina são escassos. Dessa forma, não foram encontrados estudos dessa natureza na população oncológica pediátrica, mas foi observado em um estudo com idosos que a duração do sono ($p=0,015$) e distúrbios do sono ($p=0,039$) correlacionaram-se com menores níveis de hemoglobina, e a anemia foi mais prevalente entre os homens com perturbações do sono (JACKOWSKA; KUMARI; STEPTOE, 2013).

Por outro lado, há uma relação bem descrita na literatura entre a anemia e as alterações no padrão do sono em crianças e adolescentes. Em um estudo verificou-se em crianças de quatro anos com anemia por deficiência de ferro que ocorreram alterações na organização do sono (PEIRANO et al., 2010). Em outra pesquisa, a suplementação de ferro foi associada com um longo período de sono durante a noite, ou sejam sem interrupções, como a duração total do sono (KORDAS et al., 2009).

A fadiga também tem sido associada à condição fisiológica de baixa concentração de hemoglobina e baixo nível de hematócrito. Um aumento ou diminuição nos níveis de hemoglobina (Hb) de ≥ 1 g/dL foram associados com mudanças significativas na FRC (GASCÓN et al., 2013). A anemia foi reconhecida pelo *National Comprehensive Cancer Network* como um dos fatores tratáveis que mais contribuem para a fadiga (MOCK et al., 2007). Quando a anemia persiste, deve-se identificar causas corrigíveis que podem estar associadas à ela, tais como deficiência de vitamina B12 ou folato, perda sanguínea ou hemólise (CAMPOS et al., 2011). No entanto, pessoas com a mesma alteração fisiológica podem apresentar uma variação significativa na experiência desse e de outros sintomas (LENZ; PUGH, 2008), essa variabilidade é atribuída à influência de fatores genéticos, psicológicos e situacionais (BARSEVICK et al., 2010).

As citocinas IL-6 e TNF- α , além de influenciar no aparecimento e severidade

da FRC, podem estar relacionadas com o quadro de anemia, pois estão dentre os fatores que interferem na produção de hemácias (KURZROCK, 2001). A interferência das citocinas no desenvolvimento da fadiga pode estar relacionada direta ou indiretamente na gênese da anemia (BOOKER et al., 2009). Os mecanismos subjacentes à anemia e à FRC podem ser resultado de um aumento de citocinas inflamatórias, como o TNF- α , o qual inibe diretamente a eritropoiese por reduzir a utilização do ferro armazenado (GILREATH; STENEHJEM; RODGERS, 2014).

Quanto à IL-6, a hipótese é de que essa citocina induz a produção de hepcidina, um hormônio regulador do ferro que pode ser responsável pela maior parte ou a totalidade das características da anemia (ANDREWS, 2004). O quadro de inflamação local que normalmente se instala em doenças crônicas, faz com que macrófagos produzam mais IL-6, a qual irá atuar nos hepatócitos induzindo a produção de hepcidina. A hepcidina irá inibir a liberação do ferro e a absorção intestinal, levando a hipoferremia (ANDREWS, 2004).

Essa hipótese de que existe uma conexão fisiológica entre os níveis de hemoglobina e as citocinas deve ser melhor explorada dentre a população pediátrica oncológica, pois pode ser útil no diagnóstico de alterações fisiológicas subjacentes ao câncer tais como a anemia e a fadiga aqui reportadas (LENZ; PUGH, 2008).

Outra evidência que correlaciona baixos níveis de hemoglobina à FRC, é que quando a hemoglobina está abaixo de 12g/l há um comprometimento da resistência muscular. Além disso, a instalação de um quadro de anemia limita a habilidade do corpo em prover oxigênio aos músculos, bem como, pela deficiência de ferro, os músculos diminuem a sua capacidade de realizar metabolismo oxidativo (VISOVSKY, 2006).

7.5.2 Tipo de câncer e tratamento

Em nossos resultados a maioria dos pacientes tinha diagnóstico de neoplasia primária (n=28). As leucemias/linfomas, junto aos tumores ósseos foram os diagnósticos mais frequentes se consideradas ambas as faixas etárias (Tabela 1). As médias da IL-6 foram estatisticamente diferentes para o tratamento com

quimioterapia ($p=0.039$), bem como, as médias de IL-10 foram estatisticamente diferentes para radioterapia ($p=0.036$) (Tabela 10).

Foi encontrada uma diferença significativa entre o escore "dificuldades cognitivas" ($p=0.0460$) e o uso de dexametasona, de modo que o grupo que usou dexametasona (*on dex*) apresentou menos dificuldades cognitivas. A média do escore "dificuldades cognitivas" no grupo que usou dexametasona foi maior (o que indica menos dificuldades cognitivas) quando comparado ao grupo *off dex*. O uso de algumas drogas imunossupressoras tem sido descrito na literatura como um dos fatores confundidores ou modificadores de efeito no que diz respeito à fadiga, alterações no padrão do sono e níveis detectáveis de citocinas. Dentre essas drogas, destacam-se a prednisona/dexametasona, cisplatina, a ciclofosfamida/isofosfamida e o metotrexate (HINDS et al., 2007; VALLANCE et al., 2010; VAN LITSENBURG et al., 2011). Essas drogas estavam presentes no esquema de tratamento de 63% dos pacientes da nossa amostra, entretanto cumpre ressaltar que, não necessariamente, esses pacientes estavam fazendo uso de uma ou mais dessas drogas no momento da pesquisa.

O escore "dificuldades cognitivas" que mostrou diferença entre os grupos *on dex* e *off dex*, é um dos domínios da PedsQL™ Inventário Pediátrico de Qualidade de Vida - Módulo Câncer 3.0 e é composto dos seguintes itens: 1. Pra mim é difícil pensar o que fazer quando alguma coisa me aborrece; 2. Pra mim é difícil trabalhar com números (por exemplo: fazer contas de matemática); 3. Pra mim é difícil escrever; 4. Pra mim é difícil prestar atenção nas coisas; 5. Eu tenho dificuldade para terminar o que comecei a fazer e 6. Pra mim é difícil lembrar do que eu já li (VARNI et al., 2002). Esse dado é semelhante ao de um estudo que trabalhou com uma amostra de crianças com LLA ($n=243$), o qual, apesar de ter identificado que as crianças com LLA apresentaram um risco significativamente maior para déficit de atenção, não identificou nenhuma correlação entre alterações cognitivas e uso de dexametasona (CONKLIN et al., 2012). Outro trabalho com crianças e adolescentes com câncer, entretanto, identificou que crianças que fizeram uso de dexametasona (dose de 6 mg/m² por dia ou 18 mg/m² por dia) tiveram um desempenho menor nos testes cognitivos (WABER et al., 2000).

Evidências tem mostrado que, em modelos animais (murinos), o uso de drogas quimioterápicas como a ciclofosfamida e o etoposide alteram os níveis de citocinas como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , bem como se relacionam ao desenvolvimento de

fadiga nesses animais (SMITH et al., 2010; WOOD et al., 2006). Alterações no padrão de sono também foram previamente relatadas em associação com a dexametasona (HINDS et al., 2007; VALLANCE et al., 2010; VAN LITSENBURG et al., 2011).

Quanto ao tipo de tumor e diagnóstico, na nossa amostra, a maioria dos pacientes foram diagnosticados com tumores ósseos e leucemias e linfomas (n=22, 66.6%). A variável tipo de tumor e diagnóstico também tem sido considerada um fator modificador ou confundidor para a fadiga, para alterações no padrão de sono e alterações nos níveis de citocinas. Tumores sólidos e tumores de partes moles, incluindo sarcomas, têm sido associados a alterações na produção de citocinas pró-inflamatórias (STANILOV et al., 2010; BIEN et al., 2013a)

A resposta do indivíduo ao tratamento também pode alterar o padrão de resposta das citocinas. Em um estudo que comparou os níveis de citocinas com a resposta dos indivíduos à quimioterapia, detectou-se que os níveis séricos de IL-6, TNF- α e TGF- α estavam elevados no grupo de pacientes com câncer refratário à quimioterapia (n=21), em níveis intermediários em pacientes com melhor resposta ao tratamento e estabilização da doença (n=25) e em níveis inferiores nos pacientes com resposta consistente ao tratamento (n=34). Em crianças com cânceres menos avançados, foram detectados baixos níveis de IL-10 e altos níveis de IL-12 (BIEN, et al., 2013a).

Da mesma forma, a fadiga também sofre alterações em resposta ao tratamento realizado. Em uma amostra de mulheres com câncer de mama (n=134) a fadiga mostrou-se mais severa dentre aquelas que realizaram quimioterapia quando comparadas aquelas que realizaram radioterapia (DONOVAN et al., 2004). A fadiga em pacientes que fazem tratamento quimioterápico segue, normalmente, um padrão cíclico, refletindo os ciclos de quimioterapia agendados; enquanto a fadiga em pacientes que realizam radioterapia são cumulativas e piora após a finalização do tratamento. Para aqueles pacientes que recebem terapias multimodais (podendo associar radioterapia e quimioterapia) o padrão de aparecimento e severidade da fadiga pode se sobrepor, causando uma fadiga mais severa que persiste para além da duração das intervenções terapêuticas (ERICKSON, 2008).

Em uma pesquisa com mulheres com câncer de mama em estágio inicial, avaliou-se a correlação entre citocinas circulantes e índices sanguíneos periféricos. Durante a radioterapia, as pacientes cujos escores de fadiga eram menores

apresentaram um número superior na contagem de glóbulos vermelhos (incluindo hemoglobina). Os níveis de fadiga mensurados no início do tratamento se correlacionaram com hemoglobina e demais células sanguíneas (FRANZCR et al., 2004).

Conforme discutido anteriormente, a anemia é um dos fatores associados à FRC e pode ser diagnosticada de modo exacerbado quando do uso de alguns quimioterápicos como a cisplatina (RODGERS, 2008).

A fadiga severa foi reportada com mais frequência dentre os pacientes com cânceres hematológicos quando comparados àqueles com diagnóstico de tumores sólidos (WANG et al., 2002). Da mesma forma, em neoplasias hematológicas, a prevalência da anemia é aproximadamente o dobro da frequência encontrada em pacientes com tumores sólidos (BIRGEGÅRD; GASCÔN; LUDWIG, 2006).

7.5.3 Contagem de leucócitos

Quanto à contagem de neutrófilos, grande parte dos pacientes apresentou contagem normal ($n=17$). O número de pacientes leucopênicos ($n=13$) e com contagem de leucócitos normal ($n=13$) foi idêntico. A linfopenia foi a alteração hematológica mais frequente, com 22 casos no total (66.6%). O grupo das leucemias/linfomas, junto aos tumores ósseos foram os grupos com o maior número de leucopênicos com frequência idêntica ($n=9$). O grupo de outros tumores sólidos não apresentou nenhum paciente com linfopenia. Quanto à contagem de monócitos, a maioria dos pacientes estava com contagem normal ($n=17$). (Tabela 1). Foram encontradas algumas correlações entre os leucócitos e os níveis de citocinas, bem como correlação entre leucócitos e o escore da "fadiga mental", as variáveis do sono e o escore QV.

O escore "fadiga mental" (um dos domínios da PedsQL™ Escala Multidimensional de Cansaço) correlacionou-se negativamente com os neutrófilos ($r=-0.360$, $p=0.004$) (Tabela 11). Os monócitos se correlacionaram positivamente com o escore total de QV (PedsQL™ Inventário Pediátrico de Qualidade de vida) ($r=0.346$, $p=0.048$), que, por sua vez, se correlacionou negativamente com IL-1 β conforme já discutido.

A contagem de linfócitos se correlacionou positivamente com a variável eficiência do sono ($r=0.487$, $p=0.01$), a qual se correlacionou positivamente com a IL-10 conforme já discutido. O número de linfócitos, por sua vez, se correlacionou negativamente com o número de despertares após o início do sono ($r=-0.026$, $p=-0.026$). A contagem de glóbulos brancos se correlacionou negativamente com a IL-8, a qual se correlacionou negativamente com a contagem de neutrófilos ($r=-0.381$, $p=0.029$; $r=-0.523$, $p=-0.002$, respectivamente). Essa correlação entre IL-8 e neutrófilos, do ponto de vista imunológico, é uma correlação importante, pois a IL-8 tem a sua principal ação caracterizada pelo estímulo consistente da migração de células do sistema imune, com ação principal sob os neutrófilos. Essa citocina também ativa polimorfonucleares neutrofílicos, aumentando o metabolismo oxidativo. A correlação negativa, entretanto, pode ser explicada pelo fato de a IL-8 ser sensível a muitos corticosteróides e a ciclosporina, os quais inibem a sua produção (BAGGIOLINI; DEWALD; MOSER, 1994).

O sistema imune desempenha um papel importante no câncer, pois é capaz de desencadear um conjunto de ações em cascata que podem dirimir a ação tumoral ou, por outro lado, contribuir para a progressão do tumor e das metástases. Isso ocorre por meio de infiltrados celulares, em particular os macrófagos associados a tumores e componentes do infiltrado inflamatório, além das quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias (DUNN; OLD; SCHEREIBER, 2002; ALLAVENA et al., 2008; HANAHAN; WINBERG, 2011; MORGENSTERN; ANDERSON, 2012).

A relação entre câncer e inflamação foi inicialmente observada há mais de um século por Rudolf Virchow, ao notar uma infiltração de leucócitos em tecidos malignos. (ALLAVENA et al., 2008; MORGENSTERN; ANDERSON, 2012). O câncer e o seu tratamento funcionam como causas inflamatórias importantes por induzirem uma resposta consistente do sistema imune, tanto ao nível sistêmico como ao nível celular (MA et al., 2010).

As citocinas pró e anti-inflamatórias são produzidas em grande quantidade pelos monócitos, macrófagos e mastócitos teciduais, embora outras células, incluindo os linfócitos T, células endoteliais e epiteliais, também possam produzir essas citocinas. Além disso, células como os linfócitos T são os principais alvos de citocinas como a IL-1 β (DURAMAD et al., 2007; FIEREN, 2012). Somado a esse fato, sabe-se que diferenças na resposta imunológica a um mesmo agente agressor podem ocorrer em função da idade. Isso foi constatado a partir de um estudo *in vitro*

que avaliou variações, em função da idade, das funções de células mononucleares do sangue (MÜLLER et al., 1996).

A contagem celular das linhagens envolvidas na produção das citocinas pró-inflamatórias é um aspecto importante de ser avaliado no contexto da fadiga e alterações no padrão do sono em crianças e adolescentes com câncer, já tendo sido investigadas em adultos que reportaram FRC (PADDISON et al., 2009; WRATTEN et al., 2014). Entretanto, a contagem de células hematológicas produtoras de citocinas pró e anti-inflamatórias e a sua correlação com a FRC e alterações no padrão de sono, ainda não está totalmente elucidada. Poucos são os estudos que se debruçam em esclarecer essa possível correlação e muitos resultados obtidos até o momento são controversos.

A correlação negativa encontrada entre os escores da "fadiga mental" e a contagem de neutrófilos ($r=-0.360$, $p=0.040$), demonstram que, quanto maior o escore "fadiga mental", menor foi a contagem de neutrófilos. Isso significa que crianças menos fatigadas mentalmente apresentaram menor contagem de neutrófilos, e do contrário, as mais fatigadas mentalmente apresentaram maior contagem dessas células.

O escore "cansaço mental" é um dos domínios da PedsQL™ Escala Multidimensional do Cansaço e é composto dos seguintes itens: 1. Eu tenho dificuldade para prestar atenção nas coisas; 2. Eu tenho dificuldade para me lembrar do que as pessoas me contam; 3. Eu tenho dificuldade para me lembrar o que acabei de ouvir; 4. Eu tenho dificuldade para pensar com rapidez; 5. Eu tenho dificuldade para me lembrar daquilo que estava pensando agora mesmo 6. Eu tenho dificuldade para me lembrar de mais de uma coisa de cada vez (VARNI et al., 2002).

Em um estudo com 52 mulheres com câncer de mama em estágio inicial e em radioterapia (RT) adjuvante após cirurgia, objetivou-se avaliar a correlação entre a contagem de neutrófilos e a fadiga. Foi encontrada uma correlação negativa entre a fadiga e a alta contagem de neutrófilos, tanto antes da RT ($r=-0.315$; $p=0.03$) quanto na 5ª semana após RT ($r=-0.381$; $p=0.01$). Nessa mesma amostra, um alto número de monócitos também se correlacionou com a fadiga antes da RT ($r=-0.289$; $p=0.05$) e na 5ª semana ($r=-0.394$; $p=0.01$) (WRATTEN et al., 2004).

Outro estudo com 44 pacientes diagnosticados com câncer de pulmão de células não pequenas (estágios IIIb e IV), identificou uma correlação significativa entre a contagem de células brancas no sangue, neutrófilos e monócitos.

Especificamente no que diz respeito a contagem de neutrófilos, observou-se que a contagem dessas células aumentava à medida em que aumentavam os escores da fadiga (PADDISON et al., 2009).

A correlação negativa encontrada pelo nosso estudo entre neutrófilos e a IL-8 também é um dado relevante. Estudo pregresso demonstrou que os níveis de IL-8 são capazes de prever o risco para bacteremia em pacientes oncológicos com neutropenia febril. Em um estudo com 195 pacientes oncológicos pediátricos com neutropenia febril, identificou-se 24 episódios de bacteremia. Dentre os fatores preditivos para bacteremia avaliados, a IL-8 foi a variável de maior destaque. Baixos níveis séricos de IL-8 foi um preditor para pacientes com baixo risco de bacteremia (COST et al., 2005).

Em um estudo realizado com pacientes adultos com leucemia e linfoma não-Hodgkin (n=228) não foi observada relação entre a gravidade da fadiga e a contagem de leucócitos totais, porém os autores reconhecem que os eventos de leucopenia ou leucocitose podem estar relacionados ao aumento da fadiga (WANG et al., 2002).

Há a hipótese de que problemas no sono estejam associados à redução no número de linfócitos em adultos com câncer e redução nos níveis de IL-1 β , IL-2 e IFN- γ (SAVARD et al., 2003). Os linfócitos são células que, assim como os monócitos, estão relacionadas à produção de citocinas pró e anti-inflamatórias e por isso são consideradas células importantes na manutenção da homeostase (ABBAS; LITCHMAN 2005).

Já os neutrófilos constituem 50-60% do total de células brancas do sangue. Os neutrófilos sintetizam quimiocinas e citocinas, que recrutam e regulam a resposta inflamatória de outras células, incluindo macrófagos, células T e dos próprios neutrófilos em si (THOMSON; LOTZE, 2003; ABBAS; LITCHMAN 2005). A relação entre neutrófilos e a FRC ainda não está bem estabelecida, mas nos pacientes com síndrome de fadiga crônica tem sido relatado um elevado nível de neutrófilos ativados (KENNEDY et al., 2004).

No contexto das neoplasias, um aspecto importante relacionado aos neutrófilos é a neutropenia, o efeito hematológico mais comum observado em crianças e adolescentes com câncer (BAILEY; SKINNER, 2010). As células brancas de uma forma geral normalmente se apresentam diminuídas entre o 5º e o 14º dia após a administração da quimioterapia e se reestabelecem a partir do 7º ao 21º dia

(HASKELL, 2001). Entretanto, o protocolo quimioterápico utilizado interfere no desenvolvimento de complicações hematológicas como a neutropenia, a linfopenia e a monocitopenia. Altas doses de quimioterapia podem estender a duração da neutropenia e manter latente o risco de infecção e a própria neutropenia (BAILEY; SKINNER, 2010).

Alguns estudos tem investigado biomarcadores para prever consequências adversas da neutropenia febril, bem como a instalação do próprio quadro de neutropenia febril. Dentre esses biomarcadores, aqueles que apresentam resultados mais promissores são as citocinas IL-6 e IL-8 (LEHRNBECHER et al., 2004; STRYJEWISKY et al., 2005; KRUEGER, 2008; PHILLIPS et al., 2012).

Em uma pesquisa com pacientes adultos com câncer de mama em estágio inicial, avaliou-se a correlação entre citocinas circulantes e índices hematológicos antes, durante e após a radioterapia. A média de neutrófilos no grupo fatigado foi de 4.9 (n=21) e no grupo não fatigado foi de 3.5 (n=28), com significância estatística entre os grupos ($p=0.002$). A contagem dos linfócitos mostrou uma diferença significativa na 5ª semana de radioterapia em relação às demais semanas, mostrando-se com tendência à queda em ambos os grupos fatigados e não fatigados ($p < 0.01$) (FRANZCR et al., 2004).

Durante a radioterapia, os pacientes que apresentaram os menores escores de fadiga apresentaram um número superior de neutrófilos e contagens de glóbulos vermelhos (incluindo hemoglobina). Os níveis de fadiga mensurados antes do tratamento se correlacionaram com hemoglobina, contagem de glóbulos vermelhos, contagem de monócitos e neutrófilos. Na 5ª semana de radioterapia, os níveis de fadiga correlacionaram-se apenas com níveis altos de IL-6, contagem de monócitos e neutrófilos. Autores sugerem que essas mudanças podem refletir algum tipo de processo inflamatório subjacente à doença (FRANZCR et al., 2004).

Outras questões devem ser avaliadas no contexto das células do sistema imune e a sua correlação com a produção de citocinas pró-inflamatórias e possível correlação com a FRC e alterações no padrão de sono. Dentre os parâmetros mais utilizados para estudar a função imune no ser humano destacam-se a contagem de células, marcadores de ativação de superfície celular, resposta a mitógeno, expressão e liberação de citocinas intracelulares e extracelulares (DURAMAD et al., 2007).

Especificamente no contexto da FRC, além da contagem dos leucócitos sugere-se a avaliação de marcadores da atividade das citocinas, bem como a análise de células sinalizadoras da resposta imune (BOWER, 2009; BOWER et al., 2011). Isso é importante porque um baixo nível de produção de citocinas associada a um elevado nível de receptores, importantes nas interações célula-célula, pode mascarar a expressão das citocinas. É importante ressaltar que, apesar das células mononucleares estarem intrinsecamente relacionadas à produção de citocinas, a correlação entre os níveis de citocinas e a contagem celular nem sempre estarão positivamente correlacionadas (BOWER, 2009; BOWER et al., 2011). Assim, marcadores da atividade das citocinas como o IL-1ra ($p=0.006$) e o sTNF-RII ($p=0.036$) têm demonstrado uma associação positiva com a fadiga em mulheres com câncer de mama sobreviventes e em tratamento, respectivamente (BOWER, 2009; BOWER et al., 2011). Além disso, pesquisas exploratórias tem avaliado a correlação entre FRC e sinais da resposta imune, em sobreviventes de câncer de mama, de modo que foi encontrada uma correlação significativa entre células NK, linfócitos T $CD3^+$ e $CD4^+$ e a FRC, os quais foram encontradas em concentrações diminuídas entre os pacientes fatigados (BOWER et al., 2002; BOWER et al., 2003; VON AH et al., 2008; BOWER et al., 2007b).

Explorar de modo consistente todas essas possíveis correlações significa capturar a resposta dinâmica e contínua do sistema imunológico ao câncer, considerando o envolvimento de células, órgãos, sistemas interligados à produção de citocinas pró e anti-inflamatórias e demais marcadores biológicos, que podem estar associados ao desenvolvimento de sintomas relacionados ao câncer.

7.5.4 Fase do tratamento

Diferentes níveis de citocinas têm sido identificadas em diferentes fases do tratamento. O que demonstra que as drogas quimioterápicas, dentre outros fatores como a progressão da doença, podem ter uma relação com o desenvolvimento da fadiga (BIEN et al., 2009; BIEN et al., 2013a; BIEN et al., 2013b). Em um trabalho que comparou os níveis das citocinas IL-12p70 e IL-10 em um grupo de 59 crianças com sarcoma de tecidos moles entre 2 e 15 anos, em diferentes fases do

tratamento, as crianças em remissão e sem complicações apresentaram diminuição de IL-10 e aumento de IL-12. Nas crianças em recidiva, os níveis de IL-10 aumentaram e IL-12 diminuíram, significativamente, em comparação com os níveis das crianças em remissão e sem complicações (BIEN et al., 2013a).

Em crianças com câncer, um aumento nos níveis de IL-10 e diminuição dos níveis de IL-12 foram encontrados, antes do tratamento, em pacientes com um pior prognóstico e alto risco para sarcomas de partes moles, LLA e linfoma de Hodgkin (BIEN et al., 2009; BIEN et al., 2013b).

Em uma amostra de 74 pacientes, com idade média de 54,8 anos, correlações importantes foram observadas entre o TNF- α e a fadiga ($r=-0,366$, $p=0,017$), antes do início de qualquer quimioterapia, tendo sido encontrado ainda que a IL-1 β correlacionou-se com a fadiga ($r=0.304$, $p=0.010$). Um mês após a quimioterapia de indução e antes de qualquer quimioterapia de consolidação, apenas o TNF- α ($r=0.455$, $p<0.0001$) se correlacionou com a fadiga (FUNG et al., 2013).

É preciso avançar mais no sentido de identificar se, e como, os sintomas e níveis de citocinas se comportam nas diversas fases do processo carcinogênico. É importante progredir no entendimento da etiologia e, ao mesmo tempo, do mecanismo biológico que desencadeia as alterações nos níveis de citocinas e, consequentemente, na severidade dos sintomas, em cada fase do tratamento, e até mesmo, após a cura. Entretanto, em oncologia, definir uma causa ou um mecanismo biológico é algo complexo. Os mesmos sintomas podem surgir a partir da doença, do tratamento, ou de outros sintomas. Exemplo disso é a fadiga que pode surgir pela má qualidade do sono ou uma alteração no padrão de sono que pode dar origem à fadiga (BARSEVICK et al., 2006).

Maliski et al. (2008) propuseram algumas questões a se considerar na avaliação de sintomas relacionados ao câncer, nas diferentes fases do tratamento. Dentre essas questões, destaca-se: a identificação do início dos sintomas, se começaram antes do tratamento ou durante uma das fases do tratamento, de modo que, se os sintomas começaram antes do tratamento do câncer é possível suspeitar de uma relação com o processo de saúde-doença. É preciso, ainda, investigar se os sintomas se agravam durante uma das fases do tratamento e, em caso positivo, é possível suspeitar de uma relação causal com a manutenção do tratamento, além da relação com a própria doença.

Para identificar se as citocinas são capazes de atingir uma alta especificidade e sensibilidade como possíveis preditores para a fadiga e alterações no padrão do sono, na população oncológica, demais estudos são necessários (BURSKA; BOISSINOT; PONCHEL, 2014). Explorar o impacto dos possíveis fatores confundidores, é considerada uma parte importante da pesquisa com biomarcadores, uma vez que isso torna possível a melhor compreensão da dinâmica e do comportamento integrado exibido pelas citocinas, especificamente no contexto da oncologia pediátrica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento dessa pesquisa, em que pesem os desafios que a intercalaram, contribuirão para maior compreensão das variáveis aqui estudadas. Pois, o pioneirismo da mesma, em território nacional, poderá servir como balizador de futuras propostas de investigação científica, a fim de melhorar a qualidade de vida de crianças e adolescentes com câncer.

Os nossos resultados indicam fortemente que pode haver uma relação entre as citocinas pró e anti-inflamatórias, especialmente as citocinas IL-1 β , IL-10 e IL-12p70, com a fadiga, o padrão de sono e a qualidade de vida de crianças e adolescentes com câncer.

Os fatores confundidores tais como o número de neutrófilos, linfócitos, monócitos, dosagem de hemoglobina/anemia, o uso de dexametasona e a idade demonstraram correlação com algumas das variáveis da PedsQL, com os parâmetros do sono e com os níveis das próprias citocinas. Isso demonstra o modo autônomo como o corpo humano opera, além de completamente integrado e auto-regulado (KILMAS; BRODERICK; FLETCHER, 2012). Os nossos resultados tornam factível pensar que o estudo e o desenvolvimento de biomarcadores para o *cluster* de sintomas neuropsicológicos relacionados ao câncer, requerem o processamento das diversas interferências e informações biológicas orquestradas no interior de cada célula que regula os sistemas biológicos.

Cumpramos ressaltar que essa pesquisa apresentou algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados alcançados e, principalmente, na implicação desses resultados para a prática clínica. O número de pacientes reduzido que compôs a nossa amostra final, bem como a ausência de um grupo controle, foram limitações importantes e que nos desafiaram na interpretação dos resultados obtidos.

Além disso, nossa amostra apresentava uma variedade de diagnósticos e, conseqüentemente, um amplo espectro de tratamentos quimioterápicos e radioterápicos, aos quais as crianças e adolescentes participantes desse estudo estavam submetidos. Esse fato limitou que conclusões sobre o comportamento da fadiga, do padrão de sono e das citocinas, pudessem ser elucidadas a partir de diagnósticos específicos de câncer, bem como de diferentes regimes de quimioterapia e radioterapia.

Outro aspecto importante a se considerar é que estudos dessa natureza, nos quais, a intensidade de resposta das citocinas está condicionada a uma complexa rede de interferências, como por exemplo: o ciclo circadiano apresentado por cada uma dessas moléculas; a heterogeneidade da amostra; a progressão do câncer; o tipo e a fase do tratamento; e a interferência de drogas, talvez devessem adotar um desenho longitudinal. Tal design talvez possa examinar com maior precisão a complexidade das interferências que podem afetar a dinâmica das citocinas.

No contexto da enfermagem, pesquisas como essa, que garantam uma melhor compreensão da etiologia e do mecanismo biológico de sintomas relacionados ao câncer, permitirão que as intervenções realizadas por enfermeiros sejam propostas com maiores subsídios científicos. Uma vez identificada a associação ou o grau de sensibilidade e especificidade dessas citocinas, como preditores da fadiga e das alterações no padrão do sono, as mesmas poderão ser utilizadas como biomarcadores em resposta a intervenções de enfermagem, para que seja possível determinar com acurácia a eficácia dessas intervenções. Em outras palavras, para quem e em que contexto as intervenções funcionarão (qual a dose, o tipo, com que frequência), quando deverão ser empregadas (antes, durante ou após o tratamento), e por quanto tempo (duração) (BERGER, 2013). Por essas razões, os trabalhos descritivos ainda são uma das necessidades mais emergentes no estudo dos *clusters* de sintomas em pacientes com câncer. Pesquisas dessa natureza ampliam a compreensão das complexas redes biológicas relacionadas aos sintomas apresentados pelos pacientes com câncer (KILMAS; BRODERICK; FLETCHER, 2012).

Os resultados de investigações científicas desenvolvidas por enfermeiros, à luz das ciências básicas, são balizadores do cuidado personalizado. Essas investigações contribuem com a percepção das complexas interações e variações que ocorrem nos sistemas biológicos, imperceptíveis ao olho humano, mas que estão intrinsecamente relacionadas ao cuidado diário, provido aos pacientes oncológicos. Sintomas como a dor, a fadiga e as alterações no padrão do sono são diariamente reportados aos enfermeiros, os quais, devem ser encorajados a se aproximar das ciências básicas, a fim de compreender como o manejo e o cuidado clínico podem ser influenciados pelas descobertas realizadas nas bancadas dos laboratórios.

Essa é uma proposta desafiadora, mas não menos motivadora, uma vez que o caminho da pesquisa translacional, especificamente no contexto dos *clusters* de sintomas em pacientes com câncer, pode proporcionar, de modo consistente, benefícios a esses indivíduos e aos seus familiares, sobretudo, como uma potente promessa de melhora na qualidade de vida dos mesmos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia celular e molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 527p.

AGGARWAL, R., et al Interleukin-5, interleukin-6, interleukin-8 and tumour necrosis factor-alpha levels obtained within 24-h of admission do not predict high-risk infection in children with febrile neutropenia. **Indian Journal of Medical Microbiology**, Nova Deli, v. 31, s/n, p. 226-229, Jan. 2013.

ALFARO, E. et al. Associations between cytokine gene variations and self-reported sleep disturbance in women following breast cancer surgery. **European journal of oncology nursing**, Edinburgh, v.18, n.1, p. 85-93, Feb. 2014.

AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE. **International classification of sleep disorders, revised: Diagnostic and coding manual**. Chicago, Illinois: American Academy of Sleep Medicine, 2001. Disponível em: <<http://www.esst.org/adds/ICSD.pdf>> Acesso em 13 fev. 2014.

ANCOLI-ISRAEL, S.; MOORE, P. J.; JONES, V. The relationship between fatigue and sleep in cancer patients: a review. **European Journal of Cancer Care**, London, v. 10, p. 245–55, Dec. 2001.

AOUIZERAT, B.E. et al. Preliminary evidence of a genetic association between tumor necrosis factor alpha and the severity of sleep disturbance and morning fatigue. **Biology Research for Nursing**, Thousand Oaks, v.11, n.1, p. 27-41, Jul. 2009.

AHLBERG, K.; EKMAN, T.; GASTON-JOHANSSON, F. Levels of fatigue compared to levels of cytokines and hemoglobin during pelvic radiotherapy: a pilot study. **Biological Research for Nursing**, Thousand Oaks, v. 5, n.3, p. 203–210, Apr. 2004.

AKTAS, A. Cancer symptom clusters: current concepts and controversies. **Current Opinion Support Palliative Care**, Emigsville, v. 7, n.1, p.:38-44, Mar. 2013.

ALLAVENA, P. et al. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, Boca Raton, v. 66, n.1, p.1-9, Apr. 2008.

ANDERSON, M. E. Jr et al. Patients with pediatric obstructive sleep apnea show altered T-cell populations with a dominant TH17 profile. Otolaryngology. **Head and Neck Surgery**, London, v. 150, n. 5, p.880-62, May. 2014.

ANDREWS, N. C. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. **The Journal of clinical investigation**, New Haven, v.113, n.9, p.1251–1253, May. 2004.

ARCHBOLD, K. H. et al. Symptoms of sleep disturbances among children at two general pediatric clinics. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v.140, n. 1, p. 97-102, 2002.

AREND, W.P. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. **Cytokine Growth Factor Review**, Oxford, v.13, n.4-5, p. 323-340, Aug.-Oct. 2002.

BAGGOTT, C. et al. Symptom cluster analyses based on symptom occurrence and severity ratings among pediatric oncology patients during myelosuppressive chemotherapy. **Cancer Nursing**, New York, v. 35, n. 1, p. 19-28, Jan-Feb. 2012.

BAGGOTT, C. et al. Changes in children's reports of symptom occurrence and severity during a course of myelosuppressive chemotherapy. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 27, n.6, p. 307-315, Nov-Dec. 2010.

BAGGIOLINI, M.; DEWALD, B.; MOSER, B. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines – CXC and CC chemokines. **Advances in immunology**, New York, v.55, s/n, p.97-179, Jan. 1994.

BAILEY, S.; SKINNER, R. **Paediatric haematology and oncology**. 1. ed. New York: Oxford University Press. 2010, 624p.

BARSEVICK, A. et al. I'm so tired: biological and genetic mechanisms of cancer-related fatigue. **Quality of Life Research**, Oxford, v.19, n.10, p. 1419-1427, Dec. 2010.

BARSEVICK, A. M. et al. Symptom cluster research: conceptual, design, measurement, and analysis issues. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 31, n.1, p. 85-95, Jan. 2006.

BARSEVICK, A. M., et al. Recommendations for high-priority research on cancer-related fatigue in children and adults. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v.105, n.19, p. 1432-1440 Oct. 2013.

BARSEVICK, A. The concept of symptom cluster. **Seminars in Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 23, n. 2, p. 89–98, May. 2007.

BARSEVICK, A.M.; AKTAS, A. Cancer symptom cluster research: new perspectives and tools. **Current Opinion Support Palliat Care**. v.7, n.1, p.:36-7. Aug. 2013.

BERGER, A. M. et al. Sleep/wake disturbances in people with cancer and their caregivers: state of the science. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v. 32, n. 6, p. 98-126, 2005.

BERGER, A. M.; YENNU, S.; MILLION, R. Update on interventions focused on symptom clusters: what has been tried and what have we learned? **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, Emigsville, v.7, n.1, p. 60-66, Mar. 2013.

BERGER, A. M. Patterns of fatigue and activity and rest during adjuvant breast cancer chemotherapy. **Oncology Nursing Forum**, v. 25, n.1, p.51–62, 1998.

BESEDOVSKY, L. et al. Sleep and immune function. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, Berlin, v. 463, n. 1, p. 121-137, Jan. 2012.
BMC

BHATIA, S. et al. The minneapolis-manchester quality of life instrument: reliability and validity of the youth form. **Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 145, n.1, p. 39–46, Jul. 2004.

BIEN, E. et al., Deregulated systemic IL-10/IL-12 balance in advanced and poor prognosis paediatric soft tissue sarcomas. **Biomarkers**, London, 2013b v. 18, n. 3, p.204-215, May. 2013b.

BIEN, E. et al. Pre-treatment serum levels of interleukin-10, interleukin-12 and their ratio predict response to therapy and probability of event-free and overall survival in childhood soft tissue sarcomas, Hodgkin's lymphomas and acute lymphoblastic leukemias. **Clinical Biochemistry**, Tarrytown, v. 42, n. 10-11, p.1144-1157, Jul. 2009.

BIEN, E., et al. Serum IL-10 and IL-12 levels reflect the response to chemotherapy but are influenced by G-CSF therapy and sepsis in children with soft tissue sarcomas. **Postępy higieny i medycyny doświadczalnej**, Poland v. 31, n. 67, p. 517-28, May. 2013a.

BINSHTOK, A. M., et al. Nociceptors are interleukin-1 β sensors. **Journal of Neuroscience**. v. 28, n. 52, p. 14062–14073, Dec. 2008.

BIRGEGÅRD, G. et al., Evaluation of anaemia in patients with multiple myeloma and lymphoma: findings of the european cancer anaemia survey. **European Journal of Haematology**, Copenhagen, v.77, v. 5, p.378-386, Nov. 2006.

BITTAR, M. N. et al. Tumor necrosis factor alpha influences the inflammatory response after coronary surgery. **The Annals of Thoracic Surgery**, Boston, v.81, p. 132-137, Mar. 2006.

BOOKER, R. et al. The relationships among physiologic variables, quality of life, and fatigue in patients with multiple myeloma. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v.36, n.2, p. 209-216, Mar. 2009.

BONT, E. S. et al. Plasma IL-8 and IL-6 levels can be used to define a group with low risk of septicaemia among cancer patients with fever and neutropenia. **British Journal of Haematology**, Oxford, v. 107, n. 2, p. 375-80, Nov. 1999.

BOWER, J. E. et al. Inflammation and behavioral symptoms after breast cancer treatment: do fatigue, depression, and sleep disturbance share a common underlying mechanism? **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v. 29, n. 26, p. 3517–3522, Sep. 2011b.

BOWER, J. E. Cancer-related fatigue: links with inflammation in cancer patients and survivors. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 21, n. 7. p. 863–871, Oct. 2007a.

BOWER, J. E. et al. Inflammatory biomarkers and fatigue during radiation therapy for breast and prostate cancer. **Clinical Cancer Research**, Denville, v.15, n.17, p. 5534–5540, Sep. 2009.

BOWER, J. E. et al. Inflammatory responses to psychological stress in fatigued breast cancer survivors: relationship to glucocorticoids. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 21, n. 3, p. 251–258, Mar. 2007b.

BOWER, J. E. et al. T-cell homeostasis in breast cancer survivors with persistente fatigue. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v.95, n.15, p. 1165-118, 2003.

BOWER, J. E., et al. Fatigue and proinflammatory cytokine activity in breast cancer survivors. **Psychosomatic Medicine**, Baltimore, v.64, n. 4, p. 604–611, jul-ago. 2002.

BOWER, J. E.; LAMKIN, D. M. Inflammation and cancer-related fatigue: mechanisms, contributing factors, and treatment implications. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v.30, p.S48-57, Mar. 2013. Supplement.

BRAGA, P. E.; LATORRE, M. R. D. O.; CURADO, M. P. Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em Goiânia (Brasil) e outros países. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 33-44, Feb. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, RJ: INCA, p.54-55, 2014.

BREITBART, W., et al. Depression, cytokines, and pancreatic cancer. **Psychooncology**, Chichester, v. 23, p. 3, p. 339-345, Mar. 2014.

BROWN, J. K. et al. A symptom cluster and sentinel symptom experienced by women with lung cancer. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v. 38, n. 6, p. E425-35, Nov. 2011.

BUCK, R. H. et al. Longitudinal study of intracellular T cell cytokine production in infants compared to adults. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v.128, n.3, p. 490-472, Jun. 2002.

BURAS, J. A.; HOLZMANN, B.; SITKOVSKY, M. Animal Models of sepsis: setting the stage. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v.4, s/n, p. 854-865, Oct. 2005.

BURSKA, A.; BOISSINOT, M.; PONCHEL, F. Cytokines as Biomarkers in Rheumatoid Arthritis. **Mediators of Inflammation**, Article ID 545493, p. 1-24, 2014.

CAMPOS, M. P. et al. Cancer-related fatigue: a practical review. **Annals Oncology**, Boston, v. 22, n. 6, p. 1273-129, Jun. 2011.

CAVAILLON, J. M. Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. **Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)**, France, v.47, n.4, p. 695-702, Jun. 2001.

CLEELAND, C. S. et al. Are the symptoms of cancer and cancer treatment due to a shared biologic mechanism? A cytokine-immunologic model of cancer symptoms. **Cancer**, New York, v.97, n.11, p. 2919-2925, Jun. 2003.

COLLINS, J. J. et al. The measurement of symptoms in children with cancer. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 19, n. 5, p. 363-377, May. 2000.

COST, C.R. et al. IL-8 predicts pediatric oncology patients with febrile neutropenia at low risk for bacteremia. **Journal of pediatric hematology/oncology**, New York, v. 35, n. 3, p. 206-211, Apr. 2013.

CONKLIN, H. M., et al. Cognitive outcomes following contemporary treatment without cranial irradiation for childhood acute lymphoblastic leukemia. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 104, n. 18, p. 1386-1395, Sep. 2012.

CURNIS, F. et al. Enhancement of tumor necrosis factor α antitumor immunotherapeutic properties by targeted delivery to aminopeptidase N (CD13). **Nature Biotechnology**, New York, v.18, p.1185 -1190, Nov. 2000.

CHO, H. J. et al. Association of C-reactive protein and interleukin-6 with new-onset fatigue in the Whitehall II prospective cohort study. **Psychological Medicine**, London, v. 43, n. 8, p.1773-1783, Aug. 2013.

CHOW, M. T.; MÖLLER, A.; SMYTH, M. J. Inflammation and immune surveillance in cancer. **Seminars in Cancer Biology**, London, 22, n. 1, p. 23-32, Feb. 2012.

CONSTANZO, E. et al. Psychosocial factors and interleukin-6 among women with advanced ovarian cancer. **Cancer**, New York, v.104, n.2.p.305-13, Oct. 2006.

CORWIN, E. Understanding cytokines part II: implications for nursing research and practice. **Biological Research for Nursing**, Thousand Oaks, v. 2, n.1, 41-48, Jul., 2000.

CUTLER, D. Medical Illustrator. Disponível em: <<http://dancutlermedicalart.com/>>. Acesso em 16 Junho 2014.

DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 933, p. 222-234, mar. 2001.

DANTZER, R., KELLEY, K. W. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 21, n.2, p.153-160. feb. 2007.

DANTZER, R.; MEAGHER, M.W.; CLEELAND, C. S. Translational approaches to treatment-induced symptoms in cancer patients. **Nature Reviews**, London, v. 9, n.7, p. 414-426, maio. 2012.

DHABHAR, F. S. et al., Low serum IL-10 concentrations and loss of regulatory association between IL-6 and IL-10 in adults with major depression. **Journal of Psychiatric Research**, Oxford, v. 43, p. 962–969, 2009.

DIMITROV, S. et al. Sleep associated regulation of T helper 1/T helper 2 cytokine balance in humans. **Brain, behavior, and immunity**, Orlando, v.18, n. 4, p.341-8, jul. 2004.

DIEPOLD M. et al. Performance of Interleukin-6 and Interleukin-8 serum levels in pediatric oncology patients with neutropenia and fever for the assessment of low-risk.

DINARELLO, C. A. Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. **Journal of Biologic Regulatory Homeostase Agents**. Milano, v. 11, n. 3, p. 91-103. jul.-set. 1997.

DODD, M. et al. Advancing the science of symptom management. **Journal of Advanced Nursing**, Oxford, v. 33, n.5, p. 668–676, mar. 2001.

DODD, M. J.; MIASKOWSKI, C.; LEE, K. A. Occurrence of symptom clusters. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 32, p.76–78, 2004.

DODD, M. J.; MIASKOWSKI, C.; PAUL, S. M. Symptom clusters and their effect on the functional status of patients with cancer. **Oncology Nursing Forum**, New York, v.28, n. 3, p.465– 470, Apr. 2001.

DONOVAN, K. A. et al. Course of fatigue in women receiving chemotherapy and/or radiotherapy for early stage breast cancer. **Journal of Pain Symptom Management**, New York, v.28, n. 4, p. 373-380, Oct. 2004.

DUNN, G. P. et al. Cancer immunoediting: From immunosurveillance to tumor escape. **Nature Immunology**, New York, v. 3, n. 11, p. 991–998, Nov. 2002.

DURAMAD, P.; TAGER, I. B.; HOLLAND, N. T. Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.172, n. 1-2, p. 48-59, Jul. 2007.

EGGERMONT, A. M.; DE WILT, J. H.; TEN HAGEN, T. L. Current uses of isolated limb perfusion in the clinic and a model system for new strategies. **Lancet Oncology**, London, v.4, n. 7, p. 429-437, Jul. 2003.

ELSÄSSER-BEILE, U. et al. Comparison of cytokine production in blood cell cultures of healthy children and adults. **Pediatric Allergy and Immunology**, Copenhagen, v.6, n.3, p.170-174, Aug.1995.

EL-MAGHRABY, S.M., et al. The diagnostic value of C-reactive protein, interleukin-8, and monocyte chemotactic protein in risk stratification of febrile neutropenic children with hematologic malignancies. **Journal of Pediatric and Hematology Oncology**, New York, v. 29, n. 3, p. 131-136, Mar. 2007.

ERICKSON, J. E. Fatigue and sleep disturbances in adolescents receiving chemotherapy. 2008. 214 f. Dissertation (Doctoral) - University of Utah, Salt Lake City, Estados Unidos. 2008.

ERICKSON, J. M. et al. Symptoms and symptom clusters in adolescents receiving cancer treatment: a review of the literature. **International Journal of Nursing Studies**, Oxford, v. 50, n. 6, p.847-69, Jun. 2013.

ERICKSON, J. M., et al. Fatigue, sleep-wake disturbances, and quality of life in adolescents receiving chemotherapy. **Journal of Pediatric Hematology/oncology**, Hagerstown, v. 33, n. 1, p.17-25, Jan. 2011.

FINNERTY, C. C. et al., Temporal cytokine profiles in severely burned patients: a comparison of adults and children. **Molecular Medicine**, Cambridge, v.14, n.9-10, p. 553-60, set-out. 2008.

FRANZCR, W. C. et al. Fatigue during breast radiotherapy and its relationship to biological factors. **International Journal of Radiation Oncology**, Elmsford, v. 59, n.1, p.160-167, maio. 2004.

FUNG, F. Y. et al. Correlation between cytokine levels and changes in fatigue and quality of life in patients with acute myeloid leukemia. **Leukemia Research**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 274-279, mar. 2013.

FIEREN, M. W. G. A. The Local Inflammatory Responses to Infection of the Peritoneal Cavity in Humans: Their Regulation by Cytokines, Macrophages, and Other Leukocytes. **Mediators of Inflammation**, v. 2012, n. 2012, Article ID 976241, p. 1-9. 2012.

GASCÓN, P. et al. Usefulness of the PERFORM questionnaire to measure fatigue in cancer patients with anemia: a prospective, observational study. **Supportive Care Cancer**, Berlin, v. 21, n.11, p. 3039-3049, nov. 2013.

GEDALY-DUFF, V. et al. Pain, sleep disturbance, and fatigue in children with leukemia and their parents: a pilot study. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v. 33, n. 3, p. 641-6, Mar. 2006.

GIBSON, F. et al. Heavy to carry: a survey of parents and healthcare professionals perceptions of cancer related fatigue in children and young people. **Cancer Nursing** New York, v. 28, p. 27-35, fev. 2005.

GILREATH, J. A.; STENEHJEM, D. D.; RODGERS, G. M. Diagnosis and treatment of cancer-related anemia. **American Journal of Hematology**, Boston, v. 89, n. 2, p. 203-212, fev. 2014.

GOEDENDORP, M. M. et al. Development of Fatigue in Cancer Survivors: A Prospective Follow-Up Study From Diagnosis Into the Year After Treatment. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v.45, n.2, p.:213-22, Jan. 2013.

GORDIJN, M.S. et al. Sleep, fatigue, depression, and quality of life in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Pediatric Blood Cancer**, Hoboken, v.60, n.3, p.:479-85. May. 2013.

GRACI, G. Pathogenes and management of cancer-related insomnia. **The journal of supportive oncology**, Parsippany, v.3, p.349-359, Sep.-Oct. 2005.

GRUTSCH, J.F. et al. The association of quality of life with potentially remediable disruptions of circadian sleep/activity rhythms in patients with advanced lung cancer. **BMC Cancer**, London, v.23, n.11, p.193, Jan. 2011.

GUO, Z. et al. A clinical study of cytokine-induced killer cells for the treatment of refractory lymphoma. **Oncology Letters**, Greece, v.2, n.3, p. 531-536, May. 2011.

HAACK, M.; et al. Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. **Journal of Psychiatric Research**, Oxford, v. 33, n.5, p. 407-418, set-Oct.1999.

HALLBOOK, H. et al. Treatment outcome in young adults and children >10 years of age with acute lymphoblastic leukemia in Sweden: a comparison between a pediatric protocol and an adult protocol. **Cancer**, New York, v. 107, n. 7, p.1551–1561, Oct. 2006.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, Cambridge, v. 144 n.5, p. 646–674, May. 2011.

HÄRTEL, C. et al., Cytokine responses correlate differentially with age in infancy and early childhood. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v.142, n.3, p. 446-453, Dec. 2005.

HASKELL, C. M. **Cancer treatment**. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. 1025 p.

HATTIS, D. et al. Differences in pharmacokinetics between children and adults--II. Children's variability in drug elimination half-lives and in some parameters needed for physiologically-based pharmacokinetic modeling. **Risk Analysis**, New York, v. 23, n. 1, p. 117–142, Feb. 2003.

HEDSTROM, M. et al. Distressing events for children and adolescents with cancer: child, parent, and nurse perceptions. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 20, n. 3, p. 120–132, May-Jun. 2003.

HENLY, S. J. et al. The notion of time in symptom experiences. **Nursing Research**, New York, v.52, n. 5, p. 410–417, Dec. 2003.

HEUFLER, C. et al. Interleukin-12 is produced by dendritic cells and mediates T helper 1 development as well as interferon-gamma production by T helper 1 cells. **European Journal of Immunology**, Weinheim, v.26, n. 3, p. 659-668, Mar. 1996.

HINDS, P. S., et al. Nocturnal awakenings, sleep environment interruptions, and fatigue in hospitalized children with cancer. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v. 34, n. 2, p.393–402, Mar. 2007.

HIROTSU, C. et al. Sleep loss and cytokines levels in an experimental model of psoriasis. **PLoS One**, San Francisco, p. 7, n. 11, p. 51183, 2012.

HO, R. T.; FONG, T. C.; CHEUNG, I. K. Cancer-related fatigue in breast cancer patients: factor mixture models with continuous non-normal distributions. **Quality of Life Research**, Oxford, 2014, In press. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24899547> Acesso em 8 jun, 2014.

HOCKENBERRY-EATON, M.; HINDS, P. Fatigue in children and adolescents with cancer: evolution of a program of study. **Seminars Oncology Nursing**, Philadelphia, v.16, p. 261-272, Nov. 2000.

HOCKENBERRY, M. et al. Sickness behavior & symptom clustering in children with cancer. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 28, n. 5, p.263 – 272, Sep.-Out. 2011.

HOCKENBERRY, M. J., et al.. Symptom clusters in children and adolescents receiving cisplatin, doxorubicin, or ifosfamide. **Oncology Nursing Forum**, New York, v. 37, n.1, p.16-27, Jan. 2010.

HOCKENBERRY, M.; HOOKE, M. C. Symptom clusters in children with cancer. **Seminars Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 23, n.2, p.152-157, May. 2007.

HOFFMANN, F. et al. Intracellular T-cell cytokine levels are age-dependent in healthy children and adults. **European Cytokine Network**, Montrouge, v.16, n. 4, p. 283-288, Dec. 2005.

HONG, J. Y.; LIM, K. T. Effect of preemptive epidural analgesia on cytokine response and postoperative pain in laparoscopic radical hysterectomy for cervical cancer. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, Secaucus, v. 33, n.1, p. 44-51, Jan-Feb. 2008.

HOWLADER, N. et al. **Cancer Statistics Review, 1975-2008**. Disponível em: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/ Acesso em: 14 fev. 2014.

IAKOVOU, I., et al. Pain palliative therapy in women with breast cancer osseous metastatic disease and the role of specific serum cytokines as prognostic factors. **Cancer Biotherapy and Radiopharmacology**, Larchmont, v. 29, n.3, p.116-23, abr. 2014.

ILLI, J. et al. Association between pro- and anti-inflammatory cytokine genes and a symptom cluster of pain, fatigue, sleep disturbance, and depression. **Cytokine**, San Diego, v.58, n.3, p. 437-47, Jun. 2012.

INAGAKI, M. et al. Plasma interleukin-6 and fatigue in terminally ill cancer patients. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 35, n. 2, p. 153–161, Jan. 2008.

ISRAEL, L. P. et al. A pro-inflammatory role for nuclear factor kappa B in childhood obstructive sleep apnea syndrome. **Sleep**, Winchester, v.36, n. 12, p. 1947-55, Dec. 2013.

JACKOWSKA, M.; KUMARI, M.; STEPTOE, A. Sleep and biomarkers in the English Longitudinal Study of Ageing: associations with C-reactive protein, fibrinogen, dehydroepiandrosterone sulfate and hemoglobin. **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 38, n. 9, p.1484-1493, Sep. 2013.

JANSSEN, D. G. et al. A psychoneuroimmunological review on cytokines involved in antidepressant treatment response. **Human Psychopharmacology**, Chichester, v. 25, n.3, p. 201-15, Apr. 2010.

KAATSCH, P. Epidemiology of childhood cancer. **Cancer Treatment Reviews**, Amsterdam, v.36, n.4, p.:277–285, Jun. 2010.

KALEYIAS, J.; MANLEY, P.; KOTHARE, S.V. Sleep disorders in children with cancer. **Seminars in Pediatric Neurology**, Philadelphia, v. 19, n. 1, p. 25-34, mar. 2012.

KAPSIMALIS, F. et al. Cytokines and normal sleep. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, Philadelphia, v. 11, n. 6, p. 481-484, Nov. 2005.

KARAKURT D.G., et al. Do proinflammatory cytokine levels predict serious complication risk of infection in pediatric cancer patients? **Pediatric Hematology Oncology Pediatric Hematology and Oncology**, London, Feb. 2014. In press.

KENNEDY, G. et al. Increased neutrophil apoptosis in chronic fatigue syndrome. **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 57, n. 8, p. 891–893, Aug. 2004.

KENT, S. et al. Sickness behavior as a new target for drug development. **Trends in Pharmacological Sciences**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 24-8, jan. 1992.

KESTLER, S. A; LOBIONDO-WOOD, G. Review of symptom experiences in children & adolescents with cancer. **Cancer Nursing**, New York, v.35, n. 2, p. e31– e49, Mar. 2012.

KUHNT, S. et al. Fatigue in cancer survivors—prevalence and correlates. **Onkologie**, Switzerland, v. 32, n.6, p.:312–317, Jun. 2009.

KIM, H. et al. Symptom clusters: concept analysis and clinical implications for cancer nursing. **Cancer Nursing**, New York, v. 28, p. 270-282, Jul.-Aug. 2005.

KIM, H. J. et al. Common biological pathways underlying the psychoneurological symptom cluster in cancer patients. **Cancer Nursing**, New York, v. 35, n. 6, p. E1-E20. Nov-Dec. 2012.

KIRKOVA, J. et al. Consistency of symptom clusters in advanced cancer. **The American Journal of Hospice & Palliative Care**, Weston, v. 27, n. 5, p. 342–346, Aug. 2010.

KLIMAS, N. G.; BRODERICK, G.; FLETCHER, M.A. Biomarkers for chronic fatigue. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 26, n.8, p.1202-1210, Nov. 2012.

KOORTS, A. M., et al. Pro- And Anti-Inflammatory Cytokines During Immune Stimulation: Modulation Of Iron Status And Red Blood Cell Profile. **Mediators of Inflammation**, Article ID 716301, p. 2-11, 2011.

KORDAS, K. et al. The effects of iron and/or zinc supplementation on maternal reports of sleep in infants from Nepal and Zanziba. **Journal of developmental and behavioral pediatrics**, Hagerstown, v. 30, n. 2, p. 131–139, 2009.

KRISTINE, A. et al. Course of fatigue in women receiving chemotherapy and/or radiotherapy for early stage breast cancer. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 28, n. 4, p. 373–380, Oct. 2004.

KRUEGER, J. M. The role of cytokines in sleep regulation. **Current Pharmaceutical Design**, Schiphol, v. 14, n. 32, p. 3408-3416, 2008.

KURZROCK, R. The role of cytokines in cancer-related fatigue. **Cancer**, New York, v. 15, n. 92, p. 1684-168, Sep. 2001. Supplement 6.

JACOBSEN, P.B. Assessment of fatigue in cancer patients. **Journal of National Cancer Institute Monographies**, Bethesda, v. 32, p.:93-97. 2004.

JEAN-PIERRE P. et al. Assessment of cancer-related fatigue: implications for clinical diagnosis and treatment. **Oncologist**, New York, v.12, Suppl 1, p.11-21, Oct. 2007.

JONG, N. et al. Course of the fatigue dimension "activity level" and the interference of fatigue with daily living activities for patients with breast cancer receiving adjuvant chemotherapy. **Cancer Nursing**, New York, v.29, n.5, p.:E1-13, set./out.,2006.

LAINE, A.; IYENGAR, P.; PANDITA, T. K. The role of inflammatory pathways in cancer-associated cachexia and radiation resistance. **Molecular Cancer Research**, Philadelphia, v. 11, n. 9, p. 967-972, Sep. 2013.

LANG, U.E.; BORGWARDT, S. Molecular mechanisms of depression: perspectives on new treatment strategies. **Cellular Physiology and Biochemistry**, New York, v. 31, n. 6, p. 761-777, May. 2013.

LANGE, T. et al. Shift of monocyte function toward cellular immunity during sleep. **Archives of internal medicine**, Chicago v. 166, n. 16, p. 1695-700, Sep. 2006.

LANGE, T.; DIMITROV, S.; BORN, J. Effects of sleep and circadian rhythm on the human immune system. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v.11, n. 93, p. 48-59, Apr. 2010.

LEE, J. M.; HAH, J. O.; KIM, H.S. The effect of red ginseng extract on inflammatory cytokines after chemotherapy in children. **Journal of Ginseng Research**, Söul v. 36, n.4, p.383-390, Oct. 2012.

LEHRNBECHER, T. et al. Circulating levels and promoter polymorphisms of interleukins-6 and 8 in pediatric cancer patients with fever and neutropenia. **Haematologica**, Itália, v. 89, n. 2, p. 234-236, Feb. 2004.

LENZ, E.; PUGH, L. Theory of unpeasant symptoms. In: SMITH, M.; LIEHR, P. (Ed.) **Middle Range Theory for Nursing**. 2nd ed. New York: Springer, 2008. p. 159-183.

LILIC, D., et al. Cytokine production differs in children and adults. **Pediatric Research**, New York, v.42, p. 237-240, Aug.1997.

LIN, E.; CALVANO, S. E.; LOWRY, S. F. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. **Surgery**, St. Louis, v.127, n. 2, p. 117-126, Feb. 2000.

LIN, S. et al. Pain, fatigue, disturbed sleep and distress comprised a symptom cluster that related to quality of life and functional status of lung cancer surgery patients. **Journal of Clinical Nursing**, Oxford, v. 22, n. 9-10, p.1281-1290, May. 2013.

LINET, M. S.; WACHOLDER, S.; ZAHM, S. H. Interpreting epidemiologic research: lessons from studies of childhood cancer. **Pediatrics**, Springfield, v. 112, p. 218-232, Jul. 2003.

LIU, L. et al. Fatigue and sleep quality are associated with changes in inflammatory markers in breast cancer patients undergoing chemotherapy. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 26, n. 5, p. 706-713, Jul. 2012.

LYON, D.E. et al. Advancing the biobehavioral research of fatigue with genetics and genomics. **Journal of Nursing Scholarship**, Hoboken. v.43, n.3, p. 274-281, Set. 2011.

MA, Y. et al. Chemoterapy and radiotherapy: cryptic anticancer vaccines. **Seminar in Immunology**, Philadelphia, v. 22, n. 3, 113-124, Jun. 2010.

MAIER, S. F. Bi-directional immune-brain communication: implications for understanding stress, pain, and cognition. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 17, n. 2, p. 69-85, Apr. 2003.

MALISKI, S. L. et al. Symptom clusters related to treatment for prostate cancer. **Oncology Nursing Forum**, Orlando, v. 35, n. 5, p. 786-793, Sep. 2008.

MATKOWSKYJ, K. A. et al. Dysplastic Lesions in Inflammatory Bowel Disease: Molecular Pathogenesis to Morphology. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, Northfield, v. 137, n. 3, p. 338-350, Mar. 2013.

MAZUR, B. et al. Concentration of IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF-alpha in children with acute lymphoblastic leukemia after cessation of chemotherapy. **Hematology Oncology**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 27-34, Mar. 2004.

MEYERS, C.A.; ALBITAR, M.; ESTEY, E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. **Cancer**, New york, v. 104, n. 4, p. 788-793, Mar. 2005.

MCNERLAN, S. E.; REA, I. M.; ALEXANDER, H. D. A whole blood method for measurement of intracellular TNF-alpha, IFN-gamma and IL-2 expression in stimulated CD3+ lymphocytes: differences between young and elderly subjects. **Experimental Gerontology**, Tarrytown, v. 37, n. 2-3, p. 227-234, jan-mar. 2002.

MIASKOWSKI, C. et al. Evidence of associations between cytokine genes and subjective reports of sleep disturbance in oncology patients and their family caregivers. **PLoS One**, San Francisco v.7, n. 7, p. e40560, Jul. 2012.

MIASKOWSKI, C. et al. Conceptual issues in symptom clusters research and their implications for quality-of-life assessment in patients with cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 37, p. 39-46, 2007.

MIASKOWSKI, C. et al. Preliminary evidence of an association between a functional interleukin-6 polymorphism and fatigue and sleep disturbance in oncology patients and their family caregivers. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 40, n. 4, 531-544, Out. 2010.

MIASKOWSKI, C.; AOUIZERAT, B.E. Is there a biological basis for the clustering of symptoms? **Seminars in Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 23, n. 2, p. 99-105, May. 2007.

MILLER, E.; JACOB, E.; HOCKENBERRY, M. J. Nausea, pain, fatigue, and multiple symptoms in hospitalized children with cancer. **Oncology Nursing Forum**, Orlando v. 38, n. 5, p.382-393, Sep. 2011.

MILLER, E.; JACOB, E.; HOCKENBERRY, M.J. Nausea, pain, fatigue, and multiple symptoms in hospitalized children with cancer. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v.38, n. 5, p. E382-393, Sep. 2011.

MOCK, V. et al. Cancer-related fatigue. Clinical Practice Guidelines in Oncology. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, Sudbury, v. 5, n.10, p. 1054-1078, Nov. 2007.

MORENO, M. Chronic fatigue syndrome among adolescents. **JAMA Pediatrics**, Chocago, v.168, n. 4, p. 396, Apr. 2014.

MORGENSTERN, D.A.; ANDERSON, J. Inflammation: what role in pediatric cancer? **Pediatric Blood Cancer**, Hoboken, v. 58, n. 5, p.659–664, May. 2012.

MÜLLER, K. et al. In vitro cytokine production and phenotype expression by blood mononuclear cells from umbilical cords, children and adults. **Pediatric Allergy Immunology**, Copenhagen, v. 7, n. 3, p.117-124, Aug. 1996.

MURAKAMI, T. et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody reduces neuropathic pain following spinal cord injury in mice. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 6, n. 5, p. 1194-1198. Nov. 2013.

NASCIMENTO, L. C. **Criança com câncer**: a vida das famílias em constante reconstrução. 2003. 233p. Tese (Doutorado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. **NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Cancer-related Fatigue [v.1.2014]**. 2014.Disponível em: <<http://www.oralcancerfoundation.org/treatment/pdf/fatigue.pdf>>. Acesso em: 22 maio de 2014.

NEU, D. et al. Dimensions of pure chronic fatigue: psychophysical, cognitive and biological correlates in the chronic fatigue syndrome. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, May. 2014. In press.

OBÁL, F.; KRUEGER, J. M. Biochemical regulation of non-rapid eye movement sleep. **Frontiers in bioscience**, Tampa, v.1, n. 8, p. 520-550, May. 2003.

OLIVEIRA, C. et al. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 61, n. 2, Abr. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942011000200014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 Fev. 2014.

OLSON, K. A new way of thinking about fatigue: a reconceptualization. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v.34, n.3, p.93-99, Mar. 2007.

OLSON, K. et al. Possible links between behavioral and physiological indices of tiredness, fatigue, and exhaustion in advanced cancer. **Current Opinion Support Palliative Care**, Emigsville, v.16, n.3, p.:241-9, Mar. 2008.

ORMEROD, M. G. **Flow cytometry: apractical approach**. 3. ed. New York: Oxford University Press. 2000. 293p.

ORRE, I. J. et al. Higher levels of fatigue are associated with higher CRP levels in disease-free breast cancer survivors. **Journal of Psychosomatic Research**, Oxford, v. 71, n. 3, p. 136–141, Sep. 2011.

ORRE, I.J., et al. Levels of circulating interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein in long-term survivors of testicular cancer with chronic cancer-related fatigue. **Brain, Behaviour Immunity**, Olando, v. 23, n. 6, p. 868-874, ago. 2009.

OZAKI, K.; LEONARD, W. J. Cytokine and cytokine receptor pleiotropy and redundancy. **Journal of Biological Chemistry**, New York, v. 277, n. 33, p. 29355–29358, Jun. 2002.

PADDISON, J. S. et al. Using the differential from complete blood counts as a biomarker of fatigue in advanced non-small-cell lung cancer: an exploratory analysis. **Palliative and Supportive Care**, Cambridge, v. 7, n. 2, p. 213–217, Jun. 2009.

PAK, S. et al. Cytokine profiles in peripheral blood of children and adults with Crohn disease. **Jurnal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, New York, v. 54, n. 6, p. 769-775, Jun. 2012.

PALMER, S. N., et al. The PedsQL™ Brain Tumor Module: Initial reliability and validity. **Pediatric Blood and Cancer**, Hoboken, v. 49, n. 3, p. 287-293, Sep. 2007.

PANJU, A.H. et al. Associations between quality of life, fatigue, and cytokine levels in patients aged 50+ with acute myeloid leukemia. **Supportive Care Cancer**, Berlin, n. 17, v.5, p. 539–546, May. 2009.

PAREDES, D. et al. Role of TNF alpha induced inflammation in delay eyeblink conditioning young and aged rats. **Aging and Disease**, Fort Worth, v. 1, p.191-198. 2010.

PARK, H. H. et al. Intracellular IL-4, IL-10, and IFN-gamma levels of leukemic cells and bone marrow T cells in acute leukemia. **Annals of Clinical and Laboratory Science**, Philadelphia, v. 36, n. 1, p. 7-15, Sep. 2006.

PARTAP, S. Stroke and cerebrovascular complications in childhood cancer survivors. **Seminars in Pediatric Neurology**, Philadelphia, v.19, n. 1, p.18-24, Mar. 2012.

PEIRANO, P. D. et al. Sleep alterations and iron deficiency anemia in infancy. **Sleep Medicine**, Amsterdam, v. 11, n. 7 p. 637-42, Aug. 2010.

PEDERSEN, B. FISCHER, C. Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, Philadelphia, v. 10, n. 3, p. 265-71, Jan. 2007.

POLIT, D. F.; BECK, C. T. **Estruturas teóricas e conceituais**. In: Fundamentos de Pesquisa em Enfermagem. Porto Alegre, cap. 8, p. 221-245. 2011.

PHILLIPS, R. S. et al. Systematic review and meta-analysis of the value of initial biomarkers in predicting adverse outcome in febrile neutropenic episodes in children and young people with cancer. **BMC Medicine**, London, v.10, n. 6, p. 1-13, Jan. 2012.

R CORE TEAM R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013. Disponível em: URL <http://www.R-project.org/> Acesso em: 20 maio 2014.

R&D SYSTEMS. The Caspase-1 Inflammasome & its Role in Autoinflammatory Diseases. Disponível em:

<http://www.rndsystems.com/cb_detail_objectname_cb08i1_Caspase1.aspx>

Acesso em: 16 junho de 2014.

RAMESH, G.; MACLEAN, A.G.; PHILIPP, M.T. Cytokines and chemokines at the crossroads of neuroinflammation, neurodegeneration, and neuropathic pain. **Mediators Inflammation**, Oxford, v. 2013, ID article:480739. Aug. 12.

RANSOHOFF, R. M.; BENVENISTE, E. N. **Cytokines and the CNS**. New York: Taylor & Francis Group, 2006.

REYES-GIBBY, C.C. et al. Molecular epidemiology, cancer-related symptoms, and cytokines pathway. **Lancet Oncology**, London, v.9, n.8, p. 777–785, Mar. 2008.

RICH, T., et al. Elevated serum cytokines correlated with altered behavior, serum cortisol rhythm, and dampened 24-hour rest-activity patterns in patients with metastatic colorectal cancer. **Clinical Cancer Research**, Denville, v. 11, n. 5, p.1757-1764, Mar. 2005.

REYES-GIBBY, C.C. et al. Genetic variations in interleukin-8 and interleukin-10 are associated with pain, depressed mood, and fatigue in lung cancer patients. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 46, n. 2, p. 161-172, Aug. 2013.

RODGERS, C. C.; HOOKE, M. C.; HOCKENBERRY, M. J. Symptom clusters in children. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, Emigsville, v. 7, n. 1, p. 67–72, Mar. 2013.

RODGERS, G. M. Managing patients with chemotherapy-induced anemia. **Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine**, Baltimore, v. 8, n. 10, p. 346-351, Sep. 2008.

ROHLEDER, N. ARINGER, M.; BOENTERT, M. Role of interleukin-6 in stress, sleep, and fatigue. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v.1261, s/n, p. 88-96, Jul. 2012.

SADEH, A.; RAVIV, A.; GRUBER, R. Sleep patterns and sleep disruptions in school-age children. **Developmental Psychology**, New York, v. 36, p. 291–301, 2000.

SALIGAN, L. N.; KIM, H. S. A systematic review of the association between immunogenomic markers and cancer-related fatigue. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 26, n. 6, p. 830-848, Aug. 2012.

SAVARD, J. et al. Chronic insomnia and immune function. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown, v. 65, n. 2, p. 211–221, Mar.-Apr. 2003.

SCHEEDE-BERGDAHL, C., et al. Is IL-6 the best pro-inflammatory biomarker of clinical outcomes of cancer cachexia? **Clinical Nutrition**, Edinburgh, v. 31, n. 1, p. 85–88, Feb. 2012.

SCHELLERA, J., et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, Amsterdam, v. 1813, n. 5, p. 878–888, May. 2011.

SCHENK, S.; SABERI, M.; OLEFSKY, J. M. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. **Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 118, n. 8, p. 2992–3002, Sep. 2008.

SCHEURER, M. E.; BONDY, M. L.; GURNEY, J. G. Epidemiology of childhood cancer. In: PIZZO, P.A.; POPLACK, D.G. (Ed.) **Principles and practice of pediatric oncology**, 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.

SCHIEPERS, O.; WICHERS, M. C.; MAES, M. Cytokines and major depression. **Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry**, Oxford, v.29, n.2, p. 201-217, Fev. 2005.

SERUGA, B. et al. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. **Nature Reviews. Cancer**, London, v.8, n.11, p. 887–99, Nov. 2008.

SHAPIRO, H. M. **Practical flow cytometry**. 4ed. New Jersey: John Wiley and Sons. 2003.

SHEARER, W. et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, St Louis, v.112, p. 973– 980, Nov. 2003.

SHI, Q. et al. Regulation of interleukin-8 expression by cellular pH in human pancreatic adenocarcinoma cells. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, Larchmont, v. 20, n. 11, p. 1023-1028, Nov. 2000.

SKERMAN, H. M.; YATES, P. M.; BATTISTUTTA, D. Multivariate methods to identify cancer-related symptom clusters. **Research Nursing & Health**, New York, v. 32, n. 3, p. 345-360, Jun. 2009.

SMITH, L. B., et al. The role of IL-1 β and TNF- α signaling in the genesis of cancer treatment related symptoms (CTRS): a study using cytokine receptor-deficient mice. **Brain Behaviour Immunity**, Orlando, v. 38, p.66-76, May. 2014.

SOMMER, C.; WHITE, F. Cytokines, Chemokines, and Pain. In: BEAULIEU, P. et al. **Pharmacology of pain** (1.ed), Seattle: IASP Press, 2010; 279-302.

STANILOV, N. et al. Advanced Colorectal Cancer Is Associated With Enhanced IL23 and IL10 Serum Levels. **Labmedicine**, v. 41, n. 3, p. 159-163, Jan. 2010.

STEPHENS, K. et al. Associations between cytokine gene variations and severe persistent breast pain in women following breast cancer surgery. **Journal of Pain**, Philadelphia, v.15, n. 2, p. 169-180, Feb. 2014.

STRYJEWSKI, G. R. et al. Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. **Pediatric Critical Care Medicine**, Baltimore, v. 6, n. 2, p. 129-135, Mar. 2005.

STONE P.C.; MINTON O. Cancer related fatigue. **European Journal of Cancer**, France, v.44, p.1097-1104, Oct. 2008.

SU, D. et al. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Article ID 347141, p. 2-14, 2012.

TANG, Y. et al. Evaluation of Th1/Th2 cytokines as a rapid diagnostic tool for severe infection in paediatric haematology/oncology patients by the use of cytometric bead array technology. **Pediatric Critical Care Medicine**, Baltimore, v. 17, n. 11, p.1666-1673, Nov. 2011.

TORREZINI, T.; ATHANAZIO, D. A. Cancer Immunosurveillance and Immunoediting: Clinical Implications and Therapeutic Potential. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 54, n.1, p. 63-77, 2008.

THOMSON, A.W.; LOTZE, M.T. **The Cytokine Handbook**. 4th ed. Elsevier: San Diego (CA). 2003. 630p.

TRAVÉS, P. G; LUQUE, A; HORTELANO, S. Macrophages, inflammation, and tumor suppressors: arf, a new player in the game. **Hindawipublishing corporation.Mediators of Inflammation**, Article ID 5687832012, v. 2012, p. 1-11, 2012.

VALLANCE, K. et al. Disturbed sleep in pediatric patients with leukemia: the potential role of interleukin-6 (-174GC) and tumor necrosis factor (-308GA) polymorphism. **Oncology Nursing Forum**, Pittsburgh, v. 38, n. 5, p. 365-372, Sep. 2011.

VAN LITSENBURG, R. R. et al. Sleep habits and sleep disturbances in Dutch children: A population-based study. **European Journal of Pediatrics**, Berlin, v.169, n. 8, p. 1009-1015, ago. 2010.

VARELLA, P. P. V.; FORTE, W. C. N. Citokines: a review. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo. v. 24, n. 4, p. 146-154 , 2001.

VARNI JW, et al. The PedsQL™ in pediatric cancer: Reliability and validity of the Pediatric Quality of Life Inventory™ Generic Core Scales, multidimensional fatigue scale, and cancer module. **Cancer**, New York, v. 94, n. 7, p. 2090-2106, Apr. 2002.

VISOVSKY, C. Muscle Strength, body composition, and physical activity in women receiving chemotherapy for Breast Cancer. **Integrative Cancer Therapies**, Thousand Oaks, v. 5, n.3, p. 183-191, Sep. 2006.

VON AH, D. M.; KANG, D. H.; CARPENTER, J. S. Predictors of cancer-related fatigue in women with breast cancer before, during, and after adjuvant therapy. **Cancer Nursing**, New York, v. 31, n. 2, p. 134–144, Mar-Apr. 2008.

VORONOV, E. et al. Effects of IL-1 molecules on growth patterns of 3-MCA-induced cell lines: an interplay between immunogenicity and invasive potential. **Journal of Immunotoxicology**, London, v. 7, n. 1, p. 27–38, Mar. 2010.

WABER, D.P. et al. Cognitive sequelae in children treated for acute lymphoblastic leukemia with dexamethasone or prednisone. **Journal of pediatric hematology/oncology**, New York, v. 22, n. 3, p. 206-213. May.-Jun. 2000.

WALKER, A. J. et al. Differences in symptom occurrence, frequency, intensity, and distress in adolescents prior to and one week after the administration of chemotherapy. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 27, n. 5, p. 259-265, Sep-Oct. 2010.

WANG, X. S. et al. Clinical factors associated with cancer-related fatigue in patients being treated for leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v. 20, n. 5, p.1319-1328, Mar. 2002.

WOLBEEK, M., et al. Longitudinal analysis of pro- and anti-inflammatory cytokine production in severely fatigued adolescents. **Brain, Behavior, and Immunity**, Orlando, v. 21, n. 8, p. 1063-1074, Nov. 2007.

WOOD, L. J. et al. The cancer chemotherapy drug etoposide (VP-16) induces proinflammatory cytokine production and sickness behavior-like symptoms in a

mouse model of cancer chemotherapy-related symptoms. **Biology Research for Nursing**, Thousand Oaks, v.8, n. 2, p.157-169, Oct. 2006.

WOOD, L. J.; WEYMANN, K. Inflammation and neural signaling: etiologic mechanisms of the cancer treatment-related symptom cluster. **Supportive and Palliative Care**, Emigsville, v. 7, n. 1, p. 54-59, Mar. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World Health Statistics**. Geneva. 2014. Disponível em: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2014/en/ Acesso em: 16maio de 2014.

WRATTEN, C., et al. Fatigue during breast radiotherapy and its relationship to biological factors. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, Tarrytown, v. 59, n. 8. p.160– 167, Oct. 2004.

WRATTEN, C. et al. Fatigue during breast radiotherapy and its relationship to biological factors. **International Journal of Radiation Oncology**, Tarrytown, v. 59, n. 1, p.160-167, May. 2014.

YAO, Y., et al. Interleukin (IL)-4 inhibits IL-10 to promote IL-12 production by dendritic cells. *J Exp Med*, New York, v. 201, n.12, p.1899-18903, Jun. 2005.

YEH, C. H. et al. Assessment of symptoms reported by 10- to 18-year-old cancer patients in Taiwan. **Journal of Pain and Symptom Management**, New York, v. 38, n. 5, p. 738-746, Nov. 2009.

XIE, K. Interleukin-8 and human cancer biology. **Cytokine Growth Factor Reviews**, Oxford, v.12, n. 4, p. 375-391, Dec. 2001.

ZAROMYTIDOU, A. Tumour microenvironment: Cytokines signal for invasion. **Nature Cell Biology**, London, v.13, n. 10, p.1465-7392, Oct. 2011.

ZHANG, J. M.; AN, J. Cytokines, inflammation, and pain. **International Journal of Clinical Anesthesiology**, San Diego, v. 45, n. 2, p. 27-37, set. 2007.

ZHOU, L.; NAZARIAN, A. A.; SMALE, S. T. Interleukin-10 inhibits interleukin-12 p40 gene transcription by targeting a late event in the activation pathway. *Mol Cell Biol*, Washington, v. 24, n. 6, p. 2385-2396, Mar. 2004.

ZHOU X., et al. Conceptual and methodological issues relevant to cytokine and inflammatory marker measurements in clinical research. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, Philadelphia, v.13, n. 5, p. 541-547, Sep. 2010.

ZUPANEC, S.; JONES, H.; STREMLER, R. Sleep habits and fatigue of children receiving maintenance chemotherapy for ALL and their parents. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, Philadelphia, v. 27, p.:217-228, May. 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - FICHA DE CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES

CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES - COLETA Nº ____

Data coleta: ____/____/____

Local da Coleta: _____

Nome do pesquisador: _____

DADOS DA CRIANÇA/ ADOLESCENTE	
Nome:	
Registro hospitalar:	
Data nascimento:	
Sexo:	1. Feminino 2. Masculino
Anos de estudo:	
DADOS DOS PAIS OU RESPONSÁVEIS	
Nome:	
Parentesco:	1. Mãe; 2. Pai; 3. Irmão; 4. Avós; 5. Outros _____
Data Nascimento:	
Sexo:	1. Feminino 2. Masculino
Anos de estudo:	
Estado civil:	1. Solteiro; 2. Casado / União estável; 3. Separado / Divorciado; 4. Viúvo
Procedência:	
Renda:	
Número de irmãos:	
DADOS DA DOENÇA	
Diagnóstico:	
Data diagnóstico:	
Classificação da doença:	1. Neoplasia primária 2. Neoplasia recorrente
Se recorrente	Data da recidiva: _____ Fase do tratamento na recidiva: _____
Tratamento quimioterápico: (que semana está, de um total de quantas semanas)	
Outra doença associada:	1. Não 2. Sim qual: _____
Tratamento realizado:	1. Quimioterapia – Data do início de 1ª quimio: 2. Radioterapia - 1. Não 2. Sim Quando: _____ 3. Cirurgia - 1. Não 2. Sim Quando: _____ 4. Outro: 1. Não 2. Sim Qual: _____ Quando: _____
Data da última quimio:	
Data da próxima quimio:	
Motivo da internação:	1. Quimio 2. Febre ou Neutropenia 3. Complementação diagnóstica 4. Outro: Qual: _____
Exames laboratoriais:	Hb: Ht: GB: Neut.: Linf.: Monó.: :
Medicações em uso:	
INFORMAÇÕES DO INSTRUMENTO	
Tempo de preenchimento:	PedsQL Geral : ____ minutos PedsQL Cancer: ____ minutos PedsQL Cansaço: ____ minutos
Grau de dificuldade:	PedsQL Geral : 1- Muito Difícil; 2- Difícil; 3- Nem Difícil, Nem Fácil; 4- Fácil; 5- Muito Fácil PedsQL Cancer: 1- Muito Difícil; 2- Difícil; 3- Nem Difícil, Nem Fácil; 4- Fácil; 5- Muito Fácil PedsQL Cansaço: 1- Muito Difícil; 2- Difícil; 3- Nem Difícil, Nem Fácil; 4- Fácil; 5- Muito Fácil
Actigraph	Data e hora início: Data e hora término:
Intercorrências:	

APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Meu nome é _____, sou aluna da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP e sou responsável por esta pesquisa, “Estudo clínico e molecular da fadiga e suas correlações com padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer”, sob a orientação da Profa. Dra. Milena Flória-Santos. Gostaríamos de convidar seu(sua) filho(a) para participar dessa pesquisa que estamos desenvolvendo, cujo objetivo é estudar algumas substâncias presentes no nosso sangue, conhecidas como citocinas, que podem estar relacionadas com as causas do cansaço e alterações durante o sono que seu(sua) filho(a) pode apresentar por conta da doença. As citocinas são pequenas proteínas, que estão envolvidas nos processos de comunicação entre o nosso sistema nervoso e nosso sistema de defesa. Elas influenciam no desenvolvimento e crescimento das células do nosso corpo. As citocinas modificam nossas respostas às infecções, doenças crônicas, como o câncer e inflamações. Caso você concorde com a participação de seu(sua) filho(a) nesse estudo, durante o exame de sangue que ele realiza, quando é internado(a) para receber a quimioterapia, será separada uma pequena quantidade do sangue coletado (de 5 a 10 ml) e, nessa amostra de sangue colhido, nós estudaremos a concentração de algumas citocinas e informações genéticas responsáveis pela produção delas. Em nenhum momento desse estudo, seu(sua) filho(a) será identificado(a) e caso ele(a) não queira participar ou você não permita sua participação na pesquisa, não haverá qualquer prejuízo para vocês. Acreditamos que os riscos para ele(a) participar sejam mínimos e que o único desconforto será a picada para a coleta do sangue, já realizada de rotina, durante sua internação no hospital. Você e seu filho(a) não terão nenhum benefício, nesse momento, pela sua participação, mas os resultados da pesquisa poderão nos ajudar a entender melhor as causas do cansaço (fadiga) e das alterações de sono em crianças e adolescentes com câncer. Assim, poderemos planejar cuidados de enfermagem para diminuir a fadiga, melhorar o padrão de sono e a qualidade de vida das crianças e adolescentes com câncer. Quando terminarmos esta pesquisa, o resultado final poderá ser divulgado em revistas e apresentado em encontros científicos. A participação do seu(sua) filho(a) é completamente voluntária e não haverá custo para vocês por estarem participando. Seu(sua) filho(a) também poderá deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem que ele(a) seja prejudicado(a) por isso.

Esta pesquisa foi analisada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP, pois respeita as questões éticas necessárias para a sua realização. O CEP também tem a finalidade de proteger as pessoas que participam da pesquisa, como seu(sua) filho(a), e preservar seus direitos. Assim, se for necessário, entre em contato com este CEP pelo telefone (16)3602-3386.

Caso deseje falar conosco, você poderá nos encontrar por meio dos telefones: (16) 3602-0539 (desegunda a sexta, das 8 às 17h); ou () _____ (aos finais de semana ou à noite), ou poderá nos procurar na Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Avenida Bandeirantes, 3900- Campus Universitário, Ribeirão Preto- SP.

Agradecemos a sua colaboração.

Pesquisadora principal: Emilianabomfim – Email: emilianabomfim@usp.br

Orientadora responsável: Profa. Dra. Milena Flória-Santos - E-mail: milena@usp.br

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Responsável

Após ter conhecimento sobre como meu/minha filho(a) poderá colaborar com esta pesquisa, concordo com a sua participação, não tendo sofrido nenhuma pressão para tanto.

Responsável – Eu, _____ aceito que meu filho(a) participe da pesquisa “Estudo clínico e molecular da fadiga e suas correlações com padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer”. Sei que para isso será coletada apenas uma pequena quantidade de sangue, durante um exame que já é realizado de rotina, durante sua internação. Sei, também, que ao final deste trabalho o nome dele(a) será mantido em segredo e quando ele(a) não quiser mais participar, poderá parar. Recebi uma cópia deste documento, assinada pela pesquisadora responsável, e tive a oportunidade de discuti-lo com a mesma.

Criança/Adolescente – Eu, _____ aceito participar desta pesquisa e sei que para isso será coletada apenas uma pequena quantidade de sangue, durante um exame que já é realizado de rotina durante minha internação. Sei que quando eu não quiser mais participar, eu posso desistir. Sei, também, que ao final desta pesquisa, o meu nome será mantido em segredo. Recebi uma cópia deste documento, assinada pela pesquisadora responsável, e tive a oportunidade de discuti-lo com a mesma.

Criança/Adolescente

Responsável pela criança/adolescente

Pesquisadora

*Profa. Dra. Milena Flória-Santos
Orientadora*

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde
para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

Avenida Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil - CEP 14040-902
Fone: 55 16 3602.3382 - 55 16 3602.3381 - Fax: 55 16 3602.0518
www.eerp.usp.br - eerp@edu.usp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP

Of.CEP-EERP/USP – 085/2012

Ribeirão Preto, 16 de maio de 2012.

Prezada Senhora,

Comunicamos que o projeto de pesquisa, abaixo especificado, foi analisado e considerado **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em sua 149ª Reunião Ordinária, realizada em 16 de maio de 2012.

Protocolo CAAE: 01399112.2.0000.5393

Projeto: Estudo clínico e molecular da fadiga e suas correlações com padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer.

Pesquisadores: Milena Flória-Santos
Emiliana de Omena Bomfim

Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Atenciosamente,

Prof.ª Dr.ª Lucila Castanheira Nascimento
Coordenadora do CEP-EERP/USP

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Milena Flória-Santos

Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 31 de maio de 2012

Projeto de pesquisa: “Estudo clínico e molecular da fadiga e suas correlações com padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer”

Pesquisadores responsáveis: Emiliana de Omena Bomfim e Profa. Dra. Milena Flória-Santos

Instituição Proponente: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP.

“O CEP do HC e da FMRP-USP concorda com o parecer ético emitido pelo CEP da Instituição Proponente, que cumpre as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Diante disso, o HCFMRP-USP, como instituição co-participante do referido projeto de pesquisa, está ciente de suas co-responsabilidades e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos desta pesquisa, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar”.

Ciente e de acordo:

Dr^a Marcia Guimarães Villanova
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - HCFMRP-USP

Prof. Dr. José Alexandre de Souza Crippa
Coordenador Técnico Científico da Unidade
de Pesquisa Clínica - HCFMRP-USP

ANEXO 3 - AUTORIZAÇÃO DA CHEFIA DO DEPARTAMENTO DE PUERICULTURA E PEDIATRIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde
para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

Avenida Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil - CEP 14040-902
Fone: 55 16 3602.3382 - 55 16 3602 3381 - Fax: 55 16 3602.0518
www.eerp.usp.br - eerp@edu.usp.br

Ribeirão Preto, 27 de fevereiro de 2012.

Prezados Professores,

Encaminhamos para vossa apreciação o projeto de mestrado intitulado "**Estudo clínico e molecular da fadiga e suas correlações com padrão de sono e qualidade de vida em crianças e adolescentes com câncer**", que será desenvolvido pela enfermeira Emilian de Omena Bomfim, aluna de mestrado do Programa de Pós-graduação em Enfermagem em Saúde Pública da EERP/USP, sob minha orientação. Destacamos que esta proposta de investigação científica será realizada em parceria com o estudo já em andamento junto a esse Serviço, intitulado "**Avaliação da fadiga em crianças e adolescentes com câncer e sua relação com padrão de sono e qualidade de vida**", desenvolvido pela aluna de doutorado Michelle Darezzo Rodrigues Nunes e sua orientadora Profa. Dra. Lucila Castanheira Nascimento. Foram concedidas bolsas de mestrado e doutorado da FAPESP para ambas as alunas (Processo FAPESP: 2011/17006-6 e Processo FAPESP: 2010/20055-6).

Uma vez que o presente projeto receba vossa concordância e seja aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da EERP/USP, será desenvolvido junto a crianças e adolescentes com câncer em seguimento no o Serviço de Pediatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Sendo o que se apresenta para o momento, aguardamos retorno e aproveitamos a oportunidade para reiterar votos de estima e consideração.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Milena Flória-Santos
Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo

De acordo:

Prof. Dr. Luis Gonzaga Tone - Chefe do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
(Carimbar e assinar)

Prof. Dr. Carlos Alberto Scrideli
Pediatria - FMRP/USP
CRM 68894-D

Prof. Dr. Carlos Alberto Scrideli - Chefe do Serviço de Oncologia e Hematologia Pediátrica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
(Carimbar e assinar)

ANEXO 4 – PARECER CONSUBSTANCIADO PLATAFORMA BRASIL (NÚMERO CAAE 01399112.2.00005393)

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

PROJETO DE PESQUISA

Título: ESTUDO CLÍNICO E MOLECULAR DA FADIGA E SUAS CORRELAÇÕES COM PADRÃO DE SONO E QUALIDADE DE VIDA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM CÂNCER

Pesquisador: EMILIANA DE OMENA BOMFIM

Versão: 1

Instituição: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

CAAE: 01399112.2.0000.5393

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 21851

Data da Relatoria: 21/03/2012

Apresentação do Projeto:

Diversos trabalhos têm explorado a hipótese da participação do sistema imunológico, via liberação de citocinas, na fadiga e transtornos de sono, em pacientes com as mais diferentes doenças. Citocinas são pequenas proteínas sinalizadoras liberadas por uma variedade de células que influenciam o desenvolvimento e proliferação celular. Inicialmente, somente relacionadas como mediadores humorais de interações entre as células do sistema imunológico, as citocinas atualmente passaram a ser consideradas fatores essenciais para a interação entre o sistema imune e o sistema nervoso central. Mais recentemente, tem se mostrado que polimorfismos de genes que as codificam podem alterar significativamente suas funções. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa é investigar os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa) e avaliar polimorfismos de genes que as codificam, a fim de correlacioná-los com a fadiga e o padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer. Esse estudo será realizado em parceria com outro que já foi aprovado por este CEP (Protocolo CEP/EERP nº1390/2011), o qual se intitula "Avaliação da fadiga em crianças e adolescentes com câncer e sua relação com padrão de sono e qualidade de vida".

O projeto ora submetido será realizado com 100 crianças e adolescentes com câncer (8 a 18 anos), hospitalizados no Serviço de Pediatria do Hospital das Clínicas da FMRP/USP, que durante a coleta de sangue de rotina, terão 5-10 mL de sangue coletados em um tubo a parte para realização da dosagem sérica das citocinas IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa e identificação de polimorfismos dos genes codificadores dessas citocinas. Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e transversal. Para o estudo das correlações entre a fadiga, padrão de sono e níveis de citocinas pró-inflamatórias/ polimorfismos será realizado uma análise estatística empregando o coeficiente de correlação de Pearson. Com base nesses achados poderão ser propostas intervenções de enfermagem que visem minimizar o sofrimento das crianças/adolescentes acometidos por câncer.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar os níveis de séricos citocinas pró-inflamatórias (IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa) e avaliar polimorfismos gênicos que codificam essas citocinas em crianças e adolescentes com câncer, com a finalidade de correlacioná-los com a fadiga e o padrão de sono.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios foram descritos tanto no projeto equanto no TCLE.

Os riscos para os participantes serão apenas relativos ao desconforto da picada de agulha da punção venosa para a coleta do sangue, coleta esta já realizada dentro da rotina de cuidado do Serviço de Oncopediatria do Hospital das Clínicas da FMRP/USP, durante a internação neste local.

Com relação aos benefícios: os resultados poderão auxiliar na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da fadiga e das alterações do padrão de sono em crianças e adolescentes com câncer, auxiliando o planejamento do cuidado de enfermagem para diminuir a fadiga, melhorar o padrão de sono e a qualidade de vida dessa população.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A introdução está bem descrita, e apresenta uma justificativa sólida e pertinente para o desenvolvimento da pesquisa. Os materiais e métodos são adequados à pesquisa proposta.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Dentre os documentos há folha de rosto devidamente preenchida, orçamento, cronograma e ofício de autorização do desenvolvimento da pesquisa no Hospital das Clínicas da FMRP/USP assinado pelo Chefe do Depto de Puericultura e Pediatria da FMRP-USP e pelo Chefe do Serviço de Oncologia e Hematologia Pediátrica da FMRP-USP.

O TCLE está apresentado na forma de convite e se encontra em linguagem acessível. Os pesquisadores afirmam que os sujeitos que participarem da pesquisa não terão gastos, poderão desistir de participar a qualquer momento, não terão prejuízos a sua rotina, que sua identificação será mantida em sigilo, indicam como os sujeitos participarão da pesquisa, que os participantes receberão uma cópia do TCLE e poderão contatar as pesquisadoras com relação a dúvidas durante todo o processo. Descrevem ainda os riscos e os benefícios da pesquisa, colocam local para assinatura dos responsáveis e da criança/adolescente, assim como dos pesquisadores e seu endereço e telefones de contato.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pelo exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo considera o projeto APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer apreciado pelo CEP.

RIBEIRAO PRETO, 15 de Maio de 2012

p/
Assinado por:
Claudia Benedita dos Santos