Raquel Susana Matos de Miranda Torrinhas

**Efeito da infusão pré-operatória de emulsão lipídica parenteral
de óleo de peixe sobre a resposta imunológica pós-operatória e a
evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrintestinal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de: Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dan Linetzky Waitzberg

São Paulo

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Torrinhas, Raquel Susana Matos de Miranda

Efeito da infusão pré-operatória de emulsão lipídica parenteral de óleo de peixe sobre a resposta imunológica pós-operatória e a evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrointestinal / Raquel Susana Matos de Miranda Torrinhos. -- São Paulo, 2012.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Dan Linetzky Waitzberg.

Descritores: 1.Ácidos graxos ômega-3/farmacologia 2.Nutrição parenteral/métodos
3.Cirurgia geral 4.Neoplasias do cólon/cirurgia 5.Neoplasias gástricas/cirurgia
6.Imunologia 7.Evolução clínica

USP/FM/DBD-281/12

DEDICATÓRIA

Àquele que me capacitou para a execução deste trabalho,

Deus, obrigada por minha família, meu trabalho, meus verdadeiros amigos e pelas experiências que me permitiram reconhecer o valor que todos eles têm na minha vida.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu amigo Dan Waitzberg,

Na minha ainda curta jornada na vida, você esteve ao meu lado quando eu deixei de ser menina e me tornei mulher e mãe. Durante os doces e amargos momentos envolvidos nessa “metamorfose”, sua orientação e amizade foram fundamentais não apenas para meu amadurecimento profissional, mas também para que eu assimilasse as lições destinadas à minha evolução como ser humano. Mais do que meu insigne orientador científico, você é meu querido amigo, dono de meu sincero afeto e gratidão.

“Amo como ama o amor. Não conheço nenhuma outra razão para amar senão amar. Que queres que te diga, além de que te amo, se o que quero dizer-te é que te amo?”

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dan Linetzky Waitzberg, por há mais de 19 anos me proporcionar um novo aprendizado a cada dia de convívio.

Ao Prof. Dr. Ivan Cecconello, por possibilitar o desenvolvimento do protocolo deste estudo na Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao Biólogo Thiago Manzoni Jacintho e Nutricionista Natalie Carolina Castro, pelo auxílio na padronização dos métodos imunológicos; às Nutricionistas Letícia De Nardi Campos e Lilian Mika Horie, pelo auxílio na padronização das análises das variáveis clínicas; e às Biólogas Raquel Santana e Thaís Garcia, pela dedicação irrestrita e fundamental para o bom encaminhamento do estudo que esta tese contempla.

Aos colegas da Equipe de Metabologia e Nutrição em Cirurgia (Metanutri) do Laboratório de Nutrição e Cirurgia Metabólica do Aparelho Digestivo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela colaboração, intercâmbio de experiências/conhecimentos e companheirismo frequentes que, por vezes, amenizaram momentos difíceis vividos durante o desenvolvimento desta tese. Um agradecimento especial às Nutricionistas Lívia Samara dos Reis Rodrigues e Priscila Garla, pelo auxílio na revisão desta tese; à Nutricionista Priscila Campos Sala, pela frequente captação de referências bibliográficas; à Nutricionista Graziela Rosa Ravacci, pelo

compartilhamento de conhecimento científico, pertinentes sugestões, revisão cuidadosa desta tese, e auxílio em minhas atividades junto à Metanutri durante sua redação; e à Elaine Aparecida da Silva, pela frequente disponibilidade e amizade.

Aos profissionais das Enfermarias do Estômago e Cólon da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por viabilizarem a seleção de pacientes e a infusão de emulsão lipídica com frequente boa vontade e disponibilidade. Um agradecimento especial a seus coordenadores Dr. Bruno Zilberstein e Dr. Desidério Roberto Kiss e às competentes e prestativas Enfermeiras Maria Emília Lucas Fernandes da Cruz e Neide Mieko Kurashima e Nutricionista Luciana Solino.

À Farmácia do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial às Farmacêuticas Márcia Marim e Miriam Teresa Matsufugi, por viabilizarem o encaminhamento das emulsões lipídicas ao leito do paciente.

À Farmoterápica, em especial aos seus Farmacêuticos Dra. Dirce Akamine, Michel Kfoury Filho e Marlon Alex Yamane, por ter zelado pelo caráter duplo-cego deste projeto e preparado/enviado as bolsas de emulsão lipídicas com responsabilidade.

À Dra. Maria Mirtes Sales, responsável pela Seção de Citometria de Fluxo do Serviço de Hematologia do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por

orientar e viabilizar as análises em citometria de fluxo com competência e comprometimento.

À equipe do Laboratório de Cirurgia e Transplante do Fígado (LIM 37) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial ao Prof. Dr. Marcel Cerqueira Cesar Machado e à Farmacêutica Ana Maria Coelho, por viabilizarem as dosagens de citocinas plasmáticas.

Aos Prof. Dr. Julio Cesar Rodrigues Pereira e Estatísticos Démerson Poli, João Ítalo França e Márcio Augusto Diniz pelo desenvolvimento e discussão das análises estatísticas dos dados obtidos no presente estudo.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Carneiro D'Albuquerque, coordenador do Departamento de Pós-graduação em Cirurgia do Aparelho Digestivo, e Dr. José Jukemura, por zelarem pela qualidade dos cursos oferecidos no programa do referido Departamento e das pesquisas desenvolvidas por seus alunos. Um agradecimento especial à Vilma de Jesus Libério, pela frequente disponibilidade e atenção.

À Divisão de Nutrição do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e seus funcionários, pela frequente disposição em colaborar. Em especial à Nutricionista Maria Carolina Gonçalves Dias, pelo exemplo e amizade.

Aos Profs. Drs. Rui Curi e Maria Fernanda Cury Boaventura, pela parceria científica e intercâmbio de conhecimentos.

Ao meu amigo Dr. Fábio Guilherme Caserta Maryssael de Campos, pelo exemplo e constante disponibilidade para colaborar com o estudo que esta tese contempla.

Ao Marcos Retzer, pela competência e frequente disponibilidade em me auxiliar com as figuras do artigo que frutificou desta tese.

A todos os pacientes que aceitaram participar deste estudo, apesar de não haver garantia de benefícios envolvidos nele.

À FAPESP e ao CNPq, pelo os auxílios financeiros que viabilizaram o desenvolvimento desta tese.

Ao assessor da FAPESP que, por trás de seu anonimato, contribuiu para promover a qualidade científica do estudo que esta tese contempla.

Aos Profs. André Dong Won Lee, Ulysses Ribeiro Júnior e Wilson Modesto Polara, pelas valiosas sugestões oferecidas durante minha prova de qualificação, que certamente contribuíram para a qualidade científica desta tese.

À minha família, em especial meu filho João Pedro e meu companheiro José Ricardo, por me oferecer o combustível para ultrapassar mais esta etapa da minha vida: AMOR.

Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes. Assim em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive.

Ricardo Reis (Fernando Pessoa)

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Listas - Figuras, Tabelas, Quadros, Abreviaturas, Símbolos e Siglas

Resumo

Summary

1.0. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Ácidos Graxos Ômega-3	1
1.2. Modulação da Resposta Imunológica por Ácidos Graxos Ômega-3....	3
1.3. Benefício Potencial de Ácidos Graxos Ômega-3 na Modulação da Resposta Imunológica Pós-operatória.....	7
1.4. Infusão Parenteral de Ácidos Graxos Ômega-3 em Pacientes Cirúrgicos	10
1.5. Racional e Justificativa do Estudo	24
2.0. OBJETIVO.....	27
3.0. MÉTODOS.....	29
3.1. Local de execução do trabalho.....	29
3.2. Desenho do estudo.....	29
3.3. Aspectos Éticos	29
3.4. Protocolo de Estudo	30
3.5. Pacientes e Casuística	31
3.6. Procedimentos Duplo-cego e de Aleatorização da Amostra.....	34
3.7. Infusão das Emulsões Lipídicas	34
3.8. Avaliação das Variáveis Imunológicas.....	37
3.8.1. Dosagem de Citocinas Plasmáticas IL-6 e IL-10.....	37
3.8.2. Análise de Funções e Moléculas de Superfície Leucocitárias.....	38
3.9. Avaliação da Evolução Clínica	39
3.9.1. Avaliação de Eventos Adversos Potencialmente Associados à Infusão de Emulsão Lipídica	39
3.9.2. Avaliação da Evolução Clínica Pós-operatória Imediata	40
3.10. Análise Estatística	42
3.10.1. Determinação do Tamanho da Amostra.....	42
3.10.2. Análise dos Dados.....	42

4.0. RESULTADOS	45
4.1. Dos Pacientes.....	45
4.2. Das Variáveis Imunológicas	46
4.2.1. Concentração Plasmática de Citocinas	46
4.2.1.1. Concentração Plasmática de IL-6	46
4.2.1.2. Concentração Plasmática de IL-10	48
4.2.2. Funções e Moléculas de Superfície Leucocitárias	50
4.2.2.1. Quimiotaxia Leucocitária	50
4.2.2.2. Fagocitose Leucocitária	52
4.2.2.3. Explosão Oxidativa Leucocitária	53
4.2.2.4. Expressão de Moléculas de Superfície	55
4.2.3. Resumo dos achados imunológicos	61
4.3. Das Variáveis Clínicas	62
4.3.1. Eventos Adversos Possivelmente Relacionados à Infusão de EL62	
4.3.2. Evolução Clínica Pós-operatória	63
5.0. DISCUSSÃO.....	65
6.0. CONCLUSÕES.....	75
7.0. ANEXOS.....	77
ANEXO A – Documento de aprovação do protocolo de estudo pela comissão de ética	78
ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido	79
ANEXO C – Protocolo de reação de elisa para avaliação de citocinas IL-6 E IL-10	87
ANEXO D – Protocolos de reações, aquisições e análises de citometria para avaliação de funções e moléculas de superfície leucocitárias.	88
ANEXO E – Dados demográficos e descritivos dos pacientes	95
ANEXO F – Lista de eventos adversos	97
ANEXO G – Lista de complicações infecciosas	98
ANEXO H – Dados do tempo internação UTI	99
ANEXO I – Dados do tempo internação hospitalar	105
8.0. REFERÊNCIAS	111

LISTAS

Lista de Figuras

Figura 1 – Esquematização do padrão de alterações da resposta imunológica frente ao trauma cirúrgico.....	9
Figura 2 – Protocolo do estudo.....	31
Figura 3 – Diagrama do fluxo de seleção, aleatoriedade, exclusão e avaliação de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados no período pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou EL controle, rica em triglicérides de cadeia média.....	33
Figura 4 – Variação das médias da concentração plasmática de IL-6 de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....	47
Figura 5 – Variação das médias da concentração plasmática de IL-10 de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....	49

Figura 6 - Variação das médias da fagocitose leucocitária de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....53

Figura 7 - Variação das médias da explosão oxidativa leucocitária de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....55

Figura 8 – Variação das médias da expressão de moléculas HLA-DR na superfície de monócitos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....57

Figura 9 - Variação das médias da expressão de moléculas HLA-DR na superfície de neutrófilos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....58

Figura 10 - Variação das médias da expressão de moléculas CD32 na superfície de monócitos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....60

Figura 11 - Variação das médias da expressão de moléculas CD32 na superfície de neutrófilos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....61

Figura 12 – Tempo de permanência na Unidade de Terapia Intensiva de pacientes idosos (> 60 anos) e/ou desnutridos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média.....73

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos das emulsões lipídicas de óleo de peixe e controle, rica em triglicérides de cadeia média.....	36
Tabela 2 – Critérios utilizados para a identificação de complicações relacionadas à infusão parenteral de emulsão lipídica.....	40
Tabela 3 – Critérios utilizados para a identificação de complicações infecciosas pós-operatórias.....	41
Tabela 4 - Características descritivas da amostra de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média.....	45
Tabela 5 – Variação da diferença das médias da concentração plasmática de interleucina-6 em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica parenteral rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....	46
Tabela 6 – Variação da diferença das médias da concentração plasmática de interleucina-10 em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica parenteral rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....	48

Tabela 7 – Número, tamanho e expressão de LECAM-1 de granulócitos migrantes provenientes do sangue periférico de pacientes com câncer no aparelho digestivo tratados no período pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média.....51

Tabela 8 - Variação da diferença das médias da fagocitose de leucócitos em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....52

Tabela 9 - Variação da diferença das médias da explosão oxidativa de leucócitos em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....54

Tabela 10 - Variação da diferença das médias do número porcentual de monócitos exprimindo HLA-DR na sua superfície, provenientes do sangue periférico de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....56

Tabela 11 - Variação da diferença das médias da expressão de CD32 na superfície de monócitos e neutrófilos do sangue periférico de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão

parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle,
rica em triglicérides de cadeia média, em períodos distintos.....59

Tabela 12 – Frequência de complicações infecciosas e tempo de internação
na unidade de terapia intensiva e hospitalar no período pós-operatório de
pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório
com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou
emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média
(TCM/TCL).....63

Lista de Quadros

Quadro 1 – Resumo de estudos clínicos que avaliaram o efeito da infusão de emulsões lipídicas contendo óleo de peixe, ricas em ácidos graxos ômega-3 sobre variáveis da função imunológica e clínicas de pacientes cirúrgicos.....	14
Quadro 2 - Variáveis agrupadas para o teste de alfa de Cronbach.....	43
Quadro 3 – Resumo das alterações de variáveis imunológicas de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados com infusão parenteral pré-operatória de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média.....	62

Lista de Abreviaturas

AA	Ácido Araquidônico
AG	Ácido Graxo
AGPI	Ácido Graxo Poliinsaturado
APC	Aloficocianina
ARS	Síndrome da Lesão Pulmonar Aguda
CARS	Síndrome da Resposta Anti-inflamatória Compensatória
Cy-Chromo	R-ficoeritrina & Cianina
DHA	Docosaexaenoico
DHR	Dihidrorodamina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EL	Emulsão lipídica parenteral
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
fMLP	N-formil-metionina-leucina-fenilalanina
HLA-DR	Moléculas do Complexo de Histocompatibilidade Principal Classe II Tipo HLA-DR
IL	Interleucina

IMC	Índice de Massa Corpórea
LECAM-1	Moléculas de Adesão de Lectina-1
LT	Leucotrieno
NF-κB	Fator de Transcrição Nuclear κB
PAF	Fator de Agregação Plaquetária
PC	Peso corpóreo
PCR	Proteína C-reativa
PE	Ficoeritrina
PG	Prostaglandina
PMA	Forbol 12-miristato 13-acetato
PPAR	Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo
SIRS	Síndrome da Resposta Imunológica Sistêmica
TCM	Triglicérides de Cadeia Média
TMB	Tetrametilbenzidina
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNP	Terapia Nutricional Parenteral
TX	Tromboxano
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

Lista de Símbolos

Kg	Quilograma
mL	Mililitro
µL	Microlitro
m²	Metro Quadrado
nm	Nanômetro
pc	Picograma
x g	Força Centrífuga
°C	Grau Centígrado

Lista de Siglas

CAPPesq Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

ESPEN Sociedade Europeia de Nutrição Clínica e Metabolismo

EUA Estados Unidos da América

HC-FMUSP Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo

INCA Instituto Nacional do Câncer

LIM Laboratório de Investigação Médica

RESUMO

Torrinhas RSMM. *Efeito da infusão pré-operatória de emulsão lipídica parenteral de óleo de peixe sobre a resposta imunológica pós-operatória e a evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrintestinal*. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.

INTRODUÇÃO: Emulsão lipídica parenteral composta por óleo de peixe, rica em ácidos graxos ômega-3, é infundida associada a emulsões lipídicas convencionais, como parte da terapia nutricional parenteral. Em pacientes cirúrgicos, a infusão perioperatória de emulsão lipídica de óleo de peixe se associa à preservação de funções imunológicas e modulação favorável de mediadores inflamatórios pós-operatórios, com redução na frequência de complicações infecciosas e no tempo de internação em unidade de terapia intensiva e hospitalar. Os benefícios descritos encorajam a infusão parenteral isolada de emulsão lipídica de óleo de peixe, como fármaco-nutriente adjuvante no tratamento de pacientes cirúrgicos, independente da indicação de terapia nutricional parenteral. **OBJETIVO:** O presente estudo avaliou o efeito da infusão parenteral pré-operatória, por curto prazo, de emulsão lipídica de óleo de peixe isolada sobre a resposta imunológica pós-operatória e a evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrintestinal. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo, aleatório, duplo-cego e controlado em 63 pacientes cirúrgicos eletivos com câncer gastrintestinal. Os doentes receberam infusão por veia periférica (0,2g gordura/kg de peso

corpóreo/dia) de emulsão lipídica parenteral de óleo de peixe (Omegaven® 10% - Fresenius-Kabi) ou emulsão lipídica parenteral controle (Lipovenos MCT® 10% - Fresenius-Kabi) durante os 3 últimos dias pré-operatórios. Amostras de sangue foram coletadas antes e após a infusão parenteral das emulsões lipídicas e nos 3º e 6º (apenas para citocinas) dias pós-operatórios. Analisou-se a concentração plasmática de IL-6 e IL-10 e a migração, fagocitose, explosão oxidativa e expressão de moléculas HLA-DR e CD32 leucocitárias. A frequência de complicações infecciosas e tempo de internação na unidade de terapia intensiva e hospitalar também foram avaliados no período pós-operatório imediato. **RESULTADOS:** No período pós-operatório, pacientes tratados com emulsão de óleo de peixe tiveram aumento de IL-10 (dia 3, $p < 0,0001$), diminuição de IL-6 (dia 3, $p = 0,029$) e IL-10 (dia 6 $p < 0,0001$), menor diminuição da explosão oxidativa leucocitária ($p = 0,028$), manutenção da porcentagem de monócitos exprimindo HLA-DR ($p = 0,046$) e CD32 ($p = 0,025$) e aumento da intensidade da expressão de CD32 por neutrófilos ($p=0,010$), em comparação a pacientes tratados com emulsão lipídica controle. A migração leucocitária não foi influenciada. Não foram encontradas diferenças na frequência de infecções e no tempo de permanência na unidade de terapia intensiva e hospitalar. **CONCLUSÕES:** A infusão pré-operatória, por curto prazo, de emulsão lipídica parenteral de óleo de peixe isolada, como fármaco-nutriente, melhora a resposta imunológica pós-operatória de pacientes com câncer gastrointestinal sem estar associada à melhora significativa na frequência de infecções e tempo de permanência na unidade de terapia intensiva e hospitalar.

Descritores: 1.Ácidos graxos ômega-3/farmacologia 2.Nutrição parenteral/ métodos 3.Cirurgia geral 4.Neoplasias do cólon/cirurgia 5.Neoplasias gástricas/cirurgia 6.Imunologia 7.Evolução clínica

ABSTRACT

Torrinhas RSMM. *Effect of the preoperative infusion of fish oil parenteral lipid emulsion on postoperative immune response and immediate clinical outcome of patients with gastrointestinal cancer*. [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2012.

BACKGROUND: Parenteral lipid emulsion composed by fish oil, rich in omega-3 fatty acids, is infused in addition to other standard lipid emulsions, as part of parenteral nutrition therapy. In surgical patients, the perioperative infusion of fish oil lipid emulsion is associated with immune functions preservation and favorably modulation of postoperative inflammatory mediators, with decreased infectious complications and length of intensive care unit and hospital stay. These reported benefits encourage the use of fish oil lipid emulsion alone, as a pharmacological adjuvant agent for the treatment of surgical patients, independent of parenteral nutritional therapy indication. **AIM:** This clinical trial assessed the effect of short-term preoperative infusion of fish oil lipid emulsion alone on postoperative immune response and immediate clinical outcomes of patients with gastroenterological cancer. **METHOD:** In a prospective, randomized, controlled and double-blind design, elective surgical patients with gastrointestinal cancer (n= 63) received, for the last 3 pre-operative days, peripheral infusion (0.2g fat/kg of body weight./d) of fish oil lipid emulsion (Omegaven® 10% - Fresenius-Kabi) or control lipid emulsion (Lipovenos

MCT® 10% - Fresenius-Kabi). Peripheral blood samples were collected before and after lipid emulsion infusion at the 3rd and 6th (only for cytokines) postoperative days to analyze plasma concentration of IL-6 and IL-10, as well as leukocyte migration, phagocytosis, oxidative burst and expression of HLA-DR and CD32 molecules. Postoperative infections, length of intensive care unit and hospital stay were also measured. **RESULTS:** At postoperative period, patients treated with fish oil lipid emulsion had increase of IL-10 (day 3, $p < 0.0001$), decrease of IL-6 (day 3, $p = 0.029$) and IL-10 (day 6, $p < 0.0001$), lower decrease of leukocyte oxidative burst ($p = 0.023$), maintenance of the percentage of monocytes expressing HLA-DR ($p = 0.046$) and CD32 ($p = 0.025$) and increase of the intensity of CD32 expression on neutrophil surface ($p = 0.010$), when compared to patients treated to control lipid emulsion. The leukocyte chemotaxis was not affected. No changes were observed on postoperative infections and length of intensive care unit and hospital stay. **CONCLUSION:** Short-term preoperative infusion of fish oil lipid parenteral emulsion alone improves postoperative immune response of patients with gastrointestinal cancer without benefit on infections frequency and length of intensive care unit and hospital stays.

Descriptors: 1.Omega-3 fatty acids/pharmacology 2.Parenteral nutrition/methodology 3.General surgery 4.Colon neoplasias/surgery 5.Gastric Neoplasias/surgery 6. Immunology 7. Clinical outcome.

1.0. INTRODUÇÃO

1.1. Ácidos Graxos Ômega-3

Ácidos graxos (AG) são ácidos carboxílicos formados por longas cadeias não ramificadas compostas por número par de átomos de carbono unidos por ligações simples ou duplas ¹.

Características particulares das cadeias dos AGs possibilitam sua identificação sistemática. De acordo com o número de átomos de carbono, os AGs podem ser de cadeia longa (14-20 átomos de carbono), média (6-12 átomos de carbono) e curta (até 4 átomos de carbono). O número de duplas-ligações que unem esses átomos identifica-os como saturados (sem duplas-ligações), monoinsaturados (uma dupla-ligação) e poliinsaturados (mais de uma dupla-ligação). No caso de AGs poliinsaturados (AGPI), estes são ainda identificados de acordo com a posição da primeira dupla-ligação, contada a partir de seu radical metil (representada pela letra ômega - ω) ou a partir de seu grupo funcional (representada pela letra delta - Δ) ¹.

Assim, AGPIs ω -3 constituem uma família de AGPI de cadeia longa, cuja primeira dupla-ligação encontra-se entre o terceiro e quarto carbono, a partir do radical metil de sua cadeia carboxílica. O AGPI ω -3 regularmente consumido na dieta corresponde ao ácido alfa-linolênico (α -linolênico) ².

O fígado, tecido adiposo e as glândulas mamárias são capazes de sintetizar diferentes AGs a partir de glicose e aminoácidos, por meio de reações enzimáticas específicas de alongamento e dessaturação. O alongamento ocorre por meio da inserção de novos átomos de carbono na

cadeia de AGs, enquanto dessaturação acontece pela formação de duplas-ligações na cadeia de um AG ¹.

Os animais não possuem enzimas delta (Δ)-12 e Δ -15 dessaturases, responsáveis por adicionar duplas ligações antes do nono carbono, a partir da extremidade metil. Portanto, o ácido α -linolênico não pode ser produzido endogenamente “de novo” pelo organismo humano. Esse ácido graxo é exclusivamente fornecido pela dieta e, por isso, dito essencial ².

Por outro lado, por processos enzimáticos sequenciais de alongamento e dessaturação, o ácido α -linolênico pode ser endogenamente convertido, em mamíferos, em outros AGPIs ω -3, como ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) ².

EPA e DHA têm propriedades biológicas com especial interesse clínico e suas taxas de conversão endógena pelo organismo humano são muito baixas (cerca de 0,2% e 0,05% a partir total de ácido α -linolênico consumido, respectivamente) ³. Esses dois AGPIs são encontrados em alta quantidade no óleo de peixes, principalmente aqueles que habitam águas geladas e consomem grande quantidade de algas, muito ricas em ácido α -linolênico ⁴. Assim, EPA e DHA podem ser eficientemente obtidos pelo organismo humano através do consumo de determinados peixes ou de óleo de peixe.

A necessidade diária de AGPIs ω -3 corresponde a 0,5% da ingestão calórica total. Sua deficiência pode causar disfunção imunológica, dermatite, alopecia, trombocitopenia e má cicatrização ². Em semelhança com outros AG, os AGPIs ω -3 são importante fonte de energia não glicídica (9,3 Kcal/g),

podem participar da síntese de hormônios e estruturas celulares, do transporte de vitaminas lipossolúveis, e de sinalizações intra e extracelulares². A presente investigação se concentrará sobre evidências atuais que atribuem aos AGPIs ω -3, particularmente EPA e DHA, efeitos moduladores da resposta imunológica⁵.

1.2. Modulação da Resposta Imunológica por Ácidos Graxos Ômega-3

A proteção do organismo contra agentes infecciosos e diferentes traumas é crucial para a manutenção de sua integridade e equilíbrio. Não é de se estranhar que, através dos tempos, a natureza tenha selecionado um sistema integrado de eventos teciduais, bioquímicos e celulares que trabalham orquestradamente no reconhecimento, contenção e destruição de patógenos e de células infectadas ou danificadas.

A inflamação é parte desse sistema e participa da resposta imunológica imediata à infecção ou trauma. Ela é caracterizada pela presença de rubor, edema, calor, dor e perda de função, que ocorrem em resposta ao aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular, desencadeados pela produção de mediadores inflamatórios, como aminas, eicosanoides e citocinas⁶.

Durante a fase aguda da inflamação, as referidas alterações vasculares permitem o extravasamento leucocitário (principalmente de polimorfonucleares) para o local da lesão ou infecção, através da interação ativa de moléculas de adesão endoteliais e leucocitárias e seus receptores, cuja expressão pode ser modulada por agentes quimiotáticos, eicosanoides

e citocinas ⁷⁻¹¹. A inflamação crônica, por sua vez, é caracterizada por infiltração de células mononucleares, destruição tecidual e áreas de reparo tecidual ativo com pronunciada fibrose e angiogênese ⁶.

Apesar de constituir um evento desejável e parte da resposta imunológica eficiente, a inflamação pode ser excessivamente ativada frente a diferentes condições, como trauma cirúrgico, e danificar tecidos e órgãos ¹². Além disso, a inflamação crônica é a base de mecanismos patogênicos envolvidos em reações de hipersensibilidade contra drogas e substâncias tóxicas, assim como na fisiopatologia de algumas doenças como aterosclerose, hepatite crônica, doenças inflamatórias intestinais, cirrose hepática, fibrose pulmonar, psoríase e artrite reumatoide ¹³⁻¹⁵.

Hábitos alimentares podem interferir na resposta imunológica. Após a revolução industrial, mudanças profundas nos padrões dietéticos humanos ocorreram de forma brusca e não acompanhados por adaptação de nossas características genéticas. Esse novo cenário marcado, entre outros, pelo aumento da ingestão de AGPIs ω -6 e redução do consumo de AGPIs ω -3 (principalmente em países ocidentais), vem se relacionando com o surgimento de doenças crônicas como diabetes, obesidade, câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças de caráter inflamatório ^{15,16}.

A relação entre o novo padrão de consumo de AGPIs e a incidência de doenças inflamatórias foi inicialmente observada em estudos epidemiológicos conduzidos em esquimós. Nessa população, cujos hábitos alimentares incluem o consumo de alimentos ricos em AGPIs ω -3, a incidência de doenças como arteriosclerose e de doenças inflamatórias

intestinais é menor em relação à população de países ocidentais, que apresentam consumo reduzido desses AGPIs ¹⁷.

O elo entre ingestão de AGPIs, inflamação e imunidade pode ser atribuído ao fato de que o perfil lipídico de membranas de células imunológicas sofre influência da composição de AGs da dieta. Particularmente, a proporção dos diferentes tipos de AGPIs nessas células é rapidamente modificada ¹⁶.

Uma vez incorporado em membranas celulares leucocitárias e perante determinado estímulo antigênico, EPA vai participar diretamente da resposta imunológica, ao competir pelas mesmas vias enzimáticas (lipoxigenase e da ciclooxigenase) que o ácido araquidônico (AA) da família ω -6 para a síntese de eicosanóides ^{2,5}. Particularmente, os eicosanóides originados de EPA, como prostaglandina (PG) E₃, leucotrieno (LT) B₅ e o tromboxano (TX) ₃, têm potencial inflamatório e imunossupressor significativamente menor do que aqueles sintetizados a partir de AA, que incluem PGE₂, LTB₄, TX₂ e fator de agregação plaquetária (PAF) ^{2,5}. A capacidade dos AGPIs ω -3 em competir com AGPIs ω -6 na produção de eicosanóides constitui sua propriedade anti-inflamatória mais estudada.

Os AGPIs ω -3 também atuam como substrato para a síntese de outros mediadores inflamatórios, as resolvinas da série E, por EPA, e da série D, por DHA. Esses mediadores lipídicos são liberados durante a comunicação célula-célula na fase de resolução inflamatória, via biossíntese transcelular, e participam do controle endógeno da inflamação ¹⁸. Dentre suas funções, destacam-se a inibição da ativação e migração de

polimorfonucleares e da liberação de citocinas, como interleucina (IL)-6 e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), no exsudato inflamatório, permitindo que os tecidos inflamados retornem à homeostase ¹⁹⁻²².

AGPIs ω -3 inibem ainda a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β e IL-6, e parecem modular positivamente a produção da citocina anti-inflamatória IL-10 ²³⁻²⁷. Os mecanismos propostos para a modulação da produção de citocinas por AGPIs ω -3 incluem a regulação da expressão de genes que ativam receptores nucleares ativados por proliferador de peroxissomos (PPAR), os quais funcionam como fatores de transcrição gênica ^{28,29}. Quando ativados, PPARs podem se ligar diretamente a outros fatores de transcrição, como o fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B), e inibir a transcrição de genes envolvidos na resposta inflamatória, incluindo citocinas, moléculas de adesão e outros mediadores com importante potencial inflamatório ³⁰.

Adicionalmente, uma vez incorporadas na membrana, as moléculas altamente insaturadas de AGPIs ω -3 também podem afetar a estrutura caracteristicamente rígida de *rafts* lipídicos, inibindo a ativação de receptores a eles associados ^{31,32}. Os *rafts* lipídicos são microdomínios de membrana relacionados ao início e propagação de eventos de sinalização celular ^{31,32}. Vários receptores imunológicos são encontrados nos *rafts* lipídicos e a integridade estrutural desses microdomínios é fundamental para que a sinalização via receptores ocorra ^{31,32}. As modulações imunológicas via *rafts* lipídicos incluem regulação de sinalização leucocitária, especialmente através do receptor de células T ³³.

Graças às propriedades potencialmente anti-inflamatórias acima descritas, hoje se reconhece que AGPIs ω -3, especialmente EPA e DHA, podem auxiliar a prevenir o desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas ou atenuar processos inflamatórios agudos, contribuindo para seu tratamento ².

1.3. Benefício Potencial de Ácidos Graxos Ômega-3 na Modulação da Resposta Imunológica Pós-operatória

O trauma cirúrgico, na dependência de sua intensidade, desencadeia profundas alterações nas respostas hemodinâmica, metabólica e imunológica orgânicas. Em semelhança à maioria das respostas fisiológicas, a resposta imunológica pós-operatória é um processo dinâmico, caracterizado por intensa inflamação e imunossupressão ^{34,35}.

A fase inflamatória da resposta imunológica pós-operatória é caracterizada pela liberação de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 e TNF- α . Essas citocinas são as principais responsáveis por manifestações não hepáticas, incluindo febre e taquicardia, e pela produção de outras citocinas, como IL-6 ^{34,36}.

Por sua vez, IL-6 regula o componente hepático da resposta imunológica pós-operatória de fase aguda, resultando na geração de outras proteínas inflamatórias, como a proteína C-reativa (PCR) ³⁷. Níveis aumentados de PCR são observados aproximadamente 4 a 12 horas após intervenção cirúrgica, com pico aproximado de 24 a 72 horas, e assim permanecem por aproximadamente 2 semanas ³⁸. Outras proteínas de fase

aguda deflagradas por IL-6 incluem anti-proteinases e fibrinogênio. Essas proteínas estão envolvidas na resposta imunológica inespecífica e específica, e atuam como mediadores inflamatórios, *scavengers* e inibidores de proteases ³⁹.

Apesar de IL-6 funcionar como uma citocina pró-inflamatória, ela também pode exercer efeitos anti-inflamatórios. A IL-6 pode atenuar a atividade de TNF- α e IL-1, através da liberação de IL-1Ra e receptores solúveis de TNF- α , e induzir a liberação do poderoso imunossupressor endógeno PGE2 por macrófagos ^{40,41}. Os efeitos de PGE2 incluem inibição da mitogênese de células T, da produção de IL-2 e da expressão de seus receptores, da síntese de TNF- α e IL-1 por macrófagos e estímulo da liberação da potente citocina anti-inflamatória IL-10 ^{42,43}.

Os estímulos inflamatórios do trauma cirúrgico associam-se à conhecida síndrome da resposta inflamatória sistêmica (em inglês, SIRS); enquanto seus efeitos imunossupressores e anti-inflamatórios associam-se à síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória (do inglês, CARS) ³⁷. A CARS é associada a fenótipo imunossupressor de leucócitos, marcado pela menor expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal classe II tipo HLA-DR (HLA-DR) em monócitos e de outras moléculas de superfície leucocitária ⁴⁴⁻⁴⁶.

Durante duas décadas prevaleceu o conceito de que a trajetória imunológica que culminava na falência múltipla de órgãos, observada após intervenções cirúrgicas de grande porte, era iniciada por SIRS e seguida por mecanismos imunológicos compensatórios, que desencadeariam a CARS (Figura 1). Apesar dos conceitos inflamatórios e imunossupressores

permanecerem, atualmente acredita-se que, nesses pacientes, inflamação e imunossupressão possam ocorrer simultaneamente e por períodos prolongados ⁴⁷.

Figura 1 – Esquematisação do padrão de alterações da resposta imunológica frente ao trauma cirúrgico. SIRS: Síndrome da resposta inflamatória sistêmica; CARS: Síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória; IL: interleucina; PCR: proteína C reativa; PG: prostaglandina; TGF: fator de crescimento tumoral; TNF: fator de necrose tumoral; UTI: unidade de terapia intensiva

O conhecimento das causas, mecanismos e razões para a disfunção imunológica persistente, após cirurgias de grande porte, ainda é insuficiente para evitar a ocorrência de SIRS e CARS. Por isso, a prevenção dessas síndromes em pacientes cirúrgicos ainda constitui importante desafio para evitar a falência múltipla de órgãos e complicações infecciosas pós-operatórias, que podem levar a óbito indivíduos mais debilitados ³⁷.

Devido às suas propriedades imunomoduladoras e potencial efeito anti-inflamatório, a administração de AGPIs ω -3 em pacientes submetidos a

intervenções cirúrgicas transcende seu valor nutricional, por representar ferramenta clínica potencial para modular favoravelmente a resposta imunológica pós-operatória e prevenir essas síndromes ¹².

Pacientes cirúrgicos podem receber AGPI ω -3 como parte de terapia nutricional especializada, pelas vias oral, enteral ou parenteral. Cabe ressaltar que AGPI ω -3 são incorporados a membranas celulares plasmáticas e sanguíneas mais rapidamente quando infundidos por via parenteral (1-3 dias), do que quando ingeridos por via enteral (4-7 dias) ⁴⁸. Além disso, a infusão parenteral de AGPI ω -3 evita perdas decorrentes dos processos digestivos e absorptivos que se seguem após sua ingestão oral ou enteral. Portanto, existe uma vantagem potencial em se utilizar a via parenteral para disponibilizar AGPIs ω -3 a pacientes cirúrgicos ⁴⁹.

1.4. Infusão Parenteral de Ácidos Graxos Ômega-3 em Pacientes Cirúrgicos

A suplementação parenteral de AGPIs ω -3 é feita pela infusão de emulsões lipídicas parenterais (EL) contendo óleo de peixe, comercialmente disponíveis para uso clínico na Europa, Ásia e América do Sul. As referidas ELs visam aumentar a disponibilidade de AGPIs ω -3 e foram concebidas para oferecer menor razão de AGPIs (-6:(-3 do que a EL padrão, à base de óleo de soja. A emulsão à base de óleo de peixe constitui boa alternativa para minimizar os riscos associados com a oferta de EL a base óleo de soja, rica em AGPIs (-6 potencialmente inflamatórios ⁵⁰.

Devido ao número elevado de duplas-ligações em sua cadeia de carbono, AGPIs ω -3 são mais suscetíveis à peroxidação lipídica do que AGPI ω -6, mas o risco de oxidação de ELs contendo óleo de peixe foi eficientemente contrabalançado pela adição de alfa-tocoferol nas preparações industriais para uso enteral ou parenteral ⁵¹.

Comercialmente, apenas uma EL (Omegaven[®], Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany), é composta exclusivamente por óleo de peixe, perfazendo 10% de gordura. Na prática clínica de terapia nutricional recomenda-se que essa EL seja administrada juntamente com ELs convencionais (EL à base de óleo de soja, EL composta por mistura física ou estruturada de 50% de óleo de soja e 50% de triglicérides de cadeia média – TCM - ou EL composta por 80% de óleo de oliva e óleo de soja 20%), a fim de evitar deficiência de AGPIs ω -6 ⁵⁰. Nessa forma de suplementação, EL de óleo de peixe deve ser adicionada na concentração entre 10% e 20% da gordura total a ser infundida, para atingir uma razão de AGPIs ω -6: ω -3 dentro da faixa recomendada pela literatura atual para promover modulação imunológica (cerca de 2,5:1) ⁵².

Duas outras emulsões lipídicas parenterais contendo óleo de peixe estão disponíveis comercialmente, em formulações prontas-para-uso. Nestas o óleo de peixe está misturado com outros óleos, a saber: SMOFlipid[®] (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Alemanha), composta por 30% de óleo de soja, 30% de TCM, 25% de óleo de oliva e 15% de óleo de peixe, na concentração de 20% de gordura; e Lipoplus[®] (B. Braun, Melsungen, Alemanha, também conhecida como Lipidem[®] em alguns países), composta por 50% de TCM, 40% de óleo de soja e 10% de óleo de peixe, na

concentração de 20% de gordura. Essas emulsões são fonte de ambos AGs essenciais ω -6 e ω -3, nas razões recomendadas, atualmente, para promover modulação imunológica ⁵⁰.

Em pacientes cirúrgicos, a oferta parenteral de Omegaven[®] se acompanhou do aumento da incorporação de AGPIs ω -3 nos fosfolipídios de membranas celulares e não afetou a coagulação ou função plaquetária ⁵³. Além disso, em comparação com EL à base de óleo de soja, a EL de óleo de peixe associou-se com modulação favorável da produção pós-operatória de mediadores imunológicos, com diminuição daqueles potencialmente inflamatórios e aumento de mediadores com menor potencial inflamatório; menor tempo de internação hospitalar e em unidade de terapia intensiva (UTI) e menor frequência de infecções pós-operatórias, em comparação à EL convencional de óleo de soja ⁵⁴⁻⁶⁰. Na maioria dos estudos clínicos, a taxa de infusão de EL variou de 0,15g – 1,5g de gordura/Kg p.c./dia, tendo aproximadamente 20% de óleo de peixe como fonte de gordura ^{54-60,61}

Parte desses ensaios clínicos com Omegaven[®] foi incluída em recente metanálise ⁶². Confirmou-se a segurança e eficácia de EL de óleo de peixe em diminuir taxas de infecções pós-operatórias e tempo de permanência nos hospitais e UTI de pacientes submetidos a cirurgias abdominais extensas, em comparação à EL convencional de óleo de soja ⁶². Outra metanálise, envolvendo estudos europeus e asiáticos, também encontrou menor taxas de infecções e de tempo de internação em pacientes cirúrgicos sob terapia nutricional parenteral (TNP) suplementada com EL de óleo de peixe, em comparação à EL convencional de óleo de soja ⁶³.

Um estudo retrospectivo, com pacientes cirúrgicos (n=256), tem ainda particular interesse científico, por sugerir que o momento da intervenção nutricional com Omegaven[®] parece ser importante para que benefícios clínicos sejam atingidos ⁵³. Ocorre que os autores compararam dados de pacientes que receberam a infusão de Omegaven[®] no período perioperatório com dados de pacientes que receberam a infusão de Omegaven[®] apenas no período pós-operatório. Eles encontraram menor tempo de internação hospitalar e, surpreendentemente, menor taxa de mortalidade apenas no grupo tratado no perioperatório ⁶¹.

Em relação às ELs contendo óleo de peixe misturado a outros óleos em sua formulação, a infusão parenteral de SMOFlipid[®] (óleo de peixe misturado com azeite de oliva, óleo de soja e triglicérides de cadeia média) foi bem tolerada e metabolizada por voluntários saudáveis ⁶⁴. Em pacientes cirúrgicos, a infusão parenteral de SMOFlipid[®] resultou na rápida incorporação de AGPIs ω -3 (EPA e DHA) em fosfolípidios plasmáticos de membranas celulares de leucócitos e plaquetas, aumentou razões plasmáticas de EPA/AA e LTB₅/LTB₄, reduziu a concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- α e sE-selectina e diminuiu tempo de internação hospitalar, em comparação à EL convencional de óleo de soja ^{65,66}.

A infusão de Lipoplus[®] (óleo de peixe misturado com triglicérides de cadeia média e óleo de soja) foi bem tolerada por pacientes cirúrgicos ⁶⁷⁻⁶⁹. Em comparação com a infusão parenteral de EL de óleo de soja, durante cinco dias no pós-operatório, Lipoplus se associou ao aumento de níveis de EPA e DHA em fosfolípidios plasmáticos e a incorporação de EPA na

membrana de hemácias^{67,68}. Além disso, Lipoplus[®] modulou favoravelmente a produção de leucotrienos, com aumento de LTB5 e razão LTB5:LTB4 e dos níveis de antioxidantes plasmáticos^{69,70}. Em estudo com grande número de pacientes cirúrgicos, o uso de Lipoplus[®] diminuiu o tempo de internação hospitalar, em comparação à EL convencional de óleo de soja⁶⁹.

Tomadas em conjunto, essas observações sugerem que a infusão parenteral de AGPIs ω -3 em pacientes cirúrgicos pode modular favoravelmente sua resposta imunológica pós-operatória, com potencial benefício na sua evolução clínica. Os estudos que avaliaram o efeito de ELs contendo óleo de peixe em pacientes cirúrgicos encontram-se resumidos no Quadro 1⁷¹⁻⁷⁶.

É digno de nota que, a grande maioria dos ensaios clínicos bem desenhados envolvendo infusão de ELs contendo óleo de peixe em pacientes cirúrgicos compara seus efeitos com EL óleo de soja, rica em AGPIs ω -6 e, portanto, potencialmente imunossupressora. Essa observação dificulta atribuir os benefícios encontrados à maior infusão de AGPIs ω -3 em relação à menor administração parenteral de AGPIs ω -6.

No entanto, as evidências clínicas disponíveis apresentam pontos em comum, notadamente a favorável modulação de mediadores inflamatórios e melhora de morbidade pós-operatória. Elas foram suficientemente conclusivas para a Sociedade Europeia de Nutrição Clínica e Metabolismo (ESPEN) recomendar o uso de EL de óleo de peixe no período perioperatório de pacientes cirúrgicos e em UTI, a fim de diminuir tempo de internação⁷⁷.

Quadro 1 – Resumo de estudos clínicos que avaliaram o efeito da infusão de emulsões lipídicas contendo óleo de peixe, ricas em ácidos graxos ômega-3, sobre variáveis imunológicas e clínicas de pacientes cirúrgicos

Referência	Desenho	Tipo de intervenção cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Ma e cols. 2012 ⁷¹	Prospectivo Aleatório Duplo-cego Controlado	Ressecção de câncer gastrointestinal	TCM/TCL SMOF 5 dias pós-operatórios	↔ Parâmetros metabólicos e laboratoriais, citocinas pró-inflamatórias e marcadores de evolução clínica ↓ LDL
Zhu e cols. 2012 ⁷²	Prospectivo Aleatório Controlado	Transplante hepático (n = 66)	EL convencional EL convencional + OP 7 dias pós-operatórios	↓ ALAT e dano celular hepático ↑ Pré-albumina e índice nutricional ↓ Complicações infecciosas e LOS
Zhu e cols. 2012 ⁷³	Prospectivo Aleatório Duplo-cego Controlado	Ressecção de câncer colorretal (n = 57)	OS (1,2 g/kg/d) OS + OP (1,0 +0,2 g/kg/d) 7 dias pós-operatórios	↓ IL-6, TNF-α e células T CD8 ⁺ ↓ Complicações infecciosas e SIRS ↓ LOS ↔ Custos hospitalares

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Cury-Boaventura e cols. 2012 ⁷⁴	Prospectivo Aleatório Duplo-cego Controlado	Ressecção de câncer gastrointestinal (n = 25)	TCM/TCL (0,2g/kg/d) OP (0,2g/kg/d) 3 dias pré-operatórios	↑ Sensivelmente a proporção de linfócitos em necrose ↓ Apoptose de linfócitos ↔ Apoptose de neutrófilos, que aumentou no grupo controle ↑ Expressão de genes anti-apoptóticos em neutrófilos ↓ Expressão de genes pró-apoptóticos em neutrófilos
Han e cols. 2012 ⁷⁵	Prospectivo Aleatório Controlado	Cirurgia geral (UTI) (n = 30)	TCM/TCL TCM/TCL + OP 7 dias pós-operatórios	↓ IL-1, IL-8, INF- γ , IL-6 e TNF- α no 7º dia pós-operatório ↓ Disfunção hepática
Wang e cols. 2012 ⁷⁶	Prospectivo Aleatório Controlado	Cirurgia gastrointestinal (n = 64)	TCM/TCL LMF 5 dias pós-operatórios	↔ Complicações infecciosas, SIRS, IL-1, IL-8, IL-10, VEGF e distribuição de populações de células T ↓ IL-6, TNF- α , NFkB e bilirrubina ↑ Razão LTB5/LTB4

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Jiang e cols. 2010 ⁵⁹	Prospectivo Aleatório Controlado	Ressecção de câncer gastrointestinal (n = 206)	OS (1,2 g/kg/d) OS + OP (1,0 +0,2 g/kg/d) 7 dias pós-operatórios	↓ Complicações infecciosas (4 vs 12, p = 0,066) ↓ Frequência de SIRS e LOS ↔ Total de custos médicos pós-operatórios ↔ Contingente de CD4/CD8 entre os dias 1 e 8, enquanto OS diminuiu essa variável
Badía-Tahull e cols. 2010 ⁶⁰	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Cirurgia eletiva extensa de alto risco (n = 27)	OP OO + OP 0,7-1g/Kg pc/d pelo menos 5 dias pós-operatórios	↔ Mortalidade, sepse e LOS ↓ Incidência de infecções ↔ Metabolismo de glicose ↔ Funções hepáticas e renais (PCR, pré-albumina e contagem de leucócitos)
Piper e cols. 2009 ⁷⁸	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Cirurgia Geral (n = 44)	OO SMOF 5 dias pós-operatórios	↓ ASAT, ALAT, e AGT

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Schade e cols. (2008) ⁶⁶	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Cirurgia geral (n = 44)	OO SMOF 40% de calorias não proteicas como lipídios 5 dias pós-operatórios	↓ Concentrações de IL-6, TNF- α e sE-selectin
Liang e cols. (2008) ⁵⁴	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Ressecção de Câncer colorretal (n = 42)	OS OS + OP (5:1) 1,2 g/kg/d 7 dias pós-operatórios	↓ Níveis de IL-6 no 8º dia pós-operatório ↑ Razões de CD4+/CD8+ no 8º dia pós-operatório ↑ Diminuição de níveis séricos de TNF- α e elevação da porcentagem de linfócitos CD3+ e CD4+ ↔ LOS (tendência de diminuição)
Berger e cols. (2008) ⁶⁸	Prospectivo Controlado	Ressecção de aneurisma de aorta abdominal (n = 24)	TCM/TCL LMF 0,15 g/kg/d 4 dias pós-operatórios	↔ Tocoferol plasmático ↑ DHA e EPA no dia 4 ↔ Elevação da temperatura corpórea pós-operatória (tendência de diminuição) ↔ Tempo de internação na UTI e hospitalar Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Senkal e cols. (2007) ⁶⁷	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Cirurgia geral (n = 40)	OS LMF 50 g/d 5 dias pós-operatórios	↑ EPA em membranas eritrocitárias ↑ Níveis de EPA e DHA nos fosfolípides séricos ↔ Níveis de AA
Wichmann e cols. (2007) ⁶⁹	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego Multicêntrico	Cirurgia abdominal extensa (n = 256)	OS LMF 0,7 g/kg/d (1 ^o e 2 ^o dias pós-operatórios) 1,4 g/kg/d (3 ^o a 5 ^o dias pós-operatórios)	↑ Níveis plasmáticos de EPA, LTB5, e conteúdo antioxidante (LOS)
Mertes e cols. (2006) ⁷⁹	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego Multicêntrico	Cirurgia eletiva abdominal ou torácica (n = 199)	OS SMOF 1,5 g/kg/d 5 dias pós-operatórios	↔ Concentrações séricas de triglicérides, fosfolípides e colesterol total ↔ LOS (tendência de diminuição)

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Grimm e cols. (2006) ⁶⁵	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Cirurgia abdominal extensa (n = 33)	OS SMOF 1,5 g/kg/d 5 dias pós-operatórios	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Níveis de α-tocoferol, total de AGPI ω-3, AGPI ω-3/ω-6, EPA e DHA, EPA/AA no plasma ↓ Total de AGPI ω-6 plasmático ↔ Níveis plasmáticos de AA ↑ Liberação de LTB5 ↔ Liberação de LTB4 (considerando que foi menor) ↓ LOS
Heller e cols. (2004) ⁵⁸	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego	Cirurgia abdominal extensa para câncer (n = 44)	OS OS + OP 1 g/kg/d (até 0,2 g/kg/d de OP) 5 dias pós-operatórios	<ul style="list-style-type: none"> ↓ ALAT, ASAT, LDH, e lipase ↓ Perda de peso ↔ LOS e tempo de ICU (mas com tendência de diminuição de tempo na UTI em pacientes com risco aumentado de sepse) ↓ Tempo de UTI em pacientes com risco de sepse após gastrectomias e procedimentos <i>Whipple</i> ↔ Função gastrintestinal

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Köller e cols. (2003) ⁷⁰	Prospectivo Aleatório Controlado Duplo-cego Multicêntrico	Cirurgia abdominal extensa eletiva (n = 30)	OS LMF 0,7 g/kg/d (1° e 2° dias pós-operatórios) 1,4 g/kg/d (3° e 5° dias pós-operatórios)	↑ Liberação de LTB5 por leucócitos e razões LTB5:LTB4
Tsekos e cols. (2003) ⁶¹	Retrospectivo	Cirurgia geral (n = 256)	PO: EL padrão PO: EL padrão + OP* Per**: EL padrão + OP* * EL padrão: OP = 8:2 ** 2–3 dias pré-operatórios + Infusão pós-operatória 0,6 g/kg/d	↓ Taxa de mortalidade, quando infundida no período perioperatório (número absoluto de mortes tendeu a ser menor quando foi infundido OP apenas no pós-operatório) ↓ Número de pacientes necessitando de ventilação mecânica e LOS, quando infundido no período perioperatório ↓ Número absoluto de pacientes com infecções de feridas e readmissão na UTI, quando infundido no perioperatório e no pós-operatório

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Weiss e cols. (2002) ⁵⁶	Prospectivo Aleatório Controlado	Cirurgia intestinal extensa (n = 23)	OS OS+OP 10 g/d 1 dia pré-operatório e 5 dias pós-operatórios	↔ Liberação de TNF- α (tendência a diminuir no 5º dia pós-operatório) ↓ IL-6 no 0, 1º e 3º dias pós-operatórios. ↔ HLA-DR (que estava diminuída no grupo controle); ↔ Infecções não severas e taxas de mortalidade ↓ Taxas de infecções severas ↓ LOS e tempo de UTI
Schauder e cols. (2002) ⁵⁵	Prospectivo Aleatório Controlado	Cirurgia intestinal extensa (n = 60)	NPT NPT + OS NPT + OS + OP* * 0,2 g de OP/kg/d 1,2g/kg/d 2-5 dias pós-operatórios	↔ Distribuição e proliferação de populações linfocitárias. ↑ Produção de IL-2, IFN- γ e TNF- α ↓ Expressão aumentada de IL-2R

Continua...

Referência	Desenho	Tipo de Intervenção Cirúrgica	Protocolo de Infusão	Principais Achados em Relação ao Grupo Controle
Wachtler e cols. (1997) ⁵⁷	Prospectivo Randomizado Controlado Duplo-cego	Cirurgia intestinal extensa (n = 40)	NPT NPT + OP 50-100 g/d 5 dias pós-operatórios	↑ Liberação leucocitária de LTB5 ↓ Liberação leucocitária de LTB4 ↔ Níveis sistêmicos de IL-1 β , IL-6, e IL-10 ↓ Níveis sistêmicos de TNF- α
Morlion e cols. (1996) ⁵³	Prospectivo Controlado	Cirurgia geral (n = 20)	OS OS + OP (8,5:1,5) 1,0 g/kg/d 5 dias pós-operatórios	↑ EPA, LTB5 e LTC5 ↔ LTB4 e LTC4

NOTA - AA: ácido araquidônico; AGPI: ácidos graxos poliinsaturados; AGT: Alfa-glutationa S-transferase, ALAT: alanina amino-transferase; ASAT: aspartato amino-transferase; DHA: ácido docosahexaenoico; EL: emulsão lipídica; EPA: ácido eicosapentaenoico; HLA-DR: molécula do complexo de histocompatibilidade classe II; IL: interleucina; INF: interferon; LDH: lactato desidrogenase; LDL: lipoproteína de baixa densidade; LMF: emulsão lipídica composta por 40% óleo de soja, 50% triglicérides de cadeia média e 10% óleo de peixe; LOS: tempo de internação hospitalar; LT: leucotrieno; NFkB: fator de transcrição nuclear kB; OO: emulsão lipídica de óleo de oliva; OP: emulsão lipídica de óleo de peixe; OS: emulsão lipídica de óleo de soja; PCR: Proteína C-reativa; Per: perioperatório; PO: pós-operatório; SIRS: síndrome da resposta inflamatória sistêmica, SMOF: emulsão lipídica composta por 30% óleo de soja, 30% triglicérides de cadeia média, 25% óleo de oliva e 15% óleo de peixe, TCM/TCL: emulsão lipídica composta por triglicérides de cadeia média e óleo de soja (1:1); TNF: fator de necrose tumoral; UTI: unidade de terapia intensiva; VEGF: fator de crescimento endotelial.

1.5. Racional e Justificativa do Estudo

A prevenção da disfunção imunológica persistente após intervenção cirúrgica de grande porte continua a ser um desafio importante para cirurgiões, a fim de evitar complicações infecciosas e falência múltipla de órgãos ⁴⁷. Pacientes com câncer apresentam maior susceptibilidade a complicações infecciosas pós-operatórias, devido à depressão prévia da resposta imunológica celular e humoral, induzida pela doença ⁸⁰.

Até onde vai o nosso conhecimento, os benefícios imunológicos e clínicos associados à infusão de ELs parenterais contendo óleo de peixe em pacientes cirúrgicos são restritos àqueles que necessitam de TNP. Atualmente, segundo diretrizes brasileiras, europeias e americanas, a TNP deve ser indicada apenas a pacientes que não conseguem preencher suas necessidades nutricionais por via enteral ^{81,82}. Admite-se que para cada 10 pacientes cirúrgicos em terapia nutricional no pré-operatório, apenas um a dois têm indicação de TNP. Assim, a maioria dos pacientes cirúrgicos em pré-operatório perde as vantagens potenciais da infusão de AGPIs ω -3 por via parenteral.

A infusão isolada de EL de óleo de peixe, rica em AGPI ω -3, vem sendo considerada de interesse para modular rapidamente a resposta imunológica em situações clínicas com inflamação endotelial ⁴⁹. A infusão farmacológica de EL de óleo de peixe viabiliza a oferta de quantidades de AGPI ω -3 dificilmente alcançadas por via enteral e propicia sua incorporação celular em horas ^{48,49}. Ela pode ser feita por veia periférica, o que elimina o risco de infecção de cateter central. Pode, ainda, ser ministrada independente da prescrição de TNP, em conjunto ou não com TN oral ou

enteral e não representa risco adicional para deficiência de outros AGs essenciais. Além disso, a infusão isolada por curto período (48h) de EL de óleo de peixe em voluntários saudáveis mostrou-se segura, bem tolerada e eficiente para reduzir a liberação de citocinas inflamatórias e a interação adesiva com o endotélio por monócitos⁸³.

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), a ressecção cirúrgica do tumor é tratamento primário para câncer colorretal e a principal alternativa terapêutica e única chance de cura para pacientes com câncer de estômago^{84,85}. O presente estudo clínico propõe a infusão pré-operatória de EL de óleo de peixe independente da indicação de TNP, na qualidade de fármaco-nutriente, para modular favoravelmente a resposta imunológica pós-operatória e a evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrointestinal.

2.0. OBJETIVO

Avaliar o efeito da infusão pré-operatória isolada, por curto prazo, de emulsão lipídica parenteral contendo apenas óleo de peixe sobre variáveis da resposta imunológica pós-operatória e da evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrointestinal.

3.0. MÉTODOS

3.1. Local de execução do trabalho

Trabalho realizado nas Enfermarias do Serviço de Cirurgia de Estômago e Duodeno e do Serviço de Cirurgia do Cólon e Reto e no Laboratório de Nutrição e Cirurgia Metabólica do Aparelho Digestivo (LIM 35) da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), em parceria com Laboratório de Cirurgia e Transplante do Fígado (LIM 37) e Seção de Citometria de Fluxo do Serviço de Hematologia do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP.

O presente estudo contou com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2004/06259-7) e do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq 30/2004).

3.2. Desenho do estudo

A presente pesquisa foi conduzida de forma longitudinal, prospectiva, aleatória, duplo-cega e controlada.

3.3. Aspectos Éticos

O presente estudo foi registrado no banco de dados Clinical Trials (ID: NCT01218841) e realizado segundo as recomendações éticas da

Declaração de Helsinki e do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HCFMUSP (CAPPesq - Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa), que aprovou seu protocolo (nº 310/04, Anexo A).

Previamente ao início das atividades intervencionistas, o paciente selecionado foi informado sobre o protocolo do estudo, através da explicação detalhada da natureza da pesquisa e dos procedimentos nela envolvidos. As referidas informações foram transmitidas por pesquisador treinado, que respondeu a todas as perguntas do paciente relacionadas com o estudo. Caso o doente concordasse em fazer parte do protocolo, antes que qualquer procedimento relacionado com o estudo fosse desenvolvido, ele leu, datou e assinou um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B). Uma cópia desse documento foi entregue ao paciente, a versão original foi adicionada à sua ficha de acompanhamento do estudo e o fato foi registrado na sua ficha de acompanhamento médico.

3.4. Protocolo de Estudo

Após aprovação pelo Comitê de Ética e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, pacientes adultos com confirmação de câncer de estômago ou cólon foram selecionados, de acordo com critérios de inclusão e exclusão específicos. Os pacientes selecionados foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: um grupo recebeu a infusão parenteral de EL de óleo de peixe (grupo experimental) e o outro recebeu a infusão parenteral de EL rica em triglicérides de cadeia média (grupo

controle). A infusão de EL foi feita durante os 3 últimos dias pré-operatórios. Variáveis da resposta imunológica foram analisadas em três momentos distintos: 1) antes da oferta de EL (T0); 2) imediatamente depois da oferta de EL (no dia da intervenção cirúrgica, antes da anestesia - T1); e 3) no terceiro (T2) e sexto (apenas para citocinas IL-6 e IL10 – T3) dias pós-operatórios. Paralelamente, a evolução clínica dos pacientes foi avaliada durante todo o período de estudo, desde o início da infusão de EL à data da sua alta hospitalar. O protocolo de estudo encontra-se esquematizado na figura 2.

Figura 2 – Protocolo do estudo

3.5. Pacientes e Casuística

Todos os pacientes adultos (18-75 anos) internados na Divisão de Cirurgia Gastrointestinal do HC-FMUSP de Abril de 2006 a Outubro de 2008 para cirurgia eletiva de ressecção de câncer de estômago ou cólon foram considerados elegíveis para participar do presente estudo. Os critérios de inclusão foram índice de Karnofsky ≥ 60 e condição venosa periférica adequada para infusão parenteral e coletas de sangue. Os critérios de

exclusão foram intolerância ou alergia a qualquer ingrediente da EL; diagnóstico de doenças de carácter infeccioso (exemplo: síndrome da imunodeficiência adquirida), inflamatório (exemplo: artrite), imunológico (exemplo: lúpus eritematoso sistêmico), ou metabólico (exemplo: diabetes insulino dependente); demência e outras alterações cognitivas e de comportamento graves; ingestão de drogas que pudessem modular o metabolismo intermediário de forma significativa; instrumentos eletromagnéticos implantados; e recusa em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Dos pacientes que preencheram os critérios de inclusão, 84 aceitaram fazer parte do estudo. Destes pacientes, 21 foram excluídos do protocolo por diferentes razões [desistência voluntária não associada com desconforto ou qualquer efeito colateral da infusão de EL (EL de óleo de peixe: n=3; EL controle: n=4) desistência voluntária por referência de dor abdominal e taquicardia (EL controle: n=2), alteração da data da intervenção cirúrgica (EL de óleo de peixe: n=5; EL controle: n=2), infusão incompleta de EL (EL de óleo de peixe: n=1; EL controle: n=4)]; e 63 concluíram o protocolo de infusão de EL [emulsão lipídica de óleo de peixe (n=31) e EL controle (n=32)]. No entanto, 2 pacientes que concluíram o protocolo de infusão parenteral de EL controle foram a óbito no pós-operatório (choque séptico no pós-operatório imediato, causado por deiscência da anastomose; e choque séptico por contaminação voluntária da ferida cirúrgica). Nesses pacientes não foram avaliadas variáveis de evolução clínica, exceto o tempo de internação na UTI que foi avaliado no paciente que veio a óbito devido à abertura voluntária da ferida cirúrgica na enfermaria. A Figura 3 ilustra o fluxo de seleção e análise dos pacientes.

Figura 3 – Diagrama do fluxo de seleção, aleatoriedade, exclusão e avaliação de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados no período pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou EL controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

3.6. Procedimentos Duplo-cego e de Aleatorização da Amostra

Previamente ao início das atividades intervencionistas, as ELs experimental e controle receberam um código que as denominou como ELs A e B. A determinação do referido código foi feita por terceira pessoa, sem envolvimento direto com a pesquisa, proveniente da empresa Farmoterápica. Essa terceira pessoa foi a única que conheceu durante todo o período do estudo a real identidade das EL A e B. O código manteve-se lacrado em envelope, assinado pela terceira pessoa em toda a sua borda, desde a seleção do primeiro paciente ao encerramento da coleta dos dados.

Paralelamente, com o auxílio do software GraphPad estatística (QuickCalcs - <http://www.graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>), criaram-se 2 tabelas randômicas, compostas por 50 pacientes cada, que distribuíram (1:1) aleatoriamente as ELs denominadas de A e B. Tanto o farmacêutico representante da Farmoterápica, quanto os pesquisadores envolvidos no estudo tiveram acesso às tabelas randômicas. Os pacientes selecionados para participar do estudo foram distribuídos nas referidas tabelas para receber EL A ou B, por ordem de seleção.

3.7. Infusão das Emulsões Lipídicas

Após a seleção do paciente, a equipe médica por ele responsável foi avisada de sua participação no estudo e orientada a incluir a infusão de EL na ficha de prescrição médica do paciente.

A infusão de EL ocorreu por veia periférica, na concentração de 0,2g de gordura/ kg de peso corpóreo/ dia, durante 6 horas contínuas e com rodízio diário do acesso venoso. A orientação para a prescrição médica foi feita após o cálculo da quantidade de EL a ser infundida por dia (de acordo com o peso do paciente), por nutricionista treinado. Devido ao procedimento duplo-cego, com desconhecimento da identidade da EL a ser infundida, esta foi denominada na ficha de prescrição do paciente como “emulsão lipídica do protocolo experimental nº 310/04”.

Os pacientes que compuseram o grupo experimental receberam a infusão parenteral de EL de óleo de peixe (OP - Omegaven® 10%, Fresenius Kabi, Bad Homberg, Alemanha), rica em AGPI ω -3, e os pacientes que compuseram o grupo controle receberam a infusão parenteral de EL com 50% de triglicérides de cadeia longa e 50% de cadeia média (TCM/TCL - Lipovenos MCT® 10% - Fresenius Kabi, Bad Homberg, Alemanha). As composições das EL estudadas encontram-se descritas na Tabela 1.

Nos dias selecionados para a infusão parenteral, a empresa Farmoterápica encaminhou as bolsas de EL para a Farmácia do Departamento de Gastroenterologia do Instituto Central do HC-FMUSP. O Serviço de Farmácia, por sua vez, as encaminhou para o Serviço de Enfermagem do referido Departamento, que as administrou ao paciente. As emulsões encaminhadas respeitaram a tabela randômica e vieram fracionadas, nas quantidades calculadas pelo nutricionista.

Como as ELs foram idênticas em aparência, a fim de garantir a segurança do paciente e prevenir erros quanto à EL parenteral a ser infundida, elas vinham indentificadas com as seguintes informações: nome

do paciente, seu número de registro na enfermaria e de randomização no estudo; número do protocolo de pesquisa; nome da enfermaria; identificação da EL como A ou B, número do lote da EL, quantidade em mL, instruções de uso, condições de armazenamento e data de validade.

Durante todo o período de administração de EL, os pacientes foram monitorados pelas equipes médicas e de enfermagem das enfermarias de Estômago e Colón do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Gastroenterologia do HC-FMUSP. Possíveis intercorrências foram registradas e o paciente foi excluído do protocolo quando a infusão não pôde ser concluída com sucesso.

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos das emulsões lipídicas de óleo de peixe (OP) e controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Ácidos graxos (g/L)	OP	TCM/TCL
Caproico (C6:0)	-	0,3
Caprílico (C8:0)	-	32,9
Cáprico (C10:0)	-	15,2
Láurico (C12:0)	-	0,5
Mirístico (C14:0)	4,6	0,06
Palmítico (C16:0)	9,0	7,0
Palmitoleico (C16:1)	7,6	-
Estéárico (C18:0)	1,8	2,6
Oleico (C18:1 n-9)	11,5	11,6
Linoleico (C18:2 n-6)	2,8	26,3
Araquidônico (C20:4 n-6)	1,5	-
Alfa-linolênico (C18:3 ω -3)	2,0	3,9
Eicosapentaenoico (C20:5 ω -3)	21,1	-
Docosapentaenoico (C22:5 ω -3)	2,8	-
Docosahexaenoico (C22:6 ω -3)	21,5	-

Fonte - Dados fornecidos pelo fabricante (Fresenius Kabi, Bad Homberg Germany).

MÉTODOS

3.8. Avaliação das Variáveis Imunológicas

Imediatamente antes e após a infusão parenteral das ELs e três dias após a intervenção cirúrgica, amostras de sangue periférico (30mL) foram coletadas, dos pacientes em estudo, para a obtenção de plasma e sangue total. Estas foram utilizadas para a dosagem de mediadores inflamatórios (IL-6 e IL-10), e para análise de funções (quimiotaxia, fagocitose e explosão oxidativa) e expressão de moléculas de superfície (HLA-DR e CD32) leucocitárias, respectivamente. Devido à cinética pós-operatória particular das citocinas IL-6 e IL-10, amostras de sangue também foram obtidas no sexto dia pós-operatório para a avaliação dos níveis plasmáticos desses mediadores inflamatórios. A coleta de sangue foi feita utilizando-se tubos secos de coleta a vácuo (BD Biosciences, Maryland, EUA), com capacidade de coletar 10mL, acrescidos de 0,04mL de heparina. Considerando-se a curta viabilidade celular das amostras e da fluorescência dos marcadores utilizados na avaliação dos testes funcionais e de expressão de moléculas de superfície leucocitárias, as referidas análises foram realizadas imediatamente após a coleta e de forma simultânea.

3.8.1. Dosagem de Citocinas Plasmáticas IL-6 e IL-10

Parte das amostras de sangue periférico heparinizadas, coletadas dos pacientes selecionados, foi centrifugada a 1800rpm, por 5 minutos. Após a última centrifugação, duas alíquotas de 500µL de plasma, separado na porção superior do tubo, foram adicionadas a tubos eppendorf e

armazenadas em freezer -20°C , para posterior análise de citocinas pró-inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10, por técnica de ensaio imunoenzimático (do inglês, ELISA) sanduíche. A reação e análise de citocinas por ELISA foi feita no Laboratório de Cirurgia e Transplante do Fígado (LIM 37) da FMUSP e suas diferentes etapas encontram-se descritas no Anexo C.

3.8.2. Análise de Funções e Moléculas de Superfície Leucocitárias

As análises da migração, fagocitose, explosão oxidativa e expressão de moléculas HLA-DR e CD32 leucocitárias foram realizadas por citometria de fluxo, através do emprego de kits específicos para as funções leucocitárias e de anticorpos monoclonais específicos para as moléculas de superfície estudadas. Utilizou-se citômetro FACSCALIBUR (BD - Becton, Dickinson and Company, New Jersey, EUA) da Divisão de Citometria de Fluxo do Departamento de Hematologia do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. O referido aparelho foi calibrado diariamente, com emprego de esferas de calibração específicas (BD Biosciences, Maryland, EUA), antes da aquisição das amostras. Previamente ao início das aquisições das amostras em citômetro, foram criados painéis de aquisição e histogramas de análise individuais para cada kit e anticorpo utilizado, com base nas instruções das suas respectivas bulas. A descrição detalhada dos métodos empregados nas reações, aquisições e análises de citometria para cada variável leucocitária estudada encontra-se no Anexo D.

3.9. Avaliação da Evolução Clínica

A evolução clínica dos pacientes foi acompanhada do início da infusão parenteral de EL até a alta hospitalar do paciente, para avaliar a ocorrência de eventos adversos potencialmente associados à infusão isolada de EL de óleo de peixe e o impacto desta na evolução pós-operatória.

3.9.1. Avaliação de Eventos Adversos Potencialmente Associados à Infusão de Emulsão Lipídica

Do início da infusão de EL até a data da intervenção cirúrgica, avaliou-se, diariamente, a ocorrência de eventos adversos, com ênfase naqueles que pudessem se relacionar com a administração de EL. Para essa finalidade, foram adotados os critérios utilizados por Cateldi-Belcher e cols. (1983), adaptados ao nosso estudo pela inclusão da verificação de ocorrência de flebite (classificada como complicação inflamatória), conforme apresentado na Tabela 2 ⁸⁹.

Tabela 2 – Critérios utilizados para a identificação de complicações relacionadas à infusão parenteral de emulsão lipídica - adaptados de Cataldi-Belcher e cols. (1983)⁸⁶

Complicações	Sinais e Sintomas
Mecânicas (relacionadas ao cateter)	Colocação, posicionamento e condições clínicas da região de inserção do cateter venoso periférico, para oferta de emulsão lipídica.
Anormalidades gastrointestinais	Presença de diarreia (3 ou mais evacuações líquidas/dia), obstipação, náuseas, vômitos, distensão abdominal e flatulência excessiva.
Instabilidades hemodinâmicas e metabólicas	Hiperidratação/desidratação, hiperglicemia, hipoglicemia, anormalidades de eletrólitos e elementos-traço e alterações da função hepática.
Inflamatórias	Presença de flebite no local de inserção do cateter venoso periférico.

3.9.2. Avaliação da Evolução Clínica Pós-operatória

Foram registradas complicações infecciosas ocorridas no período entre o pós-operatório imediato e a alta hospitalar. Estas foram identificadas de acordo com critério estabelecido por Buzby e cols. (1980), segundo a presença de manifestações clínicas, laboratoriais e radiológicas (Tabela 3)

⁸⁷. Também foram registrados tempos de internação hospitalar e em UTI.

Tabela 3 – Critérios utilizados para a identificação de complicações infecciosas pós-operatórias, de acordo com Buzby e cols. (1980)⁸⁷

Complicações	Sinais e sintomas
Infecção da ferida cirúrgica	Presença de eritema, edema, dor, sensibilidade local aumentada, pus e necrose de tecidos
Infecção urinária	Confirmação bacteriológica, com presença de 100.000 colônias/mL de urina
Infecção pulmonar	Presença de febre associada a alterações radiológicas de condensação de um ou mais blocos, ou presença de infiltrado pulmonar; ou por confirmação por cultura positiva de escarro, ou de líquido pleural
Abscesso intra-abdominal ou extraperitonal	Quando houver drenagem espontânea ou cirúrgica de secreção purulenta abdominal
Infecção de prótese	Presença de bacteremia de pacientes com próteses, com melhora do quadro sistêmico após remoção, ou isolamento de microrganismos no local da prótese
Sepse ou bacteremia	Presença de sinal de bacteremia em paciente (temperatura corpórea maior ou igual a 38,5°C e/ou calafrios), com pelo menos uma hemocultura positiva
Choque séptico	Sinais clínicos de bacteremia, associados à hipotensão arterial ou hipoperfusão, com necessidade de uso de drogas inotrópicas
Coagulopatia séptica	O mesmo que bacteremia, associado a distúrbios de coagulação

3.10. Análise Estatística

3.10.1. Determinação do Tamanho da Amostra

O tamanho da amostra foi calculado considerando-se risco alfa $\leq 0,05$; poder do teste de 80%; desvio padrão das amostras igual a 30% do valor da média aritmética e diferença das médias do grupo igual a 20% do maior valor médio, resultando no número mínimo de 28 pacientes por grupo.

3.10.2. Análise dos Dados

Para a análise estatística dos dados adotou-se limite de confiança de 5% para todos os testes realizados. Os dados demográficos/descritivos foram comparados entre os tratamentos por teste de Wilcoxon para variáveis contínuas e teste Qui-quadrado para variáveis categóricas. Os valores e a variação de dados imunológicos entre o momento da avaliação e tipo de tratamento foram avaliados por teste de Wilcoxon. Especificamente para as funções de leucócitos, devido ao elevado número de variáveis fornecidas por cada kit de citometria de fluxo para descrevê-las individualmente, em relação ao número de observações, testamos a conformidade do agrupamento das variáveis que descreviam uma função leucocitária comum, usando o teste Alpha de Cronbach ⁸⁸. Funções com conformidades $\geq 50\%$ foram tratadas como os seus respectivos escores (ver Quadro 2).

Quadro 2 - Variáveis agrupadas para o teste de alfa de Cronbach.

Quimiotaxia = N° de $N\phi_m$ (eventos)+Tamanho de $N\phi_m$ (FSC)+Expressão de LECAM-1 na superfície de $N\phi_m$

Onde: $N\phi_m$ = granulócitos migrantes

Fagocitose = % de $M\phi_F$ +Intensidade de fagocitose de $M\phi_F$ +% de $N\phi_F$ +Intensidade de fagocitose de $N\phi_F$

Onde: $M\phi_F$ = monócitos fagocitantes; $N\phi_F$ = granulócitos fagocitantes

Explosão oxidativa = % de $M\phi_B$ +Intensidade de *burst* de $M\phi_B$ +% de $N\phi_B$ +Intensidade de *burst* de $N\phi_B$

Onde: $M\phi_B$ = monócitos em *burst*; $N\phi_B$ = granulócitos em *burst*

Esses escores foram calculados a partir das médias aritméticas de suas variáveis padronizadas componentes. A padronização das variáveis foi obtida a partir da subtração da média dividida pelo desvio padrão, para aumento da proporção de explicação dos escores. Os dados clínicos foram comparados entre os tratamentos pelo teste do Qui-quadrado e Binomial. As análises estatísticas foram realizadas com SPSS 18,0 para Windows (SPSS, Chicago, IL, EUA).

4.0. RESULTADOS

4.1. Dos Pacientes

As características descritivas de demografia, local do tumor e tipo de operação dos doentes pertencentes aos grupos OP e grupo TCM/TCL não apresentaram, entre si, diferenças significativas ($p < 0,05$), como se vê na tabela 4. Os dados utilizados na análise estatística, referentes às características descritivas dos pacientes, encontram-se no Anexo E.

Tabela 4 - Características descritivas da amostra de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Características		OP	TCM/TCL	Valor de p
Local do tumor	Estômago	20	18	0,503
	Cólon	11	14	
Gênero	Masculino	18	22	0,378
	Feminino	13	10	
	Eutrófico	3	5	
Estado nutricional*	Risco de desnutrição	20	15	0,576
	Desnutrição	7	5	
Intervenção cirúrgica [‡]	Curativa	26	23	0,317
	Paliativa	4	7	
Idade	≤ 60	14	14	0,888
	> 60	17	18	
Comorbidades [§]	Sim	14	15	0,907
	Não	17	17	

NOTA – * Escore de avaliação subjetiva global gerado por paciente ⁸⁶, avaliada em 55 pacientes;

[‡] Paliativa por laparoscopia [Emulsão de óleo de peixe (n=4); Emulsão controle (n=2)];

[§] Hipertensão, dislipidemia leve e Diabetes Mellitus II não insulino dependente.

4.2. Das Variáveis Imunológicas

4.2.1. Concentração Plasmática de Citocinas

4.2.1.1. Concentração Plasmática de IL-6

Na presente pesquisa foram encontrados valores basais (T0) de IL-6 significativamente maiores nos pacientes do grupo OP, em relação aos pacientes do grupo TCM/TCL ($p < 0,0001$). Após o término da infusão parenteral, no período pré-operatório (T1), observamos redução de IL-6 ($p = 0,018$) nos pacientes do grupo OP e aumento de IL-6 ($p = 0,003$) nos pacientes do grupo TCM/TCL, em comparação aos seus valores basais; e estas variações foram significativas entre os dois grupos (Tabela 5).

No período pós-operatório (T2 e T3), pacientes do grupo TCM/TCL apresentaram aumento de IL-6 no 3º (tendência, $p = 0,072$) e no 6º dia ($p = 0,003$), em comparação aos seus valores basais e, no 3º dia pós-operatório, em relação ao grupo OP (Tabela 5).

Tabela 5 – Variação da diferença das médias da concentração plasmática de interleucina-6, em períodos distintos, em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Período	OP	TCM/TCL	Valor de p
T1-T0	- 0,05 ± 0,30	0,15 ± 0,26	<0,0001
T2-T0	0,09 ± 0,52	1,29 ± 1,18	0,029
T3-T0	0,22 ± 0,60	0,60 ± 0,99	0,202

NOTA – T0: basal; T1: pós-infusão; T2: 3º dia pós-operatório; T3: 6º dia pós-operatório. Dados expressos como média da diferença entre os períodos ± desvio padrão.

RESULTADOS

A Figura 4 ilustra a variação das médias da concentração plasmática de IL-6 nos grupos OP e TCM/TCL, nos períodos estudados.

Período	OP	TCM/TCL
T0	0,28 ± 0,14	0,08± 0,20
T1	0,23 ± 0,30	0,22 ± 0,26
T2	0,36 ± 0,49	1,32 ± 1,13
T3	0,47 ± 0,60	0,68 ± 0,85

Figura 4 - Variação da concentração plasmática de IL-6 (pg/mL), em períodos distintos, de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão, T2 = 3º dia pós-operatório e T3 = 6º dia pós-operatório. Dados como média ± desvio padrão

4.2.1.2. Concentração Plasmática de IL-10

Na presente pesquisa foram encontrados valores basais (T0) de IL-6 significativamente maiores nos pacientes do grupo OP, em relação aos pacientes do grupo TCM/TCL ($p = 0,016$). Após o término da infusão parenteral, no período pré-operatório (T1), pacientes do grupo TCM/TCL apresentaram aumento de IL-10 ($p = 0,053$) em comparação aos seus valores basais e essa variação foi significativa em comparação ao grupo OP (Tabela 6).

No período pós-operatório (T2 e T3), pacientes do grupo OP apresentaram maiores níveis de IL-10 no 3º dia ($p = 0,004$) e menores níveis dessa citocina no 6º dia ($p = 0,032$), em comparação aos seus valores basais. Pacientes do grupo TCM/TCL apresentaram menores níveis de IL-10 no 3º dia pós-operatório ($p < 0,0001$). As variações de IL-10 encontradas no período pós-operatório foram significativas entre os grupos, em ambos os períodos pós-operatórios estudados (Tabela 6).

Tabela 6 – Variação da diferença das médias da concentração plasmática de interleucina-10, em períodos distintos, em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Período	OP	TCM/TCL	Valor de p
T1-T0	$- 0,005 \pm 0,05$	$0,01 \pm 0,03$	0,019
T2-T0	$0,76 \pm 0,32$	$- 0,10 \pm 0,03$	<0,0001
T3-T0	$- 0,07 \pm 0,13$	$0,20 \pm 0,04$	<0,0001

NOTA – T0: basal; T1: pós-infusão; T2: 3º dia pós-operatório; T3: 6º dia pós-operatório. Dados expressos como média da diferença entre os períodos $\pm$ desvio padrão

RESULTADOS

A Figura 5 ilustra a variação das médias da concentração plasmática de IL-10 nos grupos OP e TCM/TCL, nos períodos estudados.

Período	OP	TCM/TCL
T0	0,11 ± 0,08	0,23 ± 0,02
T1	0,08 ± 0,10	0,26 ± 0,02
T2	0,90 ± 0,30	0,14 ± 0,02
T3	0,05 ± 0,10	0,45 ± 0,05

Figura 5 - Variação das médias da concentração plasmática de IL-10 (pg/mL), em períodos distintos, de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão, T2 = 3º dia pós-operatório e T3 = 6º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

4.2.2. Funções e Moléculas de Superfície Leucocitárias

4.2.2.1. Quimiotaxia Leucocitária

A análise, por alfa de Cronbach, das três medidas distintas que descreveram a variável quimiotaxia leucocitária (número, tamanho e expressão de LECAM-1 de granulócitos migrantes) mostrou menos de 50% de conformidade entre elas (-55,6, ou 0%). Portanto, para a análise estatística da quimiotaxia leucocitária, cada uma dessas três medidas, que a descreveram, foi estudada individualmente. Não foram identificadas alterações significativas do número, tamanho e expressão de LECAM-1 de granulócitos migrantes intra ou entre o grupo OP e o grupo TCM/TCL, em nenhum dos períodos estudados (Tabela 7).

Tabela 7 – Número, tamanho e expressão de LECAM-1 de granulócitos migrantes provenientes do sangue periférico de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no período pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Variável	Tratamento	Período	Média ± Desvio Padrão	Valor de p
Nº de células migrantes	OP	T0	6255,15 ± 4630,84	0,441
		T1	6694,55 ± 4282,61	
		T2	4636,40 ± 3434,60	
	TCM/TCL	T0	9015,89 ± 5606,50	0,415
		T1	5619,56 ± 4039,69	
		T2	9554,43 ± 12223,11	
Tamanho de células migrantes	OP	T0	581,43 ± 113,62	0,457
		T1	633,16 ± 85,67	
		T2	590,75 ± 110,56	
	TCM/TCL	T0	617,81 ± 95,10	0,472
		T1	569,24 ± 62,91	
		T2	568,87 ± 49,38	
Expressão de LECAM-1 em células migrantes	OP	T0	5,82 ± 5,64	0,500
		T1	4,86 ± 2,92	
		T2	6,53 ± 3,21	
	TCM/TCL	T0	3,17 ± 1,56	0,383
		T1	3,63 ± 2,83	
		T2	5,12 ± 2,04	

NOTA – T0: basal; T1: pós-infusão; T2: T2: 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

4.2.2.2. Fagocitose Leucocitária

A análise, por alfa de Cronbach, das quatro medidas que descreveram a variável fagocitose leucocitária (porcentagem de monócitos fagocitantes, intensidade de fagocitose por monócitos, porcentagem de neutrófilos fagocitantes e intensidade de fagocitose por neutrófilos) mostrou mais de 50% de conformidade entre elas (63,8%). Portanto, a análise estatística da fagocitose leucocitária foi feita considerando-se seu escore de Cronbach. Não foram encontradas diferenças no valor basal (T0) da fagocitose leucocitária entre os grupos OP e TCM/TCL ($p = 0,963$). Também não foram identificadas alterações significativas da fagocitose intra ($p \geq 0,433$) ou entre o grupo OP e o grupo TCM/TCL (Tabela 8), em nenhum dos períodos estudados. A Figura 6 ilustra a variação das médias da fagocitose leucocitária dentro dos grupos OP e TCM/TCL, nos períodos estudados.

Tabela 8 - Variação da diferença das médias de fagocitose, em períodos distintos, em pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Período	OP	TCM/TCL	Valor de p
T1-T0	0,11 $\pm$ 0,93	- 0,03 $\pm$ 0,43	0,451
T2-T0	0,08 $\pm$ 1,01	- 0,24 $\pm$ 0,95	0,677

NOTA – T0: basal; T1: pós-infusão; T2: 3º dia pós-operatório. Valores Dados expressos como média da diferença entre os períodos $\pm$ desvio padrão

Período	OP	TCM/TCL
T0	- 0,05 ± 0,81	0,08 ± 0,50
T1	- 0,03 ± 0,74	0,06 ± 0,51
T2	0,01 ± 0,64	- 0,01 ± 0,93

Figura 6 - Variação das médias da fagocitose leucocitária, em períodos distintos, de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL; onde T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

4.2.2.3. Explosão Oxidativa Leucocitária

A análise, por alfa de Cronbach, das quatro medidas que descreveram a variável explosão oxidativa leucocitária (porcentagem de monócitos em explosão oxidativa, intensidade de explosão oxidativa por

monócitos, porcentagem de neutrófilos em explosão oxidativa e intensidade de explosão oxidativa por neutrófilos) mostrou mais de 50% de conformidade entre elas (70,9%). Portanto, a análise estatística da explosão oxidativa leucocitária foi feita considerando-se seu escore de Cronbach. Não foram encontradas diferenças nos valores basais (T0) da explosão oxidativa leucocitária entre os grupos OP e TCM/TCL ($p = 0,205$). Após o término da infusão parenteral, no período pré-operatório (T1), também não foram identificadas diferenças dessa variável intra (OP: $p = 0,966$; TCM/TCL: $p = 0,569$) e entre os grupos OP e TCM/TCL (Tabela 9).

No período pós-operatório (T2) identificou-se redução significativa da explosão oxidativa leucocitária em ambos os grupos ($p = 0,002$); no entanto, essa diminuição foi significativamente maior nos pacientes do grupo TCM/TCL, em comparação àqueles do grupo OP (Tabela 9). A Figura 7 ilustra a variação das médias da explosão oxidativa leucocitária nos grupos OP e TCM/TCL, nos períodos estudados.

Tabela 9 - Variação da diferença das médias de explosão oxidativa, em períodos distintos, de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Período	OP	TCM/TCL	Valor de p
T1-T0	- 0,08 $\pm$ 0,65	0,11 $\pm$ 0,78	0,632
T2-T0	- 0,96 $\pm$ 0,70	- 1,16 $\pm$ 0,73	0,028

NOTA – T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média da diferença entre os períodos $\pm$ desvio padrão

RESULTADOS

Período	OP	TCM/TCL
T0	- 0,17 ± 0,82	0,26 ± 0,74
T1	- 0,08 ± 0,65	0,11 ± 0,78
T2	- 0,96 ± 0,70	- 1,16 ± 0,73

Figura 7 - Variação das médias da explosão oxidativa leucocitária, em períodos distintos, de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

4.2.2.4. Expressão de Moléculas de Superfície

4.2.2.4.1. Expressão de HLA-DR

Não foram encontradas diferenças no valor basal (T0) da expressão leucocitária de HLA-DR entre os grupos OP e TCM/TCL ($p \geq 0,124$). A

expressão de HLA-DR na superfície de neutrófilos não foi afetada nos pacientes do grupo OP e TCM/TCL, em nenhum dos períodos estudados (intensidade: $p \geq 0,508$; porcentagem: $p \geq 0,627$). Também não foram encontradas alterações na intensidade de moléculas HLA-DR expressas na superfície de monócitos ($p \geq 0,417$).

No período pós-operatório (T2), pacientes do grupo TCM/TCL apresentaram diminuição do número porcentual de monócitos exprimindo HLA-DR, em relação aos seus valores basais ($p = 0,023$) e a pacientes do grupo OP (Tabela 10). As Figuras 8 e 9 ilustram a variação das médias da expressão de HLA-DR na superfície de monócitos e neutrófilos, respectivamente, dentro dos grupos OP e TCM/TCL, nos períodos estudados.

Tabela 10 - Variação da diferença das médias do número porcentual, em períodos distintos, de monócitos exprimindo HLA-DR na sua superfície, provenientes do sangue periférico de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Período	OP	TCM/TCL	Valor de p
T1-T0	2,67±15,94	- 8,11±31,20	0,464
T2-T0	- 2,31±7,83	- 15,86±18,92	0,046

NOTA – T0 = basal; T1 = pós-infusão; T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média da diferença entre os períodos $\pm$ desvio padrão

Período	Intensidade		Porcentagem	
	OP	TCM/TCL	OP	TCM/TCL
T0	80,62 ± 29,52	130,61 ± 96,09	87,03 ± 21,26	91,91 ± 14,70
T1	77,57 ± 33,97	150,76 ± 92,43	89,36 ± 17,94	85,52 ± 23,92
T2	74,16 ± 37,13	107,91 ± 89,55	84,11 ± 21,47	76,8 ± 21,83

Figura 8 – Variação das médias da expressão de moléculas HLA-DR, em períodos distintos, na superfície de monócitos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

Período	Intensidade		Porcentagem	
	OP	TCM/TCL	OP	TCM/TCL
T0	66,88 ± 47,03	59,98 ± 28,28	86,28 ± 29,17	78,42 ± 37,23
T1	77,07 ± 49,92	67,85 ± 36,13	92,66 ± 20,15	69,9 ± 42,8
T2	72,18 ± 31,58	62,04 ± 30,60	98,42 ± 1,20	80,1 ± 34,66

Figura 9 - Variação das médias da expressão de moléculas HLA-DR, em períodos distintos, na superfície de neutrófilos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

4.2.2.4.2. Expressão de CD32

Não foram encontradas diferenças no valor basal (T0) da expressão de CD32 entre os grupos OP e TCM/TCL ($p \geq 0,412$). Não se verificou alterações da intensidade de moléculas CD32 expressas na superfície de monócitos ($p \geq 0,356$), mas pacientes tratados do grupo TCM/TCL

apresentaram diminuição da porcentagem pós-operatória de monócitos exprimindo CD32, em relação aos seus valores basais ($p= 0,017$) e a pacientes do grupo OP (Tabela 11). Além disso, pacientes do grupo OP apresentaram aumento da intensidade pós-operatória de expressão de moléculas CD32 na superfície de neutrófilos, em relação aos seus valores basais ($p= 0,006$) e a pacientes do grupo TCM/TCL (Tabela 11). Não foram detectadas alterações do número porcentual de neutrófilos exprimindo CD32 ($p\geq 0,508$). As Figuras 10 e 11 ilustram a variação das médias da expressão de CD32 na superfície de monócitos e neutrófilos, respectivamente, nos grupos OP e TCM/TCL, nos períodos estudados.

Tabela 11 - Variação da diferença das médias do número porcentual, em períodos distintos, de monócitos e neutrófilos exprimindo CD32 na sua superfície, provenientes do sangue periférico de pacientes com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

Variável	Período	OP	TCM/TCL	Valor de p
% de monócitos exprimindo CD32	T1-T0	1,17±12,98	- 4,96±7,84	0,253
	T2-T0	0,19±12,48	- 15,11±16,72	0,025
Intensidade de expressão de CD32 por neutrófilos	T1-T0	- 0,14±99,87	- 1,23±35,68	0,200
	T2-T0	65,00±138,84	20,26±91,61	0,010

NOTA – T0: basal; T1: pós-infusão; T2: 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média da diferença entre os períodos $\pm$ desvio padrão

Período	Intensidade		Porcentagem	
	OP	TCM/TCL	OP	TCM/TCL
T0	2283,15 ± 1578,38	1141,87 ± 1126,44	92,21 ± 22,14	94,41 ± 8,37
T1	3359,35 ± 4820,10	1585,21 ± 1326,52	97,21 ± 2,80	96,06 ± 4,69
T2	1692,71 ± 1049,76	952,40 ± 788,80	96,94 ± 4,19	96,88 ± 2,08

Figura 10 - Variação das médias da expressão de moléculas CD32, em períodos distintos, na superfície de monócitos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média ± desvio padrão

Período	Intensidade		Porcentagem	
	OP	TCM/TCL	OP	TCM/TCL
T0	277,56 ± 124,75	335,6 ± 208,61	93,03 ± 11,73	97,50 ± 1,92
T1	285,19 ± 124,14	265,63 ± 169,15	94,28 ± 4,09	92,53 ± 7,63
T2	271,81 ± 122,71	327,04 ± 308,51	92,69 ± 4,89	84,01 ± 17,21

Figura 11 - Variação das médias da expressão de moléculas CD32, em períodos distintos, na superfície de neutrófilos de pacientes com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe pura (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL); onde T0 = basal, T1 = pós-infusão e T2 = 3º dia pós-operatório. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão

4.2.3. Resumo dos achados imunológicos

O Quadro 3 resume as principais alterações imunológicas encontradas após infusão parenteral e no pós-operatório de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados com EL de óleo de peixe ou EL controle.

Quadro 3 – Resumo das alterações de variáveis imunológicas de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados com infusão parenteral pré-operatória de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle (TCM/TCL), rica em triglicérides de cadeia média

Período Pós-infusão Pré-operatório									
Emulsão	IL-6	IL-10	Quimio	Fago	Oxi	HLA-DR Mφ Nφ	CD32 Mφ Nφ		
OP	↓								
TCM/TCL	↑	↑							
Períodos Pós-operatórios									
Emulsão	IL-6 3ºd 6ºd		IL-10 3ºd 6ºd		Quimio 3ºd	Fago 3ºd	Oxi 3ºd	HLA-DR 3ºd Mφ Nφ	CD32 3ºd Mφ Nφ
OP			↑	↓			↓		↑
TCM/TCL	↑	↑	↓				↓	↓	↓

NOTA - Quimio: quimiotaxia leucocitária; Fago: fagocitose leucocitária; Oxi: explosão oxidativa leucocitária; Mφ: monócitos; Nφ: neutrófilos; IL: interleucina. ↑↓ Diferença intra grupos; ↓↑ Diferença intra e entre grupos

4.3. Das Variáveis Clínicas

4.3.1. Eventos Adversos Possivelmente Relacionados à Infusão de EL

Observaram-se efeitos adversos de baixa/moderada gravidade (dor local, vômitos e flebite local) em 9,7% dos pacientes do grupo OP (n = 3) e 6,2% dos pacientes do grupo MCT/LCT (n = 2). Após a infusão de EL, dois pacientes do grupo TCM/TCL foram excluídos do estudo, por referirem dor abdominal intensa. Os dados da ocorrência de reações adversas durante a infusão de EL de óleo de peixe e EL controle no pré-operatório de pacientes

com câncer do aparelho digestivo que permaneceram no estudo encontram-se descritos no Anexo F.

4.3.2. Evolução Clínica Pós-operatória

A frequência de complicações infecciosas em pacientes do grupo OP foi, aproximadamente, 2,5 vezes menor daquela encontrada em pacientes do grupo TCM/TCL, mas não houve significância estatística dessa diferença, em nível de 5%. Não foram observadas alterações no tempo de permanência na UTI e hospitalar. As médias e valores de significância de variáveis da evolução clínica pós-operatória dos pacientes tratados com EL de óleo de peixe e EL controle estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Frequência de complicações infecciosas e tempo de internação na unidade de terapia intensiva e hospitalar no período pós-operatório de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média (TCM/TCL)

EL	Complicações Infecciosas	Tempo de UTI	Tempo Hospitalar
OP	2* (6,5%)	1,1 ± 0,23	11,29 ± 1,14
TCM/TCL	5 [‡] (15,6%)	1,6 ± 0,50	12 ± 1,29
p	0,426	0,826	0,844

NOTA - * Local, na ferida cirúrgica (n=1) e pneumonia (n=1); [‡] Local, na ferida cirúrgica (n=3) e sepse (n=2); Dados de infecção expressos em número (porcentagem); dados de tempo de internação expressos como média de dias ± desvio padrão

Os dados utilizados para análise estatística da frequência de complicações infecciosas e tempo de internação na UTI e hospitalar pós-operatórios encontram-se descritos nos Anexos G, H e I, respectivamente.

5.0. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou, de forma pioneira, o efeito da infusão parenteral pré-operatória isolada de EL de óleo de peixe, como um agente farmacológico adjuvante no tratamento de pacientes com câncer gastrointestinal, independente da indicação de TNP. Nossos dados mostraram uma modulação favorável de mediadores imunológicos acompanhada da preservação ou melhora do fenótipo e da explosão oxidativa leucocitários no pós-operatório de pacientes com câncer gastrointestinal, sem influenciar sua evolução clínica pós-operatória imediata.

A infusão de EL de óleo de peixe como agente farmacológico é recente e avaliada em apenas dois estudos. A infusão isolada de EL de óleo de peixe na quantidade 0,2g de gordura/kg de peso corpóreo mostrou-se segura, bem tolerada e eficiente para melhorar os sintomas clínicos de pacientes com artrite reumatoide ⁹⁰ e a gravidade de sepse em pacientes críticos, sem influenciar seu tempo de internação ⁹¹. O protocolo de infusão de EL utilizado por nós mostrou-se seguro e acompanhado por leve/moderada frequência de eventos adversos de baixa gravidade, que desapareceram sem que a interrupção do tratamento ocorresse. Os casos de flebite superficial desapareceram com rodízio do acesso venoso.

Em cirurgia, o momento mais adequado para intervenção imuno-fármaco-nutricional permanece por ser determinado. No presente estudo optou-se por infundir EL parenteral de óleo de peixe no período pré-operatório. Isso porque, existem evidências que sugerem ser o período pré-operatório clinicamente mais eficaz do que o pós-operatório para oferta de

nutrientes com propriedades imunomoduladoras ^{92,93}. Adiciona-se que, retrospectivamente, a suplementação de TNP com EL de óleo de peixe obteve maior benefício quando infundida no período perioperatório, do que quando infundida somente no pós-operatório, incluindo menor taxa de mortalidade ⁶¹. Possivelmente, imuno-fármaco-nutrientes tenham que atingir concentrações plasmáticas e teciduais adequadas para exercer seus efeitos imunomoduladores antes do trauma cirúrgico e sua disponibilidade pré-operatória pode ser a melhor conduta para se atingir essa meta.

A EL parenteral controle foi a EL rica em TCM (TCM/TCL), idêntica em aparência à EL de óleo de peixe. TCM não são suscetíveis à peroxidação lipídica e não participam diretamente na síntese de eicosanoides, com possível efeito neutro sobre o sistema reticuloendotelial e a resposta imunológica ⁵⁰. Chamamos a atenção que, em estudos duplo-cegos, as EL contendo óleo de peixe frequentemente foram comparadas com ELs à base de óleo de soja, como controle. No entanto, ELs parenterais de óleo de soja são ricas em AGPI ω -6 e, portanto, potencialmente pró-inflamatórias e immunosuppressoras ⁵⁰. Em comparação à EL de óleo de soja, a infusão de EL controle rica em TCM em pacientes cirúrgicos demonstrou prevenir abscessos intra-abdominais e melhorar ou manter a resposta imunológica pós-operatória ⁹⁴⁻⁹⁶. Por se tratar de um controle ativo, optou-se, no presente trabalho, por considerar diferenças estatísticas quando estas ocorreram não apenas entre EL de óleo de peixe e EL controle rica em TCM, mas também em relação aos valores basais dos pacientes inseridos em cada grupo de tratamento. Além disso, tomamos como referência para nossos dados

resultados de estudos que avaliaram o comportamento pós-operatório dos marcadores imunológicos presentemente avaliados.

Alterações da resposta imunológica frente ao trauma cirúrgico são marcadas pela produção elevada de mediadores pró e anti-inflamatórios ⁴⁷. Assim, os marcadores imunológicos avaliados em nosso protocolo de estudo incluíram mediadores-chave dessa natureza, bem como funções e moléculas de superfície leucocitárias que podem ser influenciadas por seu desequilíbrio. Nosso objetivo com isso foi identificar pontos-alvo da resposta imunológica pós-operatória modulados por EL de óleo de peixe.

A concentração plasmática pós-operatória de IL-6 foi estudada como marcador pró-inflamatório. Usada como parte da TNP de pacientes cirúrgicos, a suplementação com EL de óleo de peixe ou a infusão de EL mista contendo 30% de óleo de soja, 30% de TCM, 25% de óleo de oliva e 15% de óleo de peixe modulam favoravelmente a produção de IL-6, por resultarem em menores níveis séricos pós-operatórios dessa citocina, em relação à infusão de EL de óleo de soja ^{56,57,66,73}. No entanto, é possível que a diminuição pós-operatória de IL-6, observada nos referidos estudos, possa ser resultante da EL controle selecionada pelos referidos trabalhos. Ou seja, o efeito observado pode ser consequência da infusão de AGPI ω -6 potencialmente inflamatórios, presentes em grandes quantidades em ELs de óleo de soja, utilizadas como tratamento controle. Ocorre que, experimentalmente, LTB₄ provenientes de AGPI ω -6 são associados ao acúmulo dose-dependente de RNAm de IL-6 e estímulo da liberação dessa citocina ^{97,98}.

Nossos dados estão de acordo com grande parte das observações científicas disponíveis, por mostrarem menor nível pós-operatório de IL-6 no plasma de pacientes tratados com EL de óleo de peixe, comparado com pacientes tratados com EL controle. Além disso, nosso controle contendo 50% menos AGPI ω -6 do que EL de óleo de soja puro nos permite sugerir que a manutenção de níveis pós-operatórios de IL-6 pode ter sido alcançada pela maior quantidade de AGPI ω -3, fornecida por EL de óleo de peixe. Dois novos estudos em pacientes cirúrgicos corroboram com essa possibilidade, por encontrarem menores concentrações pós-operatórias de IL-6 em pacientes tratados com TNP suplementada com óleo de peixe ou contendo EL mista composta por 50% de TCM, 40% de óleo de soja e 10% de óleo de peixe, em comparação com EL rica em TCM ^{75,76}.

A concentração plasmática pós-operatória de IL-10 foi estudada como marcador anti-inflamatório. Apesar da liberação pós-operatória de IL-10 ser desejada para conter uma possível hiperinflamação, sua elevação por longos períodos pode contribuir negativamente para o que se chama de “imunoparalisia” ³⁷.

De acordo com nossos dados, a infusão pré-operatória de EL de óleo de peixe pode contribuir para a produção fisiologicamente favorável de IL-10, já que promoveu sua rápida elevação (3º dia pós-operatório) e preveniu sua permanência em níveis elevados (6º dia pós-operatório), em comparação com EL controle, rica em TCM. Por outro lado, resultados de estudos anteriores sugerem que a infusão parenteral pós-operatória de EL de óleo de peixe não modifica níveis pós-operatórios de IL-10, em comparação com EL de óleo de soja e EL rica em TCM ^{57,76}. Em conjunto, essas observações

sugerem que o período de infusão parenteral de EL de óleo de peixe parece ser importante para que a modulação pós-operatória de IL-10 ocorra.

Trauma cirúrgico *per si* está associado com inibição da expressão de HLA-DR na superfície de monócitos circulantes por diferentes vias, que incluem aumento excessivo e duradouro de níveis pós-operatórios de IL-10^{43,99}. Weiss e cols. encontraram manutenção da expressão de HLA-DR leucocitária em pacientes cirúrgicos tratados, no perioperatório, com TNP suplementada com EL de óleo de peixe⁵⁶. No presente estudo, também observou-se, com a EL de óleo de peixe, preservação da expressão pós-operatória de HLA-DR em monócitos, que, por sua vez, diminuiu nos pacientes tratados com EL controle, rica em TCM. Nossos dados estão de acordo com os achados de Weiss e cols. e apoiam a modulação pós-operatória favorável de IL-10 em pacientes tratados com EL de óleo de peixe no pré-operatório.

A diminuição de monócitos exprimindo HLA-DR está relacionada à desativação funcional desses leucócitos e pode ser considerada como um marcador central de imunoparalisia pós-operatória⁴⁴⁻⁴⁶. De fato, no presente estudo, a diminuição de monócitos exprimindo HLA-DR em pacientes tratados com EL controle foi acompanhada por diminuição da explosão oxidativa leucocitária e diminuição do número porcentual de monócitos exprimindo CD32, enquanto pacientes tratados com EL de óleo de peixe apresentaram preservação/menor prejuízo dessas variáveis imunológicas e uma maior expressão de CD32 por neutrófilos.

A capacidade de explosão oxidativa leucocitária é importante para a eliminação intracelular de patógenos provenientes do processo fagocítico¹⁰⁰.

A diminuição significativa dos valores pré-operatórios dessa função leucocitária foi observada anteriormente em pacientes cirúrgicos. No presente estudo, ela foi verificada nos pacientes tratados com EL de óleo de peixe e, de forma significativamente mais intensa, nos pacientes tratados com EL controle, rica em TCM ¹⁰⁰. A menor diminuição da explosão oxidativa leucocitária observada nos pacientes tratados com EL de óleo de peixe sugere uma vantagem potencial de se administrar essa EL em pacientes cirúrgicos.

O aumento da produção de H_2O_2 , decorrente da explosão oxidativa leucocitária, foi associado com aumento de fagocitose mediada por CD32 por monócitos ¹⁰¹. Esta observação nos permite especular ainda sobre uma possível associação entre a expressiva diminuição da explosão oxidativa leucocitária e a diminuição da porcentagem de monócitos exprimindo CD32, encontradas, no presente estudo, nos pacientes tratados com EL controle.

Moléculas CD32 são receptores de imunoglobulinas e têm papel central na resposta imunológica, por promoverem citotoxicidade dependente de anticorpos ¹⁰¹. Adiciona-se que, em pacientes que desenvolveram SIRS ou síndrome da lesão pulmonar aguda (do inglês, ARDS), observou-se diminuição da resposta de granulócitos modulada por CD32 ¹⁰². Poderíamos sugerir que a maior expressão de CD32 por neutrófilos, por nós observada em pacientes tratados com EL de óleo de peixe, pode ser útil para prevenir essas complicações.

Tomados em conjunto, nossos dados de ordem imunológica apontam modulação favorável da resposta imunológica pós-operatória com a infusão pré-operatória isolada de EL de óleo de peixe em pacientes com câncer

gastrointestinal, o que pode ser importante para a prevenção de infecções e melhora da sua evolução clínica.

Estudos anteriores que avaliaram a suplementação de TNP com EL de óleo de peixe em pacientes cirúrgicos relataram melhora na incidência de infecções pós-operatórias e no tempo de internação na UTI e no hospital ^{56-61,65,69}. Após infusão isolada de OP, nós observamos uma frequência de complicações infecciosas 2,5 vezes menor do que aquela encontrada em pacientes do grupo TCM/TCL, mas não houve significância estatística dessa diferença, em nível de 5%.

É possível que o reduzido tamanho de nossa amostra tenha dificultado a observação de benefícios clínicos significativos. Calculamos o tamanho de nossa amostra a partir de dados de frequência de complicações infecciosas em pacientes tratados com EL de óleo de peixe como parte da TNP, descritos em estudos anteriores ao ano de 2006. Diferentemente de nosso estudo, que incluiu pacientes cirúrgicos sem considerar seu estado nutricional, os estudos anteriormente disponíveis avaliaram populações mais homogêneas, por considerarem apenas pacientes nutricionalmente debilitados.

Curiosamente, no presente estudo, infecções pós-operatórias ocorreram apenas em pacientes idosos (>60 anos) e/ou desnutridos ^{88,103}. Em seu estudo com doentes cirúrgicos tratados com TNP suplementada com EL de óleo de peixe, Heller e cols. observaram benefícios clínicos apenas quando estratificaram a população total de pacientes da sua amostra em grupos mais homogêneos "de maior risco" ⁵⁸. Idade avançada e desnutrição proteico-calórica estão associadas com comprometimento significativo da

imunidade, principalmente imunidade mediada por células, e podem ser consideradas preditoras independentes de infecção em trauma e óbito por sepse em cirurgias eletivas, respectivamente ¹⁰⁴⁻¹⁰⁶.

Se estratificarmos nossa amostra para um grupo de maior risco, que considera somente os pacientes idosos e/ou desnutridos [EL de óleo de peixe (n = 20); EL controle (n = 18)], observamos frequência de infecções maior que 10% (p = 0,028 vs 0,608) apenas naqueles enfermos não tratados com EL de óleo de peixe. Pacientes idosos e/ou desnutridos tratados com EL controle também apresentaram tempo de internação na UTI 2 vezes maior ($2,41 \pm 1,0$ vs $1 \pm 0,4$; p = 0,228), do que pacientes idosos e/ou desnutridos tratados com EL de óleo de peixe, e uma variação no tempo de permanência na UTI significativa (15,76 vs 2,42, para EL de óleo de peixe; p = 0,016 - Figura 12). O tempo de permanência na UTI mais uniforme, encontrado no tratamento com de EL de óleo de peixe, sugere um efeito protetor para pacientes idosos e/ou desnutridos que poderiam permanecer por longos períodos na UTI. Estas observações clínicas podem contribuir, em parte, para apoiar as evidências anteriores levantadas por Heller e cols. da relevância clínica de se tratar pacientes cirúrgicos mais debilitados, ou grupos mais homogêneos de pacientes, com EL de óleo de peixe ⁶⁰.

Em conclusão, os resultados imunológicos do presente estudo indicam que a infusão pré-operatória isolada de EL de óleo de peixe pode atenuar disfunções imunológicas pós-operatórias, associadas à paralisia imunológica e falência múltipla de órgãos em pacientes mais debilitados. Considerando que a maioria dos pacientes cirúrgicos não tem indicação de TNP, nosso estudo contribui no atendimento ao paciente cirúrgico, no sentido de

aproveitar os benefícios potenciais da infusão parenteral de AGPI ω -3 mesmo em pacientes sem indicação de TNP, e abre novas fronteiras na terapia adjuvante pré-operatória.

Figura 12 – Tempo de permanência na Unidade de Terapia Intensiva de pacientes idosos (> 60 anos) e/ou desnutridos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com emulsão lipídica de óleo de peixe (OP) ou emulsão lipídica controle (TCL/TCM), rica em triglicérides de cadeia média

6.0. CONCLUSÕES

Nas condições da presente pesquisa, a infusão parenteral pré-operatória isolada de emulsão lipídica de óleo de peixe em pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal foi associada à:

1. Benefícios de ordem imunológica no período pós-operatório, em relação à emulsão lipídica rica em triglicérides de cadeia média, caracterizados por:

a) Concentração plasmática fisiologicamente favorável de mediadores imunológicos IL-6 e IL-10.

b) Preservação e/ou melhora da explosão oxidativa e da expressão de moléculas HLA-DR e CD32 na superfície de leucócitos.

2. Ausência de benefícios clínicos no período pós-operatório imediato, em relação à emulsão lipídica rica em triglicérides de cadeia média, caracterizados por:

a) Paridade na frequência de complicações infecciosas.

b) Paridade no tempo de permanência na unidade de terapia intensiva e no hospital.

ANEXO A – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 29.07.04, **APROVOU** Alterações realizadas no Protocolo de Pesquisa nº 310/04, intitulado: "Efeito da oferta pré-operatória de ácidos graxos ω -3 parenterais sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias e a expressão de moléculas de superfície com funções imunes e a atividade funcional de fagócitos de pacientes desnutridos com câncer de estômago" apresentado pelo Departamento de RADIOLOGIA, inclusive o novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador(a) Responsável: Prof. Dr. Dan Linetzky Waitzberg

Pesquisador(a) Executante: Dra. Raquel Susana Matos de M. Torrinhas

CAPPesq, 29 de Julho de 2004.

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c")

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para contribuir com uma pesquisa do Hospital das Clínicas de São Paulo e este documento fornece informações sobre o assunto. Por favor, leia-o cuidadosamente, avalie até ter certeza sobre sua participação. Discuta qualquer parte que você não entender com seu médico/nutricionista.

Objetivos:

As gorduras são nutrientes importantes para o organismo, algumas delas são essenciais para nossa saúde. Para pacientes internados, as gorduras podem ser oferecidas pela veia na forma do que chamamos de “emulsões lipídicas”. Existem diferentes emulsões lipídicas constituídas por diferentes tipos de gorduras. O objetivo desta pesquisa é determinar a eficácia de uma nova emulsão lipídica rica em um tipo de gordura específico que parece ter efeito benéfico sobre o sistema de defesa do organismo, podendo protegê-lo melhor contra possíveis complicações pós-operatórias. Além disso, a gordura presente nessa emulsão parece ainda ter efeitos protetores específicos para pacientes com câncer, como aumento da sensibilidade do tumor a tratamentos pós-operatórios. Este estudo irá comparar a nova emulsão lipídica com uma emulsão lipídica padrão, que é comumente oferecida a pacientes, no período pré-operatório. Por isso, se você participar desse estudo, irá receber a gordura por veia periférica ou sistema venoso central. Você tem 50% de chance (como em um jogo de cara e coroa) de ser sorteado para receber a nova emulsão lipídica experimental ou a emulsão lipídica padrão.

Procedimentos:

Se você desejar participar do estudo, você será um dos aproximadamente 36 pacientes dele participantes. O estudo durará aproximadamente 1 (uma) semana para cada paciente. Para participar do estudo, você deverá se encaixar em alguns critérios. Caso seu médico/nutricionista decida que você preenche os critérios, você irá assinar um formulário de consentimento e iniciar os procedimentos do estudo no seu primeiro dia de internação na enfermaria.

Quando o estudo começar, você já estará recebendo a dieta enteral por boca ou por sonda, de acordo com a prescrição do seu médico e nutricionista. Todos os procedimentos envolvidos neste estudo serão feitos durante os 3 dias de internação antes da sua cirurgia, quando você começará a receber a emulsão lipídica. No primeiro dia, será coletada uma amostra de sangue de 30mL (correspondente a aproximadamente 2,5 colheres de sopa). Durante os 3 dias pré-operatórios, você receberá emulsão lipídica (a comumente utilizada ou a em estudo) e no 3º dia serão coletados mais 30mL de sangue. No primeiro dia após a sua cirurgia, serão coletados mais 30mL de seu sangue para novas análises.

Responsabilidades:

As suas responsabilidades como participante incluem:

- 3 (três) amostras de sangue: uma no primeiro dia de internação, uma no último dia antes da cirurgia e outra no primeiro dia após a cirurgia;
- Instalação de cateter venoso central ou periférico

Riscos:

Os vários procedimentos deste estudo oferecem um risco baixo de trazer algum dano à sua condição clínica. As possíveis intercorrências que eventualmente podem acontecer durante o desenvolvimento do estudo estão relacionadas ao possível risco de desenvolver flebite, infecção, ou de ocorrerem problemas na instalação e remoção do cateter. No entanto, toda equipe médica e de enfermagem adotarão condutas específicas para protegê-lo desse risco. As amostras de sangue serão coletadas com agulha e seringa descartáveis, e espera-se que causem desconforto mínimo, como por exemplo, um hematoma. Para sua informação estas amostras serão submetidas a exames de parâmetros imunológicos (de defesa orgânica). Os resultados encontrados serão utilizados exclusivamente para esta pesquisa.

Como qualquer produto nutricional, este poderá ocasionalmente causar efeitos não desejados, principalmente mal-estar gástrico, náusea ou diarreia, apesar destes serem normalmente leves e pouco duradouros. Nenhum desses efeitos têm probabilidade de causar dano a sua saúde, e seu médico/nutricionista irá sempre tomar providências para eliminá-los ou reduzi-los. Como em qualquer pesquisa, riscos não previsíveis podem levar à ocorrência de problemas ou complicações não previstas. Seu médico/nutricionista irá informá-lo caso surja qualquer novo dado que possa alterar sua decisão de participar no estudo.

Benefícios:

O novo produto nutricional poderá ajudá-lo principalmente na recuperação de sua capacidade de defesa orgânica, reduzindo os riscos de complicações pós-operatórias. Entretanto, não é possível garantir esse benefício.

Tratamentos alternativos:

Você não é obrigado a participar deste estudo para receber tratamento para sua condição. Uma dieta balanceada que inclua ou não suplementos nutricionais é apropriada para seu caso. O pesquisador responsável pelo estudo irá discutir os riscos e benefícios deste tratamento alternativo com você.

Obrigações:

Se você decidir participar deste estudo, você poderá sair dele a qualquer momento sem qualquer prejuízo, e isso não afetará de modo algum os cuidados futuros a serem recebidos de seu médico, seu nutricionista ou hospital. O seu médico/nutricionista também poderá retirá-lo do estudo se ele ou ela, por alguma razão, sentir que a sua participação não é mais o melhor para você.

A saída do estudo não cancela automaticamente a autorização para o uso ou divulgação de informações pessoais. O pedido para o cancelamento desta autorização deve ser recebido por escrito. Este pedido não inclui informações que já tenham sido divulgadas ou informações colhidas como

resultado de sua participação no estudo antes do cancelamento ou que sejam necessárias para preservar a integridade científica da pesquisa. Os dados do estudo, que podem incluir informações pessoais, serão utilizados pelo pesquisador na extensão em que eles foram permitidos.

Compensação:

O investigador principal e a equipe de pesquisa não se comprometem a fornecer nenhuma compensação financeira pela sua participação neste estudo ou por qualquer complicação clínica que possa eventualmente ocorrer. O produto nutricional e todos os procedimentos do estudo que serão fornecidos a você não terão nenhum custo. Não há previsão de gastos pessoais para você.

Confidencialidade:

Todos os registros de participação neste estudo serão mantidos em local confidencial e seguro e não serão divulgados publicamente, exceto na extensão do permitido por este documento e das leis e regulamentos aplicáveis. Se os resultados do estudo forem publicados, não haverá identificação de seu nome. O investigador principal, a equipe de pesquisa, o Comitê de Ética em Pesquisa e autoridades de saúde nacionais ou estrangeiras terão acesso aos seus registros médicos originais com o propósito de coleta de dados, verificação dos dados e verificação da condução correta do estudo.

Através da assinatura deste termo, você está autorizando seu médico/nutricionista, os pesquisadores e a equipe do estudo a permitir que estas pessoas vejam seus registros médicos.

Este estudo receberá auxílio financeiro da empresa Fresenius-Kabi do Brasil, que fornecerá gratuitamente as emulsões lipídicas parenterais e, dessa maneira, poderá ter acesso a seus resultados. Além disto, o investigador principal, a equipe de pesquisa, o Comitê de Ética em Pesquisa e autoridades de saúde nacionais terão acesso aos seus dados do estudo, sem mencionar seu nome para completar a pesquisa, incluindo o processamento, análise, utilização e armazenamento dos dados. Algumas destas partes poderão estar localizadas em outros países, inclusive nos Estados Unidos. Outros países podem não ter leis que protejam sua privacidade tão rigidamente como as de seu país, mas o investigador principal tomará todas as precauções para proteger sua privacidade. As informações coletadas como parte do estudo poderão ser enviadas para estas entidades através de computador. Mediante assinatura deste termo de consentimento você estará autorizando o acesso a seus dados pessoais conforme descrito acima.

As informações coletadas neste estudo serão processadas de maneira a corresponder aos propósitos do estudo clínico. Essas informações também poderão ser utilizadas em relatos de estudo ou apresentações científicas. O investigador principal também poderá utilizar as informações deste estudo, que sejam relacionadas a você, para possíveis pesquisas futuras realizadas pelo investigador juntamente com outros pesquisadores.

Você tem o direito de acessar seus registros médicos de acordo com as leis nacionais; contudo, a identidade da fórmula que você irá tomar poderá ter que permanecer em segredo até que a análise dos dados do estudo esteja completa.

Se você tiver perguntas quanto a seus direitos como participante de pesquisa, você poderá entrar em contato com: Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – Cerqueira César – SP. Telefone: 3069-6442.

Interrupção do Estudo:

O seu médico ou seu nutricionista poderá interromper sua participação neste estudo a qualquer momento, se julgado apropriado.

Concordância:

Eu, _____, entendo que estou concordando em ser voluntário na participação deste estudo e que posso me retirar dele a qualquer momento sem prejuízo ou perda de quaisquer benefícios aos quais eu, de alguma maneira, tenha direito. Irei receber uma cópia assinada e datada deste formulário de consentimento. Quaisquer dúvidas que eu tenha, relacionadas a qualquer aspecto deste estudo ou a meus direitos como sujeito de pesquisa, serão sanadas por: Raquel Susana M. de M. Torrinhas, pessoalmente ou através dos telefones 3061-7459/8115-3652 ou com Prof. Dr. Dan L. Waitzberg, pessoalmente ou através dos telefones 3284-6318/9972-8421.

Assinatura do paciente

Data

Assinatura do pesquisador

Data

ANEXO C – PROTOCOLO DE REAÇÃO DE ELISA PARA AVALIAÇÃO DE CITOCINAS IL-6 E IL-10

Placas de 96 poços (Costar[®], Sigma-Aldrich Co, Missouri, EUA) foram sensibilizadas com 50µL/poço de anticorpo de captura (– Human IL-6 ELISA Set[®] e Human IL-10 ELISA Set[®], BD Biosciences, Maryland, EUA) em tampão carbonato/bicarbonato, pH 9,4, *overnight*, à 4°C. Após incubação, as placas foram lavadas 3 vezes com 100µL de tampão de lavagem (PBS com 0,05 % Tween-20) e bloqueadas com 50µL de diluente de ensaio (PBS com 10% de Soro Fetal Bovino) durante 1h, à temperatura ambiente. Após a reação, as placas foram lavadas 3 vezes com 100µL de tampão de lavagem e adicionou-se aos seus poços 50µ de solução padrão ou de plasma dos pacientes, que permaneceram em incubação por 2 horas, em temperatura ambiente.

Terminado o período da reação, as amostras foram lavadas 5 vezes com 100µL de tampão de lavagem e acrescidas de 50µL do detector de trabalho (anticorpo de detecção para as citocinas estudadas, associado à peroxidase conjugada com avidina), que permaneceu reagindo por 1 hora, em temperatura ambiente. Após a reação, as amostras foram lavadas 7 vezes com 100µL de tampão de lavagem. Neste estágio, mantiveram-se os poços com tampão por 0,5 a 1 minuto, entre uma lavagem e outra. Adicionou-se aos poços 50µL de solução substrato (Tetrametilbenzidina – TMB). Após 15-30 minutos, a reação foi parada com 25µL de ácido sulfúrico e as amostras foram analisadas em espectrofotômetro ELx 808[®] (Bio-Tek Instruments Inc, Illinois, EUA) sob absorvância de 450nm.

ANEXO D – PROTOCOLOS DE REAÇÕES, AQUISIÇÕES E ANÁLISES DE CITOMETRIA PARA AVALIAÇÃO DE FUNÇÕES E MOLÉCULAS DE SUPERFÍCIE LEUCOCITÁRIAS.

Quimiotaxia

No citômetro de fluxo, a capacidade de migração leucocitária foi avaliada através do uso de kit Migratest® (Orpegen, Heidelberg, Alemanha) e conforme especificações do fabricante. Granulócitos foram isolados de amostras de sangue heparinizadas (1mL) por sedimentação espontânea, durante 40 minutos em temperatura ambiente, com uso de meio de separação de leucócitos específico do kit.

Os granulócitos obtidos foram transferidos (100µL por teste) para membranas com poros do tamanho de 3,0µm que, por sua vez, foram inseridas em dois poços de placa de cultura disponível no kit: um contendo 350µL de solução quimiotática N-formil-metionina-leucina-fenilalanina (fMLP) do kit (diluída em solução tampão específica do kit - 5µL em 1mL) e outro 350µL de solução tampão específica do kit, para servir como controle negativo. A quimiotaxia foi conduzida durante 30 minutos, numa temperatura de 37°C.

Após a incubação, todo o conteúdo dos poços, agora contendo leucócitos migrantes, foi transferido para dois tubos de citometria (BD Biosciences, Maryland, EUA). Um terceiro tubo foi adicionado de 20µL da solução de leucócitos, obtidos da separação do sangue total, e 180µL de solução tampão específica do kit, para servir como controle da expressão de

moléculas de adesão de lectina-1 (LECAM-1). Os leucócitos contidos nos tubos foram então marcados durante 10 minutos com 20 μ L de anticorpo do kit específico para LECAM-1, no gelo e protegido da luz. Imediatamente antes da análise de citometria de fluxo, foram ainda adicionados 20 μ L de marcador de exclusão de morte celular disponível no kit, que permaneceu reagindo por 5 minutos.

Imediatamente depois de concluída a reação, as amostras foram adquiridas e analisadas no citômetro de fluxo. O uso do kit Migratest® permitiu a análise quantitativa da quimiotaxia de granulócitos, através da contagem do número de células que migraram através de membranas, atraídas por agente quimiotactante. A alteração da morfologia celular que ocorre após migração pôde ser medida pela análise de alterações no “forward scatter” do citômetro de fluxo. Paralelamente, a alteração da expressão de LECAM-1 pôde ser medida, pela leitura da fluorescência de seu marcador, no canal FL-1 do citômetro. A modulação dessa molécula de adesão está diretamente correlacionada com a ativação de neutrófilos pela exposição a fatores quimiotáticos.

Fagocitose

No citômetro de fluxo, a capacidade fagocítica leucocitária foi avaliada através do uso de kit Phagotest® (Orpegen, Heidelberg, Alemanha) e conforme especificações do fabricante. Amostras de sangue heparinizadas (100 μ L por teste) foram adicionadas a tubos de citometria (BD Biosciences, Maryland, EUA), mantidas em gelo por 10 minutos e então incubadas por 10

minutos com 20 μ L de solução contendo bactérias *Escherichia coli* (*E. coli*) marcadas com isotiocianato de fluoresceína (FITC), disponível no kit, numa temperatura de 37°C. Uma amostra idêntica permaneceu sobre gelo, para servir como controle negativo.

A fagocitose foi interrompida colocando-se as amostras sobre o gelo e adicionando-se 100 μ L de solução de parada específica do kit. Essa solução permitiu a discriminação entre bactérias aderidas e internalizadas, apagando a fluorescência de FITC de bactérias ligadas à superfície e deixando inalterada a fluorescência de bactérias intracelulares.

Após duas lavagens por 5 minutos em centrifuga (250 x g) com 3mL de solução de lavagem específica do kit, os eritrócitos foram removidos, pela adição de 2mL de solução de lise específica do kit, que permaneceu reagindo por 20 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, após uma nova lavagem por 5 minutos em centrifuga (250 x g) com 3mL de solução de lavagem específica do kit, efetuou-se a marcação de ácido desoxirribonucleico (DNA), através da reação da amostra com 200 μ L de marcador específico do kit durante 10 minutos em gelo, a fim de discriminar células 1n (bactérias) e 2n (leucócitos) e excluir a agregação de artefatos de células bacterianas.

Imediatamente depois de concluída a reação, as amostras foram adquiridas e analisadas no citômetro de fluxo. O uso do kit Phagotest® possibilitou a avaliação quantitativa da fagocitose de monócitos e granulócitos (ingestão de *E. coli*), através da contagem do número porcentual de leucócitos com bactérias ingeridas e da quantidade de bactérias internalizadas por célula.

Explosão Oxidativa

No citômetro de fluxo, o “burst” leucocitário foi avaliado através do uso de kit Phagoburst® (Orpegen, Heidelberg, Alemanha) e conforme especificações do fabricante. Amostras de sangue heparinizadas (100µL por teste) foram adicionadas a tubos de citometria (BD Biosciences, Maryland, EUA) e, após permanecerem 10 minutos em gelo, foram incubadas por 10 minutos com 20µL de: solução contendo bactérias *E. coli* opsonizadas não marcadas, como estímulo particulado; solução tampão, como controle negativo da reação; solução contendo proteína C Kinase ligante do forbol 12-miristato 13-acetato (PMA), como estímulo fisiológico alto; e solução contendo peptídeo quimiotático fMLP, como estímulo fisiológico baixo. Todas as soluções utilizadas foram provenientes do kit. Sob estímulo adequado, granulócitos e monócitos produzem metabólitos reativos de oxigênio (ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso) que destroem bactérias dentro de fagossomos. A formação de oxidantes reativos durante a explosão oxidativa leucocitária pôde ser medida pela adição aos tubos de 20µL de dihidrorodamina (DHR) 123, que permaneceu reagindo por 10 minutos em banho-maria á 37°C. Ao oxidar, DHR serviu como substrato fluorogênico.

Após a oxidação do substrato, os tubos foram retirados do banho-maria e a reação foi interrompida pela adição de 2mL de solução de lise específica do kit, que permaneceu reagindo por 20 minutos em temperatura ambiente, a fim de remover eritrócitos e fixar parcialmente os leucócitos. Após uma lavagem em centrífuga (250 x g) por 5 minutos com 3mL de

solução de lavagem específica do kit efetuou-se a marcação de DNA, pela adição de 200µL de marcador específico do kit, que permaneceu reagindo durante 10 minutos em gelo, a fim de discriminar células 1n (bactérias) e 2n (leucócitos) e excluir a agregação de artefatos de células bacterianas.

Imediatamente depois de concluída a reação, as amostras foram adquiridas e analisadas no citômetro de fluxo. Avaliou-se a porcentagem de células com produção de radicais reativos de oxigênio e a média da intensidade de fluorescência, que correspondeu à atividade enzimática.

Expressão de Moléculas de Superfície HLA-DR e CD32

A expressão de moléculas de superfície leucocitária apresentadoras de antígeno HLA-DR e receptoras da fração constante de imunoglobulinas CD32 foi avaliada em monócitos e neutrófilos. A reação de imunofenotipagem iniciou-se com a adição de 100µL de sangue periférico heparinizado a tubos (BD Biosciences, Maryland, EUA) previamente identificados. Posteriormente, as amostras foram acrescidas de 50µL de soro AB e 10µL de anticorpos monoclonais anti-HLA-DR, anti-CD32, anti-CD14 e anti-CD16 e de seus respectivos controles isotípicos. Todos os anticorpos e controles isotípicos utilizados foram da BD Pharmigen (Califórnia, EUA) e suas especificações encontram-se descritas na lista abaixo:

Lista de anticorpos monoclonais utilizados nas reações de imunofenotipagem para avaliação da expressão de moléculas HLA-DR e CD32 na superfície de monócitos e neutrófilos de sangue periférico

Anticorpo	Clone	Isotipo	Fluorocromo	Função
Anti HLA- DR	CR3/43	IgG1,k	PE	Identificar HLA-DR
Anti CD32	FLI8.26	IgG2b,k	FITC	Identificar CD32
Anti CD14	TÜK4	IgG2a,k	APC	Identificar MØ
Anti CD16	3G8	IgG1,k	Cy-Chrome	Identificar NØ
Anti-IgG1,k	MOPC-21	Controle	PE	CI para anti-HLA-DR
Anti-IgG2b,k	27-35	Controle	FIT	CI para anti-CD32
Anti-IgG2a,k	G155-178	Controle	APC	CI para anti-CD14
Anti-IgG1,k	MOPC-21	Controle	Cy-Chrome	CI para anti-CD16

NOTA – CI: controle isotópico; MØ: monócitos; NØ: neutrófilos

Após 20 minutos de reação, adicionou-se 1800µL de solução de lise (BD Biosciences, Maryland, EUA), que permaneceu reagindo por 10 minutos. Após hemólise das amostras, estas foram centrifugadas 3 vezes com 5mL de tampão Hemoton Spec[®]. (Hemogram Ind. e Com., São Paulo, Brasil), na velocidade de 300 x g e durante 5 minutos. Após a última centrifugação, as amostras foram ressuspensas em 500µL de solução de paraformaldeído 10% (Sigma-Aldrich Co, Missouri, EUA) e analisadas por citometria de fluxo.

Durante a leitura das amostras, o feixe de laser de 488nm do citômetro excitou simultaneamente os fluorocromos (FITC; ficoeritrina – do inglês, PE; R-ficoeritrina & Cianina, chamado Cy-Chromo; e aloficocianina – do inglês, APC) que marcavam os anticorpos monoclonais utilizados. A incidência de um feixe de luz do citômetro no ângulo de 90° em cada célula das amostras ofereceu dados sobre seu tamanho e granulosidade das, de acordo com a refração dos raios. O software Cell Quest, instalado no aparelho, plotou os referidos dados em um gráfico, distribuindo dessa maneira as células em diferentes populações e permitindo a análise da porcentagem de leucócitos exprimindo HLA-DR e CD32, bem como a intensidade dessa expressão.

ANEXO E – DADOS DEMOGRÁFICOS E DESCRITIVOS DOS PACIENTES

Tabela 1 – Dados demográficos/descriptivos dos pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

Idade	Gênero	Comorbidade	Tipo de Câncer	Tipo de Cirurgia	Estado Nutricional
61	M	-	Estômago	Curativa	RD
67	M	DM/H	Cólon	Curativa	RD
67	F	-	Cólon	Curativa	E
54	M	-	Estômago	Curativa	D
58	M	-	Estômago	Curativa	RD
42	M	DI	Estômago	Paliativa	D
65	F	H	Estômago	Paliativa	RD
56	F	H	Estômago	Paliativa	E
47	M	-	Estômago	Curativa	D
48	F	-	Estômago	Curativa	RD
45	F	-	Cólon	Curativa	RD
65	F	-	Cólon	Curativa	RD
74	M	-	Cólon	Curativa	D
43	F	H	Estômago	Curativa	RD
57	F	-	Estômago	Paliativa	RD
46	M	-	Estômago	Curativa	RD
64	F	-	Cólon	Curativa	RD
60	F	-	Estômago	Curativa	D
64	M	H	Estômago	Curativa	RD
64	M	DM/H	Cólon	Curativa	RD
50	M	-	Estômago	Curativa	RD
67	F	DM	Cólon	Curativa	D
62	F	-	Cólon	Curativa	RD
70	F	-	Cólon	Curativa	E
65	M	DM	Estômago	Curativa	RD
72	M	H	Estômago	Curativa	RD
59	M	H	Estômago	Curativa	RD
45	M	H	Estômago	Curativa	RD
66	M	DM/H	Estômago	Curativa	RD
61	M	-	Estômago	Curativa	D
62	M	H	Cólon	Curativa	

NOTA – D: desnutrição; DI: dislipidemia leve; DM: diabetes mellitus não insulínica; E: eutrofia, F: feminino; H: hipertensão; M: masculino; RD: risco de desnutrição.

Tabela 2 – Dados demográficos/descritivos dos pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Idade	Gênero	Comorbidade	Tipo de Câncer	Tipo de cirurgia	Estado Nutricional
56	M	-	Cólon	Paliativa	RD
59	M	H	Estômago	Paliativa	RD
66	F	-	Estômago	Curativa	E
74	F	DM/H/DI	Estômago	Paliativa	RD
41	M	-	Estômago	Curativa	RD
65	M	-	Cólon	Curativa	RD
53	M	-	Cólon	Curativa	RD
71	M		Estômago	Curativa	D
75	M	DM/H	Estômago	Curativa	
74	M	-	Cólon	Curativa	RD
71	F	H	Estômago	Paliativa	D
66	M	-	Estômago	Curativa	RD
55	M	-	Estômago	Paliativa	
68	M	H	Cólon	Curativa	
69	F	DM/H	Cólon	Curativa	E
70	M	-	Estômago	Curativa	D
58	M	-	Cólon	Curativa	RD
56	M	DM	Estômago	Curativa	RD
70	M	-	Estômago	Curativa	E
55	F	DM/H/O	Estômago	Paliativa	RD
74	M	-	Estômago	Curativa	E
40	F	H	Cólon	Curativa	RD
58	M	-	Estômago	Curativa	D
59	F	H	Estômago	Curativa	
56	M	DM/H	Estômago	Curativa	RD
71	M	H	Estômago	Curativa	
66	F	DM/H	Cólon	Curativa	
69	F	-	Cólon	Paliativa	D
53	M	-	Cólon	Curativa	RD
62	F	-	Cólon	Curativa	
66	M	H	Cólon	Curativa	E
56	M	DMH	Cólon	Curativa	RD

NOTA – D: desnutrição; DI: dislipidemia leve; DM: diabetes mellitus não insulínica; E: eutrofia, F: feminino; H: hipertensão; M: masculino; O: osteoporose; RD: risco de desnutrição.

ANEXO F – LISTA DE EVENTOS ADVERSOS

Eventos adversos possivelmente relacionados com a infusão de emulsão lipídica de óleo de peixe ou emulsão lipídica controle, trica em triglicérides de cadeia média, em pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal

Emulsão Lipídica	Complicações
Óleo de peixe	Dor local
Óleo de peixe	Vômito
Controle	Vômito
Controle	Flebite local
Óleo de peixe	Dor local

ANEXO G – LISTA DE COMPLICAÇÕES INFECCIOSAS

Incidência de complicações pós-operatórias infecciosas em pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com emulsão lipídica de óleo de peixe ou controle, rica em triglicérides de cadeia média

Emulsão lipídica	Complicações Infecciosas
Óleo de peixe	Ferida cirúrgica
Óleo de peixe	Pneumonia
TCM/TCL	Ferida cirúrgica
TCM/TCL	Ferida cirúrgica
TCM/TCL	Infecção Hospitalar
TCM/TCL	Choque séptico
TCM/TCL	Ferida cirúrgica

ANEXO H – DADOS DO TEMPO INTERNAÇÃO UTI

Tabela 1 - Tempo de internação na UTI de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

Data da cirurgia	Alta UTI	Tempo UTI (Dias)
18/04/2006	18/04/2006	0
08/05/2006	08/05/2006	0
08/05/2006	08/05/2006	0
13/07/2006	14/07/2006	1
24/07/2006	25/07/2006	1
27/07/2006	28/07/2006	1
18/09/2006	19/09/2006	1
26/09/2006	28/09/2006	2
02/10/2006	03/10/2006	1
02/10/2006	03/10/2006	1
02/10/2006	03/10/2006	1
28/02/2007	02/03/2007	2
05/03/2007	06/03/2007	1
09/04/2007	09/04/2007	0
04/06/2007	06/06/2007	2
14/06/2007	15/06/2007	1
16/07/2007	16/07/2007	0
02/08/2007	03/08/2007	1
01/08/2008	02/08/2008	1
25/08/2008	26/08/2008	1
29/10/2007	29/10/2007	0
30/10/2007	01/11/2007	2
14/01/2008	21/01/2008	7
24/01/2008	25/01/2008	1
29/05/2008	30/05/2008	1
04/09/2008	04/09/2008	0
08/09/2008	08/09/2008	0
16/10/2008	17/10/2008	1
12/06/2006	14/06/2006	2
17/07/2006	18/07/2006	1
04/09/2007	05/09/2007	1

Tabela 2 - Tempo de internação na UTI de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Data da cirurgia	Alta UTI	Tempo UTI (Dias)
05/06/2006	07/06/2006	2
07/08/2006	08/08/2006	1
21/08/2006	24/08/2006	3
14/09/2006	15/09/2006	1
27/11/2006	28/11/2006	1
04/12/2006	04/12/2006	0
12/12/2006	12/12/2006	0
08/03/2007	09/03/2007	1
15/03/2007	16/03/2007	1
04/04/2007	04/04/2007	0
14/05/2007	15/05/2007	1
11/06/2007	12/06/2007	1
27/07/2007	27/07/2007	DP
03/07/2007	03/07/2007	0
26/07/2007	30/07/2007	4
21/06/2007	21/06/2007	0
30/07/2007	31/07/2007	1
30/07/2007	31/07/2007	1
06/08/2007	07/08/2007	1
20/08/2007	20/08/2007	0
17/09/2007	18/09/2007	1
31/10/2007	31/10/2007	0
26/11/2007	27/11/2007	1
10/12/2007	10/12/2007	0
17/12/2007	28/12/2007	11
15/09/2008	15/09/2008	0
15/07/2008	16/07/2008	1
23/07/2007	06/08/2007	14
31/07/2007	02/08/2007	2
09/09/2008	09/09/2008	0
13/10/2008	14/10/2008	1
08/11/2007	09/11/2007	1

NOTA – DP: Dado perdido, devido a óbito no pós-operatório imediato

Tabela 3 - Tempo de internação na UTI de pacientes cirúrgicos não idosos e não desnutridos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

Data da cirurgia	Alta UTI	Tempo UTI (Dias)
13/07/2006	14/07/2006	1
27/07/2006	28/07/2006	1
18/09/2006	19/09/2006	1
26/09/2006	28/09/2006	2
02/10/2006	03/10/2006	1
28/02/2007	02/03/2007	2
05/03/2007	06/03/2007	1
04/06/2007	06/06/2007	2
02/08/2007	03/08/2007	1
01/08/2008	02/08/2008	1
25/08/2008	26/08/2008	1

Tabela 4 - Tempo de internação na UTI de pacientes cirúrgicos não idosos e não desnutridos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Data da cirurgia	Alta UTI	Tempo UTI (Dias)
05/06/2006	07/06/2006	2
07/08/2006	08/08/2006	1
27/11/2006	28/11/2006	1
12/12/2006	12/12/2006	0
21/06/2007	21/06/2007	0
30/07/2007	31/07/2007	1
30/07/2007	31/07/2007	1
31/07/2007	02/08/2007	2
20/08/2007	20/08/2007	0
31/10/2007	31/10/2007	0
08/11/2007	09/11/2007	1
26/11/2007	27/11/2007	1
10/12/2007	10/12/2007	0
15/09/2008	15/09/2008	0

Tabela 5 - Tempo de internação na UTI de pacientes cirúrgicos idosos e/ou desnutridos com câncer gastrintestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe.

Data da cirurgia	Alta UTI	Tempo UTI (Dias)
18/04/2006	18/04/2006	0
08/05/2006	08/05/2006	0
08/05/2006	08/05/2006	0
12/06/2006	14/06/2006	2
17/07/2006	18/07/2006	1
24/07/2006	25/07/2006	1
02/10/2006	03/10/2006	1
02/10/2006	03/10/2006	1
09/04/2007	09/04/2007	0
14/06/2007	15/06/2007	1
16/07/2007	16/07/2007	0
04/09/2007	05/09/2007	1
29/10/2007	29/10/2007	0
30/10/2007	01/11/2007	2
14/01/2008	21/01/2008	7
24/01/2008	25/01/2008	1
29/05/2008	30/05/2008	1
04/09/2008	04/09/2008	0
08/09/2008	08/09/2008	0
16/10/2008	17/10/2008	1

Tabela 6 - Tempo de internação na UTI de pacientes cirúrgicos idosos e/ou desnutridos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Data da cirurgia	Alta UTI	Tempo UTI (Dias)
21/08/2006	24/08/2006	3
14/09/2006	15/09/2006	1
04/12/2006	04/12/2006	0
08/03/2007	09/03/2007	1
15/03/2007	16/03/2007	1
04/04/2007	04/04/2007	0
14/05/2007	15/05/2007	1
11/06/2007	12/06/2007	1
03/07/2007	03/07/2007	0
23/07/2007	06/08/2007	14
26/07/2007	30/07/2007	4
27/07/2007	27/07/2007	DP
06/08/2007	07/08/2007	1
17/09/2007	18/09/2007	1
17/12/2007	28/12/2007	11
15/07/2008	16/07/2008	1
09/09/2008	09/09/2008	0
13/10/2008	14/10/2008	1

NOTA – DP: Dado perdido, devido a óbito no pós-operatório imediato

ANEXO I – TEMPO INTERNAÇÃO HOSPITALAR

Tabela 1 - Tempo de internação hospitalar de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

Data cirurgia	Alta Hospitalar	Tempo pós-operatório (Dias)
18/04/2006	01/05/2006	13
08/05/2006	16/05/2006	8
08/05/2006	15/05/2006	7
12/06/2006	21/06/2006	9
13/07/2006	24/07/2006	11
17/07/2006	30/07/2006	13
24/07/2006	29/07/2006	5
27/07/2006	28/08/2006	32
04/09/2006	13/09/2006	9
18/09/2006	25/09/2006	6
26/09/2006	04/10/2006	8
02/10/2006	15/10/2006	13
02/10/2006	25/10/2006	23
02/10/2006	19/10/2006	17
28/02/2007	09/03/2007	9
05/03/2007	13/03/2007	8
09/04/2007	18/04/2007	9
04/06/2007	12/06/2007	8
14/06/2007	22/06/2007	8
16/07/2007	23/07/2007	7
02/08/2007	08/08/2007	6
29/10/2007	20/11/2007	22
30/10/2007	07/11/2007	8
14/01/2008	07/02/2008	24
24/01/2008	01/02/2008	8
29/05/2008	11/06/2008	13
01/08/2008	14/08/2008	14
25/08/2008	31/08/2008	6
04/09/2008	18/09/2008	14
08/09/2008	14/09/2008	6
16/10/2008	22/10/2008	6

Tabela 2 - Tempo de internação hospitalar de pacientes cirúrgicos com câncer gastrointestinal, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Data cirurgia	Alta Hospitalar	Tempo pós-operatório (Dias)
05/06/2006	12/06/2006	7
07/08/2006	16/08/2006	9
21/08/2006	08/09/2006	18
14/09/2006	20/09/2006	6
27/11/2006	11/12/2006	14
04/12/2006	13/12/2006	9
12/12/2006	19/12/2006	7
08/03/2007	16/03/2007	8
15/03/2007	24/03/2007	DP
04/04/2007	11/04/2007	7
14/05/2007	12/06/2007	29
11/06/2007	20/06/2007	9
21/06/2007	24/06/2007	3
27/07/2007	27/07/2007	DP
03/07/2007	10/07/2007	7
26/07/2007	17/08/2007	22
30/07/2007	07/08/2007	8
30/07/2007	08/08/2007	9
06/08/2007	21/08/2007	15
20/08/2007	31/08/2007	11
17/09/2007	29/09/2007	12
31/10/2007	07/11/2007	7
08/11/2007	05/12/2007	27
26/11/2007	13/12/2007	17
10/12/2007	22/12/2007	12
17/12/2007	09/01/2008	23
15/07/2008	22/07/2008	7
09/09/2008	16/09/2008	7
15/09/2008	23/09/2008	8
13/10/2008	21/10/2008	8
23/07/2007	19/08/2007	27
31/07/2007	07/08/2007	7

NOTA – DP: Dado perdido, devido a óbito no pós-operatório.

Tabela 3 - Tempo de internação hospitalar de pacientes não idosos e não desnutridos com câncer gastrointestinal, submetidos à retirada cirúrgica do tumor, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

Data cirurgia	Alta Hospitalar	Tempo pós-operatório (Dias)
13/07/2006	24/07/2006	11
27/07/2006	28/08/2006	32
18/09/2006	25/09/2006	6
26/09/2006	04/10/2006	8
02/10/2006	19/10/2006	17
28/02/2007	09/03/2007	9
05/03/2007	13/03/2007	8
04/06/2007	12/06/2007	8
02/08/2007	08/08/2007	6
01/08/2008	14/08/2008	14
25/08/2008	31/08/2008	6

Tabela 4 - Tempo de internação hospitalar de pacientes não idosos e não desnutridos com câncer gastrointestinal, submetidos à retirada cirúrgica do tumor, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Data cirurgia	Alta Hospitalar	Tempo pós-operatório (Dias)
05/06/2006	12/06/2006	7
07/08/2006	16/08/2006	9
27/11/2006	11/12/2006	14
12/12/2006	19/12/2006	7
21/06/2007	24/06/2007	3
30/07/2007	07/08/2007	8
30/07/2007	08/08/2007	9
31/07/2007	07/08/2007	7
20/08/2007	31/08/2007	11
31/10/2007	07/11/2007	7
08/11/2007	05/12/2007	27
10/12/2007	22/12/2007	12
15/09/2008	23/09/2008	8

Tabela 5 - Tempo de internação hospitalar de pacientes idosos e/ou desnutridos com câncer gastrointestinal, submetidos à retirada cirúrgica do tumor, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe

Data cirurgia	Alta Hospitalar	Tempo pós-operatório (Dias)
18/04/2006	01/05/2006	13
08/05/2006	16/05/2006	8
08/05/2006	15/05/2006	7
12/06/2006	21/06/2006	9
17/07/2006	30/07/2006	13
24/07/2006	29/07/2006	5
04/09/2006	13/09/2006	9
02/10/2006	15/10/2006	13
02/10/2006	25/10/2006	23
09/04/2007	18/04/2007	9
14/06/2007	22/06/2007	8
16/07/2007	23/07/2007	7
29/10/2007	20/11/2007	22
30/10/2007	07/11/2007	8
14/01/2008	07/02/2008	24
24/01/2008	01/02/2008	8
29/05/2008	11/06/2008	13
04/09/2008	18/09/2008	14
08/09/2008	14/09/2008	6
16/10/2008	22/10/2008	6

Tabela 6 - Tempo de internação hospitalar de pacientes idosos e/ou desnutridos com câncer gastrointestinal, submetidos à retirada cirúrgica do tumor, tratados no pré-operatório com infusão parenteral de emulsão lipídica controle, rica em triglicérides de cadeia média

Data cirurgia	Alta Hospitalar	Tempo pós-operatório (Dias)
21/08/2006	08/09/2006	18
14/09/2006	20/09/2006	6
04/12/2006	13/12/2006	9
08/03/2007	16/03/2007	8
15/03/2007	24/03/2007	DP
04/04/2007	11/04/2007	7
14/05/2007	12/06/2007	29
11/06/2007	20/06/2007	9
27/07/2007	27/07/2007	DP
03/07/2007	10/07/2007	7
23/07/2007	19/08/2007	27
26/07/2007	17/08/2007	22
06/08/2007	21/08/2007	15
17/09/2007	29/09/2007	12
26/11/2007	13/12/2007	17
17/12/2007	09/01/2008	23
15/07/2008	22/07/2008	7
09/09/2008	16/09/2008	7
13/10/2008	21/10/2008	8

NOTA – DP: Dado perdido, devido a óbito no pós-operatório

REFERÊNCIAS

1. Holum RJ. Lipids. in: Fundamentals of General, Organic and Biological Chemistry. 5th ed, Wiley J. and sons Inc.; 1994:566-82.
2. Calder PC, Deckelbaum RJ. Dietary lipids: more than just a source of calories, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*.1999; 2:105-7.
3. Pawlosky RJ, Hibbeln JR, Novotny JA, Salem N Jr. Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans. *J Lipid Res*. 2001; 42:1257-65.
4. Sargent JR. Fish oils and human diet. *Br J Nutr*. 1997; 78:S5-13.
5. Waitzberg DL, Torrinhas RS. Fish oil lipid emulsions and immune response: what clinicians need to know. *Nutr Clin Pract*. 2009; 24:487-99.
6. Cotran RS, Kumar V. Acute and chronic inflammation. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T, eds. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6th ed. W.B. Saunders; 1999:50-88.
7. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994; 76:301-14.
8. Luster AD, Alon R, von Andrian UH. Immune cell migration in inflammation: present and future therapeutic targets. *Nat Immunol*. 2005; 6:1182-90.
9. Louis NA, Hamilton KE, Colgan SP. Lipid mediator networks and leukocyte transmigration. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005; 73:197-202.

10. Serhan CN. Eicosanoids in leukocyte function. *Curr Opin Hematol.* 1994; 1:69-77.
11. Graves DT, Jiang Y. Chemokines, a family of chemotactic cytokines. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995; 6:109-18.
12. Calder PC. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36:433-46.
13. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature.* 2002;420: 846-52.
14. Hansson G, Robertson AKL, Soderberg-Naucler C. Inflammation and atherosclerosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2006; 1:297-329.
15. Sijben JWC, Calder PC. Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proc Nutr Soc.* 2007; 66:237-59.
16. Schmidt EB, Dyerberg J. Omega 3 fatty acids: current status in cardiovascular medicine. *Drugs.* 1994; 47:405-24.
17. Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet.* 1978; 2:117-9.
18. Bannenberg GL, Chiang N, Ariel A, Arita M, Tjonahen E, Gotlinger KH, Hong S, Serhan CN. Molecular circuits of resolution: formation and actions of resolvins and protectins. *J Immunol.* 2005; 174:4345-55.
19. Fredman G, Serhan CN. Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution. *Biochem J.* 2011; 437:185-97.

-
20. Spite M, Norling LV, Summers L, Yang R, Cooper D, Petasis NA, Flower RJ, Perretti M, Serhan CN. Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature*. 2009; 461:1287-91.
21. Hasturk H, Kantarci A, Goguet-Surmenian E, Blackwood A, Andry C, Serhan CN, Van Dyke TE. Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo. *J Immunol*. 2007; 179:7021-29.
22. Titos E, Rius B, González-Pérez A, López-Vicario C, Morán-Salvador E, Martínez-Clemente M, Arroyo V, Clària J. Resolvin D1 and Its Precursor Docosahexaenoic Acid Promote Resolution of Adipose Tissue Inflammation by Eliciting Macrophage Polarization toward an M2-Like Phenotype. *J Immunol*. 2011; 187:5408-18.
23. Khalfoun B, Thibault F, Watier H, Bardos P, Lebranchu Y. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv. Exp. Biol. Med.* 1997; 400:589–97.
24. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor and interleukin 1b production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996; 63:116–22.
25. Meydani SN, Endres S, Woods MM, Goldin BR, Soo C, Morrill-Labrode A, Dinarello CA, Gorbach SL. Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J Nutr.* 1991; 121:547-55.

- 26.Hao W, Wong OY, Liu X, Lee P, Chen Y, Wong KK. ω -3 fatty acids suppress inflammatory cytokine production by macrophages and hepatocytes. *J Pediatr Surg*. 2010; 45:2412-8.
- 27.Sierra S, Lara-Villoslada F, Olivares M, Jiménez J, Boza J, Xaus J. IL-10 expression is involved in the regulation of the immune response by omega 3 fatty acids. *Nutr Hosp*. 2004; 19:376-82.
- 28.Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008; 454:428–35.
- 29.Varga T, Czimmerer Z, Nagy L. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1812:1007-22.
- 30.Delerive P. De Bosscher K. Besnard S. Vanden Berghe W. Peters J.M. Gonzalez F.J. Fruchart J.C. Tedgui A. Haegeman G. Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1. *J. Biol. Chem*. 1999; 274:32048–54.
- 31.Siddiqui RA, Harvey KA, Zaloga GP, Stillwell W. Modulation of Lipid Rafts by n-3 Fatty Acids in Inflammation and Cancer: Implications for Use of Lipids During Nutrition Support. *Nutr Clin Practice*. 2007; 22:74-88.
- 32.Shaikh SR, Rockett BD, Salameh M, Carraway K. Docosahexaenoic acid modifies the clustering and size of lipid rafts and the lateral organization and surface expression of MHC class I of EL4 cells. *J Nutr*. 2009; 139:1632-39.

-
33. Kim W, Fan YY, Barhoumi R, Smith R, McMurray DN, Chapkin RS. n-3 polyunsaturated fatty acids suppress the localization and activation of signaling proteins at the immunological synapse in murine CD4+ T cells by affecting lipid raft formation. *J Immunol.* 2008; 181:6236-43.
34. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg.* 1992; 79:757-60.
35. Wu FP, Sietses C, von Blomberg BM, van Leeuwen PA, Meijer S, Cuesta MA. Systemic and peritoneal inflammatory response after laparoscopic or conventional colon resection in cancer patients: a prospective, randomized trial. *Dis Colon Rectum.* 2003; 46:147-55.
36. Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth.* 2000; 85:109-17.
37. Ni Choileain N, Redmond HP. Cell response to surgery. *Arch Surg.* 2006; 141:1132-40.
38. Ohzato H, Yoshizaki K, Nishimoto N, Ogata A, Tagoh H, Monden M, Gotoh M, Kishimoto T, Mori T. Interleukin-6 as a new indicator of inflammatory status: detection of serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein after surgery. *Surgery.* 1992; 111:201-09.
39. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today.* 1994; 15:74-80.
40. Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW. Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood.* 1994; 83:113-18.

41. Sheeran P, Hall GM. Cytokines in anaesthesia. *Br J Anaesth*. 1997; 78:201-19.
42. Phipps RP, Stein SH, Roper RL. A new view of prostaglandin E regulation of the immune response. *Immunol Today*. 1991; 12:349-52.
43. Klava A, Windsor AC, Farmery SM, Woodhouse LF, Reynolds JV, Ramsden CW, Boylston AW, Guillou PJ. Interleukin-10: a role in the development of postoperative immunosuppression. *Arch Surg*. 1997; 132:425-29.
44. Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun*. 1997; 65:2283-91.
45. Schinkel C, Sendtner R, Zimmer S, Faist E. Functional analysis of monocyte subsets in surgical sepsis. *J Trauma*. 1998; 44:743-48.
46. Wakefield CH, Carey PD, Foulds S, Monson JR, Guillou PJ. Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T-cells of patients developing infection after surgery. *Br J Surg*. 1993; 80:205-9.
47. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, Ang D, Bihorac A, McKinley BA, Moldawer LL, Moore FA. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012; 72:1491-501.
48. van der Meij BS, van Bokhorst-de van der Schueren MA, Langius JA, Brouwer IA, van Leeuwen PA. n-3 PUFAs in cancer, surgery, and

critical care: a systematic review on clinical effects, incorporation, and washout of oral or enteral compared with parenteral supplementation.

Am J Clin Nutr. 2011 Sep 21. [Epub ahead of print].

49. Torrinhas R, Waitzberg D. Major abdominal surgery can lead to an excessive systemic inflammatory response, which in turn increases the risk of postoperative complications and multiple organ failure. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2011; 35:292-4.
50. Waitzberg DL, Torrinhas RS, Jacintho TM. New parenteral lipid emulsions for clinical use. *JPEN J Parent Enteral Nutr.* 2006; 30:351–367.
51. Carpentier YA, Hacquebard M. Intravenous lipid emulsions to deliver omega 3 fatty acids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2006; 75:145-8.
52. Grimm H, Tibell A, Norrlind B, Clecher C, Wilker S, Schwemmle K. Immunoregulation by parenteral lipids: impact of the n-3 to n-6 fatty acid ratio. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1994; 18:417–21.
53. Morlion BJ, Torwesten E, Lessire H, Sturm G, Peskar BM, Fürst P, Puchstein C. The effect of parenteral fish oil on leukocyte membrane fatty acid composition and leukotriene-synthesizing capacity in patients with postoperative trauma. *Metabolism.* 1996; 45:1208-13.
54. Liang B, Wang S, Ye Ying-Jiang, Yang Xiao-Dong, Wang You-Li, Qu J, Xie Qi-Wei, Yin Mu-Jun Impact of postoperative omega-3 fatty acid-supplemented parenteral nutrition on clinical outcomes and immunomodulations in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14:2434-9

- 55.Schauder P, Röhn U, Schäfer G, Korff G, Schenk HD. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on DNA synthesis, cytokine release and receptor expression by lymphocytes in the postoperative period. *Br J Nutr.* 2002; 87:S103–S110.
- 56.Weiss G, Meyer F, Matthies B, Pross M, Koenig W, Lippert H. Immunomodulation by perioperative administration of n-3 fatty acids. *Br J Nutr.* 2002; 87:S89–S94.
- 57.Wachtler P, König W, Senkal M, Kemen M, Köller M. Influence of a total parenteral nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytes and systemic cytokine levels in patients with major surgery. *J Trauma.* 1997; 42:191-8.
- 58.Heller AR, Rössel T, Gottschlich B, Tiebel O, Menschikowski M, Litz RJ, Zimmermann T, Koch T. Omega-3 fatty acids improve liver and pancreas function in postoperative cancer patients. *Int J Cancer.* 2004; 111:611-6.
- 59.Jiang ZM, Wilmore DW, Wang XR, Wei JM, Zhang ZT, Gu ZY, Wang S, Han SM, Jiang H, Yu K. Randomized clinical trial of intravenous soybean oil alone versus soybean oil plus fish oil emulsion after gastrointestinal cancer surgery. *Br J Surg.* 2010; 97:804-9.
- 60.Badía-Tahull MB, Llop-Talaverón JM, Leiva-Badosa E, Biondo S, Farran-Teixidó L, Ramón-Torrell JM, Jódar-Masanes R. A randomised study on the clinical progress of high-risk elective major gastrointestinal surgery patients treated with olive oil-based parenteral nutrition with or without a fish oil supplement. *Br J Nutr.* 2010; 104:737-41.

-
61. Tsekos E, Reuter C, Stehle P, Boeden G. Perioperative administration of parenteral fish oil supplements in a routine clinical setting improves patient outcome after major abdominal surgery. *Clin Nutr.* 2004; 23:325–30.
62. Chen B, Zhou Y, Yang P, Wan HW, Wu XT. Safety and efficacy of fish oil-enriched parenteral nutrition regimen on postoperative patients undergoing major abdominal surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2010; 34:387-94.
63. Jolliet P, Pichard C. Immunonutrition in the critically ill. *Intensive Care Med.* 2005; 25:631-3.
64. Schlotzer E, Kanning U. Elimination and tolerance of a new parenteral lipid emulsion (SMOF)--a double-blind cross-over study in healthy male volunteers. *Ann Nutr Metab.* 2004; 48:263-8.
65. Grimm H, Mertes N, Goeters C, Schlotzer E, Mayer K, Grimmering F, Fürst P. Improved fatty acid and leukotriene pattern with a novel lipid emulsion in surgical patients. *Eur J Nutr.* 2006; 45:55-60.
66. Schade I, Röhm KD, Schellhaass A, Mengistu A, Boldt J, Piper SN. Inflammatory response in patients requiring parenteral nutrition: comparison of a new fish oil containing emulsion (SMOFlipid®) versus an olive/soybean oil-based formula. *Crit Care.* 2008; 12:s56-s57.
67. Senkal M, Geier B, Hannemann M, Deska T. Supplementation of ω -3 fatty acids in parenteral nutrition beneficially alters phospholipid fatty acid pattern. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2007; 31:12-7.

68. Berger MM, Tappy L, Revelly JP, Koletzko BV, Gepert J, Corpataux JM, Cayeux MC, Chioloro RL. Fish oil after abdominal aorta aneurysm surgery. *Eur J Clin Nutr.* 2008; 62:1116-22.
69. Wichmann MW, Thul P, Czarnetzki H-D, Morlion BJ, Kemen M, Jauch K-W. Evaluation of clinical safety and beneficial effects of a fish oil containing lipid emulsion (Lipoplus, MLF541): data from a prospective, randomized, multicenter trial. *Crit Care Med.* 2007; 35:700-6.
70. Köller M, Senkal M, Kenen M, König W, Zumbel V, Muhr G. Impact of omega-3 fatty acid enriched TPN on leukotriene synthesis by leukocytes after major surgery. *Clin Nutr.* 2003; 22:59-64.
71. Ma CJ, Sun LC, Chen FM, Lu CY, Shih YL, Tsai HL, Chuang JF, Wang JY. A double-blind randomized study comparing the efficacy and safety of a composite vs a conventional intravenous fat emulsion in postsurgical gastrointestinal tumor patients. *Nutr Clin Pract.* 2012; 27:410-5.
72. Zhu X, Wu Y, Qiu Y, Jiang C, Ding Y. Effects of ω -3 Fish Oil Lipid Emulsion Combined With Parenteral Nutrition on Patients Undergoing Liver Transplantation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2012. [Epub ahead of print]
73. Zhu MW, Tang DN, Hou J, Wei JM, Hua B, Sun JH, Cui HY. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on elderly patients after colorectal cancer surgery. *Chin Med J (Engl).* 2012; 125:178-81.
74. Cury-Boaventura MF, Torrinhas RS, Godoy AB, Curi R, Waitzberg DL. Human Leukocyte Death After a Preoperative Infusion of Medium/Long-Chain Triglyceride and Fish Oil Parenteral Emulsions: A

-
- Randomized Study in Gastrointestinal Cancer Patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2012. [Epub ahead of print]
- 75.Han YY, Lai SL, Ko WJ, Chou CH, Lai HS. Effects of fish oil on inflammatory modulation in surgical intensive care unit patients. *Nutr Clin Pract.* 2012; 27:91-8.
- 76.Wang J, Yu JC, Kang WM, Ma ZQ. Superiority of a fish oil-enriched emulsion to medium-chain triacylglycerols/long-chain triacylglycerols in gastrointestinal surgery patients: a randomized clinical trial. *Nutrition.* 2012; 28:623-9.
- 77.Braga M, Ljungqvist O, Soeters P, Fearon K, Weimann A, Bozzetti F; ESPEN. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: surgery. *Clin Nutr.* 2009; 28:378-86.
- 78.Piper SN, Schade I, Beschmann RB, Maleck WH, Boldt J, Röhm KD. Hepatocellular integrity after parenteral nutrition: comparison of a fish-oil-containing lipid emulsion with an olive-soybean oil-based lipid emulsion. *Eur J Anaesthesiol.* 2009; 26:1076-82.
- 79.Mertes N, Grimm H, Fürst P, Stehle P. Safety and efficacy of a new parenteral lipid emulsion (SMOFlipid) in surgical patients: a randomized, double-blind, multicenter study. *Ann Nutr Metab.* 2006; 50:253-9.
- 80.Vallejo R, Hord ED, Barna SA, Santiago-Palma J, Ahmed S. Perioperative immunosuppression in cancer patients. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2003; 22:139-46.
- 81.Weimann A, Braga M, Harsanyi L, Laviano A, Ljungqvist O, Soeters P; DGEM (German Society for Nutritional Medicine), Jauch KW, Kemen

M, Hiesmayr JM, Horbach T, Kuse ER, Vestweber KH; ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition). ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including organ transplantation. *Clin Nutr.* 2006; 25:224-44.

82. Peter JV, Moran JL, Phillips-Hughes J. A metaanalysis of treatment outcomes of early enteral versus early parenteral nutrition in hospitalized patients. *Crit Care Med.* 2005; 33:213–20

83. Mayer K, Meyer S, Reinholz-Muhly M, Maus U, Merfels M, Lohmeyer J, Grimminger F, Seeger W. Short-time infusion of fish oil-based lipid emulsions, approved for parenteral nutrition, reduces monocyte proinflammatory cytokine generation and adhesive interaction with endothelium in humans. *J Immunol.* 2003; 171:4837-43.

84. Instituto Nacional do Câncer. Câncer colorretal, tratamento. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível no site: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colorretal/tratamento>. Último acesso em Setembro de 2012.

85. Instituto Nacional do Câncer. Câncer de estômago, tratamento. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível no site: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/estomago/tratamento>. Último acesso em Setembro de 2012.

86. Cataldi-Betcher EL, Seltzer MH, Slocum BA, Jones KW. Complications occurring during enteral nutrition support: a prospective study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1983; 7:546-52.

-
87. Buzby GP, Mullen JL, Matthews DC, Hobbs CL, Rosato EF. Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery. *Am J Surg.* 1980; 139:160-7.
88. Bland J.M., Altman D.G. (1997). Statistics notes: Cronbach's alpha. *BMJ* 1997; 314:572.
89. Ottery FD. Patient-Generated Subjective Global Assessment. In: The Clinical Guide to Oncology Nutrition. 1st ed. PD McCallum & CG Polisena, 2000; 11-23.
90. Bahadori B, Uitz E, Thonhofer R, Trummer M, Pestemer-Lach I, McCarty M, Krejs GJ. Omega-3 Fatty acids infusions as adjuvant therapy in rheumatoid arthritis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2010; 34:151-5
91. Khor BS, Liaw SJ, Shih HC, Wang LS. Randomized, double blind, placebo-controlled trial of fish-oil-based lipid emulsion infusion for treatment of critically ill patients with severe sepsis. *Asian J Surg.* 2011;34:1-10.
92. Marik PE, Zaloga GP. Immunonutrition in high-risk surgical patients: a systematic review and analysis of the literature. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2010; 34:378-86.
93. Waitzberg DL, Saito H, Plank LD, Jamieson GG, Jagannath P, Hwang TL, Mijares JM, Bihari D. Postsurgical infections are reduced with specialized nutrition support. *World J Surg.* 2006; 30:1592-1604.
94. Grau T, Ruiz de Adana JC, Zubillaga S, Fuerte S, Girón C. Randomized study of two different fat emulsions in total parenteral

- nutrition of malnourished surgical patients: effect of infectious morbidity and mortality. *Nutr Hosp.* 2003; 18:159– 66.
- 95.Lai H, Chen W. Effects of medium-chain and long-chain triacylglycerols in pediatric surgical patients. *Nutrition.* 2000; 16:401–6.
- 96.Waitzberg DL, Bellinati-Pires R, Salgado MM, Hypolito IP, Colleta GM, Yagi O, Yamamuro EM, Gama-Rodrigues J, Pinotti HW. Effect of total parenteral nutrition with different lipid emulsions of human monocyte and neutrophil functions. *Nutrition.* 1997; 13:128–32.
- 97.Stanková J, Rola-Pleszczynski M. Interleukin 6 production by mononuclear phagocytes can be stimulated by leukotrienes. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 1992; 40:17-21.
- 98.Poubelle PE, Stankova J, Grassi J, Rola-Pleszczynski M. Leukotriene B up-regulates IL-6 rather than IL-1 synthesis in human monocytes. *Agents & Actions.* 1991; 34:42-5.
- 99.Mokart D, Textoris J, Chow-Chine L, Brun JP, Sannini A, Turrini O, Blache JL, Arnoulet C, Sainty D, Leone M.HLA-DR and B7-2 (CD86) monocyte expressions after major cancer surgery: profile in sepsis. *Minerva Anesthesiol.* 2011 May; 77:522-7.
100. Utoh J, Yamamoto T, Utsunomiya T, Kambara T, Goto H, Miyauchi Y. Effect of surgery on neutrophil functions, superoxide and leukotriene production. *Br J Surg.* 1988 Jul; 75:682-5.
101. Pricop L, Gokhale J, Redecha P, Ng SC, Salmon JE. Reactive Oxygen Intermediates Enhance Fcγ Receptor Signaling and Amplify Phagocytic Capacity. *J Immunol.* 1999; 162:7041-8.

-
102. Hietbrink F, Koenderman L, Althuisen M, Leenen LP. Modulation of the innate immune response after trauma visualised by a change in functional PMN phenotype. *Injury*. 2009; 40:851-5.
 103. Health statistics and health information systems. Definition of an older or elderly person [*World Health Organization* (WHO) web site]. Available at: <http://www.who.int/healthinfo/survey/ageingdefnolder/en/index.html>. Accessed may, 2011.
 104. Bochicchio GV, Joshi M, Knorr KM, Scalea TM. Impact of nosocomial infections in trauma: does age make a difference? *J Trauma*. 2001; 50:612-7.
 105. Avci M, Ozgenc O, Coskuner SA, Olut AI. Hospital acquired infections (HAI) in the elderly: Comparison with the younger patients. *Arch Gerontol Geriatr*. 2011; [Epub ahead of print].
 106. Christou NV, Tellado-Rodriguez J, Chartrand L, Giannas B, Kapadia B, Meakins J, Rode H, Gordon J. Estimating mortality risk in preoperative patients using immunologic, nutritional, and acute-phase response variables. *Ann Surg*. 1989; 210:69-77.