

MARCOS FRAGA FORTES

Estudo da relação entre resposta inflamatória em pacientes caquéticos portadores de tumores malignos e a composição do líquido cefalorraquidiano

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

Programa de Anestesiologia, Ciências Cirúrgicas
e Medicina Perioperatória

Área de concentração: Cirurgia Translacional

Orientador: Prof. Dr. José Pinhata Otoch

**São Paulo
2022**

MARCOS FRAGA FORTES

Estudo da relação entre resposta inflamatória em pacientes caquéticos portadores de tumores malignos e a composição do líquido cefalorraquidiano

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

Programa de Anestesiologia, Ciências Cirúrgicas
e Medicina Perioperatória

Área de concentração: Cirurgia Translacional

Orientador: Prof. Dr. José Pinhata Otoch

**São Paulo
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Fortes, Marcos Fraga

Estudo da relação entre resposta inflamatória em
pacientes caquéticos portadores de tumores malignos
e a composição do líquido cefalorraquidiano / Marcos
Fraga Fortes. -- São Paulo, 2022.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Anestesiologia, Ciências Cirúrgicas
e Medicina Perioperatória. Área de Concentração:
Cirurgia Translacional.

Orientador: José Pinhata Otoch.

Descritores: 1.Caquexia 2.Líquido
cefalorraquidiano 3.Neoplasias 4.Inflamação

USP/FM/DBD-459/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha maior inspiração, minha esposa, companheira e incentivadora Gabriela Noronha Fortes.

Às motivações dos meus esforços, meus filhos Gabriel, Marcos, Sophia e Lucas Fortes.

À minha mãe Ely Fraga Fortes (in memoriam), minha educadora, força e amor imensuráveis.

Meu pai, Vicente de Paulo Melo Fortes (in memoriam), nordestino de fibra e exemplo de ser humano.

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grato a **Deus** que tudo permitiu e proveu.

Agradeço com grande fervor ao grande exemplo de pessoa, ao amigo, acadêmico e médico, Professor Dr. José Pinhata Otoch, aguerrido orientador que vence resilientemente a todos os obstáculos.

Agradeço com orgulho e grande estima à Professora Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender, força motriz que contamina e direciona todos ao redor a produzirem ciência.

À Professora Dra. Camila Squarzon Dale, competente amiga e conselheira.

Ao Marcus Vinicius Penha, à Ariene Murari e Joyce Rosa, sem os quais seria impossível a realização desta pesquisa.

Agradeço aos colegas do programa pelo grande apoio durante as disciplinas, quando eu estava com Covid, sem estes e minha esposa não teria conseguido finalizar.

Agradeço aos colegas anesthesiologistas que foram de fundamental importância para a coleta das amostras.

Agradeço ao LABMOL, da UFOPA, nas pessoas do Dr. Marcos Prado e Dra. Eloísa Nascimento, por cederem o freezer -80° para conservação das amostras.

Ao Hospital Regional do Baixo Amazonas por permitir e apoiar o andamento da pesquisa, disponibilizando o Centro de Ensino e Pesquisa e a Diretoria de Ensino e Pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia, Ciências Cirúrgicas e Medicina Perioperatória da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo na pessoa da Professora Dra. Maria José Carmona, com respeito e admiração.

O que adianta o homem ganhar o mundo inteiro e perder a sua alma?

Marcos 8: 16

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de figuras	
Lista de quadros	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa	3
2 OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo Geral	6
2.2 Objetivos Específicos	6
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	7
3.1 Câncer e Inflamação	8
3.2 Caquexia	12
3.3 Classificação da Caquexia	19
3.4 Sistema Nervoso Central e Caquexia.....	23
3.5 Líquido Cefalorraquidiano	31
4 MÉTODOS	35
4.1 Desenho do Estudo	36
4.2 Critérios para Diagnosticar a Caquexia	37
4.3 Critérios de Inclusão e de Exclusão	38
4.4 Seleção	39
4.5 Coleta de Líquido Cefalorraquidiano	40
4.5.1 Técnica de punção lombar.....	41
4.6 Análises Laboratoriais	42
4.7 Determinação do Perfil de Citocinas no Líquor	42
4.8 Análise Estatística	43
5 RESULTADOS.....	44
5.1 Dados Epidemiológicos	45
5.2 Dados Clínicos	48
5.3 Dados da Qualidade de Vida.....	54
5.4 Avaliação dos Pacientes pela Escala de Prognóstico de Glasgow	55
5.5 Citocinas Presentes no Líquido Cefalorraquidiano de Pacientes	56
6 DISCUSSÃO	59
7 CONCLUSÕES	74
8 ANEXOS	78
9 REFERÊNCIAS.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HETE	-	Ácido 5-hidroxeicosataetraenico
ACTH	-	Hormônio adrenocorticotrópico
AP-1	-	Proteína ativadora 1
AR	-	Artrite reumatoide
ATGL	-	Lipase de triglicerol do tecido adiposo
CASCO	-	Cachexia Score
CC	-	Grupo III - Pacientes com câncer e caquéticos
CHCM	-	Concentração da hemoglobina corpuscular média
COX-2	-	Ciclooxigenase-2
CSC	-	Grupo II - Pacientes com câncer sem caquexia
Ct	-	Grupo I - Controle
GPS	-	<i>The Glasgow Prognostic Score</i>
HCM	-	Hemoglobina corpuscular média
HRBA	-	Hospital Regional do Baixo Amazonas
HSL	-	Lipase hormônio-sensível
IC	-	Insuficiência cardíaca
IFN- γ	-	Interferon γ
IL-1ra	-	Receptor antagonista de IL-1
IL-1 β	-	Interleucina-1 beta
IL-6	-	Interleucina 6
IL-8	-	Interleucina 8
IMC	-	Índice de massa corporal
INCA	-	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
IP10	-	Proteína induzida por Interferon gama 10
I κ B- α	-	Proteínas reguladoras da via NF- κ B
LCR	-	Líquido cefalorraquidiano
LHS	-	Lipase hormônio-sensível

LPL	- Lipoproteína lipase
LPS	- Lipopolissacarídeo
mGPS	- <i>The Modified Glasgow Prognostic Score</i>
MIP10	- Proteína quimioatraente de monócito 10
MPC1	- Proteínas inflamatórias de macrófagos 1
NBD	- NEMO BINDING DOMAIN
NFAT	- Fator nuclear associado a células T ativadas
NF-kB	- Fator nuclear kappa B
PCR	- Proteína C reativa
PGE	- Prostaglandina E
PL	- Punção lombar
POMC	- Pró-opiomelanocortina
QLQ-C30	- <i>European Organization for Research and Treatment of Cancer- Quality of Life Questionnaire Core 30</i>
RDW	- Amplitude de distribuição dos eritrócitos
SIDA	- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
sIL-6R	- Receptor solúvel de IL-6R
SNC	- Sistema nervoso central
sTNFR	- Receptor solúvel de TNF- α
TAG	- Triacilglicerol
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF- α	- Fator de necrose tumoral alfa
UNACON	- Unidade de Alta Complexidade em Oncologia
VCM	- Volume corpuscular médio
VEGF	- Fator de crescimento endotelial vascular

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema descritivo do câncer	8
Figura 2 - Cirurgias Oncológicas no HRBA	19
Figura 3 - Sessões de Quimioterapia no HRBA	19

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Incidência estimada conforme a localização primária do tumor e sexo	9
Quadro 2 - Caracterização do quadro clínico do paciente com caquexia	22
Quadro 3 - Valores de referência do LCR.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características gerais dos pacientes	47
Tabela 2 - Escore prognóstico de Glasgow modificado	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Dados antropométricos.....	48
Gráfico 2 -	Dados bioquímicos	49
Gráfico 3 -	Dados bioquímicos para diagnóstico da caquexia.....	50
Gráfico 4 -	Dados do hemograma	50
Gráfico 5 -	Dados do hemograma	52
Gráfico 6 -	Dados do hemograma	53
Gráfico 7 -	Percepção da qualidade de vida.....	54
Gráfico 8 -	Avaliação pela escala de Glasgow	56
Gráfico 9 -	Avaliação de citocinas pró-inflamatórias presentes no líquor cefalorraquidiano	57
Gráfico 10 -	Correlação de Spearman entre proteína C-reativa e citocinas pró-inflamatórias expressas no líquido de pacientes do grupo câncer e caquexia	58

RESUMO

Fortes MF. *Estudo da relação entre resposta inflamatória em pacientes caquéticos portadores de tumores malignos e a composição do líquido cefalorraquidiano* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

A caquexia é uma síndrome multifatorial definida por perda contínua de substratos, principalmente de massa muscular esquelética com comprometimento funcional progressivo, caracterizada por um balanço negativo de proteínas e energia, e questionável consenso sobre a sua etiologia. A resposta inflamatória sistêmica em pacientes com caquexia por câncer é associada ao aumento de citocinas pró-inflamatórias. O líquido cefalorraquidiano é o objeto do presente estudo sobre os efeitos da caquexia no sistema nervoso central (SNC). O estudo teve caráter longitudinal, prospectivo e translacional. Foram coletadas amostras de líquido cefalorraquidiano de 105 voluntários, 43 controles (Ct), 13 com câncer sem caquexia (CSC) e 49 com câncer e caquexia (CC); realizada a pesquisa de citocinas por detecção de antígenos alvo em microesferas Magplex®, analisadas em equipamento Magpix® (Life Technologies, Grand Island, NY, USA); foram feitas análises comparativas antropométricas, laboratoriais, escore de Glasgow e pesquisa de qualidade de vida empregando-se o questionário QLQ-30. O grupo CC apresentou maior faixa etária quando comparados aos pacientes do grupo Ct ($p=0,002$), assim como menor peso e IMC. O mesmo grupo mostrou elevação significativa da concentração de PCR e redução significativa nas concentrações séricas de albumina. O grupo CC apresentou pontuação desfavorável na aplicação do questionário de qualidade de vida QLQ-C30 em relação aos pacientes do grupo CSC. A análise de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias revelou presença de MCP-1, VEGF, IL-8, IP-10 e MIP-1 beta no líquido cefalorraquidiano dos

voluntários. Pacientes dos grupos CC e CSC apresentaram menores valores das citocinas MCP-1 ($p < 0,001$) e VEGF ($p < 0,0001$) em relação aos pacientes do grupo Ct, assim como de IP-10 ($p < 0,001$), em CC. Os dados antropométricos, laboratoriais e de qualidade de vida avaliados embasam a distinção entre os grupos, demonstram inflamação e desnutrição dos pacientes com câncer e caquexia. A análise das citocinas demonstra uma concentração significativamente reduzida de citocinas no líquido cefalorraquidiano dos indivíduos com CC em relação ao Ct. Os resultados sugerem que o SNC do paciente caquético falha na detecção dos distúrbios inflamatórios, possivelmente comprometendo os ajustes hipotalâmicos de regulação de apetite e composição corporal.

Descritores: Caquexia; Líquido cefalorraquidiano; Neoplasias; Inflamação.

ABSTRACT

Fortes MF. *Study of the inflammatory response in cachectic patients with malignant tumors and the composition of cerebrospinal fluid* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Cachexia is a multifactorial syndrome characterized by a continuous loss of body mass, mainly skeletal muscle mass, with progressive functional impairment. The presence of systemic inflammatory response in patients with cancer cachexia is evidenced by high concentration of pro-inflammatory cytokines. We examined the cerebrospinal fluid (CSF) in cancer cachexia, with regard of the profile of inflammatory markers. The study was longitudinal, prospective, and translational. Cerebrospinal fluid samples were collected from 105 volunteers, 43 controls (Ct), 13 with cancer without cachexia (CSC), and 49 with cancer and cachexia (CC); cytokines were assessed by detection of target antigens in Magplex[®] microspheres analyzed in Magpix[®] equipment (Life Technologies, Grand Island, NY, USA), and anthropometric and biochemical data, Glasgow Prognostic Score, and quality-of-life surveys using QLQ-30 questionnaire were performed. Compared with Ct group, CC group was older and had lower weight and BMI. There was a significant increase in CRP levels and a significant decrease in serum albumin concentration in CC. CC showed lower scores in the QLQ-C30 questionnaire compared to CSC group. Analysis of proinflammatory cytokines and chemokines revealed the presence of MCP-1, VEGF, IL-8, IP-10, and MIP-1 beta in the cerebrospinal fluid of the patients. CC and CSC patients had lower levels of MCP-1 ($p < 0.001$), VEGF ($p < 0.0001$), and IP-10 ($p < 0.001$) compared with patients in the Ct group, as well as IP-10 ($p < 0.001$), in CC. The anthropometric, laboratory, and quality-of-life data evaluated support the distinction among groups and show inflammation and malnutrition in patients with cancer and cachexia. Cytokine analysis shows a

significantly lower concentration of cytokines in the CSF of individuals with CC compared with Ct. The results suggest that the CNS of the cachectic patient does not recognize inflammatory disorders, possibly affecting hypothalamic adjustments in appetite regulation and body composition.

Descriptors: Cachexia; Cerebrospinal fluid; Neoplasms; Inflammation.

1 INTRODUÇÃO

A caquexia, uma complexa síndrome metabólica, tem alta prevalência em pacientes com câncer em estadios avançados. Sua presença inequívoca é observada pela contínua perda de massa corporal (pela depleção de estoques musculares e adiposos), comprometendo principalmente a qualidade de vida e a resposta aos tratamentos anticâncer^{1,2}.

A inflamação sistêmica contínua, presente na caquexia associada ao câncer, altera o funcionamento e a função de diversos órgãos e tecidos. As citocinas participam no desenvolvimento e/ou progressão da caquexia: IL-1 β , a IL-6, IFN- γ , TNF- α , por exemplo, foram associadas às várias consequências da caquexia^{3,4}. Contudo, existe controvérsia sobre a necessidade de concentrações aumentadas de citocinas na circulação ou outros fluidos corporais (por exemplo, fluido cefalorraquidiano) para demonstrar o envolvimento das citocinas na caquexia.

Assim como o sangue permite a aferição de mediadores inflamatórios para a avaliação da resposta sistêmica, o líquido cefalorraquidiano (ou simplesmente líquido) é objeto de estudo para avaliar a condição do sistema nervoso central e possíveis interações. Assim, este estudo foi direcionado a um tecido que ainda não foi estudado no âmbito da caquexia associada ao câncer, com a caracterização do quadro inflamatório (ou a ausência dele) no líquido de pacientes.

Os pacientes portadores de câncer são frequentemente submetidos a procedimentos cirúrgicos com anestesia por punção de líquido cefalorraquidiano, a raquianestesia ou anestesia raquidiana, com injeção de anestésico por punção. Estes pacientes podem ser foco de obtenção de líquido espinhal para estudo de sua composição em relação à celularidade, bioquímica, estudo de mediadores, pH, aspecto morfológico do líquido e cultura. Substrato de grande interesse para embasamento da tese de existência de relação entre a síndrome caquética em paciente oncológico e regulação pelo sistema nervoso central (SNC). No Hospital Regional do Baixo Amazonas (HRBA), referência em oncologia na região amazônica, é possível a obtenção de líquido cefalorraquidiano em pacientes caquéticos devido a um grande número de raquianestesias, mesmo sendo a caquexia fator limitante às indicações de cirurgias e raquianestesias.

Como não há na literatura estudos que indiquem como o sistema nervoso central de seres humanos se comporta na inflamação característica da caquexia associada ao câncer, resta uma grande dúvida: o aumento ou a diminuição da resposta inflamatória tem reflexo direto ou indireto sobre o SNC?

1.1 Justificativa

Considerando que a presença de resposta inflamatória sistêmica em pacientes com caquexia por câncer é evidenciada pelos níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, tendo em vista que o conhecimento das alterações inflamatórias teciduais ocorre em vários níveis, tanto em sistemas

periféricos como em sistema nervoso central, com inter-relações entre os sistemas regulatórios e de amplificação, é pertinente avaliar a possibilidade de relação entre a constituição celular, físico-química e principalmente o status inflamatório do sistema nervoso central e o nível de resposta inflamatória sistêmica e local na caquexia.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o Líquido cefalorraquidiano e o seu comportamento na inflamação sistêmica crônica presente na caquexia associada ao câncer.

2.2 Objetivos Específicos

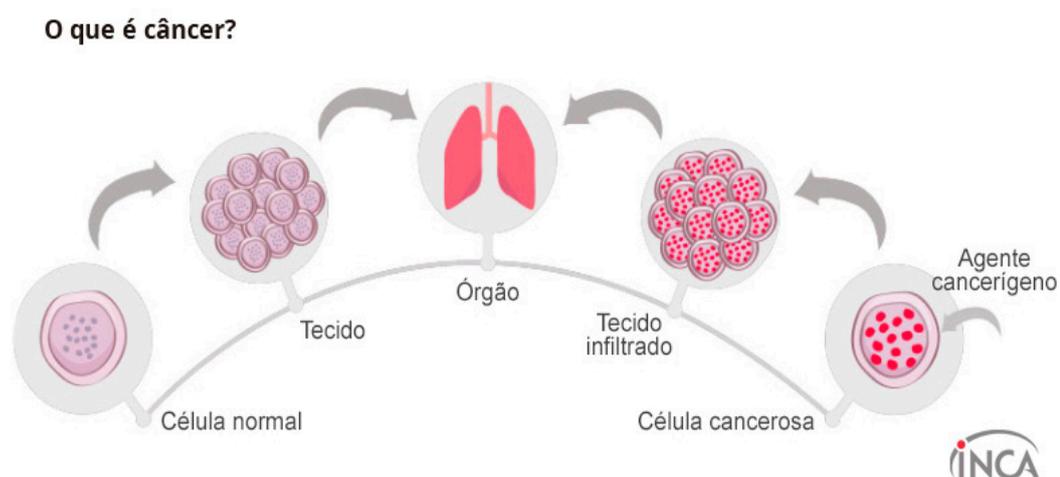
a) Avaliar o perfil clínico e epidemiológico de uma população de pacientes atendidos no Serviço de Oncologia do Hospital Regional do Baixo Amazonas Dr. Waldemar Pena com câncer, independente do estadio clínico, e sem interferência na conduta médica terapêutica a fim de se encontrar grupos de pacientes caquéticos e não caquéticos, por meio da avaliação do perfil clínico e bioquímico.

b) Determinar o padrão inflamatório dos pacientes incluídos nos grupos caquéticos e não caquéticos por meio da avaliação da expressão de citocinas no Líquido cefalorraquidiano.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Câncer e Inflamação

Conforme descrição do Instituto Nacional de Câncer (INCA), câncer é um termo que abrange inúmeros e diferentes tipos de doenças malignas que têm em comum o crescimento desordenado de células, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos à distância⁵ (Figura 1).



Fonte: Instituto Nacional de Câncer⁵.

Figura 1 - Esquema descritivo do câncer

A última análise de incidência de câncer, publicada pelo INCA em 2019, com estimativa para 2020, apresentou um total de 626.030 novos casos de câncer, incluindo os de pele não melanoma, certamente um problema de saúde de grande relevância epidemiológica, com mortalidade no Brasil em 2019 de 232.030 pacientes portadores de câncer⁶.

A caquexia afeta 80% dos pacientes com câncer avançado e é responsável por 20% da mortalidade por câncer⁷, considerando as estatísticas citadas anteriormente da incidência de câncer no Brasil, pode-se aferir a importância desta condição como fator de prognóstico reservado e tornando-se um verdadeiro problema de saúde pública (Quadro 2).

Quadro 1 - Incidência estimada conforme a localização primária do tumor e sexo

Localização Primária	Casos Novos	%
Em homens, Brasil, 2020		
Próstata	65.840	29,2
Cólon e Reto	20.540	9,1
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.760	7,9
Estômago	13.360	5,9
Cavidade Oral	11.200	5,0
Esôfago	8.690	3,9
Bexiga	7.590	3,4
Laringe	6.470	2,9
Leucemias	5.920	2,6
Sistema Nervoso Central	5.870	2,6
Todas as Neoplasias, exceto pele não melanoma	225.980	100,0
Todas as Neoplasias	309.750	
Em mulheres, Brasil, 2020		
Mama feminina	66.280	29,7
Cólon e Reto	20.470	9,2
Colo do útero	16.710	7,5
Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6
Glândula Tireoide	11.950	5,4
Estômago	7.870	3,5
Ovário	6.650	3,0
Corpo do útero	6.540	2,9
Linfoma não-Hodgkin	5.450	2,4
Sistema Nervoso Central	5.230	2,3
Todas as Neoplasias, exceto pele não melanoma	223.110	100,0
Todas as Neoplasias	316.280	

Fonte: INCA⁶

Em 1863, o patologista alemão Rudolf Carl Virchow (1821-1902) levantou a hipótese de que neoplasias malignas poderiam originar-se em locais de inflamação crônica, supondo que a inflamação aumentaria a proliferação celular, maximizando o risco do desenvolvimento de tumores⁸. O processo de inflamação crônica observado no paciente com câncer também se caracteriza pela capacidade de produção de citocinas e mediadores pelas próprias células tumorais, funcionando como se fora um órgão endócrino próprio, com vias de ativações diversas e pouco conhecidas.

A resposta inflamatória induzida pelos tumores ainda é um capítulo a ser entendido, seja como resposta indireta, produzida contra o tumor, ou direta, produzida pelas próprias células tumorais. O efeito comum é o aumento da morbidade e mortalidade, com indução de inflamação crônica^{3,4}, perda de peso, anorexia, resistência à insulina e consequente caquexia^{2,9}.

Já se estabeleceu a relação entre o sistema imunológico e a carcinogênese, a supressão e/ou promoção do crescimento tumoral é conhecido como imunoedição, a saber:

- Fase de eliminação: caracterizada pela ativação da resposta imune inata e adaptativa, culminando com a destruição de células tumorais por um sistema imunológico competente.
- Fase de equilíbrio: nesta etapa, algumas células tumorais podem sobreviver ao ataque do sistema imunológico. Inicia-se um processo de modificação ou edição das células sobreviventes.
- Fase de escape: células tumorais variantes e editadas começam a proliferar e a estabelecer um ambiente tumoral imunossupressivo¹⁰.

O microambiente tumoral pode ser definido como um tecido biologicamente complexo, que exhibe distorções importantes da homeostasia tecidual original, no qual células não neoplásicas (que frequentemente não apresentam taxas de proliferação desreguladas ou instabilidade genética aumentada) são reprogramadas para agir de acordo com essa nova dinâmica tecidual, ditada pelas células neoplásicas¹¹.

O microambiente tumoral contém células neoplásicas, estroma com fibroblastos, células endoteliais e proteínas da matriz extracelular, células imunes como macrófagos, mastócitos, neutrófilos, células supressoras derivadas da linhagem mieloide, células dendríticas, células NK (*natural killer*) e células imunes adaptativas (linfócitos T e B) que interagem de forma autócrina e parácrina para controlar e delinear o crescimento tumoral, o qual é continuamente remodelado. O tumor pode direcionar o comportamento da inflamação, tanto ao seu favor – podendo incliná-lo no sentido da promoção do seu crescimento – quanto no sentido da resistência do hospedeiro – imunidade antitumoral. Contudo, tem sido demonstrado que, em tumores já estabelecidos, esse equilíbrio é profundamente inclinado para o perfil pró-tumoral, sugerindo a ideia da participação da inflamação na carcinogênese¹².

3.2 Caquexia

O termo “caquexia” deriva do grego, “*kakos*”, má e, “*hexis*”, condição¹³, que está associada a doenças como síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), neoplasias malignas, insuficiência cardíaca (IC), cirrose hepática, defeitos tubulares renais, artrite reumatoide (AR) e outras afecções patológicas que cursam com produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias¹⁴. Recentemente, em 2011, um consenso definiu a caquexia como uma “síndrome multifatorial que é desencadeada pela perda contínua de massa muscular esquelética (com ou sem perda de massa gorda), que não pode ser completamente revertida por meio de suporte nutricional convencional e tem, como consequências, prejuízos funcionais progressivos do organismo. Sua fisiopatologia é caracterizada pela redução de consumo energético combinado a distúrbios no metabolismo energético”^{15,16}.

Estudos procuram um potencial biomarcador que, além de ter valor preditivo, permitisse monitorar a progressão da caquexia e os efeitos das terapias utilizadas. Existe uma série de candidatos a estes biomarcadores, como TGF- β , activina A, miostatina, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, microRNAs, e produtos de degradação de proteínas, mas até então, nenhum foi clinicamente estabelecido; a literatura também carece de avaliações de possíveis biomarcadores no sistema nervoso central com aplicabilidade clínica¹⁷. Grande parte dos esforços até então, para estabelecer uma relação entre mediadores e biomarcadores que expressem o nível de caquexia do indivíduo, tem se pautado em dosagens plasmáticas⁷; então novos tecidos e componentes corpóreos específicos devem ser estudados para tentar elucidar esta relação.

A perda de tecido adiposo é decorrente de alterações significativas no metabolismo lipídico, evidenciado pela oxidação de ácidos graxos, redução da lipogênese e aumento da lipólise, constatada pela expressão aumentada de lipase hormônio-sensível (HSL) e baixa expressão da lipoproteína lipase (LPL)^{2,18,19}.

O tecido adiposo é considerado o principal reservatório de energia do organismo, mas atualmente a sua função como órgão endócrino está bem estabelecida, interagindo com sistema imune e neuronal. O excesso de energia consumido é convertido em moléculas de triacilgliceróis (TAG), sob ação do hormônio insulina, enquanto nos casos de restrição energética, os estoques de energia são rapidamente mobilizados sob a influência das catecolaminas e outros hormônios lipolíticos. Os adipócitos são as únicas células especializadas no armazenamento de lipídeos na forma de TAG em seu citoplasma, sem que sua integridade funcional seja prejudicada. Essas células possuem enzimas e proteínas reguladoras necessárias para a síntese de ácidos graxos (lipogênese), para estocar TAG nos períodos em que a oferta de energia é abundante, e para mobilizá-los pela lipólise quando há déficit calórico. A regulação desses processos ocorre por meio de nutrientes e sinais aferentes dos sistemas neurais e hormonais, conforme as necessidades energéticas de cada indivíduo. O sistema nervoso autônomo tem controle direto sobre o tecido adiposo através de seus componentes simpático e parassimpático. A inervação simpática relaciona-se principalmente com as ações catabólicas, tais como a lipólise mediada pelos receptores beta-adrenérgicos e dependente da atividade da enzima LHS²⁰.

Associado à inflamação, existe importante lipólise na caquexia, regulada e ampliada através do aumento de atividade da LHS e da lipase de triglicerol do tecido adiposo (ATGL), sob influência de citocinas como interleucina-1 beta (IL-1 β), IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon-gama (INF- γ)²¹.

O conhecimento sobre a capacidade de produção de um grande número de mediadores e citocinas pró e anti-inflamatórias pelo tecido adiposo branco, a saber, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IFN- γ , receptor solúvel de TNF- α (sTNFR), receptor solúvel de IL-6R (sIL-6R), receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra), IL-4, IL-10 e IL-15²², corroborou com o entendimento do papel do tecido adiposo na síndrome da caquexia, e trouxe dúvidas quanto a este processo em áreas corporais específicas, como o SNC.

Embora, na maioria das vezes esteja também associada a uma baixa ingestão de alimentos, a caquexia difere da inanição por apresentar alterações metabólicas que a diferencia da resposta do organismo à baixa oferta de calorias e nutrientes provenientes primordialmente de uma alimentação inadequada, o que faz com que a perda de massa magra ocorra de forma mais intensa do que ocorreria em uma resposta normal à reduzida ingestão de alimentos²³. A síndrome da caquexia envolve também alterações imunes (mediadas pelo processo fisiopatológico, isto é, pelo tumor, ou por fatores químicos derivados do hospedeiro, como por exemplo, peptídeos, neurotransmissores, citocinas e fatores de mobilização de lipídios)²⁴. O aumento do gasto energético de repouso nos pacientes caquéticos pode ocorrer apesar da ingestão dietética reduzida, indicando uma desregulação sistêmica do metabolismo do paciente. Durante a caquexia, o organismo é mantido em um balanço energético negativo constante²⁵.

O sintoma mais notável da caquexia é a perda rápida e progressiva de peso; tal achado constitui um dos sinais que afeta mais da metade dos pacientes com câncer, em estágio avançado na maioria das vezes. Essa perda ponderal não se restringe ao progressivo desaparecimento de massa gorda, mas também de massa magra, visto que nesta síndrome há uma importante degradação proteica muscular, desencadeada por uma série de alterações fisiológicas²⁶.

A ubiquitina, uma proteína encontrada nas células eucarióticas, é constituída por 76 aminoácidos, e desempenha uma função importante na regulação de proteínas, pois está envolvida na degradação proteica junto com o proteossoma. A degradação proteica pela via ubiquitina-proteossoma é feita em uma série de etapas, que resultam na ubiquitinação da proteína a ser destruída, processo permite que a célula elimine proteínas de modo bastante específico, porém com perda de energia¹.

Atualmente, a própria definição da síndrome de caquexia enfatiza o papel da inflamação crônica, em paralelo à resposta de estresse neuroendócrino. A síndrome caquética no câncer é entendida como um estado inflamatório crônico, no qual o hospedeiro reage à presença do tumor, produzindo citocinas pró-inflamatórias, que seriam a principal causa do desenvolvimento das alterações metabólicas que levam ao desenvolvimento da síndrome²⁷. As citocinas têm capacidade de induzir a produção de fatores de crescimento, integrando o sistema imune^{28,29}, porém sua produção em desbalanço pode trazer efeitos deletérios e, por vezes, irreversíveis ao paciente^{1,30}. Medzhitov³¹ define inflamação como “um conjunto de reações

biológicas que ocorrem em resposta a condições adversas do organismo, como infecções, injúria, estresse e alterações na função tecidual”.

O uso dos marcadores inflamatórios no câncer tem sido importante tanto para o diagnóstico quanto para o prognóstico da evolução da caquexia²⁶. Muitos mediadores pró-inflamatórios são estudados em modelos experimentais animais, como TNF- α , IL-6, óxido nítrico e prostaglandina E (PGE). As citocinas têm papel de grande importância na patogênese da caquexia. O TNF- α , as interleucinas, IFN- γ e as prostaglandinas, levam a diversos sintomas relacionados à síndrome¹. Níveis séricos de IL-1, IL-6 e IL-8, TNF- α , fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) se mostram elevados em pacientes caquéticos^{32,33}.

Interleucina-1 beta é um mediador endógeno derivado do macrófago, envolvidos nas respostas dos hospedeiros à infecção e inflamação. Estudos *in vivo* têm sido consistentes em demonstrar que a IL-1 β purificada ou recombinante injetada via sistêmica tem uma capacidade estimulante do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH)³⁴.

Com provável ação neurobiológica, o TNF- α , notabilizado por sua citotoxicidade tumoral, é um potente mediador de inflamação, homeostase e imunidade²⁸. TNF- α é uma proteína transmembrana de 26 KDa expressa por monócitos/macrófagos ativados, incluindo a micróglia do SNC, células NK e T ativadas, mas também por uma variedade de células não imunes, como células endoteliais e fibroblastos. A transcrição de RNAm TNF, é induzida pelo fator nuclear- κ B (NF- κ B), c-Jun, proteína ativadora 1 (AP-1) e fator nuclear associado a células T ativadas (NFAT)²⁸.

A sinalização TNF-TNFR leva a vias de sinalização não apoptóticas e não proliferativas, como as vias de esfingomielinase e a ativação de enzimas 5-lipoxigenase e fosfolipase A2, resultando na produção de ácido araquidônico, ácido 5-hidroxyeicosataetraenico (5-HETE) e leucotrienos pró-inflamatórios. A via esfingomielinase leva à produção de glicerol diacil e, posteriormente, à ativação da proteína quinase C, e eventualmente NF- κ B²⁸.

Um estudo recente demonstrou o aumento da expressão gênica da subunidade p65 do NF- κ B, TNF- α , IL-1 β e CCL2, assim como proteínas reguladoras da via NF- κ B (I κ B- α) no tecido adiposo subcutâneo de indivíduos caquéticos com câncer³⁵.

Em consonância com o exposto, verifica-se a importância do conhecimento entre a comunidade médica dos aspectos fisiopatológicos, diagnósticos e terapêuticos da caquexia, e quais condições estão associadas às modificações enfrentadas pelo organismo humano sob o efeito crônico de processos inflamatórios, que estão imbricados na etiopatogenia de inúmeras doenças que fazem parte da prática médica em algumas especialidades²².

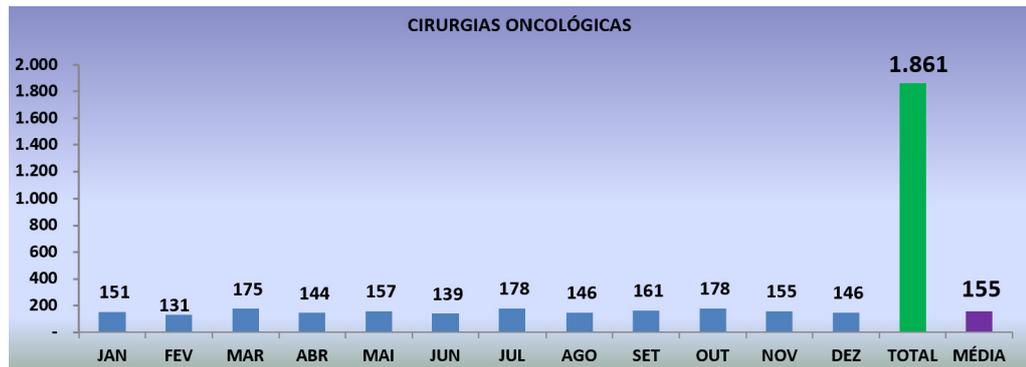
Existem muitas formas de tratamento para pacientes oncológicos com perda significativa de peso e com necessidade de suporte nutricional, como por exemplo, o uso de medicamentos para ganho de apetite, hormônios e moduladores da resposta inflamatória, como o acetato de megestrol, canabinóides, grelina, cloridrato de anamorelina, corticoides, inibidores de ciclooxigenase-2 (COX-2), inibidores de TNF- α e exercício físico de baixa resistência³⁶. Contudo, os efeitos adversos e a necessidade de associação entre os tipos de tratamento ainda colocam em xeque a efetividade dos

métodos, e a possibilidade de uso de outras vias de acesso ao sistema imunológico e a órgãos alvo é assunto de grande interesse clínico.

Os pacientes caquéticos são frequentemente vistos como sem prognóstico ou sem possibilidade terapêutica em atendimentos não especializados em oncologia. Neste sentido, o estudo e compreensão dos mecanismos entre inflamação, caquexia e câncer podem mudar, em vários aspectos, a abordagem destes pacientes, mas principalmente a visão dos profissionais de saúde frente ao ser humano com caquexia.

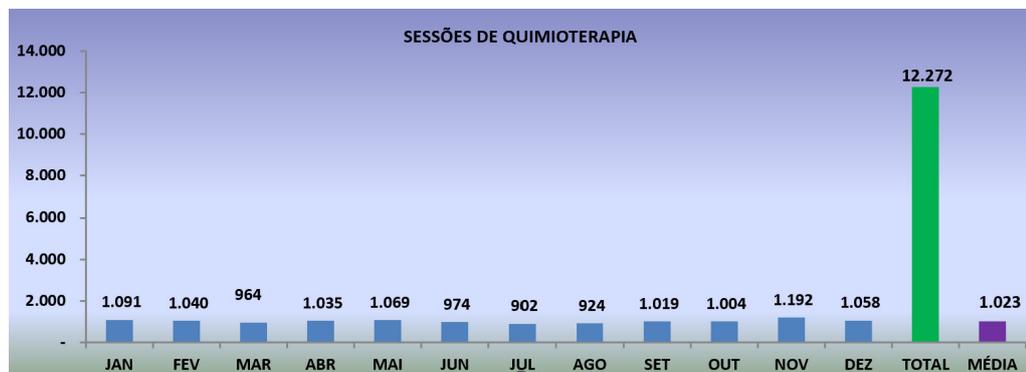
Em uma metanálise²⁰, avaliando a relação entre marcadores de desnutrição e evolução clínica em pacientes portadores de câncer com mais de 70 anos, observou-se a falta de padronização dos estudos quanto à avaliação de ingesta, diferenciação entre desnutrição e caquexia, assim como resultados diversos ao tentar estabelecer correlação entre estado nutricional, sobrevida e evolução clínica, mesmo com análise de marcadores, como índice de massa corporal (IMC), albumina, hemoglobina e escores de estado nutricional. Apesar de observância corriqueira na prática clínica, ainda existe a necessidade de estudos bem parametrizados e em centros de referência.

O Hospital Regional do Baixo Amazonas, campo de atuação de coleta deste estudo, é referência em oncologia na Região Norte, certificado Ona 3 e Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON), atendendo mais de 14 mil consultas em oncologia, e mais de 1.800 cirurgias oncológicas ao ano (Figuras 2 e 3), constituindo um cenário propício para o desenvolvimento de pesquisa em oncologia.



Fonte: Registro Hospitalar de câncer do Hospital Regional do Baixo Amazonas, 2019.

Figura 2 - Cirurgias Oncológicas no HRBA



Fonte: Registro Hospitalar de câncer do Hospital Regional do Baixo Amazonas, 2019.

Figura 3 - Sessões de Quimioterapia no HRBA

3.3 Classificação da Caquexia

Várias classificações e definições de caquexia são amplamente utilizadas na literatura, muitas vezes referidos como critérios de Evans, Fearon e Cachexia Score (CASCO)³⁷, contudo, a ausência de definições e critérios universalmente padronizados levam a uma dificuldade na interpretação de dados, sua classificação e aplicabilidade clínica.

Fearon *et al.*³⁸ enfatizaram que a caquexia pode ser classificada em três estágios de evolução: a pré-caquexia, o estágio inicial da síndrome; a

caquexia, o estágio seguinte, mais avançado, no qual a perda de peso é mais proeminente; e a caquexia refratária, acometendo pacientes em doença terminal e na qual não há mais respostas do organismo às terapias.

Os estágios de caquexia em câncer são contínuos e com relevância clínica: pré-caquexia, caquexia e caquexia refratária. Na pré-caquexia, os sinais clínicos e metabólicos precoces (por exemplo, anorexia e tolerância à glicose prejudicada) podem preceder perda substancial de peso involuntária (ou seja, $\leq 5\%$). O risco de progressão varia e depende de fatores, como tipo e estágio de câncer, presença de inflamação sistêmica, baixa ingestão alimentar e falta de resposta à terapia anticancerígena³⁸.

Pacientes que têm mais de 5% de perda de peso corporal nos últimos 6 meses, ou IMC inferior a 20 kg/m² associada a perda contínua de peso de mais de 2%, ou sarcopenia e perda contínua de peso de mais de 2%, mas não entraram no estágio refratário, são classificados como tendo caquexia³⁸.

A caquexia pode ser clinicamente refratária como resultado de câncer muito avançado (pré-terminal) ou a presença de câncer que progride rapidamente sem resposta à terapia anticancerígena. Esta etapa está associada ao catabolismo ativo, ou à presença de fatores, que tornam o manejo da perda de peso não mais possível ou apropriado³⁸.

A inflamação sistêmica está relacionada ao estado nutricional, destacando a relação entre proteína C reativa (PCR), força muscular e massa magra. Os pacientes com PCR >10 mg/L têm um índice de massa magra menor ($P < 0,001$) e uma taxa mais rápida de perda de força muscular durante a evolução da síndrome³⁸.

O quadro clínico do paciente com caquexia (Quadro 2) tem em seu cortejo habitual a perda de peso e comumente a de apetite, associados a alterações do paladar, astenia, fadiga, perda da competência imune, perda de habilidades motoras e físicas, apatia, desequilíbrio iônico, anemia, náuseas, e distúrbios no metabolismo proteico, glicídico e lipídico³⁹.

Quadro 2 - Caracterização do quadro clínico do paciente com caquexia

Critérios Fenotípicos			Critérios Etiológicos		
Referências	Perda de peso	Baixo IMC	Perda de massa magra/função	Redução da ingestão alimentar	Apresentação da doença/inflamação
Evans 2008					
Caquexia	>5% em 12 meses	<20 kg m ²	Perda de força muscular, medida por dinamometria e testes de força	Anorexia	Aumento de Proteína-C reativa ou Interleucina-6 Baixa albumina sérica (<3,2 g/L)
Fearon 2011					
Pré-caquexia	<5%	NA	NA	Anorexia	Mudanças metabólicas
Caquexia	>5% em 6 meses	<20% kg por m ² e perda de peso >2%	Índice de massa muscular esquelética consistente com sarcopenia (masculino <7,26 kg/m, feminino <5,45 kg/m e perda de peso >2%)	Redução de ingestão alimentar	Inflamação sistêmica
Escore de caquexia (CASCO) 2011					
Sem caquexia	<5%	-	Sem alteração em massa magra Questionário QoL: alterações leves	Questionário de avaliação nutricional simplificado - Não	5 mg/L ≤ Proteína-C reativa ≤ 10 mg/L 4 pg/mL ≤ Interleucina-6 ≤ 10 pg/mL Albumina plasmática < 3.2 g/dL Pré-albumina plasmática < 16 g/dL
Caquexia	≥ 5% leve ≥ 10% moderado ≥ 15% severo ≥ 20% terminal	-	Perda de massa muscular > 10% Performance de atividade física total baixa, questionário força de aperto de mão, subida de escada monitorada, caminhada de 6 minutos de distância, questionário QoL com deficiência severa/moderada	Questionário de avaliação nutricional simplificado - Sim	Proteína-C reativa: 10 mg/L < Proteína-C reativa ≤ 20 mg/L, ou Proteína-C reativa > 20 mg/L, Interleucina-6 plasmática: 10 pg/mL < Interleucina-6 ≤ 30 pg/mL, ou Interleucina-6 > 30 pg/mL, Albumina Plasmática ≥ 3,2 g/dL, Lactato Plasmático > 2,2 mM, Triglicerídeos Plasmáticos > 200 mg/d, Anemia: Hemoglobina < 12g/dL, Ureia plasmática > 50 mg/dL Estresse Oxidativo: Nível plasmático de Espécies Reativas de Oxigênio > 300 FORT U, Teste de Tolerância à Glicose ou Índice HOMA: Alterado

Fonte: Adaptado de *British Dietetic Association*⁴⁰

3.4 Sistema Nervoso Central e Caquexia

Na presença de inflamação, principalmente associada a infecção, ocorrem várias alterações, estratégia altamente organizada do organismo para combater a injúria, que são mediadas pelo SNC como aumento da temperatura corporal, aumento de ondas lentas do sono, ativação do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal, diminuição da atividade locomotora e da alimentação, consumo e interações sociais e alterações nos neurotransmissores cerebrais⁴¹.

A síndrome da caquexia é multifatorial e envolve processos neurológicos, metabólicos, imunológicos e endocrinológicos^{22,38}. Apesar da frequente associação entre a caquexia e anorexia, não é necessário que coexistam; uma pessoa pode ter anorexia sem caquexia, como no uso de quimioterápicos, ou ter caquexia apesar de se alimentar bem, por consumo metabólico aumentado. Contudo, se associam significativamente no processo pelo qual o SNC e inflamação interagem⁴².

A ação das citocinas pró-inflamatórias diretamente no sistema nervoso central é referida como "a via humoral" na literatura. A princípio, questionou-se o fato de que as citocinas são capazes de atuar sobre o sistema nervoso central, já que a barreira hematoencefálica impede o acesso da maioria dos fatores pró-inflamatórios sanguíneos e células imunes ao cérebro. De fato, o sistema nervoso central contém células imunocompetentes, que são capazes de detectar patologias moleculares associadas a patógenos e de produzir fatores pró-inflamatórios em resposta a lesões e desafios inflamatórios. Além disso, áreas especializadas do cérebro, conhecidas como órgãos

circunventriculares, são desprovidos de uma barreira hematoencefálica e, desse modo, são facilmente acessados por padrões moleculares associados a patógenos sistêmicos, como lipopolissacarídeo (LPS)⁴³.

Existe a hipótese, baseada em estudos experimentais, de que as vias vagais são essenciais para a sinalização no sistema nervoso central através da produção de citocinas periféricas. Sinalização esta observada pela geração do produto proteico do proto-oncogene c-Fos, utilizado como marcador que permite a identificação anatômica de neurônios ativados funcionalmente no trato do núcleo solitário. TNF- α também por esta via, pode ter grande importância na fisiologia da inibição gastrointestinal. A rapidez do efeito TNF- α injetado no sistema nervoso central na motilidade gástrica, sugeriu que poderia afetar direta e rapidamente a taxa de disparo de neurônios no complexo vagal dorsal⁴⁴.

A síntese cerebral de citocinas tem sido demonstrada em modelos experimentais de câncer, inflamação periférica e durante a administração periférica de citocinas. Estes dados apontam um papel para as citocinas do cérebro como mediadores de manifestações neurológicas e neuropsiquiátricas na doença e na comunicação cérebro-periférica (por exemplo, através do sistema nervoso autônomo)⁴⁵. Mecanismos cerebrais que merecem atenção significativa na caquexia são aqueles que resultam em interações entre citocinas, peptídeos/neuropeptídios e neurotransmissores. Estas interações podem resultar em atividades aditivas, sinérgicas ou antagônicas e podem envolver modificações de moléculas de transdução e mediadores intracelulares⁴⁶.

Ainda existem dúvidas se há aumento de citocinas em fluido cefalorraquidiano na presença da caquexia. Entretanto, as citocinas atuam predominantemente por modos parácrino, autócrino e intrácrino, atividades dificilmente detectadas na circulação sistêmica⁴⁷, dificuldade agravada pelo fato de as citocinas exibirem um padrão circadiano de circulação. Mesmo com essas limitações, alguns estudos relataram níveis aumentados de citocinas (no sangue e/ou líquido cefalorraquidiano) em estudos experimentais com caquexia associada ao câncer. Este importante conceito de produção local de citocinas no cérebro e citocinas como mediadores de manifestações neurológicas e neuropsiquiátricas da doença tem amplas implicações⁴⁶. Este ambiente ainda é pouco estudado em seres humanos com caquexia, pela dificuldade de obtenção de líquido cefalorraquidiano e poucas indicações de procedimentos cirúrgicos em pacientes caquéticos.

Estudos experimentais demonstram que interações parácrinas no cérebro representam um modo predominante de ação das citocinas e resultam na produção de citocinas cerebrais em resposta ao desenvolvimento do tumor periférico, ou seja, uma vez que a rede é ativada dentro do cérebro através de sistemas de feedback positivo, as interações parácrinas podem sustentar a produção de citocinas independentemente das concentrações de citocinas na circulação. Este modelo também é consistente com o padrão em cascata associado com a produção de citocinas. A mesma citocina, administrada por vias diversas, pode ter efeitos até mesmo antagônicos; a administração intracerebroventricular crônica de IL-1 β , em doses que produzem concentrações fisiopatológicas passíveis de

serem estimadas no líquido cefalorraquidiano, induz anorexia de longa duração associada a uma diminuição consistente do peso corporal. O efeito persiste no período de 7 dias de infusão, contrário à administração periférica de IL-1 β de longa duração, que está associada ao desenvolvimento de tolerância. Estes dados sugerem que diferentes mecanismos são ativados com a administração de citocinas periféricas e centrais⁴⁵.

Os diversos padrões e diferentes vias de alimentações do sistema de produção de citocinas são de grande interesse para entender a modulação dos processos centrais que possam ter repercussão sistêmica, com tentativa de controle ou amenização do catabolismo por caquexia tumoral. Está bem estabelecido que os animais de laboratório reduzem a sua ingestão alimentar em resposta à administração periférica de citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-1 β ou estimulantes da liberação de citocinas, como LPS. Notavelmente, a administração de LPS reduz a frequência das refeições, enquanto a da IL-1 β reduz tanto a frequência como o tamanho das refeições⁴⁸.

LPS e IL-1 β induzem também uma aversão para um novo alimento ou uma solução de sacarose^{34,42}, inibem o comportamento motivado por alimentos^{49,50}, tornam o consumo de sacarose menos agradável⁵¹, e aumentam a preferência por carboidratos e aversão a algumas substâncias^{52,53}.

Células cerebrais capazes de produzir IL-1 β são os macrófagos perivasculares, células microgliais e macrófagos no plexo coroide e meninges^{54,55}, microambiente este interagindo o processo inflamatório local com o processo inflamatório sistêmico.

Estudos têm relatado a presença de locais de ligação a IL-1 β e receptores (IL-1R) de forma proeminente em células endoteliais cerebrais^{56,57}, plexo coroide e, em menor grau, em alguns neurônios do hipocampo, núcleo arqueado e amígdala. Ching *et al.*⁵⁸ demonstraram que a deleção seletiva de IL-1R em células endoteliais cerebrais previne febre induzida por IL-1 β e estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (este estudo, no entanto, não avaliou a ingestão de alimentos). Outro estudo mostrou que a inibição farmacológica do NF-kB, um fator de transcrição a jusante da via de sinalização da IL-1 β em células endoteliais, atenua a anorexia induzida por IL-1 β ⁴¹.

De forma semelhante, a anorexia induzida por LPS é atenuada em camundongos que não possuem MyD88⁴¹, que é um componente molecular crítico da sinalização de IL-1 β e LPS em células perivasculares e endoteliais⁵⁹. Todos os dados acima mencionados demonstram que a sinalização de LPS e IL-1 β em células endoteliais do cérebro (e possivelmente células perivasculares) desempenham um papel crítico na anorexia associada à inflamação. No entanto, estes dados não explicam como o LPS ou a IL-1 β alteram, em última instância, a atividade dos neurônios envolvidos na alimentação.

As citocinas também induzem a liberação de hormônios que são considerados sinais de saciedade fisiológicos, incluindo colecistoquinina, glucagon, insulina e leptina, assim como também induzem mudanças metabólicas e alterações no metabolismo de lipídios, carboidratos e aminoácidos. Estas alterações metabólicas mediadas por citocinas

associadas à anorexia são deletérias em longo prazo e podem contribuir para a caquexia, através da lipólise e degradação de proteínas do músculo esquelético⁶⁰.

A relação fica evidente em estudos experimentais, onde a biópsia de tecido cerebral sem comprometimento neoplásico local é possível, mas no ser humano, a obtenção de tecido neuronal *in natura* associado a tumores periféricos recairia sobre grave dificuldade ética; assim, o estudo do líquido cefalorraquidiano de grande interesse.

A anorexia associada à inflamação refere-se à redução da ingestão alimentar observada durante inflamação aguda e crônica em humanos e animais. Dados demonstram que a anorexia associada à inflamação resulta diretamente da ação de fatores pró-inflamatórios, principalmente citocinas e prostaglandina E2, no sistema nervoso. Por exemplo, os fatores pró-inflamatórios mencionados acima podem estimular a atividade de neurônios sensoriais periféricos e induzir sua própria síntese *de novo* e a liberação no parênquima cerebral e no líquido cefalorraquidiano. Em última análise, resulta na mobilização de um circuito neural específico que desliga o apetite⁶¹.

Um estudo mostrou que a administração periférica de antagonistas de receptores metabotrópicos de glutamato atenua a anorexia associada à inflamação⁶², efeito que pode ser explicado pela redução da neurotransmissão glutamatérgica vagal e/ou espinhal. A implicação do núcleo do trato solitário na sensibilidade imune também é demonstrada por estudos neuroanatômicos, usando a expressão de c-fos como um marcador de ativação neuronal. Vários investigadores têm relatado uma expressão robusta de c-fos no núcleo do

trato solitário em seguida a uma inflamação intraperitoneal^{63,64}. Do mesmo modo, os ratos portadores de tumores apresentam expressão de c-fos no núcleo do trato solitário^{65,66}. A indução de c-fos no núcleo do trato solitário após LPS ou IL-1 β intravenoso também é preservada em animais vagotomizados⁶⁷, sugerindo que nem sempre é necessário um nervo vago intacto para a estimulação de neurônios núcleo do trato solitário em resposta a um desafio imune. Outras citocinas, como TNF- α e IL-6, reduzem de forma similar a alimentação quando administradas de forma central⁶⁷. A IL-1 β orchestra a expressão de outras citocinas no cérebro e, mais importante, o bloqueio do receptor IL-1 β cerebral por seu antagonista endógeno IL-1ra impede parcialmente a anorexia induzida por LPS⁶⁷. O entendimento de que os adipócitos têm a capacidade de produção adipocinas, com influência direta e indireta no processo inflamatório, exalta a possibilidade de que a redução de tecido gorduroso na caquexia seja uma via de grande influência no complexo sistema neuronal, humoral e imunológico da caquexia.

Para o entendimento da caquexia, é importante o conhecimento da função dos adipócitos na produção de mediadores e hormônios envolvidos no metabolismo corporal. O tecido adiposo é um órgão metabólico e endócrino complexo, essencial e muito ativo, e dentre as principais adipocinas secretadas pelo tecido adiposo destacam-se: adiponectina, que influencia na sensibilização insulínica e propriedades antiaterogênicas; angiotensinogênio, que atua como precursor da angiotensina II, e acúmulo de adipócitos; proteína estimuladora de acilação, que influencia na síntese de triacilglicerol no tecido adiposo; interleucina-6, mediador do processo

inflamatório e influencia no metabolismo lipídico; leptina, que possui efeito de sinalização cerebral do estoque de gordura corporal, além de influenciar na sensibilização insulínica, regulação do apetite e gasto energético; inibidor de ativador de plasminogênio I, potente inibidor do sistema de fibrinólise; resistina, que influencia o desenvolvimento à resistência insulínica por meio de aumento da gliconeogênese hepática; fator de necrose tumoral, que interfere na sinalização insulínica e possível causa da resistência à insulina na obesidade²².

IL-1 β é sintetizada no hipotálamo, juntamente com outras citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e IL-6, em resposta a estímulos inflamatórios periféricos. A administração intraperitoneal de LPS (5-10 μ g/camundongo) induziu uma redução dramática, mas transitória, na ingestão de alimentos, associada a uma expressão importante de RNAm (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) no hipotálamo⁶⁴. No estudo experimental citado, a injeção intracerebroventricular com antagonista do receptor IL-1 β (4 μ g/camundongo) atenuou a depressão induzida por LPS intraperitoneal à ingestão alimentar e bloqueou a expressão induzida de citocinas pró-inflamatórias medidas no hipotálamo dos camundongos mesmo com níveis plasmáticos de IL-1 β séricos aumentados, demonstrando capacidade de regulação local no SNC, com microsistema diverso do sistêmico⁶⁴.

Em estudo experimental com bloqueio da via NF- κ B em SNC pelo peptídeo NEMO BINDING DOMAIN (NBD), a injeção de IL-1 β intraperitoneal não apresentou os efeitos comportamentais esperados ou sobre a ingestão dos ratos. Estudos imunohistoquímicos de p65-NF- κ B no cérebro destes

ratos tratados mostraram que a ativação do NF-κB estava restrita a populações celulares específicas nos órgãos centrunventriculares, na barreira hematoencefálica e na interface entre o fluido cefalorraquidiano e o parênquima cerebral⁴¹.

3.5 Líquido Cefalorraquidiano

O líquido cefalorraquidiano (LCR), maior parte do fluido extracelular do SNC, é um humor semelhante ao plasma (ultrafiltrado), presente nos plexos ventriculares, canal central de medula e espaço subaracnoide, formado dentro das cavidades ventriculares laterais, terceiro e quarto ventrículos do SNC nos plexos coroides, por processos de difusão, pinocitose e transporte ativo³. Os plexos coroides são redes vasculares recobertas de uma membrana que envolve o canal central da medula espinhal e os ventrículos cerebrais^{7,68}. A produção de líquido ocorre por filtração passiva do sangue pelo endotélio capilar coróide e pela secreção ativa no endotélio, bombas, cotransportadores e antiportadores, canais iônicos e aquaporinas estão envolvidos no processo⁷.

A primeira punção lombar (PL) para a obtenção de LCR foi realizada em 1891, por Quincke, para aliviar o aumento da pressão intracraniana em crianças com meningite tuberculosa, líquido este encontrado nos ventrículos e no espaço subaracnóideo, sendo utilizada posteriormente em inúmeras formas de diagnóstico e tratamento, pela íntima relação com o SNC e barreira hematoencefálica. Tumores, isquemias, hidrocefalias e infecções podem alterar a produção e composição do LCR⁷.

Um indivíduo produz, por dia, aproximadamente 500 mL de LCR, estando distribuído 20 mL nos ventrículos de 120 mL a 150 mL no volume total de LCR, podendo ser retirado 20 mL sem riscos importantes em condições normais de pressão (menor que 60 mmHg - hipotensão e maior que 250 mmHg - hipertensão intracraniana); contudo, em duas horas após sua retirada, pode haver degradação ou modificações de células na amostra, diminuição da glicose e aumento de proteínas e bactérias, assim como o congelamento pode levar a lise de células⁷. A bioquímica do LCR é composta por aproximadamente 99% de água e pequenas concentrações de magnésio, cloro, glicose, proteínas, aminoácidos, ácido úrico e fosfato. É também responsável pelo fornecimento de nutrientes e excreção de produtos do metabolismo, manutenção da homeostase e amortecimento do SNC^{7,69}. Quanto a celularidade do LCR, encontram-se hemácias e leucócitos que são quantificados por câmaras de contagem após devida centrifugação. Existem diversos tipos de câmaras e métodos de contagem celular, sendo a mais comumente utilizada a de Fuchs-Rosenthal⁶⁹.

O entendimento que o LCR pode se comportar diferentemente do soro, como por exemplo, na dosagem de gamaglobulina na neurosífilis e esclerose múltipla, traz a possibilidade da avaliação do papel de citocinas no LCR em diferentes condições, como em pacientes inflamados por câncer e caquexia. O LCR é produzido por filtração passiva e consequente fonte de passagem de mediadores provenientes do sangue, e também por secreção ativa pelo epitélio sob modulação neuroimunoendócrina⁶⁹.

A partir dos ventrículos laterais, o LCR circula para o terceiro ventrículo pelo forame interventricular de Monro, e a seguir, para o quarto ventrículo pelo aqueduto de Sylvius, e pelo canal central da medula. Passa para o espaço subaracnóideo através do forame de Magendie e depois para a cisterna magna e pontina. É levado então para a cisterna superior sob os hemisférios cerebelares.

O fluxo é dependente do sistema arterial no plexo, que se dá nos ventrículos laterais para o terceiro e o quarto ventrículo, cisternas basais e espaços subaracnoides espinhal e cortical. Existe uma microcirculação local que permite que o LCR do espaço subaracnoide atinja o espaço subapical de Virchow-Robin e depois seja eliminado do cérebro. As vilosidades aracnoides fazem a interface que elimina LCR para o sistema venoso⁷⁰. Este ambiente favorece a uma relação íntima entre o LCR e o SNC, principalmente como via de troca molecular.

No presente estudo, o acesso ao líquido cefalorraquidiano foi realizado por punção durante a realização de raquianestesia. É necessário, então, citar as contraindicações absolutas e relativas deste tipo de anestesia. Absolutas: recusa do paciente, infecção em sítio de punção, coagulopatias e pressão intracraniana elevada. Relativas: infecção em sítio anatômico distante de sítio de punção, doença neurológica indeterminada ou em progressão, hipovolemia e duração não estimada de procedimento cirúrgico⁷¹. Como este tipo de anestesia pode causar hipotermia, redistribuição de fluxo e vasodilatação periférica, distúrbios cardiovasculares e neurológicos, conseqüentemente seu emprego deve ser limitado em pacientes oncológicos e caquéticos.

Quadro 3 - Valores de referência do LCR

Parâmetros	Valores de referência
Cor	Incolor
Aspecto	Límpido
Proteínas totais	Adultos - 1-45 mg/dL Adultos >60 anos -15-60 mg/dL Neonatos 15-100 mg/dL
Albumina	10-30 mg/dL
Glicose	50-80 mg/dL
Ácido Láctico	9-26 mg/dl, 1,13-3,23 mmol/L
Cloretos	115-130 mmol/L
LDH	0-25 U/L LDH1>LDH2>LDH3>LDH4>LDH5
Glutamina	15-20 mg/dL
Leucócitos	<01 ano:0-30/μL 1-4 anos: 20//μL 5 anos até a puberdade: <10//μl Adultos: 0-5 //μL
Citologia diferencial	Adultos: Linfócitos 60% ± 20% Monócitos 30% ± 15% Neutrófilos 2% ± 4% Neonatos: Linfócitos 20% ± 15% Monócitos 70% ± 20% Neutrófilos 4% ± 4%

Fonte: Kjeldsberg e Knight⁷²

4 MÉTODOS

4.1 Desenho do Estudo

O presente estudo é de caráter longitudinal, prospectivo e translacional aprovado no Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAAE 78485517.4.3001.5467), em que foram coletadas amostras de 105 pacientes, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 85 anos, e divididos em três grupos: a) pacientes controle sem câncer ou caquexia (Controle, Ct), b) pacientes com câncer sem caquexia (CSC) e c) pacientes com câncer e caquéticos (CC) (Anexo A). Os voluntários recrutados são pacientes do ambulatório de oncologia do Hospital Regional do Baixo Amazonas Dr. Waldemar Pena com câncer independente do estadio clínico, e sem interferência na conduta médica terapêutica. Os pacientes foram informados sobre o estudo e convidados a participar. E, uma vez assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), foram então incluídos no estudo (Anexo B). No momento da cirurgia, durante a raquianestesia foi realizada a coleta do líquido cefalorraquidiano de todos os pacientes (precedendo a injeção de anestésico). As amostras foram armazenadas em freezer a -80°C e nitrogênio líquido.

Os pacientes selecionados foram divididos em três grupos, como descrito acima:

- Grupo I (Controle): pacientes não caquéticos submetidos à cirurgia para correção de hérnias da parede abdominal e colecistectomias (n=43).
- Grupo II (CSC): paciente com câncer e sem caquexia (n=13).
- Grupo III (CC): Pacientes com caquexia e câncer (n=49).

4.2 Critérios para Diagnosticar a Caquexia

Foram utilizados os seguintes critérios de caquexia:

- Variação no peso corporal: perda involuntária de peso nos últimos 6 meses maior ou igual a 5% da massa corporal inicial.
- IMC: menor que 20 kg/m² para pacientes com menos de 65 anos e menor que 22 kg/m² para pacientes com idade maior ou igual a 65 anos. $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$.

E ao menos três dos seguintes critérios:

- Diminuição da força muscular.
- Fadiga.
- Anorexia.
- Baixo índice de massa corporal livre de gordura.
- Concentração plasmática de albumina: concentração menor que 35 g/dL.
- Evidência de inflamação – concentração plasmática elevada de PCR >5mg/L.
- Anemia, Hb < 12 g/dL.

4.3 Critérios de Inclusão e de Exclusão

Foram considerados os seguintes critérios de inclusão:

- Idade entre 18 e 85 anos.
- Pacientes com câncer com ou sem caquexia atendidos no HRBA.
- Pacientes submetidos a cirurgia curativa ou paliativa com possibilidade de coleta de líquido cefalorraquidiano no ato anestésico.
- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

No grupo controle os critérios de inclusão foram pacientes submetidos a cirurgias eletivas de vesícula biliar e hérnias, entre 18 e 85 anos, sem histórico de perda de peso atual e sem patologia inflamatória associada.

Foram considerados os seguintes critérios de exclusão:

- Sepses (definida de acordo com os critérios da *Society of Critical Care Medicine e American College of Chest Physicians*, 1992).
- Vigência de coagulopatia grave com RNI >2,0 ou plaquetopenia < 40.000.
- Insuficiência cardíaca descompensada.
- Doenças hematológicas primárias.
- Insuficiência renal moderada (creatinina acima de 2 mg/dL).
- Dependência de suporte orgânico, como circulatório ou ventilatório.
- Gravidez.
- Uso crônico de anti-inflamatório.
- Participação em outro ensaio clínico.
- Uso de quimioterapia nos últimos três meses.

- Acidente de punção com comprometimento da amostra de LCR.
- Uso de anticoagulante.
- Aumento de pressão liquórica de qualquer etiologia.
- Doença infecciosa ou cirurgia prévia do SNC.

4.4 Seleção

Todos os pacientes foram submetidos a uma avaliação clínica, com obtenção da anamnese e exame físico, avaliação laboratorial rotineira com hemograma completo, proteínas totais e albumina, bilirrubinas, tempo de protrombina, AST, ALT, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, sódio, potássio, ureia, creatinina e PCR. Todas essas análises foram realizadas no próprio hospital, previamente à cirurgia. Os pacientes (exceto os dos grupos controles) foram submetidos a exames de imagem, conforme a necessidade da doença de base. Os pacientes foram avaliados por índices antropométricos e definição de IMC por fórmula habitual.

Os pacientes diagnosticados com câncer com e sem caquexia foram submetidos à aplicação do questionário de qualidade de vida *European Organization for Research and Treatment of Cancer-Quality of Life Questionnaire Core 30 (QLQ-C30)* (Anexo C).

Após a seleção, os voluntários entendendo e concordando com a participação no projeto, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido TCLE, seguindo-se então as coletas de dados clínicos, laboratoriais e de amostras, conforme descrição nos métodos.

4.5 Coleta de Líquido Cefalorraquidiano

Foram coletados 2 mL de líquido cefalorraquidiano, que foi aspirado por meio de punção subaracnóidea durante o ato anestésico, antes da infusão de qualquer fármaco por esta via. Os preparos necessários para a raquianestesia foram: a) o paciente manteve jejum absoluto durante as doze horas que antecederam o procedimento; b) o paciente foi para a anestesia de bexiga vazia, porque até passar o efeito da anestesia ele poderia ter dificuldade para urinar. No centro cirúrgico, o paciente recebeu uma sedação venosa. Então, deitado em decúbito lateral e curvado para frente, uma fina agulha (n25) foi introduzida nas suas costas, após anestesia da pele e subcutâneo com lidocaína, no intervalo entre as últimas vértebras lombares (L3/L4; L4/L5), até o canal medular, no espaço onde circula o líquido e onde foi colhido o líquido e depois injetado o anestésico. Mesmo com baixo risco, os pacientes do estudo realizaram este procedimento independentemente do estudo, por indicação médica do tratamento, sem somação de qualquer risco pela pesquisa. O líquido foi transferido ao criotubo, e mantido em nitrogênio líquido e freezer -80 graus celsius para posterior análise de expressão gênica e proteica. Durante a coleta de LCR foram observados os possíveis traumas, assim como sangramento que pudesse interferir nas amostras, como também o aspecto da amostra, somente sendo utilizadas as amostras límpidas, não xantocrômicas.

4.5.1 Técnica de punção lombar

- Paciente em decúbito lateral ou ventral, ou sentado em postura ereta.
- Palpação das cristas ilíacas identificação de espaço intervertebrais L1-L2 a L4-L5.
- A agulha espinhal pode ser inserida com segurança no espaço subaracnóideo em L3-4 ou no interespaço L4-5.
- Assepsia e antisepsia da pele são feitas com solução alcoólica ou clorexidina, campo fenestrado estéril e luvas esterilizadas.
- O botão anestésico foi realizado com xilocaína ou lidocaína sem vasoconstritor.
- Introdução da agulha espinhal de calibre 20 ou 22 entre os processos espinhais das vértebras.
- Sente-se uma firme resistência no ligamento amarelo, seguida de uma leve resistência quando a agulha ultrapassa a dura-máter e a aracnoide.
- Retira-se o mandril, o LCR começa a escoar.
- O fluido então é coletado em tubos plásticos estéreis. Um total de 2 mL neste estudo.
- Após coleta do LCR e injeção de líquido anestésico, a agulha é retirada com ou sem a introdução do mandril.

Aproximadamente 10% a 30% dos pacientes, mesmo com todos esses cuidados, podem apresentar cefaleias.

4.6 Análises Laboratoriais

O estudo constou de avaliação clínica e laboratorial completa, previamente à cirurgia, independente da pesquisa, assim como estadiamento neoplásico conforme protocolo do serviço de oncologia do HRBA (*American Joint Committee on Cancer /AJCC /UICC TNM*). Os exames laboratoriais consistiram em hemograma completo, bilirrubinas séricas, tempo de protrombina, glicemia, ureia, creatinina, proteínas totais e albumina, concentração sérica de aminotransferases, fosfatase alcalina, níveis de gama-glutamil transferases, PCR, assim como coleta de líquido cefalorraquidiano durante a anestesia, sem alterar a programação cirúrgica.

4.7 Determinação do Perfil de Citocinas no Líquor

Os ensaios do MAGPIX[®] são essencialmente imunoenaios formatados em esferas magnéticas. O princípio do ensaio é semelhante a metodologia do ELISA em sanduíche. Os anticorpos de captura dirigidos contra o biomarcador desejado são acoplados covalentemente às esferas. Os grânulos acoplados reagem com a amostra que contém o biomarcador de interesse. Após uma série de lavagens para remover a proteína não ligada, é adicionado um anticorpo de detecção biotilado para criar um complexo de sanduíche. O complexo de detecção final é formado com a adição de conjugado estreptavidina-ficoeritrina (SA-PE). A ficoeritrina atua como um indicador fluorescente.

O líquido cefalorraquidiano foi incubado com a mistura de microesferas Magplex[®] e coberto com os anticorpos específicos por 2 horas.

A detecção de antígenos-alvo ligados às microesferas foi realizada com uma mistura de anticorpos de captura biotinizados após incubação por 1 hora; seguida por incubação com estreptavidina marcada com ficoeritrina, durante 30 minutos. As microesferas foram então analisadas com o equipamento Magpix® (Life Technologies, Grand Island, NY, USA). Cada valor de citocina foi corrigido para a concentração de proteína total pelo método de Bradford.

O painel de citocinas e quimiocinas analisadas foi composto por IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IP-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, TNF- α , TNF- β , EGF, VEGF, Eotaxina, G-CSF, GM-CSF, IFN α 2, IFN- γ , MCP-1, IP-10 e MIP-10.

4.8 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) ou mediana [primeiro quartil; terceiro quartil] e analisados estatisticamente com software GraphPad Prism/GraphPad Software Versão 8.2.1 Copyright®, 1992-2020. Uma análise preliminar foi realizada para verificar que as premissas de normalidade não fossem violadas (teste de Shapiro-Wilk). Os testes ANOVA ou Kruskal-Wallis de uma via com comparações múltiplas foram empregados para dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente. Comparações pareadas *post hoc* (teste de Tukey para dados paramétricos ou Teste de Dunn para valores não paramétricos) foram realizadas quando apropriado. A significância foi considerada com valor de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Dados Epidemiológicos

Participaram deste projeto 105 pacientes, sendo 43 pacientes do grupo controle, 13 do grupo de pacientes com câncer sem caquexia, e 49 pacientes com câncer e caquexia. Destes pacientes, 52 eram mulheres e 53 homens. A idade máxima foi de 82 anos e a mínima de 23 anos.

O grupo controle, formado por indivíduos sem câncer, foram representados por 23 (53,4%) de indivíduos do sexo feminino e 20 (47%) de indivíduos do sexo masculino. Esses voluntários foram submetidos a procedimentos cirúrgicos para tratamento de colelitíase (n=22), hérnia epigástrica (n=2), hérnia umbilical (n=4) e hérnia inguinal (n=15). A média de idade neste grupo foi de $47,81 \pm 2,32$, a média de peso de 70 [48; 75] e a média de IMC de 25.12 [24,30; 26,05].

O grupo formado por voluntários com câncer sem caquexia, foram representados por 7 (54%) da amostra composta por indivíduos do sexo feminino e 6 (46%) de indivíduos do sexo masculino. Neste grupo 6 (46%) dos pacientes apresentavam tumores de estômago, 1 (7,7%) tumor de colo de útero, 1 (7,7%) CA de endométrio, 2 (15,5%) sarcoma de perna, 1 (7,7%) tumor no fígado, 1 (7,7%) de tumor de esôfago e 1 (7,7%) tumor de reto. A média de idade neste grupo foi de $56,31 \pm 3,8$ anos, a mediana de peso dos pacientes de 60 [58,5; 75,5] kg e IMC de 22,94 [21,59; 24,68]. No que se

refere ao estágio do tumor 3 (23%) dos voluntários apresentavam câncer em estágio II, 7 (54%) apresentaram estágio III e 3 (23%) estágio IV.

Com relação ao grupo de indivíduos com câncer e caquexia, 27 (55%) desta amostra composta por indivíduos do sexo masculino e 22 (45%) do sexo feminino. Quinze (31%) destes voluntários apresentavam câncer de estômago, 3 (6,2%) tumor de reto, 3 (6,2%) tumor de canal anal, 5 (10,2%) tumor de cólon, 1 (2%) tumor de próstata, 1 (2%) tumor de pulmão, 2 (10,2%) tumor de esôfago, 2 (10,2%) tumor de colo uterino, 1 (2%) tumor de ovário, 2 (4%) tumor de hipofaringe, 1 (2%) tumor de orofaringe, 1 (2%) tumor de laringe, 1 (2%) tumor de pâncreas, 1 (2%) tumor de partes moles, 2 (4%) tumor de papila, 1 (2%) tumor de adrenal e 1 (2%) de sarcoma de perna. A média de idade neste grupo foi de $58,69 \pm 2,06$ anos e a média de peso dos pacientes 53 [47; 62] kg e IMC de 20,43 [17,76; 23,09]. No que se refere ao estágio do tumor 8 (16%) estágio II, 20 (41%) estágio III e 21 (43%) dos voluntários apresentavam câncer em estágio IV (Tabela 1).

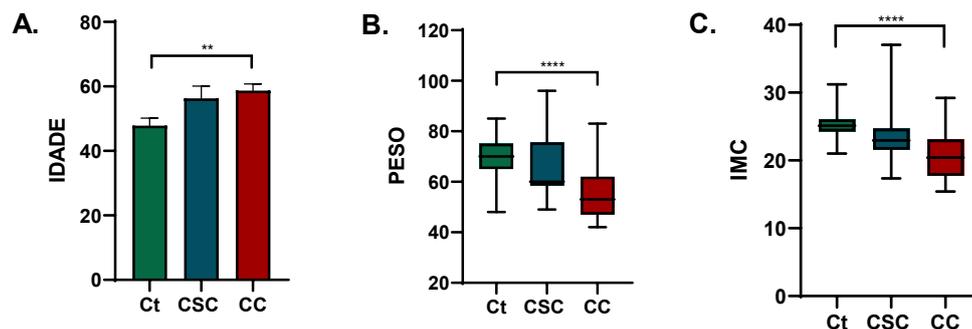
Tabela 1 - Características gerais dos pacientes

	Ct (n = 43)	CSC (n = 13)	CC (n = 49)	p
Mulheres (n) (%)	23 (53%)	7 (54%)	22 (45%)	0,0787
Homens (n) (%)	20 (47%)	6 (46%)	27 (55%)	0,1035
Idade (anos)	47.81±2.32	56.31±3.8	58.69±2.06	0,002 ^a
Peso (kg)	70 [48; 75]	60 [58,5; 75,5]	53 [47; 62]	<0,0001 ^a
IMC (kg/m ²)	25.12 [24,30; 26,05]	22.94 [21,59; 24,68]	20,43 [17,76; 23,09]	<0,0001 ^a
Patologia (localização) (n) (%)				
Colelitíase	22 (51,16%)	N.A.	N.A.	
Hérnia epigástrica	2 (4,65%)	N.A.	N.A.	
Hérnia umbilical	4 (9,3%)	N.A.	N.A.	
Hérnia inguinal	15 (34,88%)	N.A.	N.A.	
CA Orofaringe	N.A.	0	1 (2%)	
CA Hipofaringe	N.A.	0	2 (4%)	
CA Laringe	N.A.	0	1 (2%)	
CA Esôfago	N.A.	1 (7,7%)	5 (10,2%)	
CA Pulmão	N.A.	0	1 (2%)	
CA Estômago	N.A.	6 (46%)	15 (31%)	
CA Pâncreas	N.A.	0	1 (2%)	
CA Fígado	N.A.	1 (7,7%)	0	0,0012 ^b
CA Colo uterino	N.A.	1 (7,7%)	5 (10,2%)	
CA Endométrio	N.A.	1 (7,7%)	0	
CA Ovário	N.A.	0	1 (2%)	
CA Próstata	N.A.	0	1 (2%)	
CA Cólon	N.A.	0	5 (10,2%)	
CA Reto	N.A.	1 (7,7%)	3 (6,2%)	
CA Canal anal	N.A.	0	3 (6,2%)	
Papiloma	N.A.	0	2 (4%)	
CA Adrenal	N.A.	0	1 (2%)	
CA Partes moles	N.A.	0	1 (2%)	
Sarcoma de perna	N.A.	2 (15,5%)	1 (2%)	
Estadiamento tumoral (TNM) (n) (%)				
I	N.A.	0	0	
II	N.A.	3 (23,08%)	8 (16,33%)	
III	N.A.	7 (53,85%)	20 (40,82%)	0,1367
IV	N.A.	3 (23,08%)	21 (42,86%)	
Comorbidades (n) (%)				
HAS	6 (13,95%)	2 (15,38%)	16 (32,65%)	
DM	1 (2,33%)	1 (7,69%)	1 (2,04%)	
HAS + DM	1 (2,33%)	2 (15,38%)	3 (6,12%)	
HAS + Dislipidemia	0	0	2 (4,08%)	0,2998
HAS + Glaucoma	0	0	1 (2,04%)	
DRC Dialítica	0	0	1 (2,04%)	
N.A.	35 (81,4%)	8 (61,54%)	25 (51,02%)	

Dados expressos em média ± erro padrão da média (EPM) ou mediana [1° quartil; 3° quartil]. p: nível de significância dos testes 1-way ANOVA, Kruskal-Wallis e teste T de uma amostra (para sexo). ^a diferença estatística do grupo CC em relação ao grupo Ct; ^b diferença estatística do grupo CC em relação ao grupo CSC. TNM: Tumor-linfonodo-metástase (sistema internacional de classificação de tumores malignos); CA: câncer; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; DRC: doença renal crônica; N.A.: não se aplica.

Ao avaliarmos a idade dos voluntários, pacientes do grupo com câncer e caquexia, apresentaram maior faixa etária quando comparados aos pacientes do grupo controle, $p=0,002$. Pacientes do grupo câncer com caquexia apresentaram menor peso em relação aos pacientes do grupo controle, $p<0,0001$. Essa diferença foi observada também ao avaliarmos o índice de massa corporal – IMC, sendo que pacientes do grupo com câncer e caquexia apresentaram menores valores quando comparado aos indivíduos do grupo controle, $p<0,0001$ (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Dados antropométricos



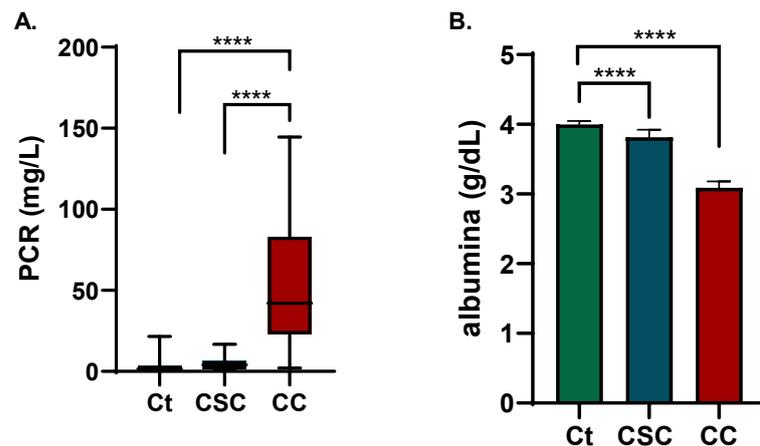
A) idade, B) peso e C) índice de massa corporal - IMC de indivíduos dos grupos controle (Ct), câncer sem caquexia (CSC) câncer e caquéticos (CC). Dados expressos em média \pm EPM ou mediana [1º quartil; 3º quartil], p =nível de significância do teste 1-Way ANOVA e teste de Kruskal-Wallis, $**p=0,002$ e $****p<0,0001$.

5.2 Dados Clínicos

Todos os voluntários foram submetidos a exames laboratoriais de hemograma completo, a análise comparativa dos dados demonstrou que os indivíduos do grupo CC apresentaram aumento significativo nos níveis da proteína C-reativa, PCR (Ct: 1,5 [0,55; 3,45]; CSC: 4 [1,2; 6,3]; CC: 42 [22,85; 83,10]; $p<0,0001$) quando comparados com os indivíduos do grupo controle, e grupo de pacientes com câncer sem caquexia. No que se refere às

concentrações séricas de albumina, foram observadas diferenças significativas entre o grupo CC vs. Controle e CSC. Controle: $3,99 \pm 0,052$; CSC: $3,82 \pm 0,11$; e CC: $3,09 \pm 0,09$; $p < 0,0001$ Gráfico 2).

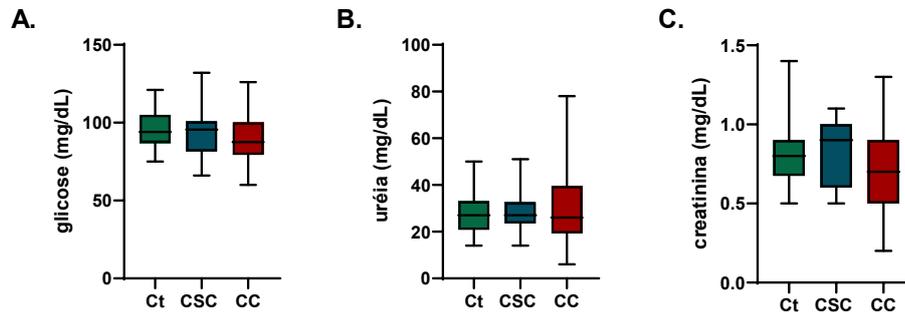
Gráfico 2 - Dados bioquímicos



A. Concentração sérica de proteína C reativa (mg/L) de indivíduos dos grupos Ct, câncer sem caquexia (CSC) e câncer e caquexia (CC). Os dados correspondem à média \pm EPM ou à mediana [1º quartil; 3º quartil]. P nível de significância dos testes 1-way ANOVA e Kruskal-Wallis, **** $p < 0,0001$.

As concentrações séricas de glicose não apresentaram diferença estatística entre os grupos, mas observa-se uma tendência a ser menor nos pacientes do grupo CC em relação aos pacientes do grupo controle, $p = 0,07$. As concentrações de ureia e creatinina não foram estatisticamente diferentes entre os grupos, $p = 0,93$ e $p = 0,40$ respectivamente, conforme Gráfico 3.

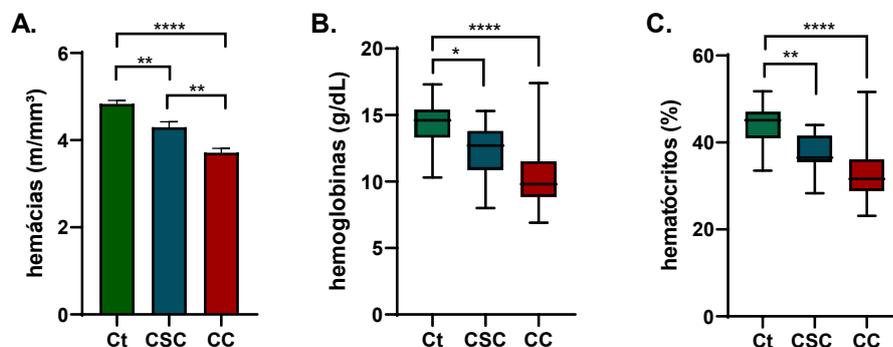
Gráfico 3 - Dados bioquímicos para diagnóstico da caquexia



A. Concentração sérica de glicose (mg/L), B. concentração de ureia (mg/dL) e C. Creatinina (mg/dL). Ct, grupo controle; CSC, grupo câncer sem caquexia, e CC, grupo câncer e caquexia. Os dados correspondem à mediana [1º quartil; 3º quartil]. P nível de significância do teste Kruskal-Wallis.

A análise do hemograma dos pacientes demonstrou que pacientes do grupo CC apresentaram valores reduzidos de hemácias (Ct: $4,83 \pm 0,08$, CSC: $4,29 \pm 0,13$, CC: $3,71 \pm 0,09$, $p < 0,0001$), hemoglobina (Controle: 14,60 [13,3; 15,4], CSC: 12,7 [10,9; 13,8], CC: 9,8 [8,85; 11,53], $p < 0,0001$), e hematócitos (Ct: 45,1 [41; 47], CSC: 36,5 [35,5; 41,5] e CC: 31,65 [28,85; 36,1], $p < 0,0001$) quando comparados aos pacientes do grupo Ct e CSC. Estes dados também foram observados em pacientes do grupo CSC em relação ao grupo Ct, reforçando a presença de anemia associada ao câncer nesses pacientes (Gráfico 4).

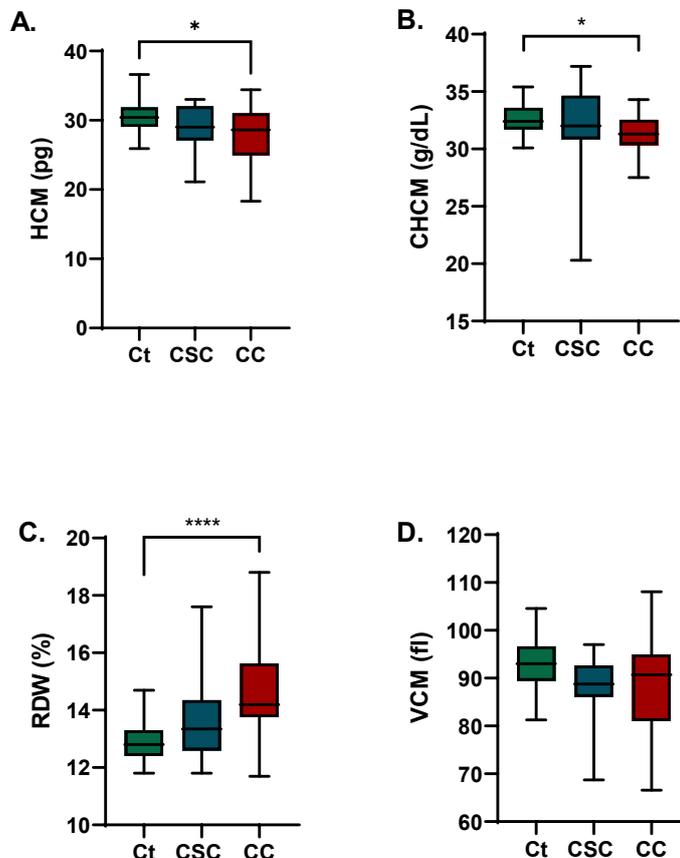
Gráfico 4 - Dados do hemograma



(A) concentração de hemácias (m/mm³), (B) concentração de hemoglobina (g/dL), (C) hematócrito (%). Os dados correspondem à média ± erro padrão ou à mediana [1º quartil; 3º quartil]. P nível de significância dos testes Anova One Way e Kruskal-Wallis, * $p = 0,02$, ** $p < 0,01$, e **** $p < 0,0001$.

A hemoglobina corpuscular média (HCM) (Ct: 30,4 [29,05; 31,8], CSC: 29 [27,1; 32], CC: 28,6 [24,95; 31], $p=0,014$) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) também se apresentaram diminuídas no grupo de pacientes com câncer e caquexia em relação aos pacientes do grupo controle (Ct: 32,4 [31,7; 33,6], CSC: 32 [30,85; 34,65], CC: 31,3 [30,35; 32,55], $p=0,0018$). A amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) também apresentou valores reduzidos em pacientes do grupo CC comparado com o grupo de pacientes controle (Ct: 12,8 [12,4; 13,3], CSC: 13,35 [12,6; 14,4], CC: 14,2 [13,7; 15,6], $p<0,0001$). Esses dados reforçam a presença de anemia nesse grupo de pacientes justificando sua inclusão no grupo experimental. Ao avaliarmos o volume corpuscular médio (VCM) apresentou tendência a ser menor nos grupos CSC em relação aos pacientes do grupo controle (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Dados do hemograma



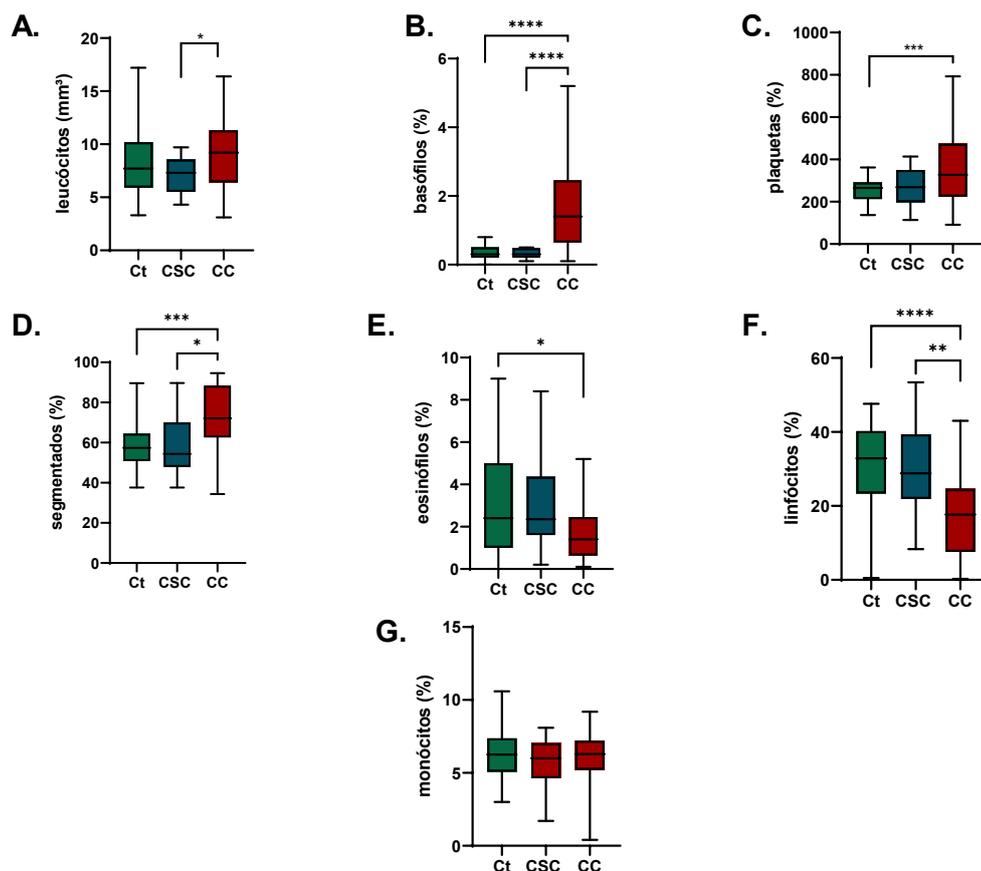
(A) hemoglobina corpuscular média (HCM), (B) concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), (C) amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (RDW) e (D) volume corpuscular médio (VCM). Dados expressos em mediana [1º quartil; 3º quartil]. P nível de significância do teste Kruskal-Wallis, * $p=0,01$ e **** $p<0,0001$.

Pacientes do grupo CC apresentaram maior quantidade de leucócitos em relação ao grupo CSC (Ct: 7,7 [5,9; 10,2], CSC: 7,3 [5,5; 8,5] e CC: 9,2 [6,4; 11,3], $p=0,039$), a quantificação de basófilos também foi maior no grupo CC em comparação aos grupos controle e CSC (Ct: 0,3 [0,2; 0,5], CSC: 0,3 [0,2; 0,48] e CC: 1,4 [0,65; 2,45], $p<0,0001$). Pacientes do grupo CC também apresentaram aumento significativo de plaquetas em relação ao grupo controle (Ct: 265 [212,2; 291,3], CSC: 269 [198; 350], CC: 327 [223,5; 474], $p=0,0034$), e segmentados em comparação aos grupos controle e CSC (Ct: 57,4 [50,8; 64,5], CSC: 54,4 [47,9; 70,05], CC: 72,1 [62,5; 88,4], $p=0,005$).

Em contrapartida, a quantidade de eosinófilos foi estatisticamente menor no grupo CC em relação ao grupo controle (Ct: 2,4 [1; 5], CSC: 2,35 [1,6; 4,335 e CC: 1,4 [0,65; 2,45], $p=0,016$), essa redução significativa também foi observada no número total de linfócitos no grupo CC em relação aos indivíduos do grupo controle e CSC (Ct: 32,9 [23,4; 40,3], 28,8 [21,85; 39,4], CC: 17,7 [7,6; 24,58], $p<0,0001$).

Não foi observada diferença estatística no número total de monócitos ($p=0,69$) (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Dados do hemograma



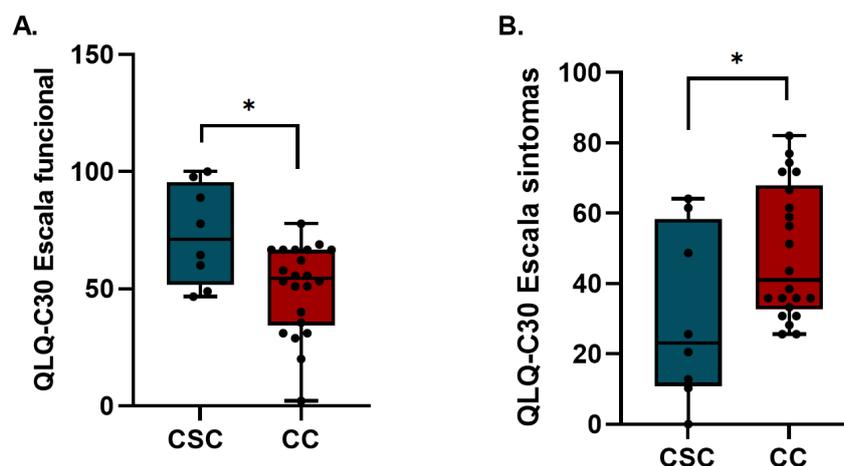
(A) Número total de leucócitos (mm³), (B) Porcentagem de basófilos, (C) Porcentagem de plaquetas, (D) Porcentagem de segmentados, (E) Porcentagem de eosinófilos, (F) Porcentagem de linfócitos e (G) Porcentagem de monócitos. Ct: grupo controle, CSC: grupo de pacientes com câncer e sem caquexia, CC: grupo de pacientes com câncer e caquéticos. Os dados correspondem à mediana [1º quartil; 3º quartil]. P nível de significância do teste Kruskal-Wallis, * $p<0,05$ ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ e **** $p<0,0001$.

5.3 Dados da Qualidade de Vida

A aplicação do questionário de qualidade de vida QLQ-C30 relacionado à escala funcional, o qual aborda aspectos emocionais, cognitivos, físicos e sociais revelou que pacientes do grupo câncer e caquexia apresentam menor pontuação em relação aos pacientes do grupo câncer sem caquexia. Valores mais baixos estão relacionados a menor qualidade de vida (CSC: 71,11 [51,67; 95,56], CC: 54,44 [34,44; 66,67], $p=0,045$).

Os dados do questionário relacionados a sintomas, que abordam informações à percepção de fadiga, dor, náuseas e vômitos apresentou escore maior para pacientes do grupo de pacientes com câncer e caquexia em relação aos pacientes do câncer sem caquexia (CSC: 23,08 [10,9; 58,33], CC: 41,03 [32,69; 67,95], $p=0,040$) (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Percepção da qualidade de vida



Dados expressos em mediana [1º quartil; 3ºquartil], p =nível de significância do teste Mann-Whitney. QLQ-C30 EF: escala funcional do questionário de qualidade de vida; QLQ-C30 ES: escala de sintomas do questionário de qualidade de vida; * diferença significativa do grupo CC em relação ao CSC.

5.4 Avaliação dos Pacientes pela Escala de Prognóstico de Glasgow

O perfil da inflamação sistêmica e nutricional dos pacientes foi avaliado também pela escala de Glasgow. *The Glasgow Prognostic Score* (GPS) é um método que utiliza as seguintes escalas de scores, PCR ≥ 10 e albumina $\geq 3,5 = 0$, PCR < 10 mg/L e albumina $< 3,5$ ou PCR > 10 e albumina $> 3,5 = 1$; PCR > 10 e albumina $< 3,5$ mg/L = 2. A avaliação pelo *The Modified Glasgow Prognostic Score* (mGPS) apresenta as seguintes pontuações: PCR ≤ 10 mg/l e albumina $\geq 3,5$; PCR > 10 e albumina $> 3,5$; PCR > 10 e albumina $< 3,5$ (Tabela 2).

Tabela 2 - Escore prognóstico de Glasgow modificado

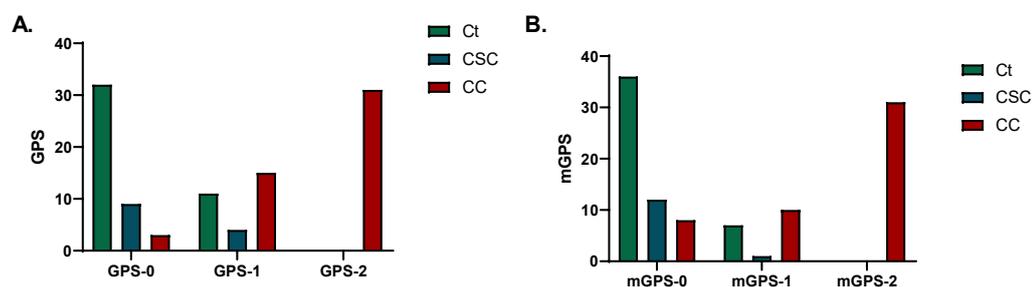
PCR (mg/L)	Albumina (g/dL)	Escore prognóstico de Glasgow
≤ 10	-	0
> 10	$\geq 3,5$	1
> 10	$< 3,5$	2

Fonte: Adaptado de Mcmillan⁷³

Os dados do GPS apresentaram diferença estatística entre os grupos com $p < 0,0001$. Pacientes do grupo controle apresentaram o seguinte perfil na escala GPS: 74,4% apresentaram score 0, os pacientes que apresentaram score 1 representaram 25,6%, e nenhum paciente apresentou score 2. Pacientes do grupo câncer sem caquexia representaram 69,3% com score 0, score 1 foram 30,7%, e nenhum paciente apresentou score 2. Entretanto dos pacientes do grupo câncer e caquexia que apresentaram score 0 foram 6,12%, os que apresentaram score 1 foram 30,61%, e 63,27% dos pacientes do grupo CC apresentaram score 2.

A avaliação do mGPS também apresentou diferença estatística entre os grupos, sendo $p < 0,0001$. Os pacientes do grupo controle que apresentaram score 0 foram 83,72%, os que apresentaram score 1 foram 16,28%, e nenhum paciente apresentou score 2. Pacientes do grupo câncer sem caquexia representaram 92,31% com score 0, score 1 foram 7,69%, e nenhum paciente apresentou score 2. Já o grupo de pacientes com câncer e caquexia que apresentaram score 0 foram representados por 16,33% dos pacientes, os que apresentaram score 1 foram 20,41%, e 63,27% dos pacientes do grupo CC apresentaram score 2 (Gráfico 8).

Gráfico 8 - Avaliação pela escala de Glasgow



Os dados foram expressos através do teste Qui-quadrado, e representam a porcentagem de pacientes nos diferentes scores. GPS: *The Glasgow Prognostic Score*; mGPS: *The modified Glasgow Prognostic Score*; GPS-0 e mGPS-0: score zero; GPS-1 e mGPS-1: score 1; GPS-2 e mGPS-2: score 2.

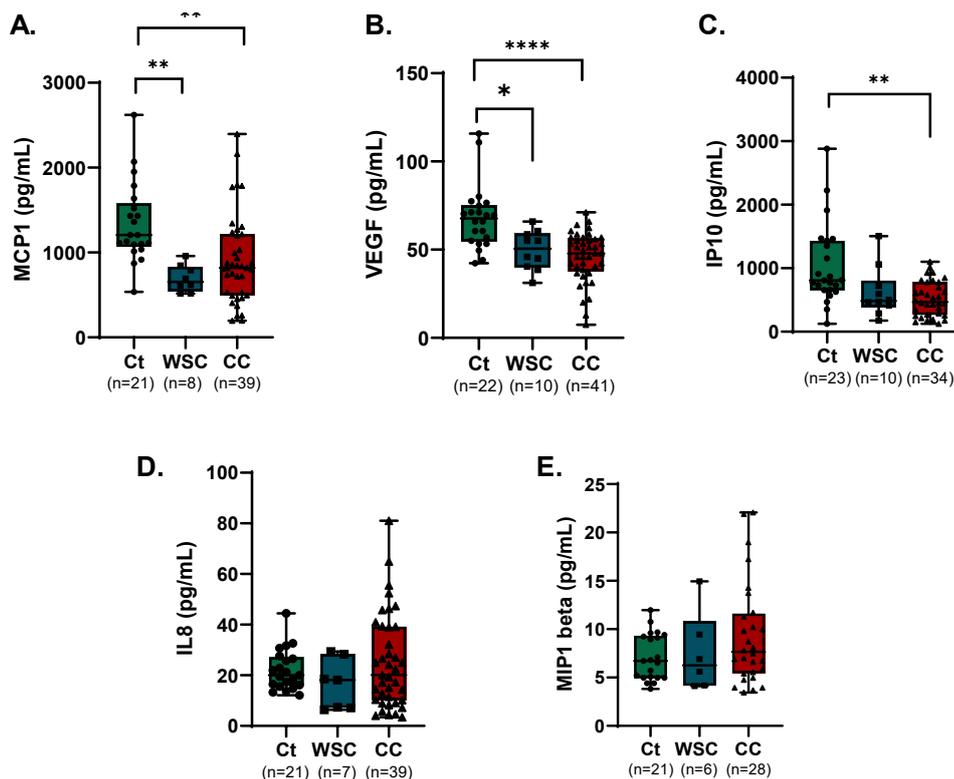
5.5 Citocinas Presentes no Líquido Cefalorraquidiano de Pacientes

A análise de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias revelou que MCP1, VEGF, IL-8, IP-10 e MIP-1 beta foram expressas no líquido cefalorraquidiano dos voluntários desta pesquisa.

Pacientes dos grupos CC e CSC apresentaram menores valores das citocinas MCP-1 (Ct: 1205 [1065; 1578], CSC: 655 [542; 832], CC: 817 [497;

1215]) e VEGF (Ct: 67,67 [54,62; 75,21], CSC: 50,51 [39,97; 59,14], CC: 47,78 [37,66; 56,43]) em relação aos pacientes do grupo Ct; observou-se também uma menor concentração de IP-10 nos pacientes do grupo CC em relação ao grupo controle, Ct: 809,2 [653,8; 1430], CSC: 483,5 [383,4; 805,3], CC: 468,8 [264,4; 780,6]. As concentrações de IL-8 e MIP-1 beta não apresentaram diferença significativa entre os diferentes grupos ($p=0,53$ e $p=0,45$, respectivamente) (Gráfico 9).

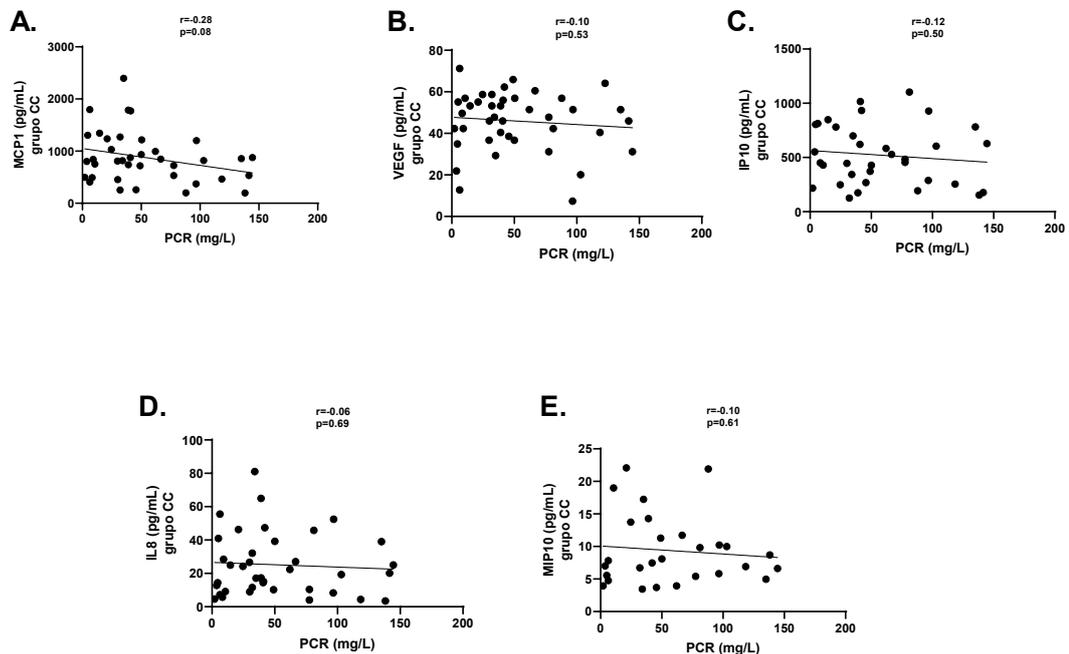
Gráfico 9 - Avaliação de citocinas pró-inflamatórias presentes no líquido cefalorraquidiano



Valores expressos em pg/mL das citocinas MCP-1, VEGF, IP-10, IL-8 e MP1-beta, presentes no líquido cefalorraquidiano de pacientes dos grupos controle (Ct), câncer sem caquexia (CSC) e câncer com caquexia (CC); MCP-1: proteína 1 quimioatrativa de monócitos; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; IP-10: proteína 10 induzida por interferon gama; IL-8: interleucina - 8; MIP1-beta: proteína inflamatória de macrófagos 1. Dados expressos em mediana [1º quartil; 3º quartil]. p = nível de significância do teste [1º quartil; 3º quartil]. * $p<0,05$; ** $p<0,001$; **** $p<0,0001$

Foi realizada a correlação entre citocinas expressas no líquido cefalorraquidiano de pacientes do grupo câncer e caquexia com níveis de proteína C-reativa, porém não se observou correlações significativas para MCP-1 ($p=0,08$ e $r=-0,28$), VEGF ($p=0,53$ e $r=-0,10$), IP-10 ($p=0,50$ e $r=-0,12$), IL-8 ($p=0,69$ e $r=-0,06$) e MIP-10 ($p=0,61$ e $r=-0,10$), conforme o Gráfico 10.

Gráfico 10 - Correlação de Spearman entre proteína C-reativa e citocinas pró-inflamatórias expressas no líquido de pacientes do grupo câncer e caquexia



A-E: correlações entre citocinas (pg/mL) e níveis de PCR (mg/mL). MCP-1: proteína 1 quimioatrativa de monócitos; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; IP-10: proteína 10 induzida por interferon gama; IL-8: interleucina - 8; MIP1-beta: proteína inflamatória de macrófagos 1; PCR: proteína C-Reativa.

6 DISCUSSÃO

A caquexia associada ao câncer é uma síndrome multifatorial definida por uma perda contínua de massa muscular esquelética (com ou sem perda de massa gorda), que não pode ser totalmente revertida pelo suporte nutricional convencional e leva ao comprometimento funcional progressivo. Sua fisiopatologia é caracterizada por um balanço negativo de proteínas e energia impulsionado por uma variável combinação de redução da ingestão de alimentos e metabolismo anormal^{38,74}. A caquexia compromete a capacidade dos pacientes de receber, tolerar e responder positivamente às terapias anticâncer e está associado a uma pior qualidade de vida^{38,75}.

Embora a anorexia e a ingestão reduzida de alimentos desempenhem um papel importante nesta síndrome, estas estão relacionados ao metabolismo anormal e não somente à baixa ingestão de alimentos. Devido à natureza multifatorial de caquexia, é difícil reconhecê-la ou identificá-la e, até agora, não há consenso sobre o seu diagnóstico. Assim, encontrar marcadores sistêmicos que possam auxiliar no diagnóstico precoce pode ser uma alternativa para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos nessa síndrome e desempenhar um papel essencial na identificação e gerenciamento da caquexia com foco na avaliação e intervenção clínica.

Nesta pesquisa, avaliou-se o perfil de citocinas inflamatórias do Líquor de pacientes com câncer, caquéticos e não caquéticos, a fim de se verificar

possíveis diferenças que auxiliem no gerenciamento, prognóstico e até mesmo tratamento dos pacientes com câncer.

Foram 105 voluntários estudados com distribuição equivalentes entre pacientes do grupo controle, 43 voluntários, e do grupo com caquexia e câncer, 49 voluntários, sendo um número menor para pacientes com câncer sem caquexia, 13 voluntários, permitindo uma avaliação adequada entre os grupos, apesar da grande dificuldade de obtenção de líquido de pacientes caquéticos que tivessem indicação de procedimento cirúrgico sem estarem em tratamento com quimioterapia e possibilidade de raquianestesia, seja por contra indicações relativas ou absolutas, frequentes em estado avançado de câncer. Como os esforços foram direcionados a obtenção de dados de pacientes caquéticos, o grupo de pacientes com câncer sem caquexia foi construído com os voluntários que não completaram os critérios de caquexia após avaliação de dados antropométricos, laboratoriais e escore prognóstico de Glasgow. Os gêneros foram devidamente representados com 52 mulheres e 53 homens. As idades máxima e mínima encontraram-se dentro dos limites estipulados nos critérios de inclusão, entre 18 e 85 anos, levando-se em consideração a expectativa de vida e epidemiologia do câncer. Houve distribuição semelhante de gêneros no grupo controle, 53,4% mulheres e 46,5% homens, assim como nos voluntários com câncer e sem caquexia, 54% mulheres e 46% homens. No grupo com câncer e caquexia, houve um predomínio de voluntários homens 55% em relação a 45% de mulheres, contudo sem impacto estatístico significativo.

O grupo controle foi constituído por voluntários com média de idade de $47,81 \pm 2,32$ submetidos a colecistectomia por colelitíase (22 indivíduos)

e correções cirúrgicas de hérnias, dois epigástricas, quatro umbilicais e 15 inguinais, não sendo esperado processos inflamatórios sistêmicos ou de SNC causados por doenças de base, dados estes corroborados pelo escore prognóstico de Glasgow, sendo observada clara predominância de pacientes com escore prognóstico de Glasgow 0 em pacientes controle em comparação ao predomínio de escore 2 em pacientes com câncer e caquexia.

O grupo com câncer e sem caquexia foi constituído por voluntários com média de idade mais elevada em relação ao grupo controle, mas sem significância estatística ($56,31 \pm 3,8$ anos). Seis (46%) dos pacientes apresentavam tumores de estômago, 1 (7,7%) com tumor de colo de útero, 1 (7,7%) tumor de endométrio, 2 (15,5%) sarcoma de perna, 1 (7,7%) tumor no fígado, 1 (7,7%) tumor de esôfago e 1 (7,7%) tumor de reto, sendo 69,39% com tumores do trato digestório e maior possibilidade de caquexia associada ao tipo de câncer, mas que não preencheram os critérios para o diagnóstico de caquexia.

O grupo com câncer e com caquexia foi constituído por voluntários com média de idade de $56,69 \pm 2,06$ anos, mais elevada do que o grupo controle, com significância estatística $p=0,002$. Quinze (31%) destes voluntários apresentavam câncer de estômago, 3 (6,2%) tumor de reto, 3 (6,2%) tumor de canal anal, 5 (10,2%) tumor de cólon, 1 (2%) tumor de próstata, 1 (2%) tumor de pulmão, 5 (10,2%) tumor de esôfago, 5 (10,2%) tumor de colo uterino, 1 (2%) tumor de ovário, 2 (4%) tumor de hipofaringe, 1 (2%) tumor de orofaringe, 1 (2%) tumor de laringe, 1 (2%) tumor de

pâncreas, 1 (2%) tumor abdominal de partes moles, 2 (4%) tumor de papila (ampola de Vater), 1 (2%) tumor de adrenal e 1 (2%) sarcoma de perna, sendo 73,46% com tumores do trato gastrointestinal com maior possibilidade de caquexia associada ao tipo de câncer e preenchendo critérios para diagnóstico de caquexia.

Em metanálise⁷⁶ de 42 trabalhos que avaliaram o valor preditivo de desfechos clínicos em pacientes desnutridos, acima de 70 anos, demonstrou a relação do baixo índice de massa corpórea com pior prognóstico clínico, assim como a perda de peso por redução de ingesta. No atual estudo, pacientes do grupo CC apresentaram menor peso em relação aos pacientes do grupo controle, assim como os pacientes do grupo CC apresentaram menores valores de índice de massa corporal – IMC, quando comparados aos indivíduos do grupo Ct ($p < 0,0001$); estes resultados validam as diferenças nutricionais antropométricas dos grupos, apesar da não realização de outras medidas antropométricas neste estudo.

Os voluntários incluídos no grupo com câncer e caquexia apresentaram concentrações elevadas de PCR, quando comparados aos pacientes do grupo controle e com pacientes com câncer sem caquexia. Esses dados corroboram dados da literatura, que demonstra que o aumento da PCR é o indicador mais amplamente aceito de inflamação sistêmica³⁸, embora seu uso por si só seja discutível porque pode ser influenciada por outros fatores, como infecções⁷⁷. Mesmo ocorrendo em conjunto com outros fatores, a PCR é considerada um fator prognóstico independente e altas concentrações são geralmente observadas em indivíduos com caquexia⁷⁷. A

análise comparativa dos dados demonstrou que os indivíduos do grupo CC apresentaram aumento significativo nos níveis da proteína C-reativa, PCR (Ct: 1,5 [0,55; 3,45]; CSC: 4 [1,2; 6,3]; CC: 42 [22,85; 83,10]; $p < 0,0001$) quando comparados com os indivíduos do grupo Ct e CSC, apresentando distribuição gráfica evidente de indivíduos com inflamação sistêmica no grupo com caquexia.

No que se refere às concentrações séricas de albumina, foram observadas diferenças significativas entre o grupo CC vs. Controle e CSC (Ct: $3,99 \pm 0,052$; CSC: $3,82 \pm 0,11$; e CC: $3,09 \pm 0,09$; $p < 0,0001$). Baixas concentrações de albumina e do número total de linfócitos, bem como um aumento significativo do número total de plaquetas foi observado nos grupos CC e CSC quando comparados ao grupo Ct. Esses índices, em pacientes com câncer, são geralmente definidos como marcadores de desnutrição e inflamação⁷⁶, e juntos estão associados às taxas de sobrevivência e prognóstico clínico dos pacientes.

O câncer e estado nutricional estão diretamente relacionados, de modo que alterações fisiológicas oriundas da enfermidade podem causar perda de peso e desnutrição, que por sua vez, influenciam negativamente na evolução da doença, resposta ao tratamento e tempo de sobrevivência⁷⁸. Neste estudo, a maior prevalência foi de câncer de estômago, com 33,87% dos casos e 74,19% de tumores com origem no tubo digestório, direcionando a amostra para neoplasias com grande relação com caquexia. No presente estudo, 38,7% da amostra de pacientes com câncer apresentou tumores em estadio IV e 43,54% em estadio III; a prevalência de doença em estadio

avançado pode ter influenciado na elevada incidência de caquexia. Frequentemente percentual de pacientes oncológicos em período de doença avançada ou terminal intensificam a perda de peso com consequente caquexia⁷⁹, assim como amplificam o estado de inflamação sistêmica.

A análise do hemograma dos pacientes demonstrou que pacientes do grupo CC apresentaram valores reduzidos de hemácias (Ct: $4,83 \pm 0,08$, CSC: $4,29 \pm 0,13$, CC: $3,71 \pm 0,09$; $p < 0,0001$), hemoglobina (Ct: 14,60 [13,3; 15,4], CSC: 12,7 [10,9; 13,8], CC: 9,8 [8,85; 11,53]; $p < 0,0001$), e hematócitos (Ct: 45,1 [41; 47], CSC: 36,5 [35,5; 41,5] e CC: 31,65 [28,85; 36,1]; $p < 0,0001$) quando comparados aos pacientes do grupo Ct e CSC. Estes dados também foram observados em pacientes do grupo CSC em relação ao grupo controle, reforçando a presença de anemia associada ao câncer nesses pacientes, não somente pelo estado carencial nutricional, possível perda sanguínea, mas também por atividade inflamatória associada ao tumor, fazendo parte dos critérios diagnósticos de caquexia.

A hemoglobina corpuscular média (HCM) (Ct: 30,4 [29,05; 31,8], CSC: 29 [27,1; 32], CC: 28,6 [24,95; 31]; $p = 0,014$) e a concentração de CHCM também se apresentaram diminuídas no grupo CC em relação aos pacientes do grupo controle (Ct: 32,4 [31,7; 33,6], CSC: 32 [30,85; 34,65], CC: 31,3 [30,35; 32,55]; $p = 0,0018$). A amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) também apresentou valores reduzidos em pacientes do grupo CC comparado ao grupo de pacientes controle (Ct: 12,8 [12,4; 13,3], CSC: 13,35 [12,6; 14,4], CC: 14,2 [13,7; 15,6]; $p < 0,0001$). A anemia é um achado frequente em pacientes com câncer, ocorrendo em $> 40\%$ dos casos. O

desenvolvimento de anemia em pacientes oncológicos é multifatorial. Mecanismos diferentes, como perdas sanguíneas, aumento da destruição dos glóbulos vermelhos ou diminuição na sua produção, podem coexistir em um mesmo paciente, sendo maior a probabilidade de desenvolvimento de anemia em pacientes caquéticos pela junção dos riscos citados.

Pacientes do grupo CC apresentaram maior quantidade de leucócitos em relação ao grupo CSC (Controle: 7,7 [5,9; 10,2], CSC: 7,3 [5,5; 8,5] e CC: 9,2 [6,4; 11,3]; $p=0,039$), com elevação de basófilos e segmentados, demonstrando o estado inflamatório do paciente caquético e com câncer, o que não se comprovou estatisticamente entre os pacientes com câncer sem caquexia e o controle, indicando importante influência da caquexia no estado inflamatório sistêmico. Em contrapartida, a queda no número absoluto de linfócitos do grupo CC em relação aos outros dois grupos, pode estar relacionado com o estado nutricional, já que a linfopenia encontra-se entre os marcadores de estado nutricional, além da queda de eosinófilos, demonstrando deficiência de resposta aguda celular.

A aplicação do questionário de qualidade de vida QLQ-C30 relacionado à escala funcional, a qual aborda aspectos emocionais, cognitivos, físicos e sociais, revelou que pacientes do grupo CC apresentaram menor pontuação em relação aos pacientes do grupo câncer sem caquexia. Valores mais baixos estão relacionados à menor qualidade de vida (CSC: 71,11 [51,67; 95,56], CC: 54,44 [34,44; 66,67]; $p=0,045$).

Os dados do questionário QLQ-C30 relacionados aos sintomas, que abordam informações à percepção de fadiga, dor, náuseas e vômitos,

apresentou escore maior para pacientes do grupo CC em relação aos pacientes CSC (CSC: 23,08 [10,9; 58,33], CC: 41,03 [32,69; 67,95]; $p=0,040$). Os aspectos abordados nestes questionários: sintomáticos (fadiga, dor, náuseas e vômitos), e funcionalidades (física, cognitiva, emocional e social) demonstravam injúria nos pacientes com câncer e caquexia. Estes achados podem estar relacionados com o estado psicológico, desinserção social, carência nutricional, estado inflamatório, dentre outros fatores implicados no diagnóstico de câncer e agravado pela caquexia.

Uma vez estabelecido e demonstrado que os pacientes com câncer e caquexia estudados nesta pesquisa apresentavam um estado inflamatório sistêmico exacerbado, com impacto negativo no *performance status*, com perda de qualidade de vida e distúrbio funcional, a avaliação da inflamação ao nível do sistema nervoso central se torna mister, com o intuito de avaliar a concentração de citocinas e quimiocinas, que por aumento ou diminuição de concentração no SNC, possam estar atuando na perda de substratos (principalmente muscular), indução de anorexia, nos efeitos endócrinos e parácrinos da regulação inflamatória e permitindo novos ensaios com estímulo ou supressão de substâncias específicas no SNC para a modulação de resposta inflamatória com resultados significativos no controle da caquexia.

Pacientes dos grupos câncer e caquexia e câncer sem caquexia apresentaram menores valores das citocinas MCP-1 (Ct: 1205 [1065; 1578], CSC: 655 [542; 832], CC: 817 [497; 1215]) e VEGF (Ct: 67,67 [54,62; 75,21],

CSC: 50,51 [39,97; 59,14], CC: 47,78 [37,66; 56,43]) em relação aos pacientes do grupo controle. Observou-se também uma menor concentração de IP-10 nos pacientes do grupo CC em relação ao grupo controle (Ct: 809,2 [653,8; 1430], CSC: 483,5 [383,4; 805,3], CC: 468,8 [264,4; 780,6]). As concentrações de IL-8 e MIP-1 beta não apresentaram diferença significativa entre os grupos ($p=0,53$ e $p=0,45$, respectivamente).

Os efeitos das citocinas e quimiocinas podem ser antagônicos quando analisados via sistêmica e via SNC. A observação de padrões de concentrações baixas no SNC de pacientes com câncer e caquexia em relação aos pacientes com câncer sem caquexia e controles sugere que este possa ser o mecanismo de manutenção e amplificação da anorexia, estado psicológico e estímulo neuronal envolvidos na caquexia por câncer. Vários mecanismos podem estar relacionados com diferentes concentrações de substâncias no líquido, exemplo a funcionalidade da barreira hematoencefálica, observando-se que não há relação estabelecida entre o nível de PCR sistêmico e concentrações de citocinas e quimiocinas no líquido dos voluntários estudados.

Em estudo realizado com tecido adiposo peritumoral, TNF- α , STAT-1 e FADD, relacionados à apoptose, foram encontrados níveis significativamente maiores em pacientes com câncer e caquexia, em relação a pacientes com câncer e peso estável. Está bem estabelecida a interação entre tumorocinas e adipocinas como pró-inflamatórias e seu papel na regulação de crescimento tumoral, reprogramação celular, modulação do sistema imune e angiogênese⁸⁰; entretanto, a observação de dosagens

reduzidas no líquido do SNC em pacientes com câncer e caquexia, em relação a pacientes sem distúrbios com perda de peso, demonstra um comportamento diferente da inflamação sistêmica, causando grande interesse no mecanismo da relação anti-inflamatória, como o líquido reflete o estado inflamatório do SNC, como as barreiras naturais podem reduzir a presença de citocinas no líquido e se isto é um mecanismo de modulação com agravamento da caquexia. A redução de citocinas inflamatórias encontrada no líquido de pacientes caquéticos e com câncer neste estudo pode ser um dos mecanismos da inadequada resposta do organismo ao câncer com a perda contínua de peso.

Por meio de pesquisas em bancos de dados, utilizando os descritores líquido cefalorraquidiano ou líquido com inflamação e caquexia, não foram encontrados resultados, demonstrando a importância e ineditismo deste estudo, principalmente quando foram pesquisados estudos com material biológico humano. Mas, quando se pesquisou sobre sistema nervoso central, caquexia e inflamação como descritores, foram encontrados alguns estudos referentes ao papel fisiopatológico do hipotálamo, a função dos neuroreceptores, expressão gênica e citocinas, regulando a relação do SNC com inflamação e caquexia, contudo, são estudos em animais, em sua maioria. O papel do SNC, principalmente através do hipotálamo, na resposta ao estresse da caquexia é conhecido, mas o papel das citocinas neste contexto ainda é inconclusivo. Estudos sugerem que o SNC é fundamental na patogênese da caquexia, detectando inflamação, integrando informações sistêmicas e causando mudanças na massa corporal e metabolismo⁸¹.

Como demonstração de potencial sinalização e amplificação da resposta inflamatória, a injeção intracerebroventricular de citocinas pró-inflamatórias induz anorexia, letargia e catabolismo em doses muito abaixo do limiar observado para a resposta a injeção periférica⁸¹.

O eixo hipotalâmico-pituitário, com a conhecida liberação de hormônios anti-insulínicos, promove o catabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas no tecido periférico em resposta às citocinas que entram no SNC. A IL-1 β , a partir do hipotálamo, promove alterações locais e sistêmicas na expressão genética, síntese proteica e sinalização neuroendócrina. Em roedores, quando a IL-1 β é administrada via intracerebroventricular, os animais apresentam importante perda muscular, o que não ocorreu quando o IL-1 β é administrada intraperitoneal. A TNF- α também pode induzir o catabolismo muscular esquelético e anorexia quando administrado via central⁸¹.

A maioria das citocinas pode entrar no hipotálamo por difusão, e algumas citocinas, incluindo IL-6, TNF- α e IL-1 β , podem atravessar vários sistemas de transportes. Órgãos circunventriculares e o plexo coroide contêm células semelhantes a macrófagos, que expressam receptores que permitem que citocinas exerçam suas funções, sem entrar no parênquima cerebral, reforçando o protagonismo do TNF- α e IL-1 β nestes mecanismos. Apesar do papel importante do hipotálamo na modulação inflamatória local e sistêmica, não se pode definir que represente o estado geral do SNC e que os resultados de trabalhos experimentais sejam reproduzíveis em seres humanos, o presente estudo buscou analisar esta relação entre citocinas, SNC e caquexia.

Além do eixo hipotálamo-pituitário, o SNC se relaciona com os processos inflamatórios locais e sistêmicos pelo sistema nervoso simpático e parassimpático. O processo inflamatório inicial apresenta um aumento da atividade sistêmica do SNS e do eixo hipotalâmico-pituitário, visando o fornecimento de substratos ricos em energia, como glicose e ácidos graxos livres, para atender às necessidades de um sistema imunológico ativado⁸².

A inflamação hipotalâmica gera respostas orexigênicas e anorexigênicas, através da serotonina e estimulação de suas vias de sinalização. São vários núcleos envolvidos na regulação do equilíbrio energético, apetite e massa corporal contendo neurônios anorexigênicos que produzem pró-opiomelanocortina (POMC) e transcrição regulada por cocaína e anfetamina, e neurônios orexigênicos⁸³; há múltiplas vias de interação entre SNC, inflamação e caquexia e os estudos que tentaram estabelecer estas vias, como GFRAL Receptor-MIC-1/GDF1⁸⁴, mediador TRIF⁸⁵, NUCB2 e CARTPT⁸⁶, ainda são insuficientes para entendimento do real potencial do sistema nervoso na inflamação crônica e caquexia.

Apesar do antagonismo do TNF- α na estimulação de macrófagos M1 e supressão de M2, da ação genética via NF- κ B, da ativação da via ubiquitina proteossoma com aumento de perda de massa muscular na caquexia, aumento da lipólise com redução da lipoproteína lipase e supressão da expressão de receptor gama ativado por proliferadores peroxissoma⁸⁰, de induzir apoptose, ativação de células do sistema imunológico, angiogênese, diferenciação e migração celular⁸⁷, a não titulação desta citocina no líquido pelo método utilizado não fortalece o

mesmo protagonismo no SNC; porém, sua ausência de titulação pode ser um importante achado a ser esclarecido.

O fator de crescimento endotelial vascular é um dos principais indutores de angiogênese e tem significativa importância na manutenção da proliferação e desenvolvimento tumoral, promove oxigenação e nutrição favoráveis à disseminação tumoral⁸⁸. Pacientes com câncer apresentam expressão elevada de VEGF em vários órgãos sistêmicos, também observado em pacientes com câncer e caquexia. Mas, os baixos níveis encontrados neste estudo na dosagem em líquido de pacientes com câncer e caquexia em relação aos pacientes sem inflamação demonstram a possibilidade de regulação anti-inflamatória e barreira efetiva que podem influenciar a regulação do SNC na promoção de caquexia, sendo possível a necessidade da inflamação do SNC como atenuante da perda contínua de substratos.

TNF- α induz a produção de citocinas pró-inflamatórias, mediadas pela ativação da via NF- κ B, como MCP-1, recrutando monócitos e potencializando a inflamação local. Neste estudo, a diferença significativa entre pacientes com câncer e caquexia e controles aponta para um estado inflamatório diminuído no sistema nervoso central, com provável tolerância e inércia, causando provável incapacidade de resposta a agressão inflamatória sistêmica. O quanto isto influencia o estado nutricional, perda de funcionalidade orgânica, progressão tumoral e da caquexia será objeto de novas pesquisas translacionais, como a indução de inflamação em sistema nervoso central para a possível modulação da resposta à caquexia.

Na prática clínica, se sabe que a resposta neuroimunoendócrina é fundamental para a sobrevivência do paciente exposto a estresse inflamatório grave. Um indivíduo, por exemplo, que faz uso crônico de corticoide, e é submetido a estresse grave, como uma grande cirurgia, é necessário que haja a reposição de corticoide para estimular a resposta, caso contrário, desenvolve hipotensão e choque, os hormônios anti-insulínicos fazem com que a glicose e aminoácidos atuem como substratos osmóticos para a manutenção de volemia e pressão arterial média, assim como fonte de energia, associada a lipólise e produção de proteínas de fase aguda e reparadoras. Então, a baixa concentração de citocinas no SNC encontrada nos pacientes com câncer e caquexia neste estudo pode apontar para uma baixa capacidade de resposta central e conseqüente manutenção e intensificação dos estados de inflamação e caquexia.

7 CONCLUSÕES

Os grupos estudados têm distribuições específicas e independentes, permitindo análise comparativa univariada entre eles em relação ao comportamento do líquido cefalorraquidiano na inflamação sistêmica crônica presente na caquexia associada ao câncer. A importante perda de peso, baixo IMC e elevação de PCR associados a leucocitose, linfopenia, anemia, hipoalbuminemia, baixo escore prognóstico de Glasgow, pontuação desfavorável no questionário de qualidade de vida QLQ-30 em pacientes com câncer e caquexia demonstram o estado nutricional compatível com caquexia e inflamação deste grupo, assim como o impacto clínico deste agravamento de saúde.

Foram avaliados o perfil clínico e epidemiológico dos voluntários com câncer independente do estágio clínico, e sem interferência na conduta médica terapêutica, o que permitiu encontrar grupos de pacientes caquéticos e não caquéticos por meio da avaliação do perfil clínico e bioquímico.

Determinou-se o padrão inflamatório a nível do SNC dos pacientes incluídos nos grupos caquéticos e não caquéticos por meio da avaliação da expressão de citocinas líquido cefalorraquidiano, contudo esperava-se que a dosagem de citocinas estivesse aumentada seguindo a tendência da elevação de citocinas sistêmicas em pacientes com inflamação crônica por câncer e caquexia, mas de forma antagônica a dosagem destas encontrou-

se reduzida e não encontrado o protagonismo de citocinas amplamente avaliadas pela literatura, como TNF- α e IL-8, as citocinas que atingiram níveis detectados pelo método foram: VEGF, MPC-1, IP-10, IL-8 e MIP-10.

O SNC tem sido pouco estudado em relação à presença de citocinas e quimiocinas, devido às implicações éticas para a obtenção de tecido *in anima nobilis*. A biopsia neuronal pode trazer consequências proibitivas à coleta de amostras de tecido viável, principalmente em caquéticos, que tem indicações muito limitadas a procedimentos cirúrgicos.

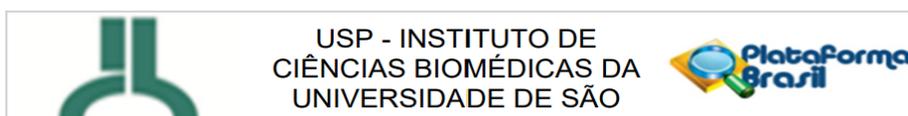
O Líquor constitui uma janela que permeia o SNC e que tem relação íntima com a circulação sistêmica; contudo, a barreira hematoencefálica inibe a passagem de grande parte de complexos proteicos para o SNC, que varia seja por transporte ativo ou passivo com os processos inflamatórios locais e sistêmicos. Ao contrário do esperado aumento dos níveis de citocina no líquido em pacientes sabidamente inflamados como os com câncer e caquexia, detectou-se a redução dos níveis de MPC-1, VEGF e IP-10, também se observou expressão da dosagem de IL-8 e MIP-10 sem significância estatística.

Os níveis reduzidos de citocinas no líquido de pacientes com câncer e caquexia em relação aos voluntários controle favorece o entendimento de uma eficiente barreira hematoencefálica, assim como a incapacidade de produção e elevação de concentração de citocinas no SNC em pacientes com câncer e caquexia em relação ao grupo controle. A probabilidade da redução de permeabilidade ou queda de transporte ativo em pacientes caquéticos com câncer, associada à possível ação antagônica das citocinas

quando comparadas à inflamação sistêmica sugere influência na inibição de apetite e alteração do metabolismo. Este estudo aponta para a necessidade do conhecimento do verdadeiro papel das citocinas no SNC na regulação e modulação da caquexia, se a inflamação no SNC é necessária na homeostasia corporal por estímulos ácrinos ou parácrinos, ou se as citocinas, mesmo em doses reduzidas têm efeitos específicos que levam à perda de massa magra e caquexia.

8 ANEXOS

Anexo A: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo da relação entre resposta inflamatória em pacientes caquéticos portadores de tumores malignos e a composição do líquido cefalorraquidiano.

Pesquisador: José Pinhata OTOCH

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 78485517.4.3001.5467

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.395.463

Apresentação do Projeto:

O projeto está bem apresentado. A proposta de estudo tem bom embasamento na literatura pertinente. A hipótese é viável. Os objetivos estão claramente definidos. Os pacientes serão selecionados do Ambulatório de Oncologia do Hospital Regional do Baixo Amazonas-Santarém-Pará. Os critérios de inclusão e exclusão dos participantes estão explicitados. Os métodos de estudo são adequados.

Objetivo da Pesquisa:

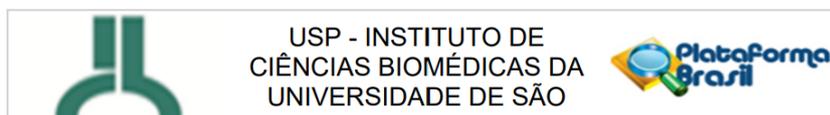
O objetivo do projeto é investigar o líquido cefalorraquidiano e o seu comportamento na inflamação sistêmica crônica presente na caquexia associada ao câncer. Ainda é objetivo avaliar a possibilidade de relação entre a constituição celular, físico-química e principalmente o perfil inflamatório do sistema nervoso central e o nível de resposta sistêmica e local inflamatória na caquexia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não haverá alteração na conduta terapêutica, portanto o projeto não apresenta riscos ao paciente.

Benefícios: Melhor compreensão dos fatores inflamatórios e neurológicos que acometem a cachexia

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7733 **Fax:** (11)3091-8405 **E-mail:** cep@icb.usp.br



Continuação do Parecer: 2.395.463

Outros	cadastro_protocolo_pesquisa.pdf	06/10/2017 12:40:31	josé pinhata otoch	Aceito
Outros	DECLARACAO_SOBRE_BENEFICIOS.pdf	06/10/2017 12:38:49	josé pinhata otoch	Aceito
Outros	CARTA_DE_ANUENCIA.pdf	06/10/2017 12:33:34	josé pinhata otoch	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	06/10/2017 12:31:32	josé pinhata otoch	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

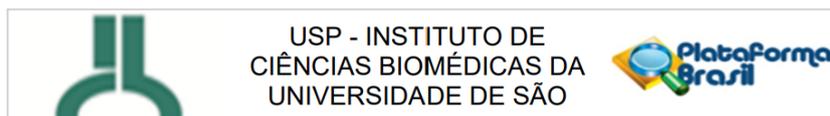
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 23 de Novembro de 2017

Assinado por:
Camila Squarzoni Dale
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7733 **Fax:** (11)3091-8405 **E-mail:** cep@icb.usp.br



Continuação do Parecer: 2.395.463

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa com objetivos relevantes e importantes para aprofundar o conhecimento da caquexia associada ao câncer. A pesquisa justifica-se pois, em pacientes com caquexia por câncer, ocorrem níveis elevados de citocinas pró inflamatórias. Portanto, é pertinente avaliar a possibilidade de relação entre a constituição celular, físico-química e principalmente o perfil inflamatório do sistema nervoso central e o nível de resposta sistêmica e local inflamatória na caquexia. Assim como o sangue permite a aferição de mediadores inflamatórios para a avaliação da resposta sistêmica, o líquido cefalorraquidiano é objeto de estudo para avaliar a condição do sistema nervoso central e possíveis interações.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os Termos de Apresentação Obrigatória foram anexados como a CARTA DE ANUÊNCIA DA DIRETORIA DE ENSINO E PESQUISA DO HOSPITAL REGIONAL DO BAIXO AMAZONAS DO PARÁ Dr. WALDEMAR PENNA e o TCLE, que se apresenta em linguagem adequada ao público a que se destina. O Cadastro do Protocolo de Pesquisa da FMUSP, coparticipe do projeto, foi também anexado.

Recomendações:

Solicitamos que sejam revistos os itens X e XI do TCLE. Eles são ambíguos. Assim solicitamos que seja revisto se haverá ou não retenção de amostra. Caso ocorra retenção de amostra favor manter o item X e remover o XI e caso ocorra descarte favor remover o item X e manter o XI

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto pendente até que sejam esclarecidos as questões no item recomendações.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado do CEP - ICB concorda com o relator que o projeto deve ser adequado pelo solicitante como sugerido no item "Recomendações".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TLCE.pdf	18/10/2017 20:44:49	josé pinhata otoch	Aceito
Outros	CAD_FMUSP.pdf	06/10/2017 12:43:34	josé pinhata otoch	Aceito

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7733 **Fax:** (11)3091-8405 **E-mail:** cep@icb.usp.br

Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO: ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM PACIENTES CAQUÉTICOS PORTADORES DE TUMORES MALIGNOS E A COMPOSIÇÃO DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO

O Sr (a) está sendo convidado (a) a participar do Projeto de Pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua participação neste estudo será de muita importância para nós. Caso o Sr (a) não queira participar ou desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo ao seu tratamento, ou seja, sua participação é espontânea. Estou ciente que: I) O estudo é de importância para que possamos investigar as possíveis causas e mecanismos (o que está acontecendo no seu corpo) da caquexia (que causa fraqueza, cansaço, perda de peso, de músculo, de apetite e de qualidade de vida), uma possível consequência de muitas doenças crônicas. Nosso objetivo é encontrar as causas dessa doença e possíveis tratamentos. II) Caso aceite participar da pesquisa, antes da sua internação no hospital, faremos algumas perguntas sobre a sua saúde e poderemos pedir para colher suas fezes (no horário em que você escolher evacuar), saliva e/ou urina. Durante a sua cirurgia, o cirurgião poderá retirar pequenos fragmentos (cerca de 1g, o equivalente ao tamanho de dois grãos de feijão) da gordura da sua barriga (logo abaixo da pele) e de dentro dela (gordura que fica próxima aos órgãos), além de um pedaço um pouco menor (do tamanho aproximado de um grão de feijão) do músculo da sua barriga, que será cortado durante a sua cirurgia (músculo reto abdominal). Se na sua cirurgia for necessária a retirada de uma pequena porção de fígado (para a análise microscópica), será retirado também um fragmento pequeno (cerca de 0,2g ou dois grãos de arroz) para o estudo. Se a cirurgia envolver a retirada de uma porção de intestino, parte do material que seria descartado poderá ser utilizada para a pesquisa. Se possível, será retirado um fragmento do seu tecido doente na presença do médico patologista, sem prejuízos para o andamento do seu tratamento. Todos esses procedimentos podem aumentar o tempo de cirurgia em não mais que 5 minutos. Não será necessário prolongar a anestesia, porque os procedimentos realizados para a coleta são os mesmos da cirurgia. A coleta de amostras para esse estudo não modifica, de forma alguma, os procedimentos padrão da cirurgia a qual você será submetido. Todo esse material servirá para entender melhor a doença chamada caquexia e, se você participar do estudo com exercício físico, o material também servirá para entender se o exercício melhora os sintomas da doença. III) Mesmo que você concorde com a doação de todas as amostras, o cirurgião e a equipe médica poderão coletar apenas algumas delas ou mesmo, nenhuma, conforme o Dr. Marcos Fraga Fortes na condução da cirurgia, para que não haja aumento de riscos ou qualquer prejuízo para você. IV) De acordo com os resultados dos exames laboratoriais e clínicos prévios à cirurgia, e após consentimento do médico, você poderá ser convidado a participar do Protocolo de Exercício Físico, que terá duração de seis semanas. Se você concordar em participar no estudo que envolve exercício físico, pediremos para realizar coletas de 20 mL de sangue (quantidade mostrada na seringa que o pesquisador está mostrando a você nesse momento), nas primeira, terceira e sexta semanas de treinamento, para que os parâmetros plasmáticos e séricos (substâncias no seu sangue) possam ser medidos (isso permite avaliar como você está reagindo ao exercício). A coleta será realizada por um profissional da saúde devidamente habilitado e ocorrerá durante a sessão de exercício, realizada no próprio hospital. Para aqueles que não participam do protocolo de exercício e com a cirurgia marcada para seis semanas após o contato com o pesquisador, serão realizadas três coletas de sangue (20mL) nas primeira, terceira e sexta semanas de acompanhamento. Para os pacientes em que a cirurgia está marcada para menos de seis semanas após o contato com o pesquisador, será realizada uma coleta de sangue (20 mL) previamente à cirurgia, sem interferir no procedimento cirúrgico, por um profissional da saúde devidamente habilitado, também no hospital, em condições de assepsia, ou seja, higiene total. O seu sangue será analisado para verificarmos o grau de inflamação, que é uma medida utilizada pela equipe de saúde para entender as mudanças que ocorrem em seu organismo devido à doença e à associação desta inflamação com o

que você sente. Se você também participar da pesquisa com exercício físico, avaliaremos se o protocolo causa melhora dos sintomas. A coleta de sangue pode causar algum desconforto e algumas vezes, aparecimento de hematoma (mancha roxa). V) Para participantes no protocolo de exercício: Antes da realização do exercício, um médico do hospital deverá avaliar sua condição física (através de verificação de seus batimentos do coração ao caminhar), para garantir sua segurança na realização do protocolo. Esse teste poderá ser repetido no fim do protocolo de exercício, para avaliar seu grau de adaptação ao treinamento (o quanto o treinamento melhorou sua condição cardiorrespiratória – funcionamento do seu coração e do seu pulmão). Esses testes não causam dor e não têm risco associado (teste submáximo). VI) Para participantes no protocolo de exercício: O protocolo de exercício será realizado 5 dias por semana, por até 6 semanas, nas dependências do hospital, na presença de profissionais de saúde. Você realizará a atividade física dentro de seus próprios limites de conforto e segurança, ou seja, o exercício é individual, conforme as condições de cada participante da pesquisa. Não há nenhuma meta de desempenho a ser atingida e você fará apenas o tempo de exercício que considerar confortável. O protocolo consiste em caminhar numa esteira (como as de academias de ginástica), sempre com a presença de um profissional de saúde ao seu lado. Os desconfortos que podem ocorrer são aqueles de uma caminhada normal: calor, cansaço e sudorese. Você pode desistir a qualquer momento, sem precisar fornecer qualquer explicação. VII) Você pode ser convidado a realizar outros exames pelo seu médico, dentro da conduta clínica regular, cujo resultado também poderá ser usado na pesquisa: a) No exame de sua composição corporal, o pesquisador avaliará o quanto você tem de músculo, gordura e osso no corpo e como a doença, ou o exercício físico, Dr. Marcos Fraga Fortes modificam esse parâmetro; nesse exame, você permanece deitado numa cama e não terá contato com o aparelho, que também não oferece qualquer risco à sua saúde. b) No exame de ressonância magnética cerebral, o pesquisador avaliará a morfologia (aspecto anatômico), funcionalidade (atividade) e constituição dos componentes do seu cérebro ou como o exercício físico modifica esses parâmetros (ou seja, se o seu cérebro mostra alguma alteração em consequência da doença e se o exercício – caso você esteja também fazendo esse protocolo- altera o que é afetado pela doença); Nesse exame você deverá colocar a cabeça dentro de um aparelho que emite som e por isso, pode causar algum desconforto pelo ruído, ou pela posição em que você se colocará. Esse exame não é perigoso e não causa qualquer mal à sua saúde. c) No exame de tomografia computadorizada do abdome, o médico avaliará o tamanho da lesão, invasão e comprometimento de estruturas adjacentes (se apenas um ou mais órgãos estão afetados pela doença) e se há gordura dentro do seu músculo. O exame não causa desconfortos e não é necessário o uso de contraste ou modificação de protocolo médico em função da participação na pesquisa. Esse exame não causa dor ou prejuízo à sua saúde. VIII) As coletas realizadas de tecidos, sangue e os exames de composição corporal servirão para o entendimento e estudo da doença e poderão ajudar na busca de tratamentos. A participação neste projeto não tem como objetivo, contudo, tratar sua doença, mas sim dar uma contribuição para que possamos definir as alterações que ocorrem no corpo devido a doença. IX) Você não terá qualquer despesa financeira com relação aos procedimentos médicos, clínicos e terapêuticos efetuados no estudo; X) Você não receberá compensação financeira por participação do estudo, pois os procedimentos do estudo serão realizados nas visitas que você já deverá fazer ao hospital, dentro da indicação médica. Se participar da pesquisa com exercício, poderá solicitar vale transporte para todos os dias que vier fazer a atividade no hospital. XI) Você tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação; XII) A desistência não causará nenhum prejuízo à sua saúde ou bem-estar físico. Não virá a interferir no atendimento ou tratamento médico, ou nos agendamentos necessários. XIII) Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas você deve concordar que sejam divulgados em publicações científicas (resumos de congressos, livros e artigos de periódicos científicos), desde que seus dados pessoais não sejam mencionados. Isso é importante para garantir que a pesquisa possa ser conhecida e possivelmente melhorar o diagnóstico, o atendimento e o tratamento de pacientes com a mesma doença que a sua. XIV) O material coletado poderá ser armazenado em soluções específicas para cada técnica, em freezer -80°, para manter a integridade das amostras e posterior utilização,

sempre dentro da mesma linha de pesquisa; Dr. Marcos Fraga Fortes XV) Após a utilização do material coletado para a pesquisa, caso haja material remanescente, que não será utilizado para pesquisa, este será incinerado (queimado) em local para descarte de material biológico humano; XVI) Caso você desejar, poderá, pessoalmente, tomar conhecimento dos resultados ao final desta pesquisa; () Desejo conhecer os resultados desta pesquisa. () Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa. XVII) Esse é um Projeto Temático, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo n. 12/50079-0), que será desenvolvido no Instituto de Ciências Biomédicas - ICB/USP/São Paulo, numa colaboração que envolve os seguintes pesquisadores: Giorgio Trinchieri e Romina Goldzmid (National Institute of Health - NIH); José Argilés e Silvia Busquets (University of Barcelona); Alessandro Laviano e Maurizio Muscaritoli (University La Sapienza UniRoma); Gerhard Püschel e Tiziana Magaria (University of Potsdam); Stephen Farmer (Boston University); Marília Cerqueira Leite Seelaender, Alison Colquhoun e José Cezar Rosa Neto (ICB/ USP); Paulo Sérgio Alcântara, Linda Maximiniano, Oscar Fujita, Claudio Campi e Emerson Muller (HU/ USP); José Pinhata Otoch e Geraldo Busatto Filho (FMUSP); Emerson Franchini (EEFE/ USP); Renata Wassermann (IME/ USP); Claudia Oller do Nascimento e Lila Missaie Oyama (UNIFESP); e Miguel Batista Junior (UMC – Universidade de Mogi das Cruzes). XVIII) A qualquer momento, você poderá entrar em contato com a Comitê de Ética em Experimentos com seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, ou o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário ou com o Comitê de Ética da Santa Casa de São Paulo, que são os órgãos que avaliam a realização de pesquisas com pessoas e garantem que a pesquisa a qual você participa seja de importância clínica e/ou científica e que está sendo conduzida de forma apropriada. O telefone, e-mail e endereço dessas comissões estão no fim desse documento, que será emitido em 2 vias, para que você tenha uma cópia. XIX) Caso você tenha, em algum momento, desconforto relacionado à sua doença (a participação na pesquisa só poderá causar desconforto adicional mínimo, relacionado à coleta de sangue adicional), você deverá entrar em contato, através do telefone fornecido ao final desse documento (Pronto-atendimento do HU, ou ambulatório da Coloproctologia da Santa Casa). Eu, (inserir o nome, profissão, residente e domiciliado na, telefone)

_____, portador da Cédula de identidade, RG _____, e inscrito no CPF/MF _____ nascido (a) em ____ / ____ / _____,

abaixo assinado (a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário (a) do estudo "Inflamação sistêmica em participante da pesquisas caquéticos com câncer: mecanismos e estratégias terapêuticas, uma abordagem da medicina translacional". "CONCORDO, APÓS CONVENIENTEMENTE ESCLARECIDO PELO PESQUISADOR E TER ENTENDIDO O QUE ME FOI EXPLICADO, EM PARTICIPAR DA PRESENTE PESQUISA". Santarém, _____ de _____ de 20__ Dr. Marcos Fraga Fortes () Participante da pesquisa _____ Testemunha 1:

_____, Nome / RG / Telefone

Testemunha 2: _____ Nome / RG / Telefone

Responsável

Médico:

_____, Dr. Marcos Fraga Fortes

Hospital Regional do Baixo Amazonas do Pará Dr. Waldemar Penna Tel 93 99123-8844 Responsável pelo Projeto: _____

Prof. Dr. José Pinhata Otoch Hospital Universitário USP Tel 11 3091-9291 / 11 3091-9489 Identificação do CEP-HU/USP: Endereço: Av. Prof. Lineu Preste, 2565 – Cidade Universitária – Butantã, São Paulo – SP, CEP: 05508-000, telefone: 3091-9457, e-mail: cep@hu.usp.br (funcionamento - 8h às 12h e das 14h às 17h) Identificação do CEESH-ICB/USP: Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - Cidade Universitária – Butantã, São Paulo – SP, CEP 05508-900, telefone: 3091-7733, e-mail: cep@icb.usp.br (funcionamento - 8h às 12h e das 14h às 17h) Pronto-atendimento do HU: Endereço: Av. Prof. Lineu Preste, 2565 – Cidade Universitária – Butantã, São Paulo – SP, CEP: 05508-000, telefone: 3091-9344 (funcionamento 24h) Ambulatório de Coproctologia do Hospital Santa Casa de São Paulo: Endereço: Pavilhão Conde de Lara, Rua Dr. Cesáreo Mota Junior, 112-Vila Buarque, São Paulo-SP, CEP 01221-020 (funcionamento das 8 às 13h)

Anexo C: Questionário de Qualidade de Vida QLQ-C30

PORTUGUESE



EORTC QLQ-C30 (version 3)

Gostaríamos de conhecer alguns pormenores sobre si e a sua saúde. Responda você mesmo/a, por favor, a todas as perguntas fazendo um círculo à volta do número que melhor se aplica ao seu caso. Não há respostas certas nem erradas. A informação fornecida é estritamente confidencial.

Escreva as iniciais do seu nome:

--	--	--	--	--

A data de nascimento (dia, mês, ano):

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

A data de hoje (dia, mês, ano):

31

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

	Não	Um pouco	Bastante	Muito
1. Custa-lhe fazer esforços mais violentos, por exemplo, carregar um saco de compras pesado ou uma mala?	1	2	3	4
2. Custa-lhe percorrer uma <u>grande</u> distância a pé?	1	2	3	4
3. Custa-lhe dar um <u>pequeno</u> passeio a pé, fora de casa?	1	2	3	4
4. Precisa de ficar na cama ou numa cadeira durante o dia?	1	2	3	4
5. Precisa que o/a ajudem a comer, a vestir-se, a lavar-se ou a ir à casa de banho?	1	2	3	4

Durante a última semana :

	Não	Um pouco	Bastante	Muito
6. Sentiu-se limitado/a no seu emprego ou no desempenho das suas actividades diárias?	1	2	3	4
7. Sentiu-se limitado/a na ocupação habitual dos seus tempos livres ou noutras actividades de lazer?	1	2	3	4
8. Teve falta de ar?	1	2	3	4
9. Teve dores?	1	2	3	4
10. Precisou de descansar?	1	2	3	4
11. Teve dificuldade em dormir?	1	2	3	4
12. Sentiu-se fraco/a?	1	2	3	4
13. Teve falta de apetite?	1	2	3	4
14. Teve enjoos?	1	2	3	4
15. Vomitou?	1	2	3	4

Por favor, passe à página seguinte

PORTUGUESE

Durante a última semana :	Não	Um pouco	Bastante	Muito
16. Teve prisão de ventre?	1	2	3	4
17. Teve diarreia?	1	2	3	4
18. Sentiu-se cansado/a?	1	2	3	4
19. As dores perturbaram as suas actividades diárias?	1	2	3	4
20. Teve dificuldade em concentrar-se, por exemplo, para ler o jornal ou ver televisão?	1	2	3	4
21. Sentiu-se tenso/a?	1	2	3	4
22. Teve preocupações?	1	2	3	4
23. Sentiu-se irritável?	1	2	3	4
24. Sentiu-se deprimido/a?	1	2	3	4
25. Teve dificuldade em lembrar-se das coisas?	1	2	3	4
26. O seu estado físico ou tratamento médico interferiram na sua vida <u>familiar</u> ?	1	2	3	4
27. O seu estado físico ou tratamento médico interferiram na sua actividade <u>social</u> ?	1	2	3	4
28. O seu estado físico ou tratamento médico causaram-lhe problemas de ordem financeira?	1	2	3	4

Nas perguntas que se seguem faça um círculo à volta do número, entre 1 e 7, que melhor se aplica ao seu caso

29. Como classificaria a sua saúde em geral durante a última semana?

1 2 3 4 5 6 7

Péssima Ótima

30. Como classificaria a sua qualidade de vida global durante a última semana?

1 2 3 4 5 6 7

Péssima Ótima

9 REFERÊNCIAS

1. Tisdale MJ. Molecular pathways leading to cancer cachexia. *Physiology*. 2005;20(5):340-8.
2. Tsoli M, Robertson G. Cancer cachexia: malignant inflammation tumorkines, and metabolic mayhem. *Trends Endocrinol Metab*. 2013;24(4):174-83.
3. Bitoux M-A Le, Stamenkovic I. Tumor-host interactions: The role of inflammation. *Histochem Cell Biol*. 2008;130(6):1079-90.
4. Matos-Neto EM de, Lima JDCC, Pereira WO de, Figuerêdo RG, Riccardi DM dos R, Radloff K, das Neves RX, Camargo RG, Maximiano LF, Tokeshi F, Otoch JP, Goldszmid R, Câmara NO, Trinchieri G, de Alcântara PS, Seelaender. Systemic inflammation in cachexia - is Tumor cytokine expression Profile the culprit? *Front Immunol*. 2015;6(629).
5. Instituto Nacional do Câncer (INCA). O que é câncer? [Internet] 14 jul. 2022. 2022 [acesso em: 2022 ago. 29]. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>.

6. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil [Internet]. 2022 [acesso em 2022 ago. 29]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>.
7. Freire PP, Fernandez GJ, de Moraes D, Cury SS, Dal Pai-Silva M, dos Reis PP, Rogatto SR, Carvalho RF. The expression landscape of cachexia-inducing factors in human cancers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2020;11(4):947-61.
8. Onuchic AC, Chammas R. Câncer e o microambiente tumoral. *Rev Med*. 2010;89(1):21-31.
9. Scott HR, McMillan DC, Forrest LM, Brown DJF, McArdle CS, Milroy R. The systemic inflammatory response, weight loss, performance status and survival in patients with inoperable non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2002;87(3):264-7.
10. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases - Elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014;27:16-25.
11. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.
12. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2548-56.

13. Doehner W, Anker SD. Cardiac cachexia in early literature: A review of research prior to Medline. *Int J Cardiol.* 2002;85(1):7-14.
14. von Haehling S, Anker SD. Prevalence, incidence and clinical impact of cachexia: facts and numbers - Update 2014. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2014;5(4):261-3.
15. Argilés JM, Olivan M, Busquets S, López-Soriano FJ. Optimal management of cancer anorexia-cachexia syndrome. *Cancer Manag Res.* 2010;2:27-38.
16. Gao D, Madi M, Ding C, Fok M, Steele T, Ford C, Steele T, Ford C, Hunter L, Bing C. Interleukin-1 β mediates macrophage-induced impairment of insulin signaling in human primary adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;307(3):E289-304.
17. Palus S, Springer J. Biomarkers for cancer cachexia: where do we stand? *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2020;11(6):1388-9.
18. Batista ML, Peres SB, McDonald ME, Alcantara PSM, Olivan M, Otoch JP, Farmer SR, Seelaender M. Adipose tissue inflammation and cancer cachexia: Possible role of nuclear transcription factors. *Cytokine.* 2012;57(1):9-16.
19. Ebadi M, Mazurak VC. Evidence and mechanisms of fat depletion in cancer. *Nutrients.* 2014;6(11):5280-97.

20. Atsumi T, Singh R, Sabharwal L, Bando H, Meng J, Arima Y, Yamada M, Harada M, Jiang JJ, Kamimura D, Ogura H, Hirano T, Murakami M. Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology. *Cancer Res.* 2014;74(1):8-14.
21. Silvério R. A. *Modulação da lipase de triacilglicerol do adipócito (ATGL) e da perilipina 1 contribui para o aumento da lipólise em pacientes caquéticos* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.
22. Argilés JM, Busquets S, Stemmler B, López-Soriano FJ. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(11):754-62.
23. Dev R, Wong A, Hui D, Bruera E. The evolving approach to management of cancer cachexia. *Oncology (Williston Park).* 2017;31(1):23-32.
24. Ryan AM, Power DG, Daly L, Cushen SJ, Ní Bhuachalla E, Prado CM. Cancer-associated malnutrition, cachexia and sarcopenia: The skeleton in the hospital closet 40 years later. *Proc Nutr Soc.* 2016;75(2):199-211.
25. Bye A, Wesseltoft-Rao N, Iversen PO, Skjegstad G, Holven KB, Ulven S, Hjermsstad MJ. Alterations in inflammatory biomarkers and energy intake in cancer cachexia: a prospective study in patients with inoperable pancreatic cancer. *Med Oncol.* 2016;33(6):54.

26. Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. Anti-inflammatory therapies in cancer cachexia. *Eur J Pharmacol*. 2011;668(Suppl. 1):S81-6.
27. Garófolo A, Petrilli AS. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. *Rev Nutr*. 2006;19(5):611-21.
28. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014;25(4):453-72.
29. Bendall LJ, Bradstock KF. G-CSF: From granulopoietic stimulant to bone marrow stem cell mobilizing agent. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014;25(4):355-67.
30. Johns N, Greig CA, Fearon KCH. Is tissue cross-talk important in cancer cachexia? *Crit Rev Oncog*. 2012;17(3):263-76.
31. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008;454(1):428-35.
32. Brigati C, Noonan DM, Albini A, Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: Friends or foes? *Clin Exp Metastasis*. 2002;19(3):247-58.
33. Koenen TB, Stienstra R, Van Tits LJ, Joosten LAB, Van Velzen JF, Hijmans A, Pol JA, van der Vliet JA, Netea MG, Tack CJ, Stalenhoef AF, de Graaf J. The inflammasome and caspase-1 activation: A new mechanism underlying increased inflammatory activity in human visceral adipose tissue. *Endocrinology*. 2011;152(10):3769-78.

34. Tazi A, Dantzer R, Crestani F, Le Moal M. Interleukin-1 induces conditioned taste aversion in rats: a possible explanation for its pituitary-adrenal stimulating activity. *Brain Res.* 1988;473(2):369-71.
35. Camargo RG, dos Reis Riccardi DM, Ribeiro HQT, Carnevali LC, de Matos-Neto EM, Enjiu L, Neves RX, Lima JD, Figuerêdo RG, de Alcântara PS, Maximiano L, Otoch J, Batista M Jr, Püschel G, Seelaender M. Nf-kbp65 and expression of its pro-inflammatory target genes are upregulated in the subcutaneous adipose tissue of cachectic cancer patients. *Nutrients.* 2015;7(6):4465-79.
36. Stubbins R, Bernicker EH, Quigley EMM. Cancer cachexia: A multifactorial disease that needs a multimodal approach. *Curr Opin Gastroenterol.* 2020;36(2):141-6.
37. van der Meij BS, Teleni L, McCarthy AL, Isenring EA. Cancer cachexia: an overview of diagnostic criteria and therapeutic approaches for the accredited practicing dietitian. *J Hum Nutr Diet.* 2021;34(1):243-54.
38. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, Jatoi A, Loprinzi C, MacDonald N, Mantovani G, Davis M, Muscaritoli M, Ottery F, Radbruch L, Ravasco P, Walsh D, Wilcock A, Kaasa S, Baracos VE. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol.* 2011;12(5):489-95.
39. Tan BHL, Fearon KCH. Cachexia: Prevalence and impact in medicine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11(4):400-7.

40. BDA The Association of UK Dietitians. What is a dietitian? [Internet]. 2020 [acesso em 2022 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.bda.uk.com/>
41. Nadjar A, Bluthé RM, May MJ, Dantzer R, Parnet P. Inactivation of the cerebral NFκB pathway inhibits interleukin-1β-induced sickness behavior and c-Fos expression in various brain nuclei. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30(8):1492-9.
42. Thaler JP, Choi SJ, Schwartz MW, Wisse BE. Hypothalamic inflammation and energy homeostasis: Resolving the paradox. *Front Neuroendocrinol*. 2010;31(1):79-84.
43. Blais V, Rivest S. Rôle de la réponse immunitaire innée dans le cerveau. *Medecine/Sciences*. 2003;19(10):981-7.
44. Hermann GE, Emch GS, Tovar CA, Rogers RC. c-Fos generation in the dorsal vagal complex after systemic endotoxin is not dependent on the vagus nerve. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280(149-1):289-99.
45. Gautron L, Layé S. Neurobiology of inflammation-associated anorexia. *Front Neurosci*. 2010;3:1-10.
46. Wong S, Pinkney J. Role of cytokines in regulating feeding behaviour. *Curr Drug Targets*. 2005;5(3):251-63.
47. Plata-Salamán CR. Central nervous system mechanisms contributing to the cachexia-anorexia syndrome. *Nutrition*. 2000;16(10):1009-12.

48. Langhans W, Savoldelli D, Weingarten S. Comparison of the feeding responses to bacterial lipopolysaccharide and interleukin-1 β . *Physiol Behav.* 1993;53(4):643-9.
49. Bretdibat JL, Bluthe RM, Kent S, Kelley KW, Dantzer R. Lipopolysaccharide and interleukin-1 depress food-motivated behavior in mice by a vagal-mediated mechanism. *Brain Behav Immun.* 1995;9(3):242-6.
50. Kent S, Bret-Dibat JL, Kelley KW, Dantzer R. Mechanisms of sickness-induced decreases in food-motivated behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 1996;20(1):171-5.
51. Yirmiya R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. *Brain Res.* 1996;711(1-2):163-74.
52. Aubert A, Goodall G, Dantzer R. Compared effects of cold ambient temperature and cytokines on macronutrient intake in rats. *Physiol Behav.* 1995;57(5):869-73.
53. Aubert A, Dantzer R. The taste of sickness: Lipopolysaccharide-induced finickiness in rats. *Physiol Behav.* 2005;84(3):437-44.
54. van Dam AM, Brouns M, Louisse S, Berkenbosch F. Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness? *Brain Res.* 1992;588(2):291-6.

55. Goehler LE, Erisir A, Gaykema RPA. Neural-immune interface in the rat area postrema. *Neuroscience*. 2006;140(4):1415-34.
56. Farrar WL, Kilian PL, Ruff MR, Hill JM, Pert CB. Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain. *J Immunol*. 1987;139(2):459-63.
57. Emmett T, Cunningham J, Wada E, Carter DB, Tracey DE, Battey JF, Souza EB De. In situ histochemical localization of type i interleukin-1 receptor messenger RNA in the central nervous system, pituitary, and adrenal gland of the mouse. *J Neurosci*. 1992;12(3):1101-14.
58. Ching S, Zhang H, Belevych N, He L, Lai W, Pu XA, Jaeger LB, Chen Q, Quan N. Endothelial-specific knockdown of interleukin-1 (IL-1) type 1 receptor differentially alters CNS responses to IL-1 depending on its route of administration. *J Neurosci*. 2007;27(39):10476-86.
59. Gosselin D, Rivest S. MyD88 signaling in brain endothelial cells is essential for the neuronal activity and glucocorticoid release during systemic inflammation. *Mol Psychiatry*. 2008;13(5):480-97.
60. Hoff P. *Tratado de oncologia*. Editores: Katz A, Chammas R, Filho VO, Novis YS. São Paulo: Atheneu; 2013.
61. Weiland TJ, Anthony-Harvey-Beavis D, Voudouris NJ, Kent S. Metabotropic glutamate receptors mediate lipopolysaccharide-induced fever and sickness behavior. *Brain Behav Immun*. 2006;20(3):233-45.

62. Ruud J, Blomqvist A. Identification of rat brainstem neuronal structures activated during cancer-induced anorexia. *J Comp Neurol.* 2007 Sep 20;504(3):275-86.
63. Ericsson A, Arias C, Sawchenko PE. Evidence for an intramedullary prostaglandin-dependent mechanism in the activation of stress-related neuroendocrine circuitry by intravenous interleukin-1. *J Neurosci.* 1997;17(18):7166-79.
64. Plata-Salamán CR, Sonti G, Borkoski JP, Wilson CD, French-Mullen JMH. Anorexia induced by chronic central administration of cytokines at estimated pathophysiological concentrations. *Physiol Behav.* 1996;60(3):867-75.
65. Layd S, Parnet P, Goujon E, Dantzer R. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine Transcripts in the Brain and Pituitary of Mice. *Mol Brain Res.* 1994;27:157-62.
66. Mingam R, Moranis A, Bluthé RM, De Smedt-Peyrusse V, Kelley KW, Guesnet P, Laviolle M, Dantzer R, Layé S. Uncoupling of interleukin-6 from its signalling pathway by dietary n-3-polyunsaturated fatty acid deprivation alters sickness behaviour in mice. *Eur J Neurosci.* 2008;28(9):1877-86.
67. Layé S, Gheusi G, Cremona S, Combe C, Kelley K, Dantzer R, Parnet P. Endogenous brain IL-1 mediates LPS-induced anorexia and hypothalamic cytokine expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;279(148-1):93-8.

-
68. Skipor J, Thiery JC. The choroid plexus - Cerebrospinal fluid system: undervaluated pathway of neuroendocrine signaling into the brain. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2008;68(3):414-28.
69. Leite AA, Honório SR, Torres GR, Errante PR. Análise do líquido cefalorraquidiano. revisão de literatura. *Atas Ciên Saúde*. 2016;4(3):1-24.
70. Proescholdt MG, Hutto B, Brady LS, Herkenham M. Studies of cerebrospinal fluid flow and penetration into brain following lateral ventricle and cisterna magna injections of the tracer [14C]inulin in rat. *Neuroscience*. 2000;95(2):577-92.
71. Oliveira TR de, Louzada LAL e, Jorge JC. Spinal anesthesia: pros and cons. *Rev Méd Minas Gerais*. 2015;25(Supl 4):28-35.
72. Kjeldsberg CR, Knight J. *Body fluids: laboratory examination of amniotic, cerebrospinal, seminal, serous & synovial fluids: laboratory examination of amniotic, cerebrospinal, seminal, serous and synovial fluids*. 1993. Cidade: Chigago: Amer Society of Clinical 300 p.
73. McMillan DC. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009;12(3):223-6.
74. Bauer JD, Ash S, Davidson WL, Hill JM, Brown T, Isenring EA, Reeves M Evidence based practice guidelines for the nutritional management of cancer cachexia. *Nutr Diet*. 2006;63(Suppl. 2):5-32.

-
75. Jensen GL, Mirtallo J, Compher C, Dhaliwal R, Forbes A, Figueredo Grijalba R, Hardy G, Kondrup J, Labadarios D, Nyulasi I, Castillo Pineda JC, Waitzberg D; International Consensus Guideline Committee. Adult starvation and disease-related malnutrition: A proposal for etiology-based diagnosis in the clinical practice setting from the international consensus guideline committee. *J Parenter Enter Nutr.* 2010;34(2):156-9.
76. Bullock AF, Greenley SL, McKenzie GAG, Paton LW, Johnson MJ. Relationship between markers of malnutrition and clinical outcomes in older adults with cancer: systematic review, narrative synthesis and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2020;74(11):1519-35.
77. Amano K, Maeda I, Morita T, Baba M, Miura T, Hama T, Mori I, Nakajima N, Nishi T, Sakurai H, Shimoyama S, Shinjo T, Shirayama H, Yamada T, Ono S, Ozawa T, Yamamoto R, Yamamoto N, Shishido H, Kinoshita H. C-reactive protein, symptoms and activity of daily living in patients with advanced cancer receiving palliative care. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(3):457-65.
78. Cerezo L. Diagnóstico del estado nutricional y su impacto en el tratamiento del cáncer. *Oncol.* 2005;28(3):23-8.
79. Silva MPN. Síndrome da anorexia-caquexia em portadores de câncer. *Rev Bras Cancerol.* 2006;52(1):59-77.

80. Neto NIP, Murari AS de P, Oyama LM, Otoch JP, Alcântara PSM, Tokeshi F, Figuerêdo RG, Alves MJ, Lima JDCC, Matos-Neto EM, Seelaender M, Oller do Nascimento CM. Peritumoural adipose tissue pro-inflammatory cytokines are associated with tumoural growth factors in cancer cachexia patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2018;9(6):1101-8.
81. Burfeind KG, Michaelis KA, Marks DL. The central role of hypothalamic inflammation in the acute illness response and cachexia. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;54:42-52.
82. Pongratz G, Straub RH. The sympathetic nervous response in inflammation. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(504):1-12.
83. Van Norren K, Dwarkasing JT, Witkamp RF. The role of hypothalamic inflammation, the hypothalamic-pituitary-Adrenal axis and serotonin in the cancer anorexia-cachexia syndrome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017;20(5):396-401.
84. Breit SN, Tsai VWW, Brown DA. Targeting Obesity and Cachexia: Identification of the GFRAL Receptor-MIC-1/GDF15 Pathway. *Trends Mol Med*. 2017;23(12):1065-7.
85. Burfeind KG, Xinxia Zhu, Peter R. Levasseur, Michaelis KA, Norgard MA, Marks DL. TRIF is a key inflammatory mediator of acute sickness behavior and cancer cachexia. *Brain Behav Immun*. 2018;73:364-74.

86. Burgos JR, Iresjö BM, Smedh U. MCG101-induced cancer anorexia-cachexia features altered expression of hypothalamic Nucb2 and Cartpt and increased plasma levels of cocaine-and amphetamine-regulated transcript peptides. *Oncol Rep.* 2016;35(4):2425-30.
87. Wajant H. The role of TNF in cancer. *Results Probl Cell Differ.* 2009;n.i.:1-15.
88. Harmey JH, Bouchier-Hayes D. Vascular endothelial growth factor (VEGF), a survival factor for tumour cells: Implications for anti-angiogenic therapy. *BioEssays.* 2002;24(3):280-3.