

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA**

HAROLDO DA SILVA SANTANA

Estado nutricional, estresse oxidativo e inflamatório de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia

**Ribeirão Preto
2017**

HAROLDO DA SILVA SANTANA

Estado nutricional, estresse oxidativo e inflamatório de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Clínica Médica

Modalidade: Investigação Biomédica

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Selma Freire de C. da Cunha

**Ribeirão Preto
2017**

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

Catálogo da Publicação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

FICHA CATALOGRÁFICA

Santana, Haroldo da Silva

Estado nutricional, estresse oxidativo e inflamatório de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia. Haroldo da Silva Santana; orientadora: Selma Freire de Carvalho Cunha - Ribeirão Preto, 2017

Tese (doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Clínica Médica. 2017

1. Câncer pancreático. 2. Câncer da ampola de Vater. 3. Quimioterapia 4. Citocinas inflamatórias. 5. Estresse oxidativo.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: SANTANA, Haroldo da Silva

Título: Estado nutricional, estresse oxidativo e inflamatório de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Investigação Biomédica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu amado pai **João** e à minha mãe **Lourdes**, exemplo maior de determinação e amor, sempre presentes em meu coração.

Aos meus irmãos **Ciríaca, Elcior, José Augusto e Telma**, e em especial ao **João**, inspiração reluzente sobre a aventura do conhecimento. Desde o início.

A **Águida**, minha muito amada e companheira sempre.

Aos meus filhos **Flora, Lara e Haroldo**, a quem devo a vida.

À **Maria** presença silenciosa e imprescindível no corriqueiro da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

À estimada Prof^a. Dr^a. Selma Freire de Carvalho da Cunha, pela efetiva contribuição na discussão do tema e na construção do trabalho. Pela paciência e sabedoria com que conduziu essa caminhada. Pelo olhar preciso e crítico quando entregava os relatórios. Agradeço pela confiança de que chegaria ao final do doutorado.

À Susana Merino, pelo apoio imprescindível. Obrigado pela amizade e disponibilidade durante este tempo.

À Monica Silva de Souza Meirelles, pelo apoio técnico e dedicação desprendida na execução deste estudo.

Ao Prof. Dr. José Sebastião dos Santos, pelas sugestões desde quando iniciamos esse trabalho e pelas valiosas observações quando da qualificação e que foram inseridos no trabalho.

À Dra Liane Rapatoni, pelo apoio acerca do tratamento oncológico dos voluntários dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Rafael Kemp pelas sugestões e comentários valiosos de correção do trabalho.

Aos professores do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pela competência e capacidade de transmitir seus conhecimentos. Não achei isso adequado. Eu tiraria.

Ao Emerson Quirino Oliveira e Airton S. Isiara, funcionários da Secretaria da Pós-Graduação do Departamento de Clínica Médica, pela disponibilidade e grande auxílio nas demandas surgidas durante o processo de doutorado.

À Sra. Ivana Clemente, Gestora Municipal de Saúde de Ipuã, que compreendeu que a pós-graduação é a forma superior de qualificar a atenção primária.

À Equipe de Saúde da Família José Florivaldo de Ipuã, que se organizou para que minhas ausências devido ao doutorado não fossem tão sentidas pela população sob meus cuidados.

E aos voluntários da pesquisa, razão maior de existir esse trabalho, meu muito obrigado.

RESUMO

SANTANA, H.S.

Estado nutricional, estresse oxidativo e inflamatório de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia. 2017. 78 f. (Tese) Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2017.

Objetivos: Avaliar o efeito da ressecção tumoral e da quimioterapia sobre o estado nutricional e os marcadores séricos/plasmáticos do estado inflamatório e do estresse oxidativo de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática. **Casuística:** O estudo prospectivo e longitudinal foi conduzido com pacientes adultos com neoplasia maligna da confluência biliopancreática (Grupo Câncer, n=10) que foram submetidos à ressecção tumoral seguida de quimioterapia, conforme diretrizes internacionais estabelecidas na rotina do Serviço de Gastrocirurgia e de Oncologia Clínica da HCFMRP-USP. O estudo incluiu também voluntários saudáveis (Grupo Controle, n=10), pareados para a idade, gênero e condição socioeconômica. **Métodos:** Os pacientes do Grupo Câncer foram avaliados em duas ocasiões distintas, sendo a primeira no pré-operatório da ressecção tumoral e a segunda, após o término da quimioterapia. Antes da cirurgia, os pacientes foram questionados sobre a evolução ponderal, foram feitas as medidas de composição corporal e aplicaram-se questionários de qualidade de vida e de fadiga. Foi feita a coleta de sangue para avaliação laboratorial do estado clínico e nutricional, que incluiu a determinação de proteínas séricas, albumina, zinco e cobre. Foram avaliados os marcadores de estresse oxidativo como: superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), malondialdeído (MDA) e vitamina E. Foram dosadas as citocinas séricas: interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interferon gama (INF γ). Todas as análises foram repetidas num período médio de 50 dias após término da quimioterapia. O Grupo Controle foi submetido aos mesmos procedimentos, em apenas uma ocasião. A análise estatística foi feita com o *software* Statistica 8.0, usando o teste não paramétrico de Wilcoxon pareado ou teste não paramétrico de Mann Whitney. Para todas as análises, foi estabelecido um nível de significância de 5%. **Resultados:** O IMC, a massa gorda e a massa magra do Grupo Câncer mantiveram-se inalterados nos dois momentos da avaliação. Os pacientes relataram média de 20% de perda de peso antes do diagnóstico do tumor, mas não houve perda de peso durante o tratamento oncológico. A qualidade de vida e de fadiga não se alterou no período de estudo e os pacientes mantiveram escores elevados nos dois momentos da avaliação. A SOD e a GPx mantiveram-se elevadas no pré-operatório e após a quimioterapia em relação ao Grupo Controle. O MDA não se alterou em nenhum momento do estudo. No pré-operatório, a TNF- α foi mais elevada em relação ao Grupo Controle, mantendo-se elevada após a quimioterapia. A IL-6 mostrou-se elevada antes da ressecção tumoral e apresentou aumento adicional após o tratamento oncológico. A IL-1 β foi menor no pré-operatório em relação ao Grupo Controle. A IL-10 estava elevada no pré-operatório, reduziu na 2ª coleta, porém manteve-se elevada em relação ao Grupo Controle. **Conclusões:** Os dados obtidos

indicam que os pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática apresentaram perda ponderal anterior ao diagnóstico, mas houve estabilização do peso, da composição corporal e dos escores de qualidade de vida e de fadiga após a ressecção tumoral e o uso de drogas antineoplásicas. Os pacientes mantiveram níveis elevados de IL-6, IL-10 e TNF- α indicando atividade neoplasia e pior prognóstico. Os níveis séricos de SOD e de GPx mantiveram-se altos durante todo o seguimento, provavelmente mantendo um equilíbrio oxidativo que preveniu a peroxidação lipídica. A vitamina E reduziu após quimioterapia, o que sugere necessidade de reposição desta vitamina em pacientes que recebem drogas antineoplásicas.

Palavras-chave: Câncer pancreático. Câncer da ampola de Vater. Quimioterapia
Citocinas inflamatórias. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

SANTANA, H.S.

Nutritional status, oxidative and inflammatory stress of patients with malignant biliopancreatic confluence prior to tumor resection and after chemotherapy.

2017. 78 f. (Tese) Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2017.

Objective: To evaluate the effect of tumor resection and chemotherapy on nutritional status and serum / plasma oxidative and inflammatory stress markers in patients with malignant neoplasm of biliopancreatic confluence. The prospective and longitudinal study was conducted with 10 adult patients of both genders with malignant neoplasm of biliopancreatic confluence (Group Cancer, n = 10) who underwent tumor resection followed by chemotherapy, according to established international guidelines followed in the routine of the Service of Gastrocirurgia and of Clinical Oncology of the HCFMRP-USP. The study also included 10 healthy volunteers (Control Group, n = 10), matched for age and gender. **Methods:** Patients of the Cancer Group were evaluated on two different occasions, the first one in the preoperative period of tumor resection and after the end of chemotherapy. Before resection, the patients were questioned about the weight evolution, the measurements of body composition were made and quality of life and fatigue questionnaires were applied. Blood samples were collected for laboratory evaluation of clinical and nutritional status, including determination of serum proteins, including albumin, in addition to zinc and copper. We evaluated superoxide dismutase, glutathione peroxidase, malondialdehyde and vitamin E, in addition to IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , and INF γ . All analyzes were repeated within a mean period of 50 days after chemotherapy was completed. Statistical analysis was performed using the Statistica 8.0 software, using the non-parametric Wilcoxon paired test or the non-parametric Mann Whitney test. For all analyzes, a significance level of 5% was established. **Results:** The BMI, fat mass and lean mass of the Cancer Group remained unchanged at both moments of the evaluation. In our study, patients reported weight loss before surgical treatment, averaging 20% of the weight before diagnosis of the tumor. During cancer treatment, there was no significant weight loss. Quality of life and fatigue did not change during the study period and had elevated scores. SOD and GPx are elevated preoperatively and post-chemotherapy in relation to the Control Group. MDA did not change at any point in the study. In relation to cytokines, TNF- α is higher in the preoperative period than in the Control Group, which remains high after chemotherapy and with a significant difference in relation to the Control Group. IL-6 was significantly elevated prior to tumor resection and further increased after resection and chemotherapy. IL-1 β was lower preoperatively than in the Control Group. IL-10 is elevated

preoperatively, reduced in the second collection, but remained elevated significantly in relation to the Control Group. In conclusion, the data obtained in the present study indicate that patients with malignant neoplasm of biliopancreatic confluence submitted to tumor resection followed by chemotherapy presented weight loss prior to diagnosis, but there was stabilization of weight, body composition and quality of life scores and of fatigue after the use of antineoplastic drugs. On the other hand, serum levels of SOD and GPx remained high throughout the follow-up, probably maintaining an oxidative balance that prevented lipid peroxidation. Vitamin E reduced after chemotherapy, which suggests that this vitamin should be replenished in patients receiving antineoplastic drugs. In parallel, patients maintained high levels of IL-6, IL-10 and TNF- α indicating advanced cancer and worse prognosis.

Keywords: Oxidative stress. Inflammatory stress. Chemotherapy. Cancer of biliopancreatic confluence.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. A região da confluência biliopancreática e suas principais correlações anatômicas.....	22
Figura 2. Estrutura química da gemcitabina a partir da desoxirribose	24
Figura 3. Fontes, regulação e resultados das EROs.....	26
Figura 4. Diagrama do recrutamento de pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática.....	34
Figura 5. Delineamento experimental do estudo.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados sócio-demográficos, sítio tumoral e classificação TNM, história de drenagem biliar, tempo entre os diversos procedimentos nos voluntários do Grupo Câncer.	36
Tabela 2 - Dados demográficos e condições mórbidas associadas nos voluntários do Grupo Controle.	37
Tabela 3 - Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) dos dados antropométricos de 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e 10 pacientes do grupo controle.	45
Tabela 4. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) dos dados laboratoriais em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e em 10 voluntários controles	46
Tabela 5. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da pontuação do FACIT TOTAL e FATIGUE em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação.	47
Tabela 6. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da concentração sérica das antioxidantes e marcador de peroxidação lipídica em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e em 10 voluntários controles.	48
Tabela 7. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da concentração sérica das citocinas em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e em 10 voluntários controles.	49

LISTA DE ABREVIÇÕES

AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase
BIA	Bioimpedância elétrica
Cu	Cobre
5FU	5-fluorouracil
Cu/Zn-SOD	Superóxido dismutase de cobre e zinco
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EcSOD	Superóxido dismutase extra-celular
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EROs	Espécies reativas de oxigênio
F	Feminino
FACIT - F	<i>The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy – Fatigue</i>
GSH	Glutathiona reduzida
GPx	Glutathiona peroxidase
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
Hb	Hemoglobina
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HPLC	<i>High Performance Liquide Chromatography</i> / Cromatografia líquida de alta eficiência
HO₂	Peroxila
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HCIO	Ácido hipocloroso
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IFN-γ	Interferon gama
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IMC	Índice de massa corporal
INCA	Instituto Nacional do Câncer
M	Masculino
MDA	Malondialdeido
Mn-SOD	Surperóxido dismutase de manganês
NaCl	Cloreto de sódio
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NO	Óxido nítrico
NS	Não significativo
pH	Potencial de hidrogênio
PCR	Proteína C Reativa
PIC	Programa de integração comunitária
QTx	Quimioterapia
O₂	Ânion superóxido
O₂[·]	Radical superóxido
OH[·]	Radical hidroxil
ONOO	Peroxinitrito
RPM	Rotação por minuto
SOD	Superóxido dismutase
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TNM	Classificação de tumores malignos. T: extensão do tumor primário; N: presença de metástase em linfonodo regional; M: metástase à distância.
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico pirúvica
USP	Universidade de São Paulo
WHO	World Health Organization
Zn	Zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcento
d	Dia
kHz	Quilohertz
±	Mais ou menos
µg	Micrograma
µL	Microlitro
°C	Grau Celsius
rpm	Rotação por minuto
mm	Milímetro
kcal	Quilocalorias
nm	Nanômetro
ng	Nanograma
cm	Centímetros
m	Metro
m²	Metro ao quadrado
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mmol	Milimol
l	Litro
dl	Decilitro
µM	Micromolar
µmol	Micromol
M	Molar
pg	Picograma
mg	Miligrama
g	Grama
Kg	Quilogramas
U	Unidades

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
1.1. Neoplasia da confluência biliopancreática	21
1.2. Estresse Oxidativo	24
1.3. Estresse Oxidativo como resultado da resposta tumoral e das terapias antineoplásicas	26
1.4. Estresse Inflamatório como resultado da resposta tumoral e das terapias antineoplásicas	27
2. OBJETIVOS DO ESTUDO	29
2.1. Objetivo Geral	30
2.2. Objetivos específicos	30
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
3.1. Local e aspectos éticos	32
3.2. Critérios de Inclusão	33
3.3. Critérios de Exclusão	33
3.4. Seleção da casuística e grupos de estudo	33
3.5. Delineamento experimental	34
3.6. Tratamento	37
3.7. Métodos	38
3.7.1. Avaliação sócio-econômica	38
3.7.2. Questionário de intensidade da fadiga	38
3.7.3. Questionário de qualidade de vida	39
3.7.4. Avaliação laboratorial clínica e do estado nutricional	
3.7.4.1. Exame laboratorial e avaliação nutricional	39
3.7.4.2. Superóxido dismutase	39
3.7.4.3. Glutathione Peroxidase	40
3.7.4.4. Malondialdeído	40
3.7.4.5. Vitamina E	40
3.7.4.6. Ensaio do Multiplex para quantificação de citocinas	42
3.8. Análise Estatística	42
4. RESULTADOS	44
4.1. Avaliação laboratorial clínica e do estado nutricional	45
4.2. Qualidade de vida e fadiga	47
4.3. Antioxidantes e peroxidação lipídica	47
4.4. Citocinas	49
5. DISCUSSÃO	50
5.1. Avaliação laboratorial clínica e do estado nutricional	51
5.2. Escore de qualidade de vida e fadiga	52

5.3.	Antioxidantes e peroxidação lipídica	55
5.4.	Citocinas	57
6.	CONCLUSÕES	61
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
8.	APÊNDICES	
8.1.	Apêndice A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	
8.2.	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
9.	ANEXOS	
9.1.	ANEXO A – Questionário Socioeconômico	
9.2.	ANEXO B – Questionário de qualidade de vida e fadiga	

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Neoplasia da confluência biliopancreática

O câncer constitui um conjunto de doenças em que há crescimento e divisão desordenados de células, em consequência da quebra dos mecanismos reguladores responsáveis pela proliferação, diferenciação e sobrevivência celulares normais. As mutações genéticas, as anomalias citogenéticas, as alterações epigenéticas e fenotípicas causam dano no ácido desoxirribonucléico (DNA), o que leva à carcinogênese. As células anormais adquirem a capacidade de invadir tecidos adjacentes, disseminar-se por via linfática e hematogênica, atingir os linfonodos regionais e órgãos distantes (Hanahan; Weinberg, 2011; Hadju; Vadmal; Tang, 2015).

O câncer é uma das causas de mortalidade mais importantes no mundo todo e a segunda causa de morte após as doenças cardiovasculares (World Health Organization, 2007). Atualmente, a maioria dos casos de câncer ocorre em países em desenvolvimento e o uso de tabaco e álcool, hábitos alimentares e o padrão de atividade física podem resultar em modificações nos fatores de risco da doença nesses países (Ferlay et al., 2010).

Segundo estudo do *Global Burden Disease*, em 2015 foram documentados 17,5 milhões de casos de câncer no mundo, 8,7 milhões de óbitos e 208,3 milhões de dias perdidos ou vividos com incapacidade. Entre 2005 e 2015, a incidência de casos de câncer aumentou 33%, sendo 12,6% atribuídos ao crescimento populacional e 16,4% ao envelhecimento. Em homens, o câncer mais comum foi o de próstata (1,6 milhões de casos) e em mulheres foi o câncer de mama, com 2,4 milhões de casos (Fitzmaurice et al., 2016).

A confluência biliopancreática é constituída pela porção intra-pancreática das vias biliares, pela cabeça do pâncreas, pela ampola de Vater, pela porção peripancreática do duodeno, pela papila duodenal e por outras estruturas vasculares, nervosas e linfáticas (Figura 1). As neoplasias da confluência biliopancreática compreendem, principalmente, o tumor da cabeça pancreática, o colangiocarcinoma distal, o tumor da ampola de Vater e o adenocarcinoma duodenal.

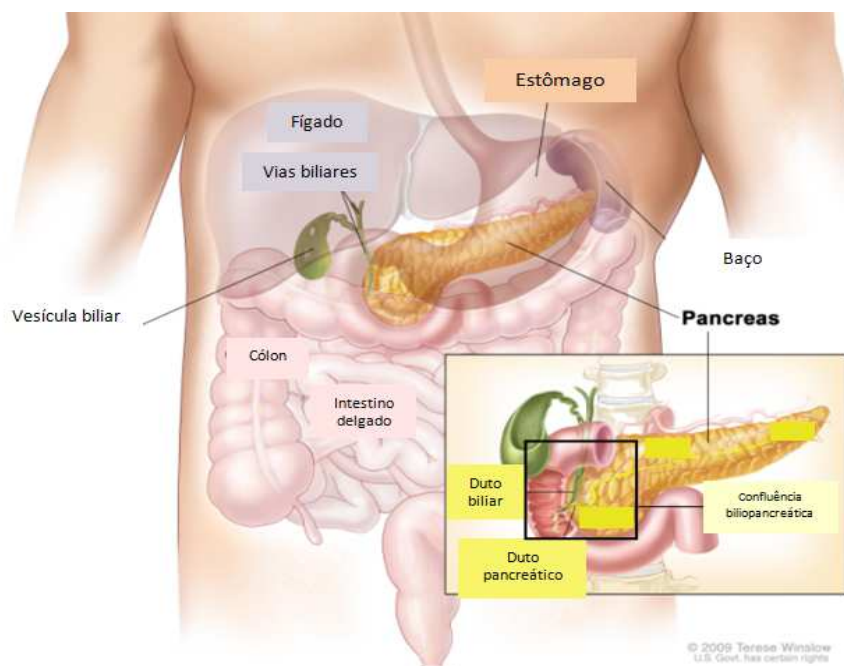


Figura 1 – A região da confluência biliopancreática e suas principais correlações anatômicas. Adaptado do *National Cancer Institute*.

Nos últimos anos, a nomenclatura “neoplasia da confluência biliopancreática” tem sido utilizado em substituição ao termo “neoplasia de pâncreas”. Essa designação se justifica porque as neoplasias da confluência biliopancreática apresentam sintomatologia em comum e são passíveis do mesmo tratamento cirúrgico. Além disso, nem sempre é possível reconhecer precisamente o sítio original da neoplasia (Bastos, 1965).

No mundo, o câncer de pâncreas é o 12º em incidência e 7º em mortalidade. A estimativa para 2012 foi de 337.872 casos novos (2,4% do total) e 330.372 óbitos (4% do total). O câncer de pâncreas é mais freqüente em homens e tem apresentado um número crescente de casos nos países desenvolvidos, onde é mais comum e usualmente fatal (World Health Organization, 2014). No Brasil, o câncer de pâncreas representa 2% de todos os tipos de câncer, sendo responsável por 4% do total de mortes por neoplasia (Instituto Nacional do Câncer, 2014). Este tipo de neoplasia é rara antes dos 45 anos e a incidência aumenta com a idade. Os principais fatores de risco incluem a pancreatite crônica, o tabagismo, o diabetes mellitus e a predisposição genética ao câncer de pâncreas em si ou a múltiplos cânceres (Instituto Nacional do Câncer, 2014). Há evidências que apontam para o

papel da obesidade e da ingestão do álcool como fatores de risco para o câncer de pâncreas (Bracci, 2012; Yadav; Lowenfels, 2013).

O adenocarcinoma ampular é uma neoplasia maligna rara, porém com melhor prognóstico que outros tumores periampulares. O estadiamento histopatológico, o grau de diferenciação do tumor, a invasão de estratos específicos e o padrão histopatológico intestinal ou pancreatobiliar são fatores prognósticos (Vilhordo, 2012). O adenocarcinoma ampular corresponde a 1% dos tumores malignos do tubo digestivo com incidência anual de 0,3 a 0,49 por 100.000 indivíduos.

O prognóstico da neoplasia maligna da confluência biliopancreática é reservado. Apesar de todos os esforços, a sobrevida até 5 anos é menor que 5% no caso de tumores do pâncreas. O prognóstico é atribuído ao quadro clínico silencioso e o diagnóstico tardio, o que predispõe ao desenvolvimento de metástases (Wolfgang et al., 2013). Na ocasião do diagnóstico, mais de 80% dos casos apresentam invasão para o estômago, duodeno, espaço retroperitoneal, linfonodos para-aórticos, veia porta e grandes vasos adjacentes, fígado e espaço peritoneal, além de metástases hematogênicas (Willianson, 1991), justificando o tratamento paliativo (Sánchez, 2004).

A intervenção cirúrgica radical é a modalidade de tratamento com potencial curativo. Uma manifestação clínica comum da neoplasia maligna da confluência biliopancreática é a icterícia obstrutiva que cursa com coloração amarelada da pele e esclera, prurido, colúria e acolia (Wang; Yiyao; Lu, 2013). Provoca ainda insuficiência renal, disfunção cardíaca, dano hepático e alteração na resposta imunológica (Fang et al., 2012). Em algumas situações, a cirurgia em dois tempos tem sido proposta, sendo que a derivação biliar para promover o fluxo biliar e restabelecer função hepática é seguida da ressecção do tumor em até 4 semanas após o primeiro procedimento. Após a ressecção tumoral, segue-se a quimioterapia adjuvante, com protocolos específicos para este tipo de tumor.

Entretanto, a intervenção cirúrgica é factível em apenas 10 a 20% dos casos, mesmo nos serviços especializados (Postier, 2003). A sobrevida é baixa em cinco anos e o prognóstico é pior para os pacientes com tumor irresssecável. Em tais casos, a quimioterapia paliativa pode ser a única alternativa viável de tratamento, podendo prolongar a sobrevivência, resultar em benefícios clínicos e melhorar a qualidade de vida (Yid et al., 2009).

A quimioterapia adjuvante após a ressecção cirúrgica é o tratamento padrão, com o emprego de Gemcitabina ou 5-Fluorouracila (5-FU) durante 6 meses. Não tem sido descrita como diferença importante em termos de sobrevida ou período livre de doença com esses dois fármacos, porém o 5-FU apresenta mais efeitos tóxicos (Liao et al., 2013). Combinações da Gemcitabina com outros citotóxicos, como 5-FU, capecitabina, irinotecan e oxiplatina ou cisplatina não conferem vantagem significativa na sobrevida e não deve ser usada como primeira opção. O protocolo FOLFIRINOX (5-FU, irinotecan e oxiplatina) confere maior sobrevida de pacientes no câncer avançado (Seufferlein et al., 2012).

A gemcitabina (2',2'-difluorodeoxycytidine, dFdC) é um análogo da deoxycitidina no qual átomos de flúor substituem os hidrogênios do carbono 2' da desoxirribose (Figura 2). Os nucleosídeos e análogos são transportados para o interior da célula pelos transportadores de nucleosídeos (hENT: *human Equilibrative Nucleoside Transporters*). O principal transportador de Gemcitabina é o hENT1. Na célula, a droga é fosforilada pelas quinases-nucleosídeo aos nucleosídeos ativos difosfato (dFdCDP) e trifosfato (dFdCTP). A gemcitabina trifosfato é incorporada ao DNA. A ação da gemcitabina parece estar relacionada à inibição da síntese do DNA pela dupla ação do dFdCDP e do dFdCTP, que tem como alvos o DNA e o ácido ribonucleico (RNA), inibindo a DNA polimerase e a ribonucleotídeo redutase (Heinemann et al., 1990); esta última enzima é a única responsável pela catalisação das reações que geram os deoxinucleosídeos trifosfatos para a síntese do DNA. Inicialmente, a inibição desta enzima leva à redução nas concentrações de deoxinucleosídeos em geral, posteriormente, o dFdCTP compete com o dCTP para incorporação no DNA, com conseqüente inibição da síntese e possível entrada da célula em apoptose (Peters et al., 1996).

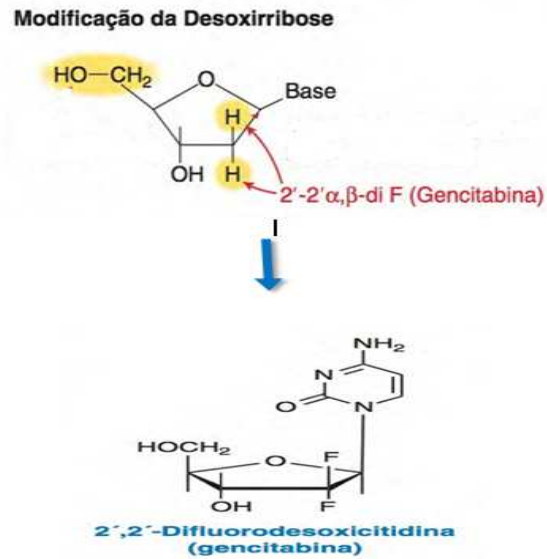


Figura 4: Estrutura química da gencitabina a partir da desoxirribose. Adaptado de Chabner BA et al. 2012

1.2. Estresse oxidativo

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre as reações pró-oxidantes e antioxidantes quando há superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) associada à deficiência de substâncias antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. As EROs são moléculas que contêm um ou mais elétrons não pareados em sua órbita atômica ou molecular. As duas principais fontes de EROs são as mitocôndrias e a família da fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) oxidase (Glasauer; Chandel, 2014).

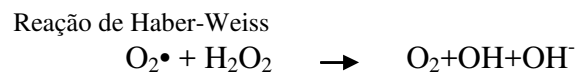
No organismo humano existe produção contínua de EROs, tais como o ânion superóxido (O_2^-), a peroxila (HO_2), o radical hidroxila (OH), óxido nítrico (NO) e outras espécies como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o *singlet* oxigênio (O_2), o ácido hipocloroso (HOCl) e o peroxinitrito ($ONOO^-$) (Lü et al., 2010). O estado redox celular é mantido em limites fisiológicos restritos relacionados ao ferro e cobre. Sob estresse, o excesso de superóxido provoca liberação do ferro livre que pode participar da reação de Fenton, gerando o radical hidroxila, um composto altamente reativo:

Reação de Fenton



A produção de EROs representa um mecanismo já bem estabelecido na destruição de células tumorais (Barrera, 2012). Baixos níveis de EROs são mitogênicos e promovem a proliferação, o crescimento, a angiogênese e a sobrevivência celular de maneira controlada; níveis intermediários resultam em inatividade do ciclo celular e diferenciação celular. Em níveis elevados, as EROs provocam alteração na membrana lipídica, modificam proteínas e causam danos ao DNA gerando instabilidade genômica (Glasauer; Chandel, 2014; Laukkanen, 2016).

O radical superóxido produzido principalmente na mitocôndria participa da reação de Haber-Weiss que combinada com a reação de Fenton e redução do Fe³⁺ pelo superóxido, resulta em Fe²⁺ e oxigênio.



O superóxido é convertido a peróxido de hidrogênio pela ação da superóxido dismutase (SOD) (Figura 3); em seguida, a catalase e a peroxidase convertem H₂O₂ em água (Teoh et al., 2007). O superóxido regula o estado redox no ambiente extracelular (O'Leary et al., 2015).

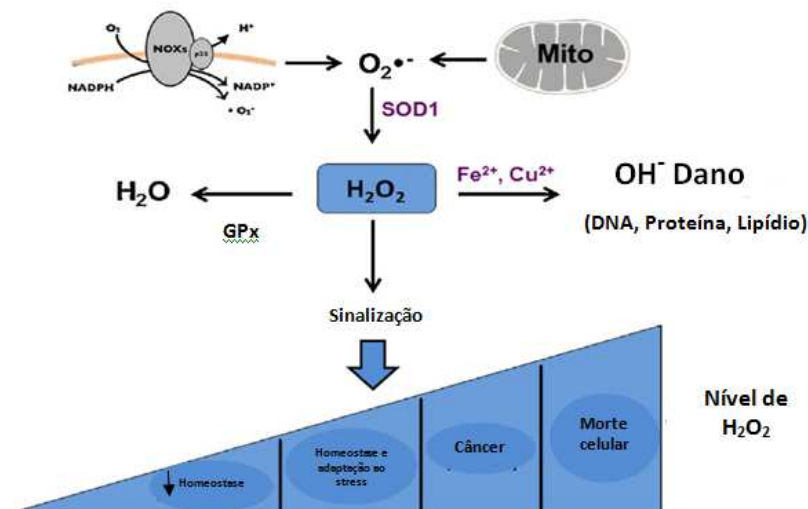


Figura 3: Fontes, regulação e resultados das EROs. Adaptado de Glasauer e Chandel, 2014.

Para proteger as células dos danos provocados pelos EROs, existe o sistema de defesa antioxidante que pode ser classificado como enzimático e não-enzimático.

Os antioxidantes endógenos inativam as EROs e protegem as células da oxidação excessiva. A glutatona, o ubiquinol, a bilirrubina, o ácido úrico e a albumina são considerados antioxidantes endógenos não enzimáticos, enquanto que a superóxido dismutase (SOD), a glutatona peroxidase (GPx) e a catalase são considerados antioxidantes endógenos enzimáticos que protegem as células contra danos oxidativos causados por EROs (Bianchi; Antunes, 1999).

A SOD é uma família de metaloenzimas. Em humanos, há 3 tipos de SOD (Teoh et al., 2007): a) SOD1, que é uma enzima citoplasmática que se liga ao cobre e ao zinco CuZnSOD); b) SOD2, enzima mitocondrial que se liga ao manganês MnSOD) e c) SOD3, enzima extracelular (EcSOD) que usa o cobre como co-fator e possui o zinco em sua estrutura. Tem sido postulado que a EcSOD pode também reduzir a formação do radical altamente reativo, o peroxinitrito (ONOO-) no compartimento extracelular (O'Leary et al., 2015). A SOD1 compreende 90% da SOD na maior parte das células eucarióticas e pode ser encontrada ainda em lisossomos, peroxissomos e, em pequenas quantidades, no núcleo. Há evidências de que a SOD1 está presente também no espaço intermembrana das mitocôndrias (Petersen et al., 2007; Teoh et al., 2007).

O peróxido de hidrogênio é também produzido pela xantina oxidase, aminoácido oxidase, NADPH oxidase (Barrera, 2012). O superóxido pode reagir com o peróxido de hidrogênio e produzir o radical hidroxila. Esse radical é o mais reativo das EROs e pode causar danos em proteínas, lipídios e carboidratos e no DNA. O peróxido de hidrogênio também pode iniciar a peroxidação lipídica retirando um elétron do ácido graxo poliinsaturado, levando à formação do radical hidroxiperóxido lipídico. Essas substâncias são muito instáveis e se decompõem facilmente aos produtos secundários tais como aldeídos e malondialdeído (MDA). Essas alterações podem provocar mudanças na permeabilidade e fluidez da camada lipídica da membrana e alterar integridade celular (Barrera, 2012).

1.3. Estresse oxidativo como resultado da resposta tumoral e das terapias antineoplásicas

Os efeitos biológicos do estresse oxidativo no câncer são diversos e não lineares. Níveis elevados de citotoxicidade por estresse oxidativo inibem a proliferação celular e induzem a morte celular por apoptose/necrose. Por outro lado,

níveis baixos ou intermediários de estresse oxidativo causam danos no DNA, que resultam em mutações, reação inflamatória e proliferação celular. Há dados bem estabelecidos indicando que as EROs representam uma classe de substâncias cancerígenas endógenas que desencadeiam mutação celular (Fang et al., 2009).

Em comparação com as células saudáveis, as células cancerosas apresentam maiores níveis de estresse oxidativo, devido em parte, ao aumento da atividade metabólica secundária à disfunção mitocondrial (Mattson et al., 2009). Especialmente na área central do nódulo ou do tumor sólido, onde há baixa pressão de oxigênio, as células cancerígenas adaptam-se aos níveis baixos de fosforilação oxidativa mitocondrial. Paralelamente, as células cancerosas apresentam maior deficiência de enzimas antioxidantes endógenas, como a catalase, a GPx e a SOD (Cullen; Mitros; Oberley, 2003; Fang et al., 2009).

A ação ótima do agente antineoplásico requer rápida taxa de proliferação celular. A quimioterapia pode aumentar os níveis de EROs, elevar os produtos de peroxidação lipídica, reduzir a capacidade antioxidante plasmática total e a glutatona tecidual (GSH), além de resultar em queda acentuada nos níveis plasmáticos de antioxidantes como vitamina E, vitamina C e beta-caroteno (Conklin, 2000).

1.4. Estresse inflamatório como resultado da resposta tumoral e das terapias antineoplásicas

Nas últimas décadas, tem sido descrito que o câncer desencadeia um estado inflamatório, cujos mediadores químicos podem ser divididos em duas categorias: (1) aqueles cuja fonte é o crescimento tumoral e (2) fatores humorais (principalmente citocinas) secretadas pelas células e tecidos do hospedeiro (Bing; Trayhurn, 2008; Argilés et al., 2009).

As citocinas são proteínas biologicamente ativas que atuam no sistema imune e na inflamação, além de outras funções corporais (Pedersen; Febbraio, 2005). As adipocinas abrangem as citocinas e os peptídeos produzidos e secretados pelos adipócitos, enquanto que as miocinas são produzidas e secretadas pelas fibras musculares (Pedersen; Febbraio, 2005; Pedersen, 2009). As citocinas são representadas pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e seus receptores de membrana (TNFR1A e TNFR1B) (Lira et al., 2009a), as interleucinas (IL), o

interferon-gama (IFN-gama) e as prostaglandinas (Fearon; Moses, 2002; Argilés et al., 2003).

O tecido neoplásico induz a inflamação crônica e a expressão de citocinas pró-inflamatórias produzidas pelo tumor e/ou liberadas pelo sistema imunológico (Gabay; Kushner, 1999; Argilés et al., 2003). As citocinas pró-inflamatórias são consideradas as principais indutoras da lipólise e da proteólise nos diversos tecidos (Argilés et al., 2009), além da propriedade de alterar o perfil hormonal (glicocorticóides, catecolaminas, hormônio do crescimento, entre outros) e de diminuir a produção de diversos agentes anabólicos como o IGF-1 e a insulina (Skipworth et al., 2007). Tais efeitos podem comprometer o metabolismo energético, afetando o funcionamento do fígado, músculos e tecido adiposo (Skipworth et al., 2007).

Há diversos estudos mostrando os níveis de citocinas em sangue periférico (Ebrahimi et al., 2004; Gabitass et al., 2011; Dima et al., 2012; Kaur et al., 2013; Blogowski et al., 2014; Zhang et al., 2014), no tecido tumoral (Bellone et al., 2006; Frick et al., 2008; Chen et al., 2012) no suco pancreático (Noh et al., 2006) e em células mononucleares de sangue periférico (Bellone et al., 2009; Baine et al., 2011) de pacientes com neoplasia de pâncreas. Entretanto, há carência de publicações que avaliem os níveis de citocinas inflamatórias durante o seguimento longitudinal durante o tratamento oncológico.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Comparar o estado nutricional, os marcadores do estado inflamatório e do estresse oxidativo em pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia.

2.2. Objetivos específicos

Em pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia, além de um grupo de indivíduos controles, comparar:

- 1) Comparar o estado nutricional;
- 2) Quantificar os marcadores séricos/plasmáticos do estado inflamatório;
- 3) Quantificar os marcadores séricos/plasmáticos de estresse oxidativo.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Local e aspectos éticos

O estudo prospectivo, longitudinal foi conduzido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) pela Divisão de Nutrologia do Departamento de Clínica Médica, com participação da Divisão de Oncologia Clínica do Departamento de Clínica Médica e da Divisão de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Cirurgia e Anatomia (FMRP/USP). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (Protocolo número 13694/2015).

Os pacientes foram abordados no ambulatório de Gastrocirurgia após confirmação do diagnóstico de neoplasia da confluência biliopancreática, feitos pela equipe médica responsável pelo atendimento. Todos os indivíduos recrutados foram informados sobre os objetivos e procedimentos do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Apêndice A), que foi apresentado pelos pesquisadores. Os pesquisadores não tiveram qualquer interferência na indicação ou modificação do tratamento oncológico utilizado nos pacientes.

3.2. Critérios de inclusão

A pesquisa foi conduzida com 10 pacientes com diagnóstico histopatológico de neoplasia maligna da confluência biliopancreática que concordaram em participar voluntariamente do estudo. Foram incluídos os pacientes de ambos os gêneros e escala de *Performance de Karnofsky* $\geq 70\%$ - Anexo A (Crooks et al., 1991) com indicação de cirurgia seguida de quimioterapia, conforme os protocolos internacionais (www.nccn.org) seguidos pelo Serviço de Gastrocirurgia e de Oncologia Clínica. Foram incluídos os pacientes que haviam sido submetidos à drenagem biliar antes da ressecção cirúrgica do tumor.

3.3. Critérios de exclusão

Foram excluídos os indivíduos sem indicação cirúrgica e aqueles com tratamento prévio para câncer nos cinco anos precedentes ao recrutamento (exceto carcinoma de basocelular de pele). Também foram excluídos os pacientes com

história de doença autoimune ou inflamatória crônica, quadro infeccioso em atividade, doença hepática ou renal e uso de drogas imunossupressoras.

3.4. Seleção da casuística e grupos de estudo

A coleta de dados ocorreu entre setembro de 2015 a novembro de 2016. Dentre os 51 pacientes inicialmente recrutados, três sujeitos não concordaram com a participação voluntária na pesquisa. Foram excluídos do estudo 31 sujeitos devido à ausência de indicação cirúrgica pela presença de metástase tumoral diagnosticada antes da cirurgia. Após aplicação dos critérios de exclusão, 17 pacientes foram considerados elegíveis para o estudo. Desses, três pacientes evoluíram para o óbito após a primeira avaliação e houve mudança no diagnóstico histopatológico em um caso. Três pacientes deram continuidade ao tratamento oncológico em serviço nas suas cidades de origem, inviabilizando o contato para posteriores avaliações.

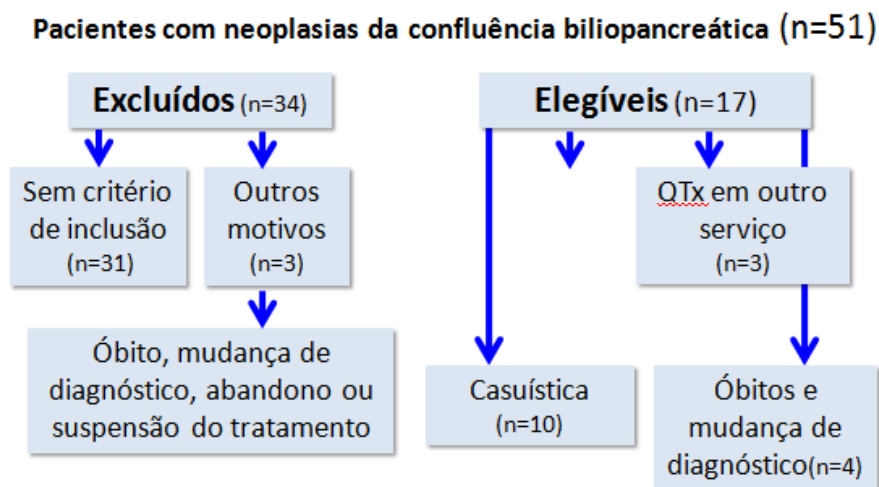


Figura 4: Diagrama do recrutamento de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática atendidos no HCFMRP-USP.

A casuística final incluiu 10 voluntários que foram alocados no Grupo Câncer, sendo sete do gênero masculino e três do feminino, com idade de $61,9 \pm 8,0$ anos. Gênero, idade, sitio tumoral, e classificação TNM são mostrados na Tabela 1.

3.5. Delineamento experimental

Os pacientes do Grupo Câncer foram avaliados em duas ocasiões distintas, sendo a primeira no pré-operatório da ressecção tumoral (Fase Pré-Operatória) e após término da quimioterapia proposto para cada caso (Fase Pós-Quimioterapia) conforme mostra Figura 5.

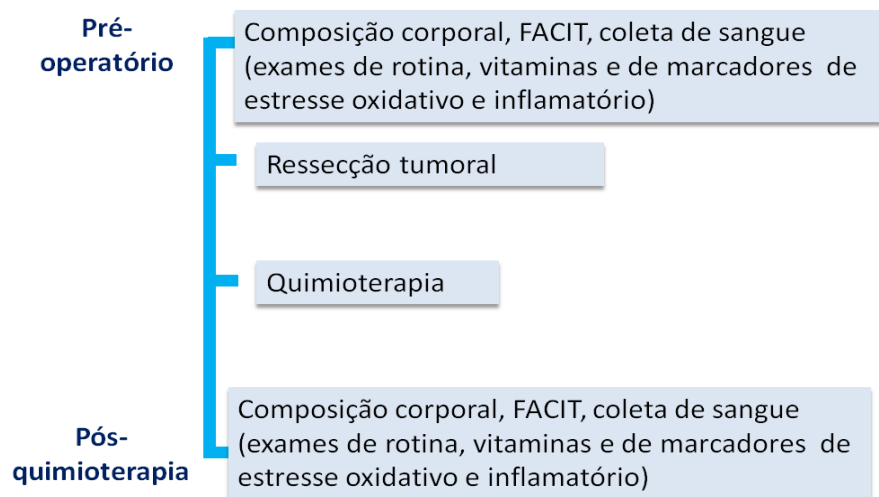


Figura 5: Delineamento experimental do estudo.

O estudo incluiu um Grupo Controle composto por 10 voluntários saudáveis, com idade de $62,6 \pm 8,5$ anos, sendo três mulheres e sete homens. Os sujeitos do Grupo controle foram selecionados de estudo anterior, a fim de que houvesse pareamento para idade e gênero com os pacientes do presente estudo. As três mulheres do Grupo Controle eram frequentadoras do Programa de Integração Comunitária (PIC) na cidade de Ribeirão Preto; os sete homens foram recrutados por meio de divulgação feita na Rádio USP e jornal da cidade de Ribeirão Preto. Neste grupo, foram excluídos os indivíduos com tratamento prévio para câncer nos cinco anos precedentes ao recrutamento (exceto carcinoma basocelular de pele). Também foram excluídos os pacientes com história de doença autoimune ou inflamatória crônica, quadro infeccioso em atividade, doença hepática ou renal e uso de drogas imunossupressoras.

Tabela 1 - Dados sócio-demográficos, sítio tumoral e classificação TNM, história de drenagem biliar, tempo entre os diversos procedimentos nos voluntários do Grupo Câncer.

Casos	Gênero	Idade (anos)	Nível Sócio Econômico*	Local do tumor	Classificação TNM	Drenagem biliar pré-operatória	Tempo entre drenagem biliar e ressecção tumoral (d)	Tempo entre o término da QTx e a 2ª coleta (d)	Tempo entre 1ª e 2ª coleta (d)
1	F	56	Média Inferior	Papila	T3N1M0	Não	-	42	224
2	M	56	Média Superior	Cabeça	T3N0M0	Não	-	34	231
3	M	54	Média	Papila	T3N0M0	Não	-	68	154
4	M	52	Média Inferior	Ampular	T3N1M0	Não	-	34	274
5	F	59	Média Inferior	Papila	T3N1M0	Não	-	35	301
6	M	63	Média Inferior	Cabeça	T3N0M0	Não	-	47	489
7	F	68	Média Inferior	Cabeça	T3N1M0	Sim	198	84	231
8	M	72	Média Inferior	Papila	T2N1M0	Sim	20	35	300
9	M	71	Média Inferior	Papila	T2N0M0	Sim	98	84	217
10	M	72	Média	Cabeça	T3N0M0	Sim	62	41	132

QTx: quimioterapia; F: feminino; M: masculino; d: dias

TNM: Classificação de tumores malignos T: Tumor; N: Linfonodos; M: Metástase (www.uicc.org)

* De acordo com critérios de Graciano, 1999.

A Tabela 2 mostra o gênero, a idade, o nível socioeconômico e as comorbidades dos voluntários do Grupo Controle.

Tabela 2 - Dados demográficos e condições mórbidas associadas nos voluntários do Grupo Controle.

Casos	Gênero	Idade (anos)	Nível Sócio Econômico*	Doenças associadas
1	F	74	Média Inferior	
2	F	61	Média Inferior	
3	M	56	Média Superior	
4	F	48	Média Superior	
5	M	65	Média	HAS, Dislipidemia
6	M	69	Média	História de tabagismo
7	M	64	Média	
8	M	58	Média	
9	M	75	Média Superior	HAS, Dislipidemia
10	M	56	Média	

F: feminino; M: masculino; HAS: hipertensão arterial sistêmica

* De acordo com critérios de Graciano, 1999.

3.6. Tratamento oncológico

Todos os pacientes do Grupo Câncer foram submetidos à ressecção cirúrgica seguida de quimioterapia. A cirurgia foi a pancreatoduodenectomia feita pela mesma equipe cirúrgica, usando técnicas padronizadas. Todos os pacientes foram submetidos à ressecção da cabeça do pâncreas, duodeno, ducto biliar e vesícula biliar. Todos os pacientes foram submetidos aos mesmos procedimentos: a) *single-loop* pancreático e reconstrução biliar; b) pancreatojejunostomia; c) anastomose ducto-mucosa usando fio de sutura 5.0 e d) *stent* de silicone na luz do ducto pancreático (6 a 10 french, cerca de 10 cm). De acordo com a avaliação individual durante o ato cirúrgico, foram preservados o antro e o piloro. O tratamento cirúrgico seguiu-se da quimioterapia. A Gemcitabina foi administrada em oito pacientes; a capecitabina foi usada em um paciente e outro usou 5FU.

3.7. Métodos

3.7.1. Avaliação sócio-econômica

Foram utilizados os critérios descritos por Graciano (1999 – Anexo B) para a construção dos indicadores à avaliação socioeconômica, com o objetivo de refletir as situações encontradas socialmente e servir de instrumento para o conhecimento da realidade do usuário. As caracterizações foram definidas pelos referidos autores, a partir de um sistema de pontuação simples que resulta, por correlações, em seis estratos, a saber: Baixa Inferior (BI), Baixa Superior (BS), Média Inferior (MI), Média (M), Média Superior (MS) e Alta (A).

3.7.2. Avaliação laboratorial clínica e do estado nutricional

A coleta de sangue foi feita em sala específica na Unidade Metabólica, por uma enfermeira treinada da equipe de Nutrologia. O sangue foi coletado na veia cubital com sistema *Vacutainer* em tubos específicos para cada tipo de análise após 12 horas de jejum. Parte do sangue coletado foi encaminhada para o Laboratório Central do HC para a realização dos exames laboratoriais de rotina. Alíquotas de sangue foram encaminhadas ao Laboratório de Estudos Moleculares de Nutrição e Metabolismo onde o material coletado foi processado e permaneceu armazenado até o momento das análises específicas deste projeto.

A avaliação laboratorial clínica de rotina foi feita no pré-operatório imediato, de acordo com o protocolo de atendimento do Serviço de Gastrocirurgia. Após o término da quimioterapia, foi realizada nova avaliação laboratorial, além das análises específicas dessa pesquisa. A avaliação laboratorial de rotina incluiu o hemograma, glicemia, uréia, creatinina, proteínas totais, albumina, proteína C reativa (PCR), zinco, cobre, ferro sérico, capacidade latente de ligação do ferro (CLLFe), ácido fólico, ferritina, vitamina A, vitamina B₁₂, aspartato aminotransferase (AST ou transaminase glutâmica oxalacética - TGO) e alanina aminotransferase (ALT ou transaminase glutâmica pirúvica - TGP) e bilirrubinas.

O hemograma foi feito com aparelho ABX Pentra DX120 (Horiba Medical, Kyoto, Japão) por impedância, fotometria, impedância de fluxo focalizado, absorção de luz, dispersão de luz e fluorescência. A partir dos resultados obtidos no hemograma,

foram selecionadas as concentrações de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM) e contagem total dos linfócitos.

As dosagens de ureia sérica foram realizadas através do método cinético UV com leitura em comprimento de onda de 340 nm; creatinina sérica (método cinético com leitura em comprimento de onda de 500 nm); proteínas totais séricas (método colorimétrico com leitura em comprimento de onda de 540 nm); albumina sérica (método colorimétrico com leitura em comprimento de onda de 625 nm). As dosagens de ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase) foram realizadas através do método UV otimizado com leitura em comprimento de onda de 340 nm. O ferro sérico e as bilirrubinas foram dosadas por teste colorimétrico em auto analisador KoneLab CT600i (WienerLab, Argentina) com comprimento de onda de 600 e 546 nm, respectivamente.

As concentrações de transferrina foram calculadas a partir de equação que considera o ferro sérico e a capacidade latente de ligação do ferro (CLLFe), dosado pelo método colorimétrico, utilizando o aparelho CT600i Konella B - Wiener lab, Rosario, Argentina):

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

As amostras de sangue utilizadas para dosagens de zinco e cobre plasmático foram coletadas em tubos *metal free* (*Vacuttainer* sem aditivo®, #368380, BD) e para as demais dosagens, foram utilizados tubos com anticoagulantes (*Vacuttainer* k2 EDTA 7,2mg®, #367861, BD). Os tubos destinados às dosagens de vitaminas foram fotoprotégidos e aqueles destinados às dosagens de citocinas foram mantidos em recipiente com gelo até o preparo das amostras.

As concentrações de zinco e cobre plasmáticos foram dosados por espectrofotometria de absorção atômica de chama (Varian, modelo AA200, Melbourne, Australia) em comprimento de onda de 213,9 nm e 327,4 nm, respectivamente.

As análises de ácido fólico, ferritina e vitamina B₁₂ foram realizadas por meio de Kit IMMULITE®, com imunoensaio enzimático quimioluminescente competitivo em fase líquida. As concentrações plasmáticas de vitamina A e E foram dosadas por HPLC (SPD 20A, UV/VIS, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), usando uma coluna C-18 Shimpack CLC-ODS 4.6x 15cm, pré-coluna 4mmx1cm e uma fase

móvel com taxa de fluxo de 1mL/min. As vitaminas A e E foram detectadas pelo método de Arnaud e colaboradores (1991), em comprimento de onda de 325e 292 nm, respectivamente.

A avaliação antropométrica foi realizada de acordo com técnicas padronizadas e consistiu na medida da estatura (m) e do peso corporal (kg), a partir dos quais foi calculado o índice de massa corporal [IMC= (peso/(altura)²]. A impedância bioelétrica (BIA) foi realizada utilizando o aparelho *Quantum BIA 101@ Q - RJL System*, (Michigan, EUA), pela manhã, após jejum noturno de 8 horas. Foi utilizada uma corrente constante, alternada, de baixa amplitude (-1mF) e alta frequência (50 kHz) aplicada ao corpo por eletrodos de superfície, em pontos pré-determinados no dorso da mão e pé ipsilateral. Foram utilizados os cuidados técnicos necessários, rigor no posicionamento do indivíduo e dos eletrodos, afastamento dos membros para evitar contato e emprego de eletrodos específicos de baixa impedância. A resistência foi medida numa escala de 0-1000 Ω e reactância em 0-200 Ω. Os valores de massa magra e massa gorda são expressos em valores absolutos (kg).

3.7.3. Questionário de qualidade de vida

Foi aplicado o questionário FACT-G (*Functional Assessment of Cancer Therapy*) que tem sido utilizado por pacientes com neoplasias, independentes do sítio tumoral. O questionário é composto por 27 questões e quatro dimensões subjetivas: bem estar físico; bem estar social/familiar; bem estar emocional; bem estar funcional. Este questionário tem domínio público, não havendo necessidade de autorização dos autores para sua aplicação nesta pesquisa. Para avaliação da qualidade de vida, a pontuação do questionário varia entre 0 a 108 pontos, sendo que quanto maior a pontuação obtida, melhor a qualidade de vida do sujeito da pesquisa.

3.7.4. Questionário de intensidade da fadiga

Foi aplicado o questionário de análise de fadiga (*The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy – Fatigue*, FACIT-F), que é composto por 13 (treze) questões que avaliam o impacto da fadiga nas atividades diárias. A pontuação varia de 0 a 52, e quanto maior a pontuação obtida, menor a intensidade da fadiga do indivíduo.

3.7.5. Marcadores do estresse oxidativo

3.7.5.1 Superóxido dismutase

Para as dosagens da superóxido dismutase (SOD), a coleta de sangue foi feita com EDTA. A concentração da SOD eritrocitária foi feita de acordo com as instruções do fabricante (RANSOD, *RANDOX Laboratories*, Reino Unido). Utilizou-se 100 µL de sedimento eritrocitário acrescido de 300 µL de água destilada com posterior homogeneização. Em seguida, diluiu-se 25 vezes a amostra com tampão fosfato de sódio 0,01M pH=7,0 (50 µL de sedimento eritrocitário em 1,2mL de tampão fosfato sódio). A reação final foi preparada utilizando 1,7mL do substrato do kit RANSOD com 50 µL da amostra diluída. A amostra foi agitada e acrescida de 250 µL de xantina oxidase. A leitura foi feita após 30 segundos à 37°C durante 3 minutos em espectrofotômetro (DU 640, Beckman Instruments, Fullerton, CA, EUA) com comprimento de onda de 505nm. A curva de calibração é realizada segundo o padrão que acompanha o kit. A dosagem de hemoglobina foi realizada através do Kit Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brasil). O resultado final de SOD é expresso em U/g Hb.

3.7.5.2. Glutaciona peroxidase

A análise do GPx foi baseada no método descrito por Flohé e Günzler (1984), a partir do consumo de NADPH na reação e a conseqüente queda na absorbância, 5 minutos após a adição de T-Butil-Hidroperóxido (TBH). A técnica consiste em adicionar 50µL do sedimento eritrocitário diluído para 2,5g Hb% a 1,9 mL de tampão fosfato de sódio monobásico a 50mM, pH=7,0. Em seguida, adicionou-se 0,5mL de glutaciona reduzida (GSH), 0,5mL de Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamina e adenina (NADPH) e glutaciona redutase num volume correspondente a uma unidade. A mistura foi incubada por 5 minutos a 37°C. Adicionou-se 50µL de T-Butil-Hidroperóxido (TBH) e a solução foi homogeneizada por inversão. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (DU 640, Beckman) a 340nm, à temperatura de 37°C por 5 minutos. No resultado final, foi considerado um coeficiente de extinção de $6,22 \times 10^3 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ para o NADPH. A atividade de uma unidade de GPx foi calculada como um µmol de NADPH consumido por minuto, por grama de hemoglobina (µmol NADPH/min/g Hb).

3.7.5.3. Malondialdeído

A dosagem do MDA foi baseada na técnica de Nielsen e colaboradores (1997), utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-LC10A, Shimadzu). Adicionou-se 100µL de plasma a 700µL de ácido ortofosfórico 1%, agitando em vórtex por 10 segundos. Em seguida, adicionou-se 200µL de ácido tiobarbitúrico - TBA (42 mmol/L) e agitou-se novamente em vórtex por 10 segundos. Após aquecimento em banho-maria a 100 °C por 60 minutos, a amostra foi resfriada em gelo por 10 minutos. Após agitação em vórtex, 200µL da amostra foi transferido para tubo contendo 200µL de hidróxido de sódio 2M:Metanol (1:12volume/volume). A amostra foi novamente homogeneizada em vórtex por 10 segundos e centrifugada durante 5 minutos a 5000rpm. Transferiu-se 200µL do sobrenadante para um tubo e injetou-se 20µL no HPLC, com leitura a 532nm. A curva de calibração foi preparada usando TEP (Tetraethoxypropano-sigma-T-9889) diluído em metanol 40%. Os dados de MDA foram expressos em µmol/L.

3.7.5.4. Vitamina E

O sangue foi coletado em tubo contendo anticoagulante, sendo centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. Os procedimentos foram feitos com luz amarela ambiente. Foi separado em torno de 0,6 mL de plasma e as alíquotas foram acondicionadas em tubos identificados e armazenadas em freezer -70°C até o momento das dosagens laboratoriais.

A análise da vitamina E foi realizada em amostras de plasma por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-LC10A, Shimadzu) com coluna tipo C-18 Shimpack CLC-ODS 4,6 x 15 cm, pré-coluna 4 mm x 1 cm e velocidade de fluxo de 1,0 mL/min. Foi adicionada uma alíquota de 500 µL de plasma, 1,0 mL de etanol absoluto, seguido de agitação em vórtex por 1 minuto. Em seguida, foi acrescentado 1,0 mL de hexano e após agitação por 1 minuto, foi centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm. Uma alíquota de 500 µL do sobrenadante foi retirada e seca em nitrogênio gasoso. O resíduo seco foi reconstituído em 0,5 mL de fase móvel composta de metanol/diclorometano/acetonitrila (10:20:70). Uma alíquota de 20 µL da amostra foi injetada no HPLC, em comprimento de onda de 292nm. A concentração foi calculada por padrão externo de alfa-tocoferol (Arnaud et al., 1991) e os valores serão expressos em µmol/L.

3.7.5.5. Dosagem de citocinas inflamatórias

Foi utilizado o soro armazenado em *freezer* a -70°C . Foram dosadas as citocinas TNF- α , IL-6, IL-1 β , INF- γ , IL-10 no aparelho Luminex 200tm (Millipore®). Cada conjunto de citocinas foi testado em um único ensaio para determinar a concentração ideal do anticorpo de detecção. As microesferas foram multiplexadas e otimizadas para os tempos de incubação e sinal de iluminação. As curvas de calibração de padrões de citocinas recombinantes foram preparadas e as amostras foram medidas em duplicatas. Os valores de branco foram subtraídos de todas as leituras. Todos os ensaios foram realizados diretamente em uma placa de 96 poços de microtitulação com fundo redondo (Muller Ratiolab, Dreieich, Alemanha), à temperatura ambiente e protegida da luz. Uma mistura contendo 500 microesferas por citocinas (volume total de 10 μL /esfera) foi incubada em conjunto com um *mix* de anticorpos biotilado (10 μL /esfera). Cada poço de microtitulação continha as microesferas acrescidas de um padrão ou da amostra ou do branco em um volume final de 70 μL , seguido de agitação contínua por 20 minutos. As *beads* foram lavadas duas vezes com PBS-BSA 1%, 0,5% Tween 20, a fim de remover qualquer presença de biotina residual, bem como qualquer anticorpo não ligado. A intensidade da fluorescência das *beads* foi medida em um volume final de 100 μl de tampão HPE, após 10 minutos de incubação com SA-PE (50 ng/esfera) e lavagem com PBS-BSA 1%, 0,5% Tween 20, com lavadora automática de *beads* magnéticas (Bio-Tek ELx405, Millipore®). As medições e análises dos dados de todos os ensaios foram realizados com o MultiPlex System em combinação com o software Gerenciador de MultiPlex System (Millipore®).

3.8. Análise estatística

A análise estatística foi feita por meio do *software* Statistica (version 8.0; StatSoft Inc, Tulsa, OK, USA). As variáveis quantitativas são apresentadas como média geométrica e intervalo de confiança 95%. Nas comparações feitas entre os dois momentos dos pacientes do Grupo Câncer, aplicou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon pareado (variáveis dependentes). Foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney na comparação das variáveis quantitativas entre os valores obtidos nos sujeitos do Grupo Controle com os diferentes tempos de estudo no Grupo

Câncer (variáveis não dependentes). Para todas as análises, foi estabelecido um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

RESULTADOS

4.1. Avaliação da composição corporal

Os pacientes relataram perda de peso antes do tratamento cirúrgico, em média de 15 quilos, ou seja, 20% do peso antes do diagnóstico da neoplasia. Durante o tratamento oncológico (média de 9 meses de duração entre a ressecção tumoral seguida de quimioterapia), não houve perda de peso significativa. A Tabela 3 mostra que o IMC e as variáveis de composição corporal obtidas pela impedância bioelétrica mantiveram-se inalteradas nos dois momentos da avaliação no Grupo Câncer e que não houve diferenças em relação ao Grupo Controle.

Tabela 3 - Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da composição corporal de 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e 10 pacientes do grupo controle.

	GRUPO CÂNCER		GRUPO CONTROLE	Diferença estatística
	Pré-operatório	Pós-quimioterapia		
IMC (kg/m ²)	25,2 (23,2-29,8)	24,4 (22-28,6)	25,4 (24,1-28,8)	NS
Massa magra (kg)	50,5 (45,0-55,9)	50,5 (44,5-56,3)	47,1 (39,8-54,4)	NS
Massa magra (%)	70,2 (64,9-75,6)	72,1 (64,9-79,3)	68,8 (62,1-75,4)	NS
Massa gorda (kg)	21,5 (17,3-25,6)	20,0 (14,3-25,6)	20,9 (17,4-24,4)	NS
Massa gorda (%)	29,8 (24,4-35,1)	27,9 (20,7-35,1)	31,1 (24,5-37,8)	NS
Água corporal total (L)	36,2 (32,4-40,1)	36,9 (32,4-41,4)	34,5 (30,0-38,9)	NS

IMC: Índice de massa corporal

NS: não significativo

4.2. Avaliação laboratorial clínica e do estado nutricional

A Tabela 4 mostra que houve alteração dos dados laboratoriais nas dosagens de AST/TGO, ALT/TGP, glicemia de jejum, cobre, bilirrubinas, proteína C reativa e ferritina. Alguns exames não foram realizados pelo Grupo Controle posto que seja grupo composto por sujeitos saudáveis.

Tabela 4. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) dos dados laboratoriais em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e em 10 voluntários controles

	GRUPO CÂNCER		GRUPO CONTROLE	Diferença estatística
	Pré-operatório	Pós-quimioterapia		
Uréia (mg/dL)	34,4 (24,6-44,1)	25,2 (18,8-31,5)	34,7 (29,7-39,7)	b,c
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,74-1,06)	0,86 (0,74-0,97)	1,0 (0,8-1,2)	NS
AST/TGO (U/L)	77,8 (38,6-116,9)	35,5 (27,1-43,9)	22,8 (16,9-28,7)	a,b
AST/TGP (U/L)	85,2 (36,9-133,5)	30,6 (18,9-42,3)	21,6 (11,4-31,7)	a,c
Glicemia de jejum (mg/dL)	155 (119-190)	157 (91-224)	-	NS
Bilirrubina total (mg/dL)	8,5 (2,1-14,9)	0,7 (0,5-1,0)	-	NS
Bilirrubina direta (mg/dL)	4,3 (0,3-8,3)	0,26 (0,11-0,42)	-	NS
Prot. totais (g/dL)	6,9 (6,3-7,4)	6,6 (6,1-7,1)	6,8 (6,3-7,3)	NS
Albumina (g/dL)	3,7 (3,3-4,0)	3,5 (2,9-4,0)	4,3 (4,2-4,4)	a,b
PCR (mg/dL)	3,5 (0,4-6,6)	3,2 (0,6-5,8)	-	NS
Ferro (ug/dL)	77 (64-89)	54 (42-66)	-	NS
Ferritina (ng/dL)	756 (56-1456)	353 (164-543)	-	NS
CLLFe (µg/dL)	199 (151-247)	177 (108-246)	-	NS
Zinco (µg%)	81,9 (64,5-99,3)	72,9 (54,0-91,8)	83,4 (76,1-90,8)	NS
Cobre (µg%)	146 (113-178)	98 (73-123)	99,2 (87,4-111,0)	a
Hemoglobina (g/dL)	12,7 (11,6-13,7)	11,9 (11,0-10,8)	15,4 (14,1-16,7)	a,b
VCM (fl)	91,3 (87,9-94,7)	91,1 (85,7-96,5)	94,8 (91,5-98,1)	NS
Linfócitos (10 ³ /µL)	1,96 (1,14-2,78)	1,77 (1,07-2,47)	1,62 (1,32-1,92)	NS
Ácido fólico (ng/mL)	9,6 (6,9-12,4)	14,2 (10,8-17,6)	-	c
Vitamina B ₁₂ (pg/dL)	400 (189-611)	556 (387-725)	-	c
Vitamina A (umol/L)	0,71 (0,57-0,85)	0,57 (0,34-0,8)	-	NS

PCR: Proteína C reativa; VCM: volume corpuscular médio; CLLFe: capacidade latente de ligação do ferro

a: existe diferença estatística entre Grupo Pré-operatório em relação ao Controle

b: existe diferença estatística entre Grupo Pós-Quimioterapia em relação ao Controle

c: existe diferença estatística entre os dois momentos do estudo no Grupo Câncer

NS: não significativo

4.3. Qualidade de vida e fadiga

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos na aplicação do questionário de qualidade de vida e de fadiga. Não houve diferença estatística nestas variáveis antes da ressecção tumoral e após quimioterapia.

Tabela 5. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da pontuação da qualidade de vida e fadiga em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação.

	GRUPO CÂNCER		Diferença estatística
	Pré-operatório	Pós-quimioterapia	
Qualidade de vida (0-108)	73,2 (66,3-80,2)	83,2 (58,3-108,1)	NS
Fadiga (0-52)	35,3 (24,0-46,6)	34 (21,3-46,7)	NS

NS: não significativo

4.4. Marcadores do estresse oxidativo

A Tabela 6 mostra as dosagens da vitamina E, das enzimas SOD e GPx, além do marcador da peroxidação lipídica, o MDA. A SOD e a GPx estão elevadas no pré-operatório e a pós a quimioterapia em relação ao Grupo Controle. A dosagem de vitamina E mostra-se reduzida após a quimioterapia e há diferença estatística em relação ao pré-operatório e ao controle. O MDA não se alterou em nenhum momento do estudo.

Tabela 6. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da concentração sérica das substâncias antioxidantes e do marcador de peroxidação lipídica em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e em 10 voluntários controles.

	GRUPO CÂNCER		GRUPO CONTROLE	Diferença estatística
	Pré-operatório	Pós-quimioterapia		
Vitamina E (µmol/L)	30,9 (17,9-43,9)	17,3 (11,9-22,7)	25 (20-30)	b,c
SOD (U SOD/gHb)	1957 (1828-2086)	2048 (1881-2215)	1742 (1457-2027)	b
GPx (NADPH/gHb)	53,3 (50,2-56,5)	52,2 (48,9-55,5)	44 (39,5-48,5)	a,b
MDA (µmol/L)	0,54 (0,15-0,92)	0,34 (0,24-0,45)	0,3 (0,3-0,5)	NS

SOD: Superóxido Dismutase GPx: Glutathiona Peroxidase MDA: Malondialdeído

a: existe diferença estatística entre Grupo Pré-operatório em relação ao Controle

b: existe diferença estatística entre Grupo Pós-quimioterapia em relação ao Controle

c: existe diferença estatística entre os dois momentos do estudo no Grupo Câncer

NS: não significativo

4.4. Citocinas inflamatórias sanguíneas

Na Tabela 7 apresenta-se as dosagens das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, INF γ e TNF - α . Na fase pré-operatória do Grupo Câncer, a IL-1 β foi menor que no Grupo Controle. A IL-6 mostrou-se elevada antes da ressecção tumoral e aumentou ainda mais após ressecção e quimioterapia. A IL-10 está elevada no pré-operatório, reduziu na 2^a coleta, porém manteve-se elevada significativamente em relação ao Grupo Controle. Não houve alteração no INF γ nos dois momentos do estudo. No pré-operatório do Grupo Câncer, a TNF- α estava mais elevada que no Grupo Controle. Embora tenha havido redução desta citocina após ressecção tumoral e quimioterapia, ela manteve-se ainda elevada e com diferença significativa em relação ao Grupo Controle.

Tabela 7. Média e intervalo de confiança 95% (IC95%) da concentração sérica das citocinas em 10 pacientes com neoplasia da confluência biliopancreática em dois momentos da avaliação e em 10 voluntários controles.

	GRUPO CÂNCER		GRUPO CONTROLE	Diferença estatística
	Pré-operatório	Pós-quimioterapia		
TNF- α (pg/mL)	28,3 (20,3-36,3)	21,5 (15,5-27,6)	10,3 (7,8-13)	a,b
Il-6 (pg/mL)	8,2 (3,5-12,9)	5,2 (2,7-7,6)	1,7 (1,1-2,2)	a,b
IL-1 β (pg/mL)	0,91 (0,86-0,96)	1,04 (0,8-1,29)	1,2 (0,8-1,6)	NS
INF- γ (pg/mL)	1,82 (1,07-2,57)	2,78 (0,63-4,93)	1,6 (1,3-2)	NS
Il-10 (pg/mL)	14,3 (7,3-21,3)	10,6 (4,0-17,3)	2,9 (1,6-4,2)	a,b

TNF- α : Fator de necrose tumoral α ; IL6: Interleucina 6; IL1 β : Interleucina 1 β ; INF- γ Interferon gama; IL-10: Interleucina 10.

a: existe diferença estatística entre Grupo Pré-operatório em relação ao Controle

b: existe diferença estatística entre Grupo Pós-quimioterapia em relação ao Controle

c: existe diferença estatística entre os dois momentos do estudo no Grupo Câncer

NS: não significativo

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O grupo Câncer foi composto por pacientes que possuíam diferentes sítios de origem, assim como havia pacientes que se submeteram a derivação biliar e outros que não necessitaram do procedimento. Foi feita análise estatística para verificar se esses grupos apresentavam diferença. Não encontramos diferença nos dados de qualidade de vida e fadiga, nem composição corporal. Também não encontramos diferença entre os grupos em relação à avaliação laboratorial, nem em relação ao estresse oxidativo e nem em relação ao estresse inflamatório. De modo que apresentamos o grupo Câncer como sendo um grupo homogêneo.

5.1. Composição corporal

As pesquisas que avaliam o estado nutricional de pacientes com câncer são bastante comuns na literatura. A perda de peso é um indicador prognóstico (Hess, 2007; Geng et al., 2015; Lee et al., 2017) estando relacionado também à piora da qualidade de vida (Mueller & Burmeister et al., 2014). Em nosso estudo, os pacientes relataram perda de peso antes do tratamento, em média de 15 quilos, ou seja, 20% do peso antes do diagnóstico do tumor. Em revisão recente sobre nutrição e câncer de pâncreas, um terço dos pacientes com câncer de pâncreas perdeu mais que 10% do peso até o momento do diagnóstico (Gärtner et al., 2015).

Durante o tratamento – média de 9 meses de duração entre a ressecção tumoral seguida de quimioterapia - não identificamos diferença significativa em relação à perda de peso. Chama a atenção o fato que um paciente ganhou peso durante o período de seguimento. Em nosso estudo, a média do IMC foi de 25,2 kg/m² no pré-operatório, com redução discreta após quimioterapia, porém sem diferença significativa. Considerando que houve perda de peso de 20% em relação ao habitual, tais dados indicam que os pacientes apresentavam sobrepeso ou obesidade prévia. A obesidade pré-operatória está associada com menor sobrevida (Hendifar et al., 2016). As complicações pós-cirurgia ou rehospitalização não foram avaliadas em nossa pesquisa. Estudo multicêntrico conduzido por período de 10 anos mostrou que a subnutrição piora o prognóstico de pacientes submetidos à ressecção de câncer de pâncreas (Bourgoin et al., 2015). Em 106 pacientes com tumor de pâncreas submetidos ao tratamento cirúrgico, o IMC menor que 19 kg/m² foi relacionado com um maior tempo de hospitalização após seguimento de 16

meses após ressecção tumoral, mas não com rehospitalização nos 30 dias do pós-operatório (Hendifar et al., 2016).

Na comparação entre os dados de composição corporal entre o pré-operatório e após a quimioterapia, os pacientes do presente estudo não apresentaram diferença no IMC e na massa gorda após sete meses de seguimento. Mikamori e colaboradores (2016) compararam a mudança na composição corporal em câncer de pâncreas em 12 meses de seguimento após ressecção cirúrgica sem quimioterapia. A mudança corporal foi atribuída à redução na massa gorda, tanto nos pacientes que fizeram pancreatoduodenectomia quanto nos casos de gastrectomia distal ou total.

Em 100 pacientes portadores de câncer de pâncreas localmente avançado sob quimioterapia neoadjuvante, houve perda de peso e de massa gorda, com pior sobrevida entre aqueles que apresentaram maior redução ponderal (Naumann et al., 2013). No pós-operatório tardio de 15 pacientes submetidos à pancreaticoduodenectomia para neoplasia pancreática, Muniz e colaboradores (2012) encontraram o estado nutricional adequado, com ganho ponderal após um ano ou mais do procedimento cirúrgico.

5.2. Avaliação laboratorial clínica e do estado nutricional

A normalidade nos exames laboratoriais pode ser explicada em função de que a coleta para exames ter ocorrido no pré-operatório, situação em que eventuais anormalidades poderiam ter sido corrigidas pela equipe médica como condição para realização da cirurgia. Não houve alteração de função renal durante o período de estudo, mesmo com uso de quimioterapia. O aumento das transaminases está relacionado ao quadro clínico de obstrução das vias biliares anterior à cirurgia, o que está de acordo com o fato que 40% dos pacientes apresentavam icterícia obstrutiva e se submeteram a drenagem biliar. A icterícia ocorreu também em outros pacientes em menor intensidade, não sendo necessária a drenagem biliar e as condições clínicas eram adequadas para a ressecção tumoral.

Os marcadores de inflamação em nosso estudo, como a ferritina e a proteína C reativa estavam aumentadas na fase pré-operatória e na pós-quimioterapia, como

acontece em outros tipos de neoplasia maligna, induzidas principalmente pelas interleucinas IL-1 e IL-6.

Nosso estudo apresentou aumento dos níveis de cobre, resultado semelhante ao encontrado por Ribeiro et al. (2016) ao estudar pacientes com câncer colo-retal. Esse aumento pode estar relacionado ao fato de que 90-95% do cobre está ligado à ceruloplasmina, uma proteína de fase aguda não dosada em nosso estudo, mas certamente aumentada como ocorreu com outras proteínas de fase aguda como PCR e a ferritina.

No pré-operatório, os pacientes do presente estudo apresentaram média dos valores de albumina dentro da faixa de referência para a normalidade. Em 106 pacientes com câncer de pâncreas que foram submetidos à ressecção cirúrgica com intenção curativa, aqueles com albumina maior que 3,5 g/dL apresentaram maior tempo de sobrevida e tempo livre de doença (Hendifar et al., 2016).

5.3. Escore de qualidade de vida e fadiga

No presente estudo, foram documentados altos escores de qualidade de vida e fadiga desde o início do estudo e sem variação até o final do estudo. A pancreatoduodenectomia para câncer de pâncreas resultou em impacto favorável na qualidade de vida em estudo prospectivo de 20 pacientes durante 6 meses (Arvaniti et al., 2016). Entretanto, nós observamos que após a quimioterapia os pacientes apresentaram uma maior variação na resposta ao questionário de qualidade de vida, o que pode indicar a evolução da neoplasia e as diferentes respostas ao tratamento oncológico. Estudos indicam que o comprometimento do estado nutricional, a adaptação à doença e a personalidade do paciente se correlacionam com os escores de qualidade de vida (Hammerlid et al., 1998; Gupta et al., 2006).

A avaliação da fadiga também se mostrou semelhante no pré-operatório quando comparados com o período pós-quimioterapia, com grande variação nos escores nos dois momentos da avaliação. Semelhante aos nossos achados, Hammerlid e colaboradores (1998) não encontraram diferença significativa nos escores de qualidade de vida e de fadiga em 48 pacientes de neoplasia de cabeça e pescoço, independente do estágio do tratamento. Estudo conduzido com 102 pacientes com câncer de pâncreas e periampular submetidos à ressecção tumoral mostrou escore de 27 a 30 na escala FACIT-Fatigue (Yeo et al., 2012). Além disso,

escores elevados se correlacionaram com estadiamento menos avançado da doença (Yeo et al., 2012).

5.4. Antioxidantes e peroxidação lipídica

No presente estudo, nós documentamos maiores níveis eritrocitários de SOD no Grupo Câncer tanto no pré-operatório quanto na pós-quimioterapia em relação ao Grupo Controle. Conforme indica a literatura, o câncer de pâncreas tem níveis reduzidos das enzimas antioxidantes SOD, GPx e catalase comparado ao pâncreas normal (Cullen; Mitros; Oberley, 2003; Lewis et al., 2006), embora haja produção excessiva de EROs, em especial o superóxido. Nesse sentido, níveis elevados de SOD encontrados em nosso estudo poderiam significar controle do balanço redox pelas células tumorais em reforço à sobrevivência e crescimento (Glasauer; Chandel, 2014). A sobreexpressão da SOD reduz a proliferação do câncer pancreático (Weydert et al., 2003; Cullen et al., 2003). A perda da expressão do EcSOD e consequente redução dos níveis de SOD piora o prognóstico no câncer de pâncreas (O'Leary et al., 2015). No entanto, há evidências que a SOD pode promover o aumento da atividade invasiva e migratória do câncer de pâncreas por mecanismo ainda desconhecido (Wei et al., 2015).

A dosagem da GPx estava elevada no pré-operatório e após a quimioterapia em relação ao Grupo Controle. Ribeiro et al. (2013) encontraram dosagem de GPx elevadas ao final da quimioterapia em pacientes com câncer colo-retal, porém em outro estudo, Gopcevic e colaboradores (2013) observaram uma diminuição na atividade da GPx na mesma neoplasia. A concentração de GPx pode aumentar após a quimioterapia em resposta à demanda para detoxificação dos peróxidos gerados pelo aumento da produção de EROs induzidas pela quimioterapia. A principal função da GPx é reduzir o peróxido de hidrogênio na formação de água e oxigênio. O peróxido, se não bloqueado pela GPx, pode gerar o radical livre hidroxil e iniciar a peroxidação lipídica.

A vitamina E é um dos antioxidantes mais eficientes para bloquear essa reação de gerar radical livre hidroxil. Sob condições ótimas de vitamina E, a SOD elevada pode proteger as células sem o risco de aumentar o radical hidroxil (Yamauchi, 2007). Em condições de baixa concentração de vitamina E, os níveis

elevados de SOD podem resultar em aumento nos níveis do radical hidroxil livre e da peroxidação lipídica (Tang et al., 2010). Níveis elevados de vitamina A, C e E são responsáveis por altos níveis de SOD em células tumorais (Wenger et al., 2001). A vitamina E converte-se em radical tocoferil, precisando ser regenerada para manter seu potencial antioxidante. Esse processo tem a participação da vitamina C, da GSH reduzida e da coenzima Q10 é chamado de sistema de regeneração da vitamina E (Nwose et al., 2008).

Em nosso estudo, a concentração sanguínea da vitamina E foi menor no período pós-quimioterapia, o que pode sugerir que o uso das drogas antineoplásicas afetou os níveis dessa vitamina. Diferente de nosso estudo, Knack et al. (2015) não encontraram diferenças nos níveis plasmáticos de vitamina E de pacientes com neoplasia de estômago e esôfago em relação ao controle em pacientes sob tratamento oncológico. A vitamina E tem potencial no tratamento do câncer pancreático. Em estados pré-clínicos, a vitamina E suprimiu o crescimento da célula tumoral e aumentou a eficácia da Gemcitabina. Porém, ainda não há estudos clínicos longitudinais completos para determinar eficácia da suplementação da vitamina E na intervenção não medicamentosa no câncer de pâncreas (Davis-Yadley; Malafa, 2015).

Em nosso estudo, o MDA não se alterou em nenhum momento, mesmo com níveis baixos de vitamina E e elevados de SOD. A concentração de produtos da peroxidação lipídica em células tumorais tem sido objeto de debate (Barrera, 2012). Mesmo sem quimioterapia, tem sido mostrada maior concentração de MDA em pacientes com câncer quando comparado com controles saudáveis (Subramanyam et al, 2013). A inespecificidade do MDA como marcador de peroxidação de membrana (Pappas-Gogos et al, 2013) pode justificar esse resultado.

5.5. Citocinas

Na fase pré-operatória do Grupo Câncer, a IL-1 β foi menor que no Grupo Controle, mas não houve diferença na fase pós-quimioterapia. Estudo conduzido com 65 pessoas com câncer de pâncreas encontrou resultado semelhante ao nosso (Bellone et al., 2006). No entanto, em estudo conduzido com 60 pacientes que apresentavam neoplasia pancreática avançada e eram virgens de tratamento (cirúrgico ou quimioterápico) mostrou níveis elevados de IL-1 β (Mitsunaga et al.,

2013). Os pacientes que apresentavam altos níveis de IL-1 β tiveram pior prognóstico, avaliado pela menor sobrevida, redução na taxa de controle do crescimento tumoral e necessidade de maiores doses do quimioterápico (Mitsunaga et al., 2013). A discordância dos nossos resultados com aqueles obtidos com os de Mitsunaga e colaboradores (2013) pode ser atribuído ao fato que todos os pacientes daquele estudo estavam em cuidados paliativos e não havia sido feita a ressecção tumoral. Funcionalmente, a IL-1 β , uma citocina pró-inflamatória, intermedia a adesão e invasão do câncer de pâncreas além de contribuir para a quimiorresistência do tumor. Há evidências que se trata de um produto de células tumorais, podendo ser usada como marcador prognóstico (Berkovic et al., 2012).

Em nosso estudo, a IL-6 mostrou-se elevada antes da ressecção tumoral e aumentou ainda mais após ressecção e quimioterapia. A IL-6 é sintetizada em vários tipos celulares em resposta ao estímulo pela IL-1 e TNF- α , além de regular a proliferação celular e a apoptose através da ativação de outros fatores (Grote et al., 2012). A concentração sanguínea de IL-6 esteve elevada em pacientes com câncer de pâncreas comparada aos voluntários saudáveis (Bellone et al., 2006) e essa elevação piorou o prognóstico (Holmer et al., 2014). A inibição da IL-6 está relacionada com a redução do tumor pancreático *in vivo* e pode ser um alvo terapêutico (Holmer et al., 2014; Goumas et al., 2015). Em estudo de coorte conduzido em 23 centros de pesquisa europeus, os 455 indivíduos que desenvolveram câncer de pâncreas não apresentaram elevação de IL-6 antes do diagnóstico da neoplasia (Grote et al., 2012). A concentração elevada de IL-6 tem sido relacionada à inflamação crônica, que pode estimular o desenvolvimento do câncer (Hodge et al., 2005). Entretanto, o coorte desenvolvido por Grote e colaboradores (2012) mostrou uma correlação entre o IL-6 com o excesso de peso, o tabagismo e o diabetes melito, que foram fatores de risco para o câncer pancreático. A divergência dos resultados obtidos no presente estudo com aqueles obtidos por Grote e colaboradores (2012) pode dever-se ao fato que no nosso estudo os pacientes já apresentavam o tumor desenvolvido, sendo a IL-6 possivelmente produzida pelas próprias células tumorais e/ou pelas células imunes periféricas.

A IL-10 esteve elevada no pré-operatório, reduziu na 2^a coleta, porém manteve-se significativamente elevada em relação ao Grupo Controle. Vários

estudos mostram elevação da IL-10 no câncer de pâncreas (Bellone et al., 2006; Blogowski et al., 2014; Zhang et al., 2014). Níveis elevados de IL-10 estão associados com câncer avançado (Wenger et al., 1999; Bellone et al., 2006).

O IFN- γ é uma citocina inflamatória que caracteriza a célula Th1, favorecendo o recrutamento celular, o aumento da expressão do MHC I nas células tumorais e a ativação de células NK (Elyaman et al., 2009; Pegram et al., 2010). Animais que tinham expressão reduzida de IFN- γ ou de seu receptor não respondiam ao tratamento antitumoral quimioterápico (Ghiringhelli et al., 2009), indicando a necessidade da citocina para o êxito do tratamento antitumoral. Em nosso trabalho não houve alteração na citocina IFN- γ nos dois momentos do estudo.

No pré-operatório do Grupo Câncer, a TNF- α esteve mais elevada que no Grupo Controle. Embora tenha havido redução desta citocina após ressecção tumoral e quimioterapia, ela manteve-se ainda elevada e com diferença significativa em relação ao Grupo Controle. A ação do TNF- α é mediada por dois receptores TNF-R1 e TNF-R2 que agem induzindo genes envolvidos na inflamação e sobrevivência celular, resultando em ativação do fator nuclear κ B que inibe a morte celular programada e induz a expressão de IL-8, uma citocina produzida em resposta à hipóxia, especialmente no centro do tumor, tendo ação pró-carcinogênica (Zavoral et al., 2011). O TNF- α está envolvido em vários processos patológicos, inclusive nas neoplasias malignas (Grote et al., 2012).

Em 63 pacientes com câncer de pâncreas, o TNF- α foi detectado em 36,5% dos pacientes, sendo que os níveis estavam mais elevados nos indivíduos com metástases comparado àqueles sem metástase. Entre os pacientes com o TNF- α aumentado, houve correlação inversa desta citocina com o peso corporal e o IMC, o hematócrito e hemoglobina, proteínas séricas e nível de albumina. Além disso, TNF- α detectável foi correlacionado com doença avançada e com pior prognóstico (Karayiannakis et al., 2001).

5.6 Forças e limitações do estudo

O presente estudo sabidamente apresenta limitações metodológicas e, dentre outras, destaca-se o tempo decorrido entre coleta de sangue e a realização de exame. Em especial, os marcadores do estresse oxidativo apresentam considerável

variação adaptativa e isso pode ter interferido nos resultados dos exames. Um aspecto positivo foi que a avaliação antropométrica, os questionários aplicados e a coleta de sangue para dosagem laboratorial foram realizados no mesmo dia o que permite análise simultânea dos dados.

O tamanho amostral também pode ser considerado uma limitação do estudo. No entanto, todos os pacientes com a neoplasia maligna da confluência biliopancreática atendidos pelo Ambulatório de Gastrocirurgia foram avaliados durante o período do estudo. Ademais, em recente estudo realizado na mesma instituição avaliando prontuários de pacientes com semelhante diagnóstico ao longo de doze anos, porém sob palição submetidos à derivação biliar, permite estimar que o número de pacientes captados pelo nosso estudo é compatível com o número médio de pacientes com o mesmo quadro nosológico naquele período estudado. Certamente, uma forma de aumentar o tamanho amostral seria ampliar o período do estudo.

CONCLUSÃO

6. Conclusões:

Em conclusão, os dados obtidos no presente estudo indicam que os pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática submetidos à ressecção tumoral seguida de quimioterapia apresentaram perda ponderal anterior ao diagnóstico, mas houve estabilização do peso, da composição corporal e dos escores de qualidade de vida e de fadiga após o uso de drogas antineoplásicas. Por outro lado, os níveis séricos de SOD e de GPx mantiveram-se altos durante todo o seguimento, provavelmente mantendo um equilíbrio oxidativo que preveniu a peroxidação lipídica. A vitamina E reduziu após quimioterapia, o que sugere que esta vitamina deve ser repostada em pacientes que recebem drogas antineoplásicas. Paralelamente, os pacientes mantiveram níveis elevados de IL-6, IL-10 e TNF- α indicando a malignidade do câncer pancreático e o pior prognóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências bibliográficas

- Arvaniti M, Danias N, Theodosopoulou E, Smyrniotis V, Karaoglou M, Sarafis P. Quality of Life Variables Assessment, Before and After Pancreatoduodenectomy (PD): Prospective Study. *Global Journal of Health Science*; Vol. 8, No. 6; 2016
- Argilés JM, Busquets S, Lopez-Soriano FJ. Cytokines in the pathogenesis of cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 401-6.
- Argilés JM, Busquets S, Toledo M, López-Soriano FJ. The role of cytokines in cancer cachexia. *Curr Opin Support Palliat Care* 2009; 3: 263-8.
- Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, alfa tocoferol and beta-caroteno in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Cromatog.* 1991;572:103-16.
- Baine MJ, Menning M, Smith LM, Mallya K, Kaur S, Rachagani S, et al. Differential gene expression analysis of peripheral blood mononuclear cells reveals novel test for early detection of pancreatic cancer. *Cancer biomarkers: section A of Disease markers.* 2011; 11(1):1–14.
- Baldwin C, Spiro A, Milligan PJ, Cunningham DC, Andreyev, HJN. Is weight change an appropriate marker of nutritional intervention in patients with cancer? *Proceedings of the Nutrition Society (2009)*
- Barrera, G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *International Scholarly Research Network ISRN Oncology. Volume 2012*
- Bastos, ES. Tumores do sistema biliopancreático. *Revista de Medicina.* V. 49. N 2. 1965.
- Bellone G, Smirne C, Mauri FA, Tonel E, Carbone A, Buffolino A, Dughera L, Robecchi A, Pirisi M, Emanuelli G. Cytokine expression profile in human pancreatic carcinoma cells and in surgical specimens: implications for survival. *Cancer Immunol Immunother.* 2006 Jun; 55(6):684–98.
- Bellone G, Novarino A, Vizio B, Brondino G, Addeo A, Prati A, Giacobino A, Campra D, Fronda GR, Ciuffreda L. Impact of surgery and chemotherapy on cellular immunity in pancreatic carcinoma patients in view of an integration of standard cancer treatment with immunotherapy. *Int J Oncol.* 2009 Jun; 34(6):1701–15.
- Berkovic´MC , Ivkovic´TC , Marout J, Zjadic´-Rotkvic´ V ,Kapitanovic´S. Interleukin 1b Gene Single-Nucleotide Polymorphisms and Susceptibility to Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *DNA AND CELL BIOLOGY* Volume 31, Number 4, 2012
- Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. *Rev Nutr Campinas,* 1999, 12:123-30.
- Bing C, Trayhurn P. Regulation of adipose tissue metabolism in cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11: 201-7.
- Blogowski W, Deskur A, Budkowska M, Salata D, Madej-Michniewicz A, Dabkowski K, Dołęgowska B, Starzyńska T. Selected cytokines in patients with pancreatic cancer: a preliminary report. *PLoS One.* 2014; 9(5):e97613.

Bourgouin S; Ewald J; Mancini J; Moutardier, V; Delpero JR; Le Treut YP. Predictors of Survival in Ampullary, Bile Duct and Duodenal Cancers Following Pancreaticoduodenectomy: a 10-Year Multicentre Analysis. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. July 2015, Volume 19, Issue 7, pp 1247–1255

Bracci, PM. Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiologic evidence and biologic mechanisms *Mol Carcinog*. 2012 January ; 51(1): 53–63

Chabner BA, Bertino J, Cleary J, Ortiz T, Lane A, Supko JG, Ryan D. Agentes Citotóxicos. In: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC (org). *As bases farmacológicas da terapêutica de Googman & Gilman*. 12^a. edição. Mc Graw Hill. Artmed. 2012.

Chatzimichalakis PF, Samanidou VF, Papadoyannis JN. Development of a validated liquid chromatography method for the simultaneous determination of eight fat-soluble vitamins in biological fluids after solid-phase extraction. *J Chromatography* 2004; 805:289–96.

Chen Y, Shi M, Yu GZ, Qin XR, Jin G, Chen P, et al. Interleukin-8, a promising predictor for prognosis of pancreatic cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012 Mar 14; 18(10):1123–9.

Conklin KA. Dietary Antioxidants during Cancer Chemotherapy: Impact on Chemotherapeutic Effectiveness and Development of Side Effects. *Nutr Cancer*, 2000, 37:1-18.

Crooks V, Waller S, Smith T, Hahn TJ. The use of the Karnofsky Performance Scale in determining outcomes and risk in geriatric outpatients. *J Gerontol*. 1991;46:M139-44.

Cullen JJ, Weydert C, Hinkhouse MM, Ritchie J, Domann FE, Spitz D, Oberley LW (2003) The role of manganese superoxide dismutase in the growth of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 63: 1297–1303

CullenJJ, Mitros FA, Oberley LW. Expression of antioxidant enzymes in diseases of the human pancreas: another link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreas* 2003;26:23-7

Davis-Yadley AH, Malafa MP. Vitamins in Pancreatic Cancer: A Review of Underlying Mechanisms and Future Applications American Society for Nutrition. *Adv Nutr* 2015;6:774–802.

Dima SO, Tanase C, Albulescu R, Herlea V, Chivu-Economescu M, Purnichescu-Purtan R, Dumitrascu T, Duda DG, Popescu I. An exploratory study of inflammatory cytokines as prognostic biomarkers in patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas*. 2012 Oct; 41(7):1001–7.

Ebrahimi B, Tucker SL, Li D, Abbruzzese JL, Kurzrock R. Cytokines in pancreatic carcinoma: correlation with phenotypic characteristics and prognosis. *Cancer*. 2004 Dec 15; 101(12):2727–36.

Elyaman W, Bradshaw EM, Uyttenhove C, Dardalhon V, Awasthi A, Imitola J, Bettelli E, Oukka M, Van Snick J, Renauld JC, Kuchroo VK, Khoury SJ. IL-9 induces differentiation of TH17 cells and enhances function of FoxP3+ natural regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. v. 4, p.106-131, Mai. 2009.

FACIT. Functional Assessment of Chronic Illness Therapy. Disponível em www.facit.org. Acesso em 21 de novembro de 2015.

Fang J, Seki T, Maeda H. Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61:290-302.

Fang Y, Gurusamy KS, Wang Q, Davidson BR, Lin H, Xie X, Wang C. Pre-operative biliary drainage for obstructive jaundice. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;(9)

Fearon KCH, Moses AGW. Cancer cachexia. *Int J Cardiol* 2002; 85:73-81.

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

Frick VO, Rubie C, Wagner M, Graeber S, Grimm H, Kopp B, Rau BM, Schilling MK. Enhanced ENA-78 and IL-8 expression in patients with malignant pancreatic diseases. *Pancreatol*. 2008; 8(4–5):488–97.

Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, Allen C, Hansen G, Woodbrook R, Wolfe C, Hamadeh RR, Moore A, Werdecker A, Gessner BD, Te Ao B, McMahon B, Karimkhani C, Yu C, Cooke GS, Schwebel DC, Carpenter DO, Pereira DM, Nash D, Kazi DS, De Leo D, Plass D, Ukwaja KN, Thurston GD, Jin KY, Simard EP, Mills E, Park E, Catala-Lopez F, de Veber G, Gotay C, Khan G, Hosgood HD, Santos IS, Leasher JL, Singh J, Leigh J, Jonas J, Sanabria J, Beardsley J, Jacobsen KH, Takahashi K, Franklin RC, Ronfani L, Montico M, Naldi L, Tonelli M, Geleijnse J, Petzold M, Shrimo MG, Younis M, Yonemoto N, Breitborde N, Yip P, Pourmalek F, Lotufo PA, Esteghamati A, Hankey GJ, Ali R, Lunevicius R, Malekzadeh R, Dellavalle R, Weintraub R, Lucas R, Hay R, Rojas-Rueda D, Westerman R, Sepanlou SG, Nolte S, Patten S, Weichenthal S, Abera SF, Fereshtehnejad SM, Shiue I, Driscoll T, Vasankari T, Alsharif U, Rahimi-Movaghar V, Vlassov VV, Marcenos WS, Mekonnen W, Melaku YA, Yano Y, Artaman A, Campos I, MacLachlan J, Mueller U, Kim D, Trillini M, Eshrati B, Williams HC, Shibuya K, Dandona R, Murthy K, Cowie B, Amare AT, Antonio CA, Castaneda-Orjuela C, van Gool CH, Violante F, Oh IH, Deribe K, Soreide K, Knibbs L, Kereselidze M, Green M, Cardenas R, Roy N, Tillman T, Li Y, Krueger H, Monasta L, Dey S, Sheikhabaehi S, Hafezi-Nejad N, Kumar GA, Sreeramareddy CT, Dandona H, Vollset SE, Mokdad A, Salomon JA, Lozano R, Vos T, Forouzanfar M, Lopez A, Murray C, Naghavi M. (2016) Global Burden of Disease Cancer Collaboration. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncology*, 1, 505-527.

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448–54.

Gabitass RF, Annels NE, Stocken DD, Pandha HA, Middleton GW. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic, esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13. *Cancer Immunol Immunother*. 2011 Oct; 60(10):1419–30.

Gärtner S, Krüger J, Aghdassi AA, Steveling A, Simon P, Lerch MM, Mayerle J. Nutrition in Pancreatic Cancer: A Review. *Gastrointest Tumors* 2015;2:195–202

Geng Y, Qi Q, Sun M, Chen H, Wang P, Chen Z. Prognostic nutritional index predicts survival and correlates with systemic inflammatory response in advanced pancreatic cancer. November 2015 Volume 41, Issue 11, Pages 1508–1514.

Glasauer A, Chandel NS. Targeting antioxidants for cancer therapy. *Biochemical Pharmacology*, 92 (2014). 90-101.

Gopčević KR, Rovčanin BR, Tatić SB, Krivokapić ZV, Gajić MM, Dragutinović VV. Activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in different stages of colorectal carcinoma. *Dig Dis Sci*. 2013.

Goumas FA, Holmer R, Egberts JH, Gontarewicz A, Heneweer C, Geisen U, Hauser C, Mende MM, Legler K, Röcken C, Becker T, Waetzig GH, Rose-John S, Kalthoff H. Inhibition of IL-6 signaling significantly reduces primary tumor growth and recurrences in orthotopic xenograft models of pancreatic cancer. *Int. J. Cancer*: 137, 1035–1046 (2015)

Gilliland TM, Villafane-Ferriol N, Shah KP, Shah RM, Cao HST, Massarweh NN, Silberfein EJ, Choi EA, Hsu C, McElhany AL, Barakat O, Fisher W and Van Buren G Nutritional and Metabolic Derangements in Pancreatic Cancer and Pancreatic Resection. *Nutrients* 2017, 9, 243

Ghiringhelli F, Apetoh L, Tesniere A, Aymeric L, MA Y, Ortiz C, Vermaelen K, Panaretakis T, Mignot G, Ullrich E, Perfettini JL, Schlemmer F, Tasdemir E, Uhl M, Genin P, Civas A, Ryffel B, Kanellopoulos J, Tschopp J, Andre F, Lidereau R, Mclaughlin NM, Haynes NM, Smyth MJ, Kroemer G, Zitvogel L. Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL 1beta-dependent adaptive immunity against tumors. *Nat Med*, v. 15, n. 10, p. 1170- 1178, Oct. 2009.

Graciano MIG, Leffeld NAS, Neves Filho A. Critérios de avaliação para classificação sócio-econômica: elementos de atualização. *Serv Social Realid*. 1999; 8:109-128.

Grote VA, Kaaks R, Nieters A, Tjønneland A, Halkjær J, Overvad K, Skjelbo Nielsen MR, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Racine A, Teucher B, Becker S, Pischon T, Boeing H, Trichopoulou A, Cassapa C, Stratigakou V, Palli D, Krogh V, Tumino R, Vineis P, Panico S, Rodríguez L, Duell EJ, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Navarro C, Gurrea AB, Siersema PD, Peeters PH, Ye W, Sund M, Lindkvist B, Johansen D, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Travis RC, Fedirko V, Jenab M, Michaud DS, Chuang SC, Romaguera D, Bueno-de-Mesquita HB, Rohrmann S. Inflammation marker and risk of pancreatic cancer: a nested case-control study within the EPIC cohort. *Br J Cancer*. 2012 May 22;106(11):1866-74.

Gupta D, Lis CG, Granick J, Grutsch JF, Vashi PG, Lammersfeld CA. Malnutrition was associated with poor quality of life in colorectal cancer: a retrospective analysis. *J Clin Epidemiol*. 2006;59:704-9.

Hammerlind E, Wirblad B, Sandin C, Mercke C, Edström S, Kaasa S, Sullivan M, Westin T. Malnutrition and food intake in relation to quality of life in head and neck cancer patients. *Head and Neck*. 1998;20:540-8

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

Hajdu SI, Vadmal M, Tang P. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 7: Landmarks in History of Cancer, Part 7. *Cancer*. 2015 Aug 1;121(15):2480–513.

Heinemann V, Xu YZ, Chubb S. Cellular elimination of 2', 2'- difluorodeoxycytidine 5'-triphosphate: a mechanism of self-potential. *Cancer Research* v. 52, p. 533-539. 1992.

Hendifar A, Osipov A, Khanuja J, Nissen N, Naziri J, Yang W, Li Q, Tuli R. Influence of Body Mass Index and Albumin on Perioperative Morbidity and Clinical Outcomes in Resected Pancreatic Adenocarcinoma. *PLoS One*. 2016 Mar 25;11(3).

- Hess LM, Barakat R, Tian C, Ozols RF, Alberts DS. Weight change during chemotherapy as a potential prognostic factor for stage III epithelial ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2007; 107:260-5.
- Hodge DR, Hurt EM, Farrar WL. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *Eur J Cancer* 2005, 41(16): 2502–2512.
- Holmer R, Goumas FA, Waetzig GH, Stefan Rose-John S, Kalthoff H. Interleukin-6: a villain in the drama of pancreatic cancer development and progression. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2014;13:371-380
- Instituto Nacional De Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2014, 124p. 2014.
- Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Polychronidis A, Pitiakoudis M, Bounovas A, Simopoulos K. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha and nutritional status in pancreatic cancer patients. *Anticancer Res*. 2001 Mar-Apr;21(2B):1355-8.
- Kaur S, Chakraborty S, Baine MJ, Mallya K, Smith LM, Sasson A, Brand R, Guha S, Jain M, Wittel U, Singh SK, Batra SK. Potentials of plasma NGAL and MIC-1 as biomarker(s) in the diagnosis of lethal pancreatic cancer. *PLoS One*. 2013; 8(2): e55171
- Knack RA. Efeitos do tratamento oncológico no estado nutricional, nos marcadores de estresse oxidativo e na qualidade de vida de pacientes com câncer de estômago e esôfago. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Clínica Médica. 2015.
- Laaukkanen, MO. Extracellular Superoxide Dismutase: Growth Promoter or Tumor Suppressor? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016
- Lee SH, Chung MJ, Kim B, Lee HS, Lee HJ, Heo JY, Kim YJ, Park JY, Bang S, Park SW, Song SY, Chung JB. The Significance of the Prognostic Nutritional Index for All Stages of Pancreatic Cancer. *Nutrition and Cancer*. Volume 69, 2017 – Issue 3.
- Lewis A, Du J, Liu J, Ritchie JM, Oberley LW, Cullen JJ. Metastatic progression of pancreatic cancer: changes in antioxidant enzymes and cell growth. *Clin Exp etastasis*. 2005;22(7):523-32. Epub 2006 Feb 11.
- Liao W, Chien KL, Lin YL, Wu MS, Lin JT, Wang HP, Tu YK. Adjuvant treatments for resected pancreatic adenocarcinoma: a systematic review and network meta-analysis. *The Lancet Oncology*, Volume 14, Issue 11, Pages 1095 - 1103, October 2013.
- Lira FS, Rosa JC, Zanchi NE, Yamashita AS, Lopes RD, Lopes AC, Batista LM Jr, Seelaender M. Regulation of inflammation in the adipose tissue in cancer cachexia: effect of exercise. *Cell Biochem Funct* 2009a; 27: 71-5.
- Loureiro, JFM. Drenagem biliar na palição dos tumores malignos da confluência biliopancreática: estudo comparativo das abordagens cirúrgica e endoscópica ecoguiada. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Clínica Cirúrgica; 2014.
- Lü JM, Lin PH, Yao Q, e Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2010, vol. 14, no. 4, pp. 840–860.

Mattson DM, Ahmad IM, Dayal D, Parsons A, Aykin-Burns N, Li L, Orcutt KP, Spitz DR, Dornfeld KJ, Simons AL. Cisplatin combined with zidovudine enhances cytotoxicity and oxidative stress in human head and neck cancer cells via a thiol-dependent mechanism. *Free Radic Biol Med* 2009; 46:232-7.

Mikamori M; Miyamoto A; Asaoka T; Maeda S; Hama N; Yamamoto K; Hirao M; Ikeda M; Sekimoto M; Doki Y; Mori M; Nakamori S. Postoperative Changes in Body Composition After Pancreaticoduodenectomy Using Multifrequency Bioelectrical Impedance Analysis. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. March 2016, Volume 20, Issue 3, pp 611–618.

Mueller TC, Burmeister MA, Bachmann J, Martignoni ME. Cachexia and pancreatic cancer: Are there treatment options? *World J Gastroenterol* 2014 July 28; 20(28): 9361-9373

Mitsunaga S, Ikeda M, Shimizu S, Ohno I, Furuse J, Inagaki M, Higashi S, Kato H, Terao K, Ochiai A. Serum levels of IL-6 and IL-1 β can predict the efficacy of gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *British Journal of Cancer*. 2013 May 28; 108(10):2063–9

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

Naumann P, Habermehl D, Welzel T, Debus J, Combs SE. Outcome after neoadjuvant chemoradiation and correlation with nutritional status in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Strahlentherapie und Onkologie*. September 2013, Volume 189, Issue 9, pp 745–752.

Noh KW, Pungpapong S, Wallace MB, Woodward TA, Raimondo M. Do cytokine concentrations in pancreatic juice predict the presence of pancreatic diseases? *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2006 Jun; 4 (6):782–9.

Nwose EU, Jelinek HF, Richards RS, Kerr PG. The 'vitamin E regeneration system' (VERS) and an algorithm to justify antioxidant supplementation in diabetes – A hypothesis. *Medical Hypotheses* (2008) 70, 1002–1008

O'Leary BR, Fath MA, Bellizzi AM, Hrabe JE, Button AM, Allen BG, Case AJ, Altekruze S, Wagner BA, Buettner GR, Lynch CF, Hernandez BY, Cozen W, Beardsley RA, Keene J, Henry MD, Domann FE, Spitz DR, Mezhir JJ. Loss of SOD3 (EcSOD) expression promotes an aggressive phenotype in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2015 April 1; 21(7): 1741–1751

Pappas-Gogos G, Tellis C, Lasithiotakis K, Tselepis AD, Tsimogiannis, Tsimoyiannis E, Chalkiadakis G, Chrysos E. Oxidative stress markers in laparoscopic versus open colectomy for cancer: a double-blind randomized study. *Surg Endosc*. 2013; 27(7):2357-2365.

Pedersen BK, Febbraio M. Muscle-derived interleukin-6- a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver and brain. *Brain, Behavior, and Immunity* 2005; 19: 371-376.

Pedersen BK. The disease of physical inactivity- and the role of myokines in muscle- fat cross talk. *The Journal of Physiology* 2009; 587: 5559-5568.

Pegram HJ, Haynes NM, Smyth J, Kershaw MH, Darcy PK. Characterizing the anti-tumor function of adoptively transferred NK cells in vivo. *Cancer Immunol Immunother* Ago 2010, v. 59, n. 8.

Peters GJ, Ruiz Van Haperen VWT, Bergman AM. Preclinical combination therapy with gemcitabine and mechanisms of resistance. *Semin Oncol*. 1996; 23:16-24.

Petersen SV, Valnickova Z, Oury TD, Crapo JD, Chr Nielsen N, Enghild JJ. The subunit composition of human extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) regulates enzymatic activity. *BMC Biochem* 8: 19, 2007

Postier RG. The challenge of pancreatic cancer. *Am J Surg*. 2003; 186:579-82.

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

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

Rose RC, Bode AM. Analysis of water-soluble antioxidants by high-pressure liquid chromatography. *Biochem J* 1995;306:101-5.

Sánchez MVG, Vallejos PL, Luque DP, Rodríguez AN, Molina AH, Galilea AG, Ayala BC, Ruiz JP, Peck GS, Vega JFD. Biliopancreatic tumors: patient survival and quality of life after palliative treatment. *REV ESP ENFERM DIG (Madrid)* Vol. 96. N.º 5, pp. 305-314, 2004.

Seufferlein T, Bachet JB, Van Cutsem E, Rougier P; ESMO Guidelines Working Group. Pancreatic adenocarcinoma: ESMO–ESDO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, vol. 23, n. 7, p. vii33–vii40, 2012.

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

Subramanyam D, Subbaiah KV, Rajendra W, Lokanatha. Serum selenium concentration and antioxidant activity in cervical cancer patients before and after treatment. *Exp Oncol*. 2013; 35(2):97-100.

Tan BH, Ross JA, Kaasa S, Skorpen F, Fearon KC; European Palliative Care Research Collaborative. Identification of possible genetic polymorphisms involved in cancer cachexia: a systematic review. *J Genet*. 2011;90:165-77.

Tang H, Dong X, Day RS, Hassan MM, Li D. Antioxidant genes, diabetes and dietary antioxidants in association with risk of pancreatic cancer. *Carcinogenesis* vol.31 no.4 pp.607–613, 2010

Teoh ML, Sun W, Smith BJ, Oberley LW and Cullen JJ. Modulation of Reactive Oxygen Species in Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(7441 24) December 15, 2007

Vilhordo, DV. Dados histopatológicos e sobrevida em adenocarcinoma da Ampola de Vater. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Cirúrgicas da Faculdade de Medicina da URGs como pré-requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Medicina: Ciências Cirúrgicas. 2012. Orientador: Alessandro Bersch Osvaldt.

Wang C, Xu Y, Lu X. Should preoperative biliary drainage be routinely performed for obstructive jaundice with resectable tumor? *Hepatobiliary Surg Nutr* 2013;2(5):266-271.

Wei L, Lei C, Liang H, Qinrong X, Qingyong M. Superoxide dismutase promotes the epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer cells via activation of the H₂O₂/ERK/NF- κ B axis. *Int J Oncol*; 46(6): 2613-20, 2015.

Wenger FA, Jacobi CA, Zieren J, Docke W, Volk HD, Muller JM. Tumor size and lymph-node status in pancreatic carcinoma—is there a correlation to the preoperative immune function? *Langenbecks Arch Surg*. 1999 Oct; 384(5):473–8.

Wenger FA, Kilian M, Ridders J, Stahlknecht P, Schimke I, Guski H, Jacobi CA, Müller JM. Influence of antioxidative vitamins A, C and E on lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in Syrian hamsters. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*; 65(3): 165-71, 2001 Sep

Willianson RCN. Pancreatic cancer: the greatest oncological challenge. *Br Med J* 1991; 296:445-6.

Wolfgang CL, Herman JMH, Laheru DA, Klein AP, Erdek MA, Fishman EK, HrubanRH. Recent Progress in Pancreatic Cancer. *CA CANCER J CLIN* 2013; 63:318–348.

World Health Organization (WHO). Early Detection (Cancer control: knowledge into action: WHO guide for effective programmers, modulo 3) Geneva: WHO, 2007.

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

Yadav D, Lowenfels AB. The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Gastroenterology* 2013;144:1252–1261.

Yamauchi, R. Addition products of alpha-tocopherol with lipid-derived free radicals. *Vitam. Horm.*, 76, 309–327. 2007

Yeo TP, Burrell SA, Sauter PK, Kennedy EP, Lavu H, Leiby BE, Yeo CJ. A Progressive Postresection Walking Program Significantly Improves Fatigue and Health-Related Quality of Life in Pancreas and Periapillary Cancer Patients. No. 4, April 2012 *J Am Coll Surg*

Yid D, Karapetis C, Strickland A, Steer CB, Goldstein D. Chemotherapy and radiotherapy for inoperable advanced pancreatic cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;(4):CD002093.

Zavoral M, Minarikova P, Zavada F, Salek C, Minarik M. Molecular biology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2011;17(24):2897–908.

Zhang P, Zou M, Wen X, Gu F, Li J, Liu G, Dong J, Deng X, Gao J, Li X, Jia X, Dong Z, Chen L, Wang Y, Tian Y. Development of serum parameters panels for the early detection of pancreatic cancer. *Int J Cancer*. 2014 Jun 1; 134(11):2646–55.

8. APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa: Estado nutricional, estresse oxidativo e inflamatório de pacientes com neoplasia maligna da confluência biliopancreática antes da ressecção tumoral e após quimioterapia

Pesquisador Responsável: Haroldo da Silva Santana, médico, aluno de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Contato com os pesquisadores envolvidos:

Haroldo Santana - e-mail: haroldo_santana3@hotmail.com. Fone: (16) 992120666

Selma Freire- e-mail: sfreire@fmrp.usp.br. Fone: (16) 3315 2466

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

Convidamos o (a) senhor (a) a participar de uma pesquisa que irá avaliar a produção de algumas substâncias produzidas pelo organismo que são relacionadas com a fraqueza das pessoas que recebem quimioterapia.

FINALIDADE DA PESQUISA

O (a) Senhor (a) será submetido à cirurgia para retirada do tumor e depois fará quimioterapia para tratamento de sua doença, conforme foi proposto pela equipe médica. Esse estudo visa avaliar a quantidade de substâncias produzidas pelo seu corpo que são os antioxidantes e as citocinas. Tais substâncias podem causar perda de músculo e fraqueza. Os dados obtidos neste estudo poderão ser úteis para propor ações que possam reduzir a intensidade das queixas de perda de peso e de fraqueza nas pessoas que fazem a cirurgia e depois recebem quimioterapia.

PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

Caso o (a) Senhor (a) concorde em participar deste estudo, serão realizadas duas avaliações, feitas um dia antes da cirurgia e após a quimioterapia. No início do estudo, o (a) Senhor (a) será conduzido até a Unidade Metabólica, no 5º andar do HC, onde o pesquisador fará perguntas sobre sua condição socioeconômica, sua alimentação, sua qualidade de vida e queixas de fraqueza. Também serão feitas medidas de seu corpo para avaliar a quantidade de gordura e músculo, através de um aparelho que possui eletrodos, semelhante ao eletrocardiograma. Esta avaliação terá a duração aproximada de 40 minutos. Após a quimioterapia, o pesquisador irá fazer novamente as medidas de seu corpo e aplicar os mesmos questionários feitos no início do estudo. Esta avaliação será feita também na Unidade Metabólica. Conforme rotina, a equipe médica da Oncologia irá solicitar exames de sangue antes da cirurgia e durante a quimioterapia. Para evitar que o (a) Senhor (a) receba outra picada na veia, nós utilizaremos a mesma amostra de sangue para as análises laboratoriais deste estudo. A obtenção do sangue para exames laboratoriais será feita na Unidade Metabólica, no 5º andar do HC e será feita por um enfermeiro treinado, utilizando materiais descartáveis. Será feita coleta de cerca de 4 colheres de sopa de sangue da veia do seu braço e uma parte deste sangue será utilizado para os seus exames laboratoriais de rotina e outra parte para análises do nosso estudo.

POSSÍVEIS DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS DECORRENTES DA PESQUISA

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

picada de agulha e poderá apresentar dor leve e/ou pequenas manchas roxas no local. Para evitar esses desconfortos, nós utilizaremos a mesma amostra de sangue onde serão feitas os seus exames laboratoriais de rotina. O (a) Senhor (a) será identificado (a) com um número, de forma a garantir o sigilo das informações e terá a garantia que seu nome não será divulgado durante todas as fases da pesquisa. A qualquer momento da pesquisa, o (a) Senhor (a) poderá tirar dúvidas sobre com os pesquisadores. Se o (a) Senhor (a) apresentar alterações no estado nutricional, receberá orientações individualizadas para modificar sua alimentação. Quando a mudança da alimentação não for suficiente para corrigir estas alterações, após discussão com a equipe médica responsável pelo seu atendimento, o (a) Senhor (a) poderá ser encaminhado para atendimento especializado com a equipe da Nutrologia, no ambulatório ANED, sob os cuidados da Profa. Dra. Selma Freire, no corredor 9, ramal do balcão 5309.

Estaremos à sua disposição para orientações nutricionais mesmo após o término do estudo, sem necessidade de agendamento. Nestes casos, basta o (a) Senhor (a) fazer contato telefônico com o pesquisador. As informações obtidas nesta pesquisa serão divulgadas em revistas científicas especializadas, independente dos resultados. Nós esperamos que estas informações sejam úteis para que a equipe de saúde possa propor abordagens que auxiliem as pessoas que farão o mesmo tratamento que o (a) Senhor (a) será submetido (a).

DIREITOS DOS VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA

Independente do resultado obtido no estudo, o (a) Senhor (a) terá acesso aos resultados de sua avaliação e receberá uma orientação final na ocasião do encerramento da pesquisa. O (a) Senhor (a) poderá solicitar esclarecimentos sobre a pesquisa antes e durante o decorrer do estudo, tanto pessoalmente quanto pelos contatos telefônicos com os pesquisadores. O (a) Senhor (a) tem liberdade de recusar a participar desta pesquisa ou retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo sem que isso modifique o seu cuidado nesta Instituição. Pela sua autorização, o (a) Senhor (a) não receberá qualquer valor em dinheiro. Será assegurado seu direito de solicitar indenização nos termos da lei vigente caso o (a) Senhor (a) julgue que sua participação neste estudo o prejudicou de alguma forma.

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

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____

Nome do pesquisador

Assinatura do pesquisador

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____

Nome do voluntário

Nome do voluntário

ANEXO A

**A ESCALA DE RESULTADOS OU DESEMPENHO DE KARNOFSKY-
CRITÉRIOS (%)**

A escala de resultados ou desempenho de Karnofsky classifica os pacientes de acordo com o grau de suas inaptidões ou deficiências funcionais

Ela pode ser utilizada para comparar a efetividade de diferentes terapias e para permitir prognóstico de pacientes individuais.

Quanto menor a classificação na escala, pior a expectativa de recuperação de enfermidades ou retorno às atividades normais.

Apto para atividades normais e trabalho; nenhum cuidado especial é necessário.	100	Normal; nenhuma queixa; nenhuma evidência de doença.
	90	Capacitado para atividades normais. Pequenos sinais e sintomas.
	80	Atividade normal com esforço. Alguns sinais e sintomas de doença.
Inapto para o trabalho; apto para viver em casa e cuidar de muitas de suas necessidades. As quantidades de assistência e suporte necessários são bastante variáveis.	70	Cuidados para si, incapaz para seguir com atividades normais ou trabalho ativo.
	60	Requer ajuda ocasional, porém apto a cuidar de muitas de suas necessidades pessoais.
	50	Requer ajuda considerável e freqüente assistência médica ou especializada.
Inapto para cuidar de si mesmo; requer cuidados hospitalares ou equivalentes especializado; doença pode estar progredindo rapidamente.	40	Incapacitado; requer cuidado especial e assistência.
	30	Severamente incapacitado; admissão hospitalar é indicada, mas a morte não é iminente.
	20	Muito doente; admissão hospitalar é necessária, necessitando de terapia e cuidados intensivos.
	10	Moribundo; processo de fatalidade progredindo rapidamente.
	0	Morte

ANEXO B
AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA

1 – Situação Econômica da Família

Faixa salarial	Pontos
1 – acima de 24 SM (muito/rica)	10 ()
2 – entre 16 e 24 SM (rica)	7 ()
3 – entre 08 e 16 SM (média)	5 ()
4 – entre 04 e 08 SM (remediada-média)	3 ()
5 – entre 02 e 04 SM (remediada)	1 ()
6 – abaixo de 02 SM (pobre)	0 ()

2 - Número de Membros da Família

Número de Membros	Pontos
1 a 2	8 ()
3 a 4	5 ()
5 a 7	3 ()
acima de 7	0 ()

3 - Grau de Instrução dos Chefes

Nível	Pontos
Superior completo	8 ()
Superior incompleto	7 ()
Colegial completo	6 ()
Colegial incompleto	5 ()
Ginasial completo	4 ()
Ginasial incompleto	3 ()
Primário completo	2 ()
Primário incompleto	1 ()
Analfabeto e Semi-alfabetizado	0 ()

4 - Habitação

Habitação	Pontos
Casa própria	4 a 8 ()
Residência compromissada	4 a 6 ()
Casa cedida por benefício	3 a 5 ()
Casa alugada	2 a 6 ()
Casa cedida por necessidade	2 ()

5 - Profissão do Chefe

Profissão	Pontos
Grande industrial, comerciante, fazendeiro, empresário	10 ()
Profissional liberal, oficial, funcionário de nível superior	7 ()
Médio industrial, comerciante, agricultor, empresário, profissional de nível médio e/ou técnico, médio funcionário	5 ()

Funcionário ou empregado de nível inferior (empregado burocrático e outros), mestre oficial, pequeno comerciante e pequeno agricultor (autônomo)	3 ()
Pequeno funcionário ou trabalhador; operário, trabalhador rural, suboficial e outros	2 ()
Subemprego: trabalhador volante ou	

6 - Sistema de Pontos para Classificação Sócio-Econômica

Código	Classe sócio-econômica	Pontos	Intervalo
BI	Classe Baixa Inferior	0 a 5	5 ()
BS	Classe Baixa Superior	6 a 11	5 ()
MI	Classe Média Inferior	12 a 20	8 ()
M	Classe Média	21 a 29	8 ()
MS	Classe Média Superior	30 a 38	8 ()
A	Classe Alta	39 ac.	/ ()

ANEXO C – FACIT-F

Abaixo encontrará uma lista de afirmações que outras pessoas com a sua doença disseram ser importantes. **Faça um círculo ou marque um número por linha para indicar a sua resposta no que se refere aos últimos 7 dias.**

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

<u>BEM-ESTAR SOCIAL/FAMILIAR</u>		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou menos	Muito	Muitíssimo
GS1	Sinto que tenho uma boa relação com os meus amigos	0	1	2	3	4
GS2	Recebo apoio emocional da minha família.....	0	1	2	3	4
GS3	Recebo apoio dos meus amigos.....	0	1	2	3	4
GS4	A minha família aceita a minha doença.....	0	1	2	3	4
GS5	Estou satisfeito/a com a maneira como a minha família fala sobre a minha doença	0	1	2	3	4
GS6	Sinto-me próximo/a do/a meu/minha parceiro/a (ou da pessoa que me dá maior apoio).....	0	1	2	3	4
GE2	Independentemente do seu nível atual de atividade sexual, por favor responda à pergunta a seguir. Se preferir não responder, assinale o quadrículo [] e passe para a próxima seção.					
GS7	Estou satisfeito/a com a minha vida sexual	0	1	2	3	4

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

<u>PREOCUPAÇÕES ADICIONAIS</u>		Nem um pouco	Um pouco	Mais ou menos	Muito	Muitíssimo
HI7	Sinto-me fatigado/a	0	1	2	3	4
HI12	Sinto fraqueza generalizada.....	0	1	2	3	4
An1	Sinto-me sem forças (sem vontade para nada)	0	1	2	3	4
An2	Sinto-me cansado/a.....	0	1	2	3	4
An3	Tenho dificuldade em <u>começar</u> as coisas porque estou cansado/a..	0	1	2	3	4
An4	Tenho dificuldade em <u>acabar</u> as coisas porque estou cansado/a.....	0	1	2	3	4
An5	Tenho energia.....	0	1	2	3	4
An7	Sou capaz de fazer as minhas atividades habituais.....	0	1	2	3	4
An8	Preciso (de) dormir durante o dia	0	1	2	3	4
An12	Estou cansado/a demais para comer	0	1	2	3	4
An14	Preciso de ajuda para fazer as minhas atividades habituais	0	1	2	3	4
An15	Estou frustrado/a por estar cansado/a demais para fazer as coisas que quero	0	1	2	3	4
An16	Tenho que limitar as minhas atividades sociais por estar cansado/a.....	0	1	2	3	4

FACIT-F (Pontuação)

FACIT-F Scoring Guidelines (Traduzido da Versão 4)

- Instruções:*
1. Colocar respostas na coluna “item de respostas”. Se faltar, marcar com um “X”
 2. Executar reversões, como indicado, e somar itens individuais para obter uma pontuação.
 3. Multiplique a soma das pontuações de itens pelo número de itens da subescala, em seguida, dividir pelo número de itens respondidos. Isso produz o escore subescala.
 4. Adicionar subescala para derivar escores totais (TOI, FACT-G & FACIT-F).
 5. Quanto maior a pontuação, melhor a qualidade de vida

<u>Subescala</u> item	<u>Código do item</u>	<u>Reverter item?</u>	<u>Resposta ao item</u>	<u>Pontuação do item</u>	
BEM ESTAR FÍSICO (PWB)	GP1	4	-	_____	= _____
	GP2	4	-	_____	= _____
	GP3	4	-	_____	= _____
	GP4	4	-	_____	= _____
	GP5	4	-	_____	= _____
	GP6	4	-	_____	= _____
	GP7	4	-	_____	= _____
<i>Faixa de pontuação: 0 - 28</i>					

Soma da pontuação dos itens individuais: _____

Multiplique por 7: _____

Divida pelo número de itens respondidos: _____ = **pontuação da subescala PWB**

BEM ESTAR SOCIAL/FAMILIAR (SWB)	GS1	0	+	_____	= _____
	GS2	0	+	_____	= _____
	GS3	0	+	_____	= _____
	GS4	0	+	_____	= _____
	GS5	0	+	_____	= _____
	GS6	0	+	_____	= _____
	GS7	0	+	_____	= _____
<i>Faixa de pontuação: 0 - 28</i>					

Soma da pontuação dos itens individuais: _____

Multiplique por 7: _____

Divida pelo número de itens respondidos: _____ = **pontuação da subescala SWB**

BEM ESTAR EMOCIONAL (EWB)	GE1	4	-	_____	= _____
	GE2	0	+	_____	= _____
	GE3	4	-	_____	= _____
	GE4	4	-	_____	= _____
	GE5	4	-	_____	= _____
	GE6	4	-	_____	= _____
<i>Faixa de pontuação: 0 - 28</i>					

Soma da pontuação dos itens individuais: _____

Multiplique por 6: _____

Divida pelo número de itens respondidos: _____ = **pontuação da subescala EWB**

BEM ESTAR FUNCIONAL (FWB)	GF1	0	+	_____	= _____
	GF2	0	+	_____	= _____
	GF3	0	+	_____	= _____
	GF4	0	+	_____	= _____
	GF5	0	+	_____	= _____
	GF6	0	+	_____	= _____
	GF7	0	+	_____	= _____
<i>Faixa de pontuação: 0 - 28</i>					

Soma da pontuação dos itens individuais: _____

Multiplique por 7: _____

Divida pelo numero de itens respondidos: _____ = **pontuação da subescala FWB**

<u>Subescala</u>	<u>Código do item</u>	<u>Reverter item?</u>	<u>Resposta ao item</u>	<u>Pontuação do item</u>
SUBESCALA DE FADIGA (FS)	HI7	4 -	_____	= _____
	HI12	4 -	_____	= _____
	An1	4 -	_____	= _____
	An2	4 -	_____	= _____
	An3	4 -	_____	= _____
	An4	4 -	_____	= _____
	An5	0 +	_____	= _____
	An7	0 +	_____	= _____
	An8	4 -	_____	= _____
	An12	4 -	_____	= _____
	An14	4 -	_____	= _____
	An15	4 -	_____	= _____
	An16	4 -	_____	= _____

Soma da pontuação dos itens individuais: _____

Multiplique por 13: _____

Divida pelo numero de itens respondidos: _____ = **pontuação subescala FS**

Para obter o Índice Resultado Experimental do FACIT-F (TOI):

Faixa de Pontuação: 0-108

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

Para obter pontuação total do FACT-G:

Faixa de Pontuação: 0-108

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

Para obter a pontuação total do FACIT-F:

Faixa de Pontuação: 0-160

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