

Carolina de Quadros Camargo

**PARÂMETROS DE FUNCIONALIDADE DE CÉLULAS
MONONUCLEARES, DE ESTRESSE OXIDATIVO, PROTEÍNAS
DE FASE AGUDA E ESTADO NUTRICIONAL DE INDIVÍDUOS
PORTADORES DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS ANTES
DO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Nutrição
Orientador: Prof. Dr. Erasmo Benício
Santos de Moraes Trindade

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Camargo, Carolina de Quadros

Parâmetros de funcionalidade de células mononucleares, de estresse oxidativo, proteínas de fase aguda e estado nutricional de indivíduos portadores de neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico / Carolina de Quadros Camargo ; orientador, Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade - Florianópolis, SC, 2013.
127 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição.

Inclui referências

1. Nutrição. 2. Neoplasias Hematológicas. 3. Funcionalidade de Células Mononucleares. 4. Estresse Oxidativo. 5. Estado Nutricional. I. Trindade, Erasmo Benício Santos de Moraes. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

Dedico esta dissertação aos meus pais, Neilor Fermino Camargo e Celia Serpa de Quadros Camargo. Ao longo de minha vida incentivaram sempre a indagação e a busca pelo novo, com o estudo e a observação como ferramentas. Acima de tudo, valorizam e respeitam as minhas escolhas, facilitam meu crescimento e me dão forças.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Deus e a Vida com suas infinitas possibilidades;

Ao professor Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, por ter sido um excelente professor orientador, sua organização, seus conhecimentos e sua constante presença me deram muita segurança para que pudesse desempenhar todas as atividades da melhor maneira possível. Agradeço também, a preocupação e consideração que tem com todos os seus orientandos;

Ao professor Everson Araújo Nunes, pelos ensinamentos, pela dedicação para que esta dissertação fosse bem executada e por me incentivar aos constantes estudos e à necessidade de ir além, em busca das melhores opções;

À coordenação e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição pelo auxílio durante o desenvolvimento dessa dissertação e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos;

Aos profissionais do serviço de hematologia do HU-UFSC pela ajuda e atenção durante o desenvolvimento dessa pesquisa, assim como aos pacientes que gentilmente aceitaram participar desse estudo, tornando tudo isso possível;

Aos meu pais, Neilor e Celia, pelo amor e apoio, por me encorajarem a buscar aquilo que me faz feliz e por proporcionarem condições para que isso seja possível;

Ao meu irmão Henrique de Quadros Camargo, pelo cuidado, carinho, pelas risadas, pela parceria que temos;

Ao meu namorado Walter Marquezan Augusto, por acreditar em mim e me dar ânimo quando eu mais precisava, por ouvir pacientemente os resultados e as minhas considerações sobre eles, pelos momentos de estudo conjunto e pelos momentos de descontração, com direito a descoberta de dons culinários que não sabíamos que tínhamos;

Às minhas amigas e companheiras de apartamento, Ana Cláudia Mazzonetto, Rafaela Karen Fabri, Suellen Secchi Martinelli e Vanessa Mello Rodrigues. Obrigada por fazerem do nosso apartamento um lar, por alegrarem meus dias, pelo companheirismo que temos, pelo apoio que me deram nesses dois anos, pelas comidas da Rafa, pelos conselhos da Su, pelas piadas da Nessa, pelas ideias e inovações na Ni, tenho enorme admiração por todas vocês;

Às amigas que moram em Curitiba, Naiara Belmont Publio, Paola Tamara Silva Zakszewski, Evelyn Danielle Ló, Lorena Matioli, Ellery Regina Garbelini e Thaysa Maso, por sempre se manterem presentes, em forma de visitas, e-mails, telefonemas ou em pensamento, a amizade de vocês me faz bem e torna a vida mais leve e divertida. Agradeço também a Daniela Barbieri Hauschild que desde os tempos de HC tem sido uma grande amiga;

Às colegas de mestrado Paula Fernanda de Oliveira e Dayanne da Silva Borges, pela amizade e parceria que temos, tornando o desenvolvimento e a execução dos nossos projetos mais agradável e

tranquila. Às mestrandas Thayz Parizotto e Amanda Marreiro, pela ajuda nas análises e por sempre estarem disponíveis para nos auxiliar.

RESUMO

Neoplasias hematológicas são cânceres que se iniciam em tecidos produtores de células sanguíneas e no sistema linfático. São principalmente representadas por leucemias e linfomas, sendo que as primeiras podem ser divididas em aguda e crônica dependendo do tempo do desenvolvimento da doença e os segundos por linfoma de Hodgkin e Não-Hodgkin. Ambos os diagnósticos são caracterizados por células sanguíneas anormais que podem desempenhar funções alteradas. Algumas dessas funções celulares desempenham papéis importantes na defesa do organismo contra infecções e podem ser implicadas na investigação de intervenções que busquem melhorar a resposta desses indivíduos ao tratamento. Esse estudo teve como objetivo avaliar parâmetros de funcionalidade de células mononucleares de indivíduos portadores de neoplasias hematológicas (adesão, capacidade fagocítica, volume de vesículas catiônicas, produção de ânion superóxido), atividade da enzima catalase e peroxidação lipídica no plasma, proteínas de fase aguda e indicadores do estado nutricional. Amostras de sangue, dados clínicos e antropométricos foram coletados de dezesseis indivíduos com dezesseis anos ou mais portadores de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, sem terem iniciado o tratamento quimioterápico. Ensaios espectrofotométricos de adesão, capacidade fagocítica, volume de vesículas catiônicas e produção de ânion superóxido, foram realizados com as células mononucleares do sangue periférico dos participantes, atividade da catalase e peroxidação lipídica

com o plasma, albumina e proteína C-reativa (pCr) foram avaliados pelos métodos de vermelho de bromocresol e nefelometria, respectivamente e indicadores do estado nutricional por antropometria. O principal diagnóstico foi leucemia aguda (n=9). A mediana de IMC dos indivíduos indicou excesso de peso (25,6 kg/m²), os valores de albumina (3,20 g/dL), hematócrito (25,40%), hemoglobina (8,30 g/dL), hemácias (2,50 10⁶/mm³) e plaquetas (58000 unidades/mm³), também na mediana, foram menores que os valores de referência. A mediana da proteína C-reativa encontrou-se elevada (37,45 mg/L), também quando comparada aos valores de referência. Albumina sérica foi correlacionada inversamente com o IMC (r=-0,53), referente aos parâmetros de funcionalidade das mononucleares, a adesão celular e a produção de ânion superóxido foram maiores nas leucemias do que nos linfomas, enquanto a capacidade fagocítica e o volume de vesículas catiônicas foi menor, porém essas diferenças não foram significativas (p>0,05). A produção de ânion superóxido em neoplasias hematológicas não teve correlação com a peroxidação lipídica (r=0,26) e atividade da enzima catalase no plasma(r=0,13), entretanto foi encontrada forte correlação positiva entre essas duas últimas variáveis (r=0,75), volume de vesículas catiônicas também foi correlacionado positivamente com a capacidade fagocítica (r=0,42). Esses resultados indicam mudanças nas funcionalidade celulares dos indivíduos com neoplasias hematológicas e em variáveis do estresse oxidativo, com distinção entre os diagnósticos principais e conferem subsídios para realização de estudos futuros que visem avaliar a influência de intervenções nesses parâmetros.

Palavras-chave: Neoplasias Hematológicas. Capacidade Fagocítica. Ânion Superóxido. Catalase. Peroxidação Lipídica. Estado nutricional.

ABSTRACT

Hematological malignancies are cancers that begin in blood-forming tissues and in the lymphatic system. They are mainly represented by leukemias and lymphomas, whereas the first can be divided into acute and chronic depending on disease development and the latter into Hodgkin's lymphoma and Non-Hodgkin's lymphoma. Both diagnoses are characterized by abnormal blood cells that may have altered functions. Some of these cellular functions play important roles in host defense against infection and may be involved in the investigation of interventions that seek to improve the response to treatment of these individuals. This study aimed to evaluate functionality parameters of mononuclear cells from patients with hematological malignancies (adhesion, phagocytic capacity, volume of cationic vesicles, superoxide anion production), lipid peroxidation and catalase activity in the plasma of these individuals, acute phase proteins and indicators of nutritional status. Blood samples, anthropometric and clinical data were collected from sixteen individuals with sixteen or more years of age with hematologic malignancies treated at the University Hospital of Federal University of Santa Catarina, without having initiated chemotherapy. Spectrophotometric adhesion, phagocytic capacity, volume of cationic vesicles and superoxide anion production assays were performed with peripheral blood mononuclear cells of participants, lipid peroxidation and catalase activity with the plasma, albumin and C-reactive protein (CRP) were assessed by bromocresol red and nephelometry, respectively and indicators of nutritional status by anthropometry. The main

diagnosis was acute leukemia (n = 9), median body mass index (BMI) indicated excess body weight (25.6 kg/m²) among the individuals, the median values of albumin (3.20 g/dL), hematocrit (25.40%), hemoglobin (8.30 g/dL), red blood cells (2.50 10⁶/mm³) and platelets (58000 units/mm³) were lower than the reference values, median C-reactive protein was high (37.45 mg/L), also when compared to the reference value. Serum albumin was inversely correlated with BMI (r=-0.53); regarding functionality parameters of mononuclear cells, adhesion and superoxide anion production was higher in leukemias than in lymphomas, whereas phagocytic capacity and the volume of cationic vesicles was lower, but these differences were not significant (p>0.05). The production of superoxide anion in hematological malignancies had no correlation with lipid peroxidation (r=0.26) and catalase activity in plasma (r=0.13), however we found a strong positive correlation between these two variables (r=0.75), volume of cationic vesicles was also positively correlated with phagocytic capacity (r=0.42). These results indicate changes in cell function and oxidative stress variables in individuals with hematological malignancies, distinguishing between the main diagnoses and providing subsidies for future studies aiming to evaluate the influence of interventions on these parameters.

Keywords: Hematological Malignancies. Phagocytic Capacity. Superoxide anion. Catalase. Lipid peroxidation. Nutritional status.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Inflamação Relacionada ao Câncer.....	43
---------------------------------------------------------	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Termos usados para busca de artigos nas bases de dados.....	31
Quadro 2 - Variáveis, suas características e indicadores utilizados para o modelo de análise	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estimativa para 2012 de Leucemias e Linfoma Não-Hodgkin no Brasil e na Região Sul do Brasil.....	37
Tabela 2 - Número de casos incidentes no período de julho/2011 a junho/2012 de leucemias e linfomas atendidos no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CB: Circunferência do braço

CMB: Circunferência Muscular do Braço

DCT: Dobra cutânea tricípital

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

HIF1 α : Fator induzido por hipóxia 1 α

IFN: Interferon

IL: Interleucina

IMC: Índice de massa corporal

INCA: Instituto Nacional do Câncer

NF- κ B: Fator nuclear Kappa B

NK: *Natural Killer*

pCr: Proteína C-reativa

PIF: Fator Indutor de Proteólise

STAT3: Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3

TGF- β : Fator Transformador de Crescimento β

TNF: Fator de necrose tumoral

LA: Leucemia Aguda

LC: Leucemia Crônica

LMA: Leucemia Mielóide Aguda

LMC: Leucemia Mielóide Crônica

LLA: Leucemia Linfocítica Aguda

LLC: Leucemia Linfocítica Crônica

LH: Linfoma de Hodgkin

LNH: Linfoma Não-Hodgkin

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	27
1.1 OBJETIVOS.....	29
1.1.1 Objetivo Geral.....	29
1.1.2 Objetivos Específicos.....	29
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	31
2.1 NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS.....	32
2.1.1 Leucemias.....	32
2.1.1.2 Leucemia mieloide aguda.....	34
2.1.1.3 Leucemia linfocítica crônica.....	35
2.1.1.4 Leucemia mieloide crônica.....	35
2.1.2 Linfoma de Hodgkin.....	36
2.1.3 Linfoma Não-Hodgkin.....	36
2.2 INFLAMAÇÃO.....	38
2.3 CÉLULAS MONONUCLEARES E CÂNCER.....	44
2.4 FUNCIONALIDADE DAS CÉLULAS IMUNITÁRIAS.....	47
2.5 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	50
2.6 DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA.....	53
2.7 ESTADO NUTRICIONAL DO PACIENTE ONCOLÓGICO.....	54
3 MÉTODO.....	59
3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	59
3.2 AMOSTRA DO ESTUDO.....	59
3.3.1 Identificação dos indivíduos.....	61
3.3.2 Coleta de amostra sanguínea.....	62
3.3.3 Adesão Celular.....	63
3.3.4 Capacidade Fagocítica.....	63
3.3.5 Volume das vesículas Catiônicas.....	64
3.3.6 Produção de Ânion Superóxido	65
3.3.7 Atividade da enzima Catalase.....	66
3.3.8 Hidroperóxidos lipídicos.....	66
3.3.9 Quantificação de Proteínas do plasma.....	67

3.3.10	Quantificação de Proteína C-Reativa (pCr), albumina e hemograma.....	68
3.3.11	Análise Antropométrica.....	68
3.3.12	Indicadores do Estado Nutricional.....	69
3.4	ANÁLISE DOS DADOS.....	70
3.4.1	Variáveis do estudo.....	71
3.5	PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA	72
4	RESULTADOS.....	75
4.1	MANUSCRITO	75
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	109
	REFERÊNCIAS.....	111
	APÊNDICES.....	122
	Apêndice A – Formulário para Coleta de Dados.....	122
	Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	123
	Apêndice C - Nota de Imprensa.....	126

1 INTRODUÇÃO

Cancer é caracterizado pelo crescimento não controlado das células, essas células podem invadir tecidos e metastizar para locais distantes do organismo, causando morbidade e em alguns casos, morte (RUDDON, 2007). No caso das neoplasias hematológicas, o câncer se inicia nos tecidos produtores de células sanguíneas, os quais passam a produzir células anormais e com funções alteradas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013).

Desde o século XIX, estudos relacionam o câncer com a resposta inflamatória, sendo que células e mediadores inflamatórios são encontrados na maioria dos microambientes tumorais (GERMANO; ALLAVENA; MANTOVANI, 2008). A inflamação relacionada ao câncer está ligada a malignidade tumoral, proliferação, sobrevivência das células malignas, angiogênese e metástase (MANTOVANI, et al., 2008). Essa associação entre câncer e inflamação pode ser feita através de duas vias: extrínseca, na qual a inflamação precede o câncer e aumenta o risco do mesmo, e a íntinseca, onde alterações genéticas que conduzem ao desenvolvimento do câncer causam também um processo inflamatório. Ambas as vias promovem a ativação de fatores de transcrição nas células tumorais que desencadeiam a produção de mediadores inflamatórios e recrutam leucócitos, gerando o microambiente inflamatório relacionado ao câncer (MANTOVANI, et al., 2008).

As células mononucleares fazem parte dos leucócitos recrutados durante a inflamação relacionada ao câncer (BISWAS;

MANTOVANI, 2010), promovem a morte de patógenos através da liberação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e fagocitando os invasores, além disso realizam a apresentação de antígenos para células T, desencadeando uma defesa específica tanto para microorganismos como para células neoplásicas. Apesar dessas funções, essas células que podem atuar no local do tumor e na periferia, tem o potencial para contribuir tanto com o crescimento e expansão tumoral como para a defesa do organismo, isso depende da maneira como essas células foram ativadas, do tipo de fenótipo que adquirem e do ambiente criado pelo tumor (SIVEEN; KUTTAN, 2009; GINDERACHTER et al., 2006).

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) também podem exercer diferentes ações na proliferação ou sobrevivência das células, sendo que a produção de EROs e de enzimas antioxidantes estão alteradas em pacientes com neoplasias hematológicas (IRWIN et al, 2013). Quando não são neutralizadas pelas enzimas antioxidantes, as espécies reativas podem levar a formação de reações em cadeia com os ácidos graxos poliinsaturados da bicamada lipídica, chamada peroxidação lipídica (KARIHTALA; SOINI, 2007). E, embora o estresse oxidativo e produtos da peroxidação lipídica sejam importantes para a carcinogênese, células neoplásicas são sensíveis aos produtos da lipoperoxidação (NEGRE-SALVAYRE et al., 2010).

A produção de citocinas pró-inflamatórias no paciente com câncer, derivadas da inflamação, pode desencadear a caquexia, uma síndrome metabólica, acompanhada muitas vezes de anorexia, perda de peso e com conseqüente diminuição da capacidade funcional, afetando a

resposta imunitária e metabólica (BLUM et al., 2011). Não somente a inflamação, mas também outros fatores ligados ao tratamento podem afetar o estado nutricional desses indivíduos (BRASIL, 2009), sendo que a piora no estado nutricional pode levar a um pior prognóstico (MCMILLAN, 2009).

Considerando a intensa atuação das células imunitárias nas neoplasias hematológicas e a relevância de suas funções, bem como avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio e a atividade de enzimas antioxidantes, para o melhor conhecimento das neoplasias hematológicas e suas conseqüentes alterações nesses parâmetros sem a influência do tratamento, além da caracterização de indicadores do estado nutricional desses pacientes e a possível influência dos parâmetros mencionados nesses indicadores, propõe-se a realização desse estudo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar parâmetros de funcionalidade de células mononucleares, de estresse oxidativo, proteínas de fase aguda e indicadores do estado nutricional de indivíduos portadores de neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar nas células mononucleares parâmetros de funcionalidade celular (capacidade de adesão, capacidade

fagocítica, englobamento de vermelho neutro pelas vesículas de secreção e produção de ânion superóxido).

- Avaliar no plasma parâmetros de estresse oxidativo (atividade da enzima catalase e hidroperóxidos lipídicos).
- Avaliar proteínas de fase aguda (proteína C-reativa e albumina) e indicadores do estado nutricional.
- Correlacionar as variáveis e verificar sua distribuição entre leucemias e linfomas

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Para a realização da busca dos artigos utilizados nessa dissertação foram utilizadas as bases de dados SCOPUS e MEDLINE, refinando para artigos publicados a partir de 2008. As referências dos principais artigos encontrados foram revisadas em busca de artigos com objetivos de interesse. Os termos para pesquisa foram os apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 - Termos usados para busca de artigos nas bases de dados

Português	Inglês
Neoplasias Hematológicas	“Hematological Malignancies” OR “Hematologic Neoplasms”
Leucemia	Leukemia
Linfoma	Lymphoma
Inflamação	“Inflammation” OR “Inflammatory”
Células Mononucleares	“Mononuclear Cells” OR “PBMC”
Adesão celular	“Cell Adhesion” OR Adhesion
Capacidade Fagocítica	“Phagocytic Capacity” OR “Phagocytic Ability”
Vesículas Catiônicas	"Cationic Vesicles" OR Lysosomes
Ânion Superóxido	“Superoxide” OR “Superoxide Anion”
Peroxidação Lipídica	“Lipid Peroxidation” OR Peroxidation
Catalase	Catalase OR “Catalase Activity”
Estado Nutricional	“Nutritional Status”
Índice de Massa Corporal	“Body Mass Index”
Albumina	Albumin
Proteína C-Reativa	“C-Reactive Protein”

2.1 NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

2.1.1 Leucemias

Leucemia é um tipo de câncer que se inicia nos tecidos que produzem células sanguíneas, como a medula óssea, que promove a produção e liberação na corrente sanguínea de grande número de células neoplásicas. Em estados normais, as células tronco se diferenciam em células tronco mielóide ou células tronco linfóide. Células tronco mielóide são maturadas em mieloblastos que em sequência darão origem a eritrócitos, plaquetas e granulócitos (basófilos, neutrófilos e eosinófilos), células tronco linfóide são maturadas em linfoblastos que darão origem a outros tipos de leucócitos, linfócitos T, B e células Natural Killers (NK).

Já, em indivíduos com leucemia, a medula óssea produz leucócitos anormais, que permanecem por um tempo maior na corrente sanguínea e não exercem de maneira adequada as funções normais desse tipo de célula. As leucemias podem ser divididas em crônica e aguda, sendo a primeira com desenvolvimento mais lento, com piora gradual das funções celulares, enquanto a aguda é mais rápida com aumento rápido de células anormais na corrente sanguínea. Podem ser divididas também de acordo com o tipo de leucócito que afetam, sendo chamadas de linfocíticas, linfoblásticas ou linfóides se afetam células linfóides ou mielóides, mieloblásticas, mielogênicas, se afetam as células mielóides (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013). A seguir são apresentados os tipos mais comuns de leucemias e linfomas.

2.1.1.1 Leucemia linfocítica aguda

A leucemia linfocítica aguda (LLA) é uma desordem das células progenitoras linfóides que afeta tanto adultos quanto crianças. A patogenia desse tipo de câncer é desconhecida, sendo apenas poucos casos relacionados com predisposição genética, radiação ionizante e exposição a alguns fármacos. Ainda assim, existem alguns fatores que podem estar relacionados com o surgimento da doença: uso de álcool e/ou tabaco pelos pais, dieta materna, uso de vitaminas no pré-natal, exposição a pesticidas, solventes e a campos magnéticos de alta intensidade.

A imunofenotipagem dos linfoblastos é importante para estabelecer o diagnóstico e a linhagem celular afetada: células T, células B maduras ou fenótipos precursores de células B. Para essa doença o prognóstico piora com o aumento da idade, sendo a contagem de leucócitos também uma variável de prognóstico. Maiores contagens estão relacionadas com pior prognóstico (PUI; ROBISON; LOOK, 2008) (Leucócitos > 10.000/ul) (GAYNOR et al., 1988), especialmente no que se refere a paciente com leucemia de precursores das células B (PUI; ROBISON; LOOK, 2008). A taxa de cura para crianças com LLA é maior que 80%, para adultos, essa taxa é menor que 40% (PUI; JEHA, 2007).

O tratamento para leucemia linfocítica aguda consiste normalmente de uma fase de indução a remissão, uma fase de consolidação da remissão e uma terapia de continuação para eliminar doença residual (PUI; ROBISON; LOOK, 2008). A maioria dos

quimioterápicos usados no tratamento da LLA tem como alvo o DNA ou inibem a síntese de ácido nucleico, alguns bloqueiam a síntese de proteínas hidrolisando aminoácidos essenciais para o crescimento da células neoplásicas ou interferindo no mecanismo de mitose, devido a sua falta de especificidade esses fármacos podem produzir efeitos adversos em outros tecidos (PUI; JEHA, 2007).

2.1.1.2 Leucemia mielóide aguda

É o tipo mais comum de leucemia aguda em adultos. Na Leucemia mielóide aguda (LMA), as células tronco mielóide apresentam proliferação anormal de leucócitos imaturos denominados mieloblastos e menor taxa de auto-destruição podendo originar também eritrócitos e plaquetas anormais. Ocorre um aumento de células imaturas no sangue, que não exercem suas funções adequadamente e sobrevivem por mais tempo que as células normais, podendo causar, dentre outros sintomas, anemia, infecções recorrentes e sangramentos (McKENZIE, 2005). Alguns fatores de risco para o desenvolvimento desse tipo de leucemia são: tabaco, tratamento prévio com quimioterápicos ou radioterapia, desordens sanguíneas como síndrome mielodisplásica.

A escolha do tratamento quimioterápico pra LMA é influenciado pela idade do paciente, o tratamento consiste, na maioria dos casos, de administração de combinação de quimioterápicos, sendo o tratamento dividido em duas fases: indução da remissão e pós-remissão, para manutenção (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013),

considerando que a fase de indução da remissão leva a remissão completa na maioria dos pacientes (CASSILETH et al., 1992).

2.1.1.3 Leucemia linfocítica crônica

Esse tipo de Leucemia afeta principalmente indivíduos mais velhos, sendo rara em indivíduos com menos de 50 anos (DIGHIERO; HAMBLIN, 2008). A leucemia linfocítica crônica (LLC) é caracterizada por acúmulo na corrente sanguínea, medula óssea e nos tecidos linfáticos de linfócitos maduros morfológicamente porém imaturos no quesito imunológico (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013). Pouco se sabe sobre a fisiopatologia dessa leucemia, sendo que as células neoplásicas são inertes *in vitro*. O prognóstico difere amplamente, existindo casos em que não há necessidade de tratamento e outros que a doença é mais agressiva e o tratamento deve ser imediato. A LLC não apresenta sintomas característicos, sendo normalmente diagnosticada em um exame de rotina e o tratamento padrão desse tipo de câncer consiste em avaliações contínuas até que ocorra maior progressão da doença e então o tratamento farmacológico é iniciado. Não foi possível ligar a incidência de LLC com a exposição a radiação ou a substâncias químicas (DIGHIERO; HAMBLIN, 2008).

2.1.1.4 Leucemia mielóide crônica

Desordem maligna de células tronco hematopoiéticas, que resulta em aumento de células mielóides, eritrócitos e plaquetas, além de

hiperplasia de medula óssea (SAWYERS, 1999). A doença apresenta número elevado de células progenitoras, sendo as células neoplásicas quiescentes e relativamente resistentes ao tratamento quimioterápico padrão (GOLDMAN; MELO, 2003).

Os sintomas mais comuns são fadiga, anorexia e perda de peso embora 40% dos pacientes sejam assintomáticos (SAWYERS, 1999). Esse tipo de leucemia é dividido em 3 fases: crônica, acelerada e blástica, dependendo do número de blastos encontrados no sangue e na medula óssea. O tratamento é específico para cada fase, incluindo quimioterapia, transplante de células tronco e esplenectomia (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013).

2.1.2 Linfoma de Hodgkin

Linfoma de Hodgkin, neoplasia que se desenvolve no sistema linfático, é considerada uma das síndromes linfoproliferativas mais comuns em jovens e uma das neoplasias com melhor taxa de cura. Um dos marcadores de linfoma de Hodgkin é a presença de células Reed-Sternberg no tecido tumoral (CRUZ-MERINO et al., 2012), que são linfócitos grandes, anormais e que podem conter mais de um núcleo. Opções de tratamento para esse tipo de linfoma incluem quimioterapia e/ou radioterapia (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013).

2.1.3 Linfoma Não-Hodgkin

Linfomas Não-Hodgkin representam um grupo heterogêneo de doenças malignas do sistema linfático. Igualmente a outros tipos de câncer, esses tipos de linfomas surgem de subseqüentes mutações genéticas que levam ao crescimento das células neoplásicas (NOGAI; DORKEN; LENZ, 2011). Dependendo do estágio em que a doença se encontra, é tratada rotineiramente com radioterapia e/ou quimioterapia.

A taxa de sobrevivência em 5 anos de pacientes com diagnóstico de linfoma Não-Hodgkin é de 50% a 60% (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013).

A Tabela 1, refere-se a estimativa para 2012 de leucemias e linfoma Não-Hodgkin no Brasil e na Região Sul do país. Os casos de linfoma do tipo Hodgkin são considerados nessa estimativa como “outras localizações” não sendo possível estimar o número de casos no país e na região destacada.

Tabela 1 - Estimativa para 2012 de Leucemias e Linfoma Não-Hodgkin no Brasil e na Região Sul do Brasil.

Estimativa 2012: Brasil	Homens	Mulheres
	(casos/taxa bruta)	(casos/taxa bruta)
Linfoma Não-Hodgkin	5190/5,4	4450/4,44
Leucemias	4570/4,76	3940/3,94
Estimativa 2012: Região		
Sul		
Linfoma Não-Hodgkin	900/6,52	700/4,85
Leucemias	830/5,98	690/4,73

Fonte: BRASIL, 2011.

2.2 INFLAMAÇÃO

A resposta inflamatória é uma reação a agentes microbianos, químicos ou físicos que resulta no influxo de leucócitos circulantes, células de tecido conjuntivo e constituintes extracelulares ao tecido afetado (SCHOTTENFELD; BEEBE-DIMMER, 2006). Ao ocorrer lesão tecidual, uma rede de sinais químicos se inicia e mantém uma resposta direcionada a restabelecer o tecido atingido com a ativação e migração de leucócitos para os locais lesionados. As quimiocinas (citocinas quimiotáticas) recrutam células efetoras e ditam a evolução natural da resposta inflamatória. O processo inflamatório normalmente é auto-limitado, porque a produção de citocinas anti-inflamatórias segue a produção das citocinas pró-inflamatórias, entretanto, disregulação de qualquer fator (persistência de fatores de iniciação ou a falência de mecanismos necessários para a resolução da resposta inflamatória) pode conduzir a anormalidades e por fim a patogênese (COUSSENS; WERB, 2002).

2.2.1 Inflamação relacionada ao câncer

Em 1863, Virchow hipotetizou que neoplasias ocorriam em locais de inflamação crônica (SCHOTTENFELD; BEEBE-DIMMER, 2006). Desde então, a relação entre inflamação, imunidade inata e câncer tornou-se mais amplamente aceita (COUSSENS; WERB, 2002).

As características da inflamação relacionada ao câncer incluem a presença de células inflamatórias e mediadores inflamatórios

(quimiocinas, citocinas e prostaglandinas) no microambiente da maioria dos tumores, independente dos fatores que o desencadearam. A conexão entre inflamação e câncer é constituída de dois percursos: uma via intrínseca, desencadeada por alterações genéticas que causam a inflamação e o câncer; e uma via extrínseca, desencadeada por condições inflamatórias que aumentam o risco de câncer (MANTOVANI et al., 2008).

A via intrínseca, impulsionada por eventos genéticos que causam a neoplasia, inclui a ativação de vários tipos de oncogenes por mutação, rearranjo cromossômico ou amplificação e a inativação de genes supressores de tumores (MANTOVANI et al., 2008). Células que são transformadas dessa maneira produzem mediadores inflamatórios, gerando um microambiente inflamatório, mesmo em tumores que não estão relacionados epidemiologicamente a inflamação (BALKWILL; MANTOVANI, 2012).

Membros da família RAS são os oncogenes que mais frequentemente sofrem mutação nos cânceres (MANTOVANI et al., 2008), tem como função normal a codificação de proteínas que transmitem sinais de receptores de fatores de crescimento, no entanto, quando mutados, passam a não precisar mais da ativação dos receptores e trasmitem sinais estimulatórios continuamente (BALESTIERI, 2006). Outro oncogene, MYC, codifica um fator de transcrição que é superexpresso em muitos tumores (MANTOVANI et al., 2008), a produção de fatores de transcrição MYC e suas concentrações são mantidas altas mesmo sem a ativação por fatores de crescimento.

Já a inativação de antioncogenes, ou genes supressores de tumores, causa redução na inibição da proliferação celular, favorecendo o surgimento de tumores. O principal deles é o antioncogene p53, inibe o crescimento de novos vasos e está associado a indução de apoptose, quando inativado diminui as chances de células modificadas geneticamente sofrerem apoptose (BALESTIERI, 2006). Embora existam vários tipos de oncogenes todos coordenam programas de transcrição inflamatória que parecem ter aspectos em comum: uma ligação com a angiogênese e a recruta de leucócitos, mostrando que oncogenes promovem a formação de um microambiente tecidual promotor de tumor (a via intrínseca) (MANTOVANI et al., 2008).

Na via extrínseca condições inflamatórias ou infecciosas aumentam o risco de desenvolvimento de câncer em certos locais (MANTOVANI et al., 2008). Se uma infecção é controlada eficientemente, então, a resposta inflamatória é finalizada sem perturbação no crescimento tecidual. Quando as infecções se tornam repetidas, podem resultar em perda tecidual e uma resposta inflamatória prolongada na tentativa de restaurar essa perda, podendo levar ao crescimento anormal das células (BEN-NERIAH; KARIN, 2011). Inflamações crônicas persistentes podem aumentar o risco de câncer e em alguns casos o próprio agente infeccioso pode ter um papel na carcinogênese (TANNO; MATSUI, 2011).

As duas vias (intrínseca e extrínseca) resultam na ativação de fatores de transcrição, principalmente o fator nuclear kappa B (NF- κ B),

o transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT 3) e o fator induzido por hipóxia 1α (HIF1 α) (MANTOVANI et al., 2008).

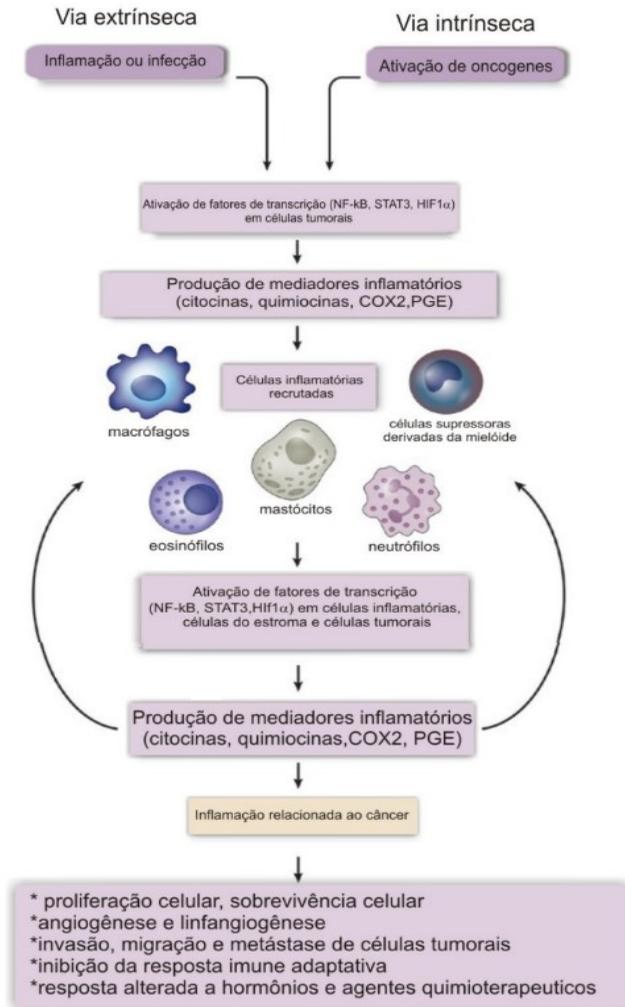
NF- κ B tem sido identificado como importante promotor tumoral endógeno, pode ser ativado como resultado de alterações genéticas (amplificação, mutação, deleção) nas células tumorais e nas células inflamatórias, ativa a expressão de genes que codificam citocinas inflamatórias, moléculas de adesão, enzimas da via de síntese de prostaglandinas e fatores angiogênicos. Em células tumorais, o NF- κ B pode promover a sobrevivência celular, induzindo a expressão de genes antiapoptóticos, está envolvido também, na iniciação e progressão tumoral em tecidos nos quais a inflamação relacionada ao câncer tipicamente ocorre.

Assim como o NF- κ B, STAT3 é ativado tanto em células tumorais como em células imunitárias (MANTOVANI et al., 2008) e controla a expressão de um repertório similar de genes antiapoptóticos. Ambos podem interferir com a síntese do supressor tumoral p53 e atenuar a vigilância genômica mediada por ele (BEN-NERIAH; KARIN, 2011). A ativação de STAT3 em células tumorais aparentemente aumenta a capacidade de tumores de sobreviverem ao sistema imunitário, através da inibição da maturação das células dendríticas e da supressão da resposta imunitária (MANTOVANI et al., 2008).

Esses fatores de transcrição recrutam e ativam leucócitos, as citocinas produzidas por essas células ativam os mesmos fatores de transcrição nas células inflamatórias, células do estroma e células

tumorais, assim, mais mediadores inflamatórios são produzidos e desencadeam o surgimento do microambiente inflamatório ligado ao câncer (MANTOVANI et al., 2008), como demonstrado na Figura 1.

Figura 1: Inflamação relacionada ao câncer



Adaptado de Mantovani et al., 2008

2.3 CÉLULAS MONONUCLEARES E CÂNCER

Células mononucleares são células imunitárias presentes no sangue periférico que se desenvolvem a partir de uma célula progenitora mielóide na medula óssea. Dá origem inicialmente aos monoblastos, pró-monócitos e monócitos, sequencialmente, essas células são então liberadas na corrente sanguínea. Monócitos migram do sangue para os ossos (osteoclastos), alvéolos, sistema nervoso central (microglias), tecidos conjuntivo (histiócitos), trato gastrointestinal, fígado (células Kupffer), baço, peritônio e demais tecidos (MOSSER, D.M.; EDWARDS, 2010) onde sofrem diferenciação transformando-se em macrófagos residentes (SIVEEN; KUTTAN, 2009) e células dendríticas (GINDERACHTER et al., 2006).

Macrófagos ao chegarem em lugares lesionados ou infeccionados produzem citocinas, quimiocinas, recrutam demais células imunitárias e regulam suas ações, além de promoverem o reparo tecidual. Matam patógenos através da produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (SIVEEN; KUTTAN, 2009), fagocitose (GINDERACHTER et al., 2006), apresentam os antígenos para células T (SIVEEN; KUTTAN, 2009), promovem o desenvolvimento de linfócitos específicos para agressores, assim como para células neoplásicas (GINDERACHTER et al., 2006). Da mesma maneira, as células dendríticas tem capacidade fagocítica, apresentam antígenos, além de possuírem efeitos inibitórios de tumores (JUBINSKY; DICKENS; SHORT, 2008).

Com relação a neoplasias e células mononucleares, as células neoplásicas podem se modificar geneticamente ou criar ambiente tolerante e imunossuprimido de modo que possam escapar da destruição pelo sistema imunitário, sendo que as células mononucleares fagocíticas (monócitos e macrófagos) estão implicadas em cada um desses aspectos, funcionando tanto no local do tumor como na periferia, podendo contribuir para progressão tumoral ou para sua destruição (GINDERACHTER et al., 2006).

Como visto anteriormente, fagócitos mononucleares estão associados com a inflamação relacionada ao câncer (BISWAS; MANTOVANI, 2010). Macrófagos podem ser “classicamente” ativados ou “alternativamente ativados”, chamados de M1 ou M2, respectivamente (GINDERACHTER et al., 2006). Fragmentos de bactérias como LPS e IFN-gama, polarizam os macrófagos para um fenótipo M1, enquanto a polarização para fenótipo M2 está associada como uma resposta a citocina IL-4 (BISWAS; MANTOVANI, 2010). Quando associados a tumores os macrófagos possuem uma gama de funções que afetam os tecidos neoplásicos: angiogênese, vascularização, formação de estroma, aumento ou inibição do crescimento de células tumorais, e essas funções estão relacionadas com o tipo de fenótipo que adquirem (SIVEEN; KUTTAN, 2009).

Macrófagos M1 produzem altas concentrações de IL-12, IL-23, baixas concentrações de IL-10, exercem atividades anti-proliferativas e citotóxicas, resultando parcialmente da sua habilidade de secretar espécies reativas de oxigênio, nitrogênio, como peroxinitrito, peróxido

de hidrogênio e superóxido, além de citocinas pró-inflamatórias TNF, IL-1 e IL-6 (GINDERACHTER et al., 2006), possuem boa capacidade de apresentar antígenos (SIVEEN; KUTTAN, 2009) e são considerados anti-tumorais (LAOUI et al., 2011; SIVEEN; KUTTAN, 2009; BISWAS; MANTOVANI, 2010). A inflamação gerada por essas células pode ser benéfica quando for de curta duração, exacerbada pode gerar danos teciduais e ao DNA, resultando em resposta anti-inflamatória. A inibição do desenvolvimento de macrófagos M1 é feita por citocinas do tipo Th2 IL-4, IL-13, IL-10 e TGF- β gerando propriedades anti-inflamatórias nos macrófagos (GINDERACHTER et al., 2006).

Macrófagos com fenótipo M2 demonstram maior capacidade fagocítica (BISWAS; MANTOVANI, 2010), pouca capacidade de apresentar antígenos (SIVEEN; KUTTAN, 2009), auxiliam na eliminação de parasitas, atenuam a inflamação, promovem remodelação tecidual, progressão tumoral e possuem funções imunoregulatórias (BISWAS; MANTOVANI, 2010). As variáveis que definem como os fagócitos mononucleares afetam as neoplasias são: tipo e idade do tumor, maturação e estágio de ativação de macrófagos, além da presença de outras células imunitárias no tumor. Neoplasias em que foi demonstrado que fagócitos mononucleares promoveram o crescimento tumoral e aumentaram a possibilidade de metástase são: mama, endometrial, cervical, bexiga, próstata, pulmão e linfoma. Já, os efeitos antitumorais de fagócitos mononucleares podem ser diretos (lise tumoral, fagocitose mediada por contato) ou ser resultado do

recrutamento e ativação de outras células, como NK e linfócitos (JUBINSKY; DICKENS; SHORT, 2008).

As células cancerígenas, por outro lado, são selecionadas pela sua capacidade de inibir a fagocitose, para que o tumor seja protegido da fagocitose por macrófagos. Calreticulina é o sinal pró-fagocítico dominante em vários tipos de câncer, enquanto altas concentrações de CD47 inibem a fagocitose, interagindo com receptores em macrófagos (LAOUI et al., 2011). Apesar do fenótipo M2 ser prevalente em tumores, as células neoplásicas podem escapar da fagocitose dessas células (BISWAS; MANTOVANI, 2010).

2.4 FUNCIONALIDADE DAS CÉLULAS IMUNITÁRIAS

Para a sobrevivência celular é necessário obter nutrientes do meio extracelular, com essa finalidade algumas substâncias atravessam a membrana celular por difusão e por transporte ativo, já, partículas muito grandes entram na células através de endocitose. As principais formas de endocitose são a pinocitose e a fagocitose, pinocitose refere-se a ingestão de partículas menores contendo líquido extracelular, enquanto a fagocitose é a ingestão de partículas maiores como bactérias, células e pedaços de tecidos. Somente alguns tipos celulares realizam a fagocitose, destacando-se os macrófagos e alguns outros leucócitos. A fagocitose pode ocorrer quando a partícula que vai ser fagocitada se fixa a receptores na superfície de fagócitos ou pode ser mediada por anticorpos, como é o caso de bactérias. Após a formação da vesícula

fagocítica no interior da célula, lisosomos se prendem a essa vesícula liberando hidrolases ácidas em seu interior formando então a vesícula digestiva, onde as proteínas, carboidratos e lipídeos são hidrolisados (GUYTON; HALL, 1997).

Células fagocíticas são capazes de englobar e digerir outras células que estão sofrendo degeneração, no caso dos macrófagos, adquirem a habilidade de fagocitar durante a diferenciação celular. Neutrófilos e células dendríticas fagocitam, assim como os macrófagos, patógenos invasores, partículas, células em apoptose e debris de células, resultantes de infecções, inflamações, contribuindo para resolução da inflamação e regeneração tecidual (MATARRESE et al., 2008). Macrófagos possuem papel fundamental no reconhecimento e eliminação de células estranhas, velhas e danificadas, sendo que a fagocitose mediada por macrófagos é negativamente regulada via receptor SIRPa ligado a CD74. A molécula pentaspanin CD47, conhecida também como proteína associada a integrina (IAP), está associada com a inibição da fagocitose por macrófagos, um exemplo é que eritrócitos quando envelhecem perdem a expressão de CD47, indicando que esse pode ser um mecanismo pelo qual as células são removidas da circulação.

Os macrófagos patrulham o ambiente hematopoiético em busca de células alteradas e a fagocitose efetiva de células alteradas possivelmente malignas proveria uma potente vigilância imunitária, para leucemias mielóides, a atividade fagocítica de macrófagos é um mediador importante na vigilância antitumoral. O nível de expressão

dessa proteína, CD47, está correlacionado com a habilidade das células neoplásicas de escaparem da fagocitose, sendo bem expressa em leucemias mielóides (células tronco e progenitoras da leucemia mielóide crônica durante a crise blástica e leucemia mielóide aguda) implicando os macrófagos na vigilância imunitária de células hematopoiéticas e leucemias. O motivo pelo qual as neoplasias onco-hematológicas necessitam de uma proteção adicional contra a fagocitose pode ser devido ao já citado ambiente pró-inflamatório criado pelo câncer, o qual pode aumentar o risco de fagocitose pelo aumento da atividade de macrófagos e dos níveis de opsoninas. Um segundo possível motivo é as células neoplásicas serem mais suscetíveis a fagocitose, devido a expressão de ligante pró-fagocíticos, sendo necessária uma seleção de células neoplásicas com maior expressão de CD47 para compensar (JAISWAL, et al., 2010).

Entretanto, funções similares a fagocitose são observadas também em células tumorais, que podem fagocitar partículas inertes e células mortas. Foram identificadas em células tumorais, incluindo em linfomas malignos, comportamentos considerados canibalistas. O comportamento canibalista de células tumorais é uma característica maligna sendo proposto como um marcador diagnóstico de malignidade. Isso é devido ao fato que o maior canibalismo, ou seja capacidade fagocítica de células tumorais está associado com sua capacidade de invasão de tecidos, considerando que a habilidade de metastatizar e invadir tecidos está ligada com a capacidade da célula de “se movimentar” e migrar, atravessando as barreiras celular e extracelular. O

canibalismo também pode representar uma forma de sobrevivência, pois, em condições adversas, as células tumorais podem internalizar outras células tumorais que estão morrendo, assim como células sem sinais detectáveis de degeneração. O canibalismo de células tumorais podem ser considerado também um mecanismo para “escapar” da vigilância imunitária anti-tumoral, visto que podem fagocitar, dentre outras células, linfócitos TCD8+, que poderiam matar as células neoplásicas (MATARRESE et al, 2008).

Além da fagocitose, células mononucleares exercem outras funções na proteção do organismo contra tumores, produzem agentes antitumorais, como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio entre outros.

2.5 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A exposição das células a altos níveis de oxigênio desencadeia a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais podem reagir com os fosfolipídeos de membrana (ULLERY; MARNETT, 2012). As fontes de oxidação podem ser exógenas e ambientais como radiação ionizante, substâncias químicas e raios UVA e podem também ser caracterizadas como fontes endógenas que tem como origem a sinalização celular, processos metabólicos ou a inflamação. Com relação a produção endógena, a capacidade fagocítica de macrófagos utiliza oxidantes e enzimas para degradar o intruso (KRYSTON et al., 2011), fagócitos podem produzir ânion superóxido pela redução monovalente

do oxigênio (ZIECH et al., 2010). As EROs formadas pelos macrófagos, interagem com as moléculas biológicas do agressor, interrompendo a síntese normal e reparo do DNA, essa interrupção está associada com a inibição/inativação de proteínas antioxidantes (KRYSTON et al., 2011) e o estresse oxidativo está associado com apoptose e com processos danosos para as células (KINNUNEN; KAARNIRANTA; MAHALKA, 2012).

A composição fundamental das membranas celulares consiste numa bicama lipídica, abrangendo proteínas de membrana (KINNUNEN; KAARNIRANTA; MAHALKA, 2012). A membrana celular contém ácidos graxos insaturados, sendo muitos deles poliinsaturados e logo, mais susceptíveis a oxidação quando em contato com EROs (KARIHTALA; SOINI, 2007).

As oxidações dos lipídeos de membrana, mais especificamente dos ácidos graxos poliinsaturados podem ser enzimáticas e não enzimáticas. A oxidação enzimática é através da lipooxigenase e da cicloxigenase, resultando em eicosanóides. A oxidação não enzimática é dada através da exposição dos fosfolipídeos de membrana a radicais livres como: radicais hidroxila, peroxil, peroxinitrito (ULLERY; MARNETT, 2012). Com a oxidação não enzimática, ocorre a formação de reações em cadeia de radicais livres com os ácidos graxos poliinsaturados da bicamada lipídica, chamada peroxidação lipídica (KARIHTALA; SOINI, 2007).

Os mecanismos propostos para a peroxidação lipídica não enzimática ocorre em 3 fases: Iniciação, que é a retirada de um radical H

de uma cadeia lipídica para formar um radical lipídico, um iniciador é requerido, sendo que a formação de radicais lipídicos é favorável quando o lipídio é um AGPI porque o radical resultante é estabilizado por ressonância, isto é, são melhores substratos para a formação de um radical lipídico relativamente estável. Propagação: o radical lipídico reage com oxigênio para formar um radical lipoperoxil ($\text{LOO}\cdot$), que por sua vez reage com um lipídio para produzir um radical lipídico e um hidroperóxido lipídico (LOOH). LOOH não é estável e gera novo radical peroxil e alcoxil. Terminação: é uma combinação de radicais para formar uma espécie não radical e que não se propague (GUÉRAUD et al., 2010). Essas reações em cadeia, denominada lipoperoxidação em cadeia, resultam na perda ou enfraquecimento da estrutura e função da membrana celular e geração de produtos aldeídos como acroleína, crotonaldeído, malondialdeído (MDA) e 4-hidroxi-2-nonenal (HNE). Embora possuam papéis fisiológicos importantes na proliferação celular, transformação, diferenciação e apoptose, esses aldeídos também são carcinogênicos (KARIHTALA; SOINI, 2007) e quando não são retirados das células podem exercer efeitos tóxicos.

A extensão do dano celular que pode ser provocado pelos produtos da lipoperoxidação está relacionado com a habilidade da célula de degradá-los e prevenir a toxicidade. Isso pode ser feito através de mecanismos que envolvem determinadas enzimas e que variam de acordo com o tipo celular, linhagens celulares diferentes apresentam habilidades diferentes para metabolizar esses compostos (ULLERY; MARNETT, 2012). No caso das células neoplásicas, embora o estresse

oxidativo e produtos da peroxidação lipídica sejam importantes para a carcinogênese, essas são sensíveis aos produtos da lipoperoxidação (NEGRE-SALVAYRE et al., 2010).

2.6 DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA

Com o objetivo de neutralizar os danos causados por EROs, sistemas endógenos de defesa antioxidante degradam essas substâncias, mantendo o equilíbrio. Essa defesa é importante nos casos de desbalanço, como por exemplo, resultado do estresse oxidativo crônico, onde danos a moléculas como DNA, lipídeos e proteínas, resultam em modificações irreversíveis da função celular. As defesas enzimáticas endógenas (ZIECH et al., 2010) (por exemplo, superóxido dismutase mitocondrial (MgSOD), glutatona peroxidase (GPx) e a catalase (CAT)), são a primeira linha de defesa contra o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio. O produtos secundários resultantes da oxidação podem também danificar DNA, proteínas e lipídeos e requerem que sejam degradados. A segunda linha de defesa contra EROs e lipoperoxidação é feita pelas enzimas glutatona S-transferase que removem peróxido de hidrogênio e outros peróxidos (GAGO-DOMINGUEZ; CASTELAO, 2006).

SOD é uma enzima antioxidante induzida por radicais livres, cataliza a dismutação de dois ânions superóxidos na mitocondria, produzindo peróxido de hidrogênio e oxigênio. SOD trabalha em conjunção com duas outras proteínas antioxidantes, catalase e glutatona

peroxidase. Essas enzimas convertem o peróxido de hidrogênio produzido pela SOD ao degradar o ânion superóxido, em água. Glutationa Peroxidase é uma família de enzimas que catalizam a redução de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos em água e álcoois, respectivamente. Catalase tem papel predominante em controlar a concentração de peróxido de hidrogênio nas células, convertendo-o em água e oxigênio (GAGO-DOMINGUEZ; CASTELAO, 2006). Catalase é responsável pela detoxificação de vários fenóis, álcoois e peróxido de hidrogênio, níveis tanto altos quanto baixos de catalase foram encontrados em diversos tipos de câncer (KARIHTALA; SOINI, 2007). É amplamente distribuída no organismo, com uma maior concentração no fígado, rins e eritrócitos (NISHIKAWA; HASHIDA; TAKAKURA, 2009).

2.7 ESTADO NUTRICIONAL DO PACIENTE ONCOLÓGICO

A perda de peso e a desnutrição são os distúrbios nutricionais mais frequentemente observados em pacientes com câncer. Os principais fatores determinantes da desnutrição nesses indivíduos são a redução na ingestão total de alimentos, as alterações metabólicas e o aumento da demanda calórica provocadas pelo tumor (BRASIL, 2009), sendo que essa variedade de mudanças metabólicas e ativação de vias catabólicas é responsável por parte da perda de peso, que é maior do que a esperada pela ingestão dietética diminuída (BLUM et al., 2011). Estão ligados também, fatores relacionados ao curso da doença como: redução do

apetite, disfagia, efeitos colaterais do tratamento (alterações no paladar, náuseas, vômitos, diarreias, jejuns prolongados para exames, pré ou pós operatórios) (BRASIL, 2009).

Citocinas inflamatórias produzidas pelo microambiente tumoral podem desencadear a caquexia (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011). A caquexia é uma síndrome paraneoplásica, de causa multifatorial, geralmente acompanhada de anorexia, que leva a um declínio da capacidade funcional, suas causas são complexas e desencadeadas por produtos do tumor e por citocinas pró-inflamatórias (BLUM et al., 2011). Embora não exista definição amplamente aceita de caquexia, seus sinais clínicos são anorexia e grave perda de peso (DEWEY et al, 2007) e as principais características da caquexia relacionada ao câncer são: maior metabolismo basal, declínio da capacidade funcional, progressiva perda de peso, em particular massa magra. A perda de tecido muscular é responsável pela maior morbidade e mortalidade, sendo a ligação entre perda de peso, pior prognóstico e pior resposta ao tratamento do câncer (MCMILLAN, 2009).

A caquexia é encontrada em aproximadamente 80% dos pacientes com câncer no trato gastrointestinal superior e em 60% dos pacientes com câncer de pulmão no momento do diagnóstico (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011). Com relação ao estado nutricional apresentado pelos pacientes com neoplasias hematológicas, ao avaliar 22 adultos recém diagnosticados com leucemias agudas, Turedi et al. (2010), encontraram que com base no IMC, 18% dos pacientes apresentavam-se desnutridos (IMC menor que 18,5 kg/m²),

enquanto o restante possuía IMC maior que 18,5 kg/m², 16,6% apresentavam-se desnutridos segundo a Dobra Cutânea Tricipital e 7,4% de acordo com a circunferência do braço.

Nas neoplasias hematológicas, tanto para leucemias como linfomas, a presença de excesso de peso no momento do diagnóstico vêm sendo relacionado com melhores taxas de sobrevivência e melhores respostas ao tratamento (MEDEIROS et al., 2012; CARSON, et al., 2012; BRUNNER et al., 2013)

Vale destacar, que a obesidade e o excesso de peso foram associados com maior risco de neoplasias hematológicas em diversos estudos (SODERBERG, et al., 2009; MACINNIS et al., 2005). A plausibilidade biológica para excesso de peso estar relacionado com maior risco de neoplasias hematológicas não está bem esclarecida. Duas vias, de acordo com Lichtman (2010), são propostas para explicar essa conexão: “indutiva” ou “seletiva”. Mudanças diversas originadas pela obesidade como: metabólicas, imunológicas e inflamatórias, podem aumentar a taxa de mutação celular, desregular a função de genes e do reparo do DNA ou induzir mudanças epigenéticas, favorecendo a indução de transformação neoplásica, essa seria a explicação da via indutiva. Por outro lado, de acordo com a via seletiva, a obesidade pode criar ambiente no qual a imersão de clones pré-existentes que estão dormentes é permitida. Outras ligações hipotéticas entre obesidade e a transformação neoplásica inclui a hipóxia celular relacionada a obesidade, susceptibilidade genética compartilhada (predisposição genética tanto para a obesidade como para o câncer), inflamação

relacionada a obesidade, estresse oxidativo aumentado com a obesidade, entre outros (LICHTMAN, 2010). Além disso, adiposidade central está relacionada a hiperinsulinemia crônica e aumento na circulação do fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1, que estimula crescimento celular e inibe apoptose, obesidade também está relacionada ao aumento da concentração de leptina, por fim, células precursoras mielóides possuem tanto receptores para leptina como pra fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (MACINNIS, et al., 2005).

3 MÉTODO

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo descritivo dos pacientes diagnosticados com neoplasias hematológicas no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina antes do início do tratamento quimioterápico. Esse estudo é a primeira fase de um projeto que vai avaliar o efeito da suplementação com óleo de peixe nas variáveis aqui descritas, os critérios de inclusão e exclusão, portanto, foram definidos considerando o seguimento do estudo.

Foi feita a identificação dos pacientes, coleta de amostra sanguínea e de dados antropométricos dos indivíduos recrutados. A coleta de dados foi anterior a quimioterapia, mais próximo possível do início da mesma.

3.2 AMOSTRA DO ESTUDO

Amostra foi constituída por indivíduos com 16 anos ou mais de ambos os sexos, diagnosticados com algum tipo de neoplasia hematológica e com indicação de tratamento quimioterápico. Os indivíduos participantes do estudo foram atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) e tinham previsão para início do tratamento quimioterápico. O Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina é referência

estadual em patologias complexas, sendo um dos centros de referência no Estado de Santa Catarina para neoplasias hematológicas (BRASIL, 2005a; BRASIL, 2005b)

Critérios de inclusão: os indivíduos deveriam possuir idade igual ou superior a 16 anos; apresentar diagnóstico de neoplasia hematológica; estar apto a iniciar tratamento quimioterápico no HU-UFSC.

Critérios de exclusão: idade inferior a 16 anos, estar em tratamento paliativo, tratamento radioterápico, quimioterapia prévia, impossibilidade de ingestão oral, possuir diagnóstico de doença infecto-contagiosa, ser alérgico a peixe e/ou derivados, ser gestante, estar em tratamento com estatinas e/ou algum fármaco anti-inflamatório, ter feito uso de óleo de peixe e/ou outro suplemento contendo ômega-3 nos seis meses prévios ao período do estudo.

Foram consideradas perdidas indivíduos elegíveis que não aceitaram participar do estudo.

A equipe médica, a qual tinha o conhecimento dos critérios de elegibilidade citados, realizou a triagem dos indivíduos candidatos a participar do projeto, que estavam em atendimento ambulatorial, internados na Oncohematologia do HU-UFSC e/ou no setor de quimioterapia. Aos indivíduos elegíveis foram apresentada a proposta de pesquisa e efetuado o convite de participação. Foi averiguado também os prontuários dos pacientes com agendamento da primeira sessão de quimioterapia, e aqueles que eram aptos a participarem do estudo foram convidados. A assinatura do Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (Apêndice B) pelos indivíduos que aceitaram participar da pesquisa aconteceu no momento de apresentação da pesquisa, após leitura em conjunto do mesmo. Adicionalmente, caso o participante tivesse menos de 18 anos, o responsável legal deveria assinar autorização para que o indivíduo fosse incluído no estudo. O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSC (#108.360). Na Tabela 2, encontra-se o número de casos de neoplasias hematológicas incidentes no período de julho de 2011 a junho de 2012, dividido em semestres, no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Com base nessa tabela, a média esperada de pacientes recém diagnosticados com neoplasias hematológicas no referido hospital é de 26 casos por semestre.

Tabela 2: Número de casos incidentes no período de julho/2011 a junho/2012 de leucemias e linfomas atendidos no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

Semestre	Leucemias		Linfomas		Total
	LA	LC	LNH	LH	
jul-dez/2011	17	5	11	1	35
jan-jun/2012	9	3	6	0	18

Fonte: relatórios laboratório de hematologia do HU

3.3 COLETA DE DADOS

3.3.1 Identificação dos indivíduos

Os indivíduos participantes do estudo foram identificados por meio das seguintes informações: dados pessoais (nome completo, data

de nascimento, sexo, procedência, endereço residencial, telefone, email, número do prontuário do paciente; dados clínicos (tipo de neoplasia hematológica, estadiamento, fármacos utilizados, protocolo do tratamento, comorbidades associadas)

3.3.2 Coleta de amostra sanguínea

O procedimento de coleta foi realizado no ambiente hospitalar, seguindo o protocolo do HU/UFSC e realizado por profissionais capacitados do setor de análises clínicas. Se caso ocorressem intercorrências na coleta, os indivíduos seriam prontamente atendidos. As amostras dos indivíduos foram obtidas por punção venosa na região cubital do antebraço utilizando tubos a vácuo. Os mesmos foram orientados a não praticarem atividade física vigorosa e evitar ingestão de etanol, nas 24 e 72 horas, respectivamente, que antecederam a coleta de sangue. A amostra sanguínea foi coletada em dois tubos contendo heparina (sistema Vacutainer® BD Biosciences - Abingdon, UK) com capacidade de 10 mL cada. As análises descritas nos itens seguintes foram realizadas no Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas (LIDoC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Após centrifugação, parte do plasma foi separado e congelado a -80°C para realização posterior da análise de peroxidação lipídica e atividade da catalase. O sangue restante foi fracionado por gradiente de densidade com Ficoll-Hypaque (Amersham Biosciences, EUA), após centrifugação a 400 G por 20 minutos (min) a temperatura ambiente. A camada de células mononucleares superior foi coletada, lavada e

ressuspensa em meio RPMI-1640 (Sigma® EUA) para realização das análises de adesão celular, capacidade fagocítica, vesículas catiônicas, produção de ânion superóxido.

3.3.3 Adesão Celular

A quantidade de 100 µL de uma solução de células mononucleares, contendo 1×10^6 células/mL foi depositado em placas de 96 escavações, as quais foram incubadas a 37°C durante uma hora. Foi adicionado 150 µL de metanol a 50%. Após 10 minutos, foi adicionado 100 µL da solução de Giemsa a 0,2%. Incubou-se por 40 minutos em temperatura ambiente, descartou-se o sobrenadante e os poços foram lavados igualmente. Adicionou-se mais 200 µL de metanol a 50% e após 30 minutos em temperatura ambiente, as placas foram lidas a 550 nm utilizando leitor de microplaca (Apollo-8 Microplate Absorbance Reader LB 912-Berthold Technologies) (ROSEN, GORDON, 1987). A adesão das células mononucleares foi expressa como absorvância (Abs)/ 10^6 mononucleares/mL.

3.3.4 Capacidade Fagocítica

Segundo procedimentos descritos por Pipe et al. (1995) foram depositados 100 µL de uma solução de células mononucleares, contendo 1×10^6 células/mL em placa de 96 escavações, as quais foram incubadas a 37°C durante uma hora. Em seguida adicionou-se 10 µL de zimosan

corado com vermelho neutro e incubou-se por 30 minutos a 37°C. Após este procedimento, foram adicionados 100 µL de fixador de Baker, para interromper o processo de fagocitose e novamente incubadas por 30 minutos. Descartou-se o sobrenadante, a placa foram lavadas e o vermelho neutro restante no interior das mononucleares foi solubilizado utilizando-se 100 µL de solução de extração. Após 30 minutos de incubação as placas foram lidas, a 550 nm utilizando leitor de microplaca (Apollo-8 Microplate Absorbance Reader LB 912-Berthold Technologies). Como o resultado obtido correspondia a capacidade fagocítica das mononucleares aderidas à microplaca, foi feita a correção dos valores pela adesão das células (tópico 4.3.3) (abs capacidade fagocítica/abs adesão).

3.3.5 Volume das vesículas Catiônicas

Segundo procedimentos descritos por Pipe et al. (1995) depositou-se 100 µL de uma solução de células mononucleares contendo 1×10^6 células/mL em poços de placa de 96 escavações e incubou-se por uma hora a 37°C. Após isso foi adicionado 20 µL da solução de vermelho neutro a 2%. Incubou-se por mais 30 minutos e então o sobrenadante foi descartado e os poços lavados. Adicionou-se 100 µL de solução de extração para solubilizar o vermelho neutro que estava no interior das vesículas de secreção. Após 30 minutos, a placa foi lida a 550 nm utilizando leitor de microplacas (Microplate reader Bio-rad – Benchmark). Os dados foram expressos por absorbância/ 10^6 células/mL.

Assim como a análise da capacidade fagocítica, como o resultado obtido corresponde a vesículas catiônicas das mononucleares aderidas à microplaca, foi feita a correção dos valores pela adesão das células (tópico 4.3.3) (abs vesículas catiônicas/abs adesão).

3.3.6 Produção de Ânion Superóxido

De acordo com procedimentos de Choi et al. (1996), a geração de ânion superóxido foi estimada através da redução de “nitroblue tetrazolium” (NBT – Sigma®), o qual se torna de cor azul no seu estado reduzido, composto denominado formazan, reação promovida pelo ânion superóxido. As células mononucleares contidas em 100 μL (1×10^6 células/mL), foram incubadas por 1 hora, em placa de 96 escavações a 37°C. Em seguida, foi adicionado 100 μL de NBT a 0,25% e 10 μL de PMA 4400 nM (de modo que a concentração final, no poço da microplaca seja de 400 nM) e incubado por mais uma hora e meia a 37°C. Descartou-se o sobrenadante, as placas foram lavadas e se adicionou 100 μL de metanol a 50%, para fixar as células. Após 10 minutos, descartou-se novamente o sobrenadante e a placa foi seca com ar quente. Então se adicionou 120 μL de KOH 2M e 140 μL de DMSO (dimetil sulfóxido) para solubilizar o NBT. Após 30 minutos se procedeu a leitura das placas, a 550 nm utilizando leitor de microplacas (Apollo-8 Microplate Absorbance Reader LB 912-Berthold Technologies). Foi feita a correção dos valores pela adesão das células (tópico 4.3.3) (abs produção de ânion superóxido/abs adesão).

3.3.7 Atividade da enzima Catalase

Este ensaio foi adaptado segundo os procedimentos descritos por Aebi (1984). As amostras de plasma foram distribuídas em placas de 96 poços sensíveis a UV, 5 µl em cada poço de amostra, e então foi adicionada 250 µl em cada poço de solução contendo tampão fosfato 0,25 M com EDTA 2,5 mM, pH 7,0, H₂O₂ 30% vol/vol 10mM e Triton X100. Logo após a adição da solução foi feita a leitura a 240 nm em uma leitora de placas TECAN a 37°C em 30 ciclos com intervalos de 10s. A variação da absorbância em função do tempo indica a atividade da enzima catalase presente na amostra. Os dados foram expressos como consumo de µmol de H₂O₂ por minuto e normalizado pela concentração de proteína na amostra (a quantificação de proteínas das amostras foi feita através do método de Bradford (1976)).

3.3.8 Hidroperóxidos lipídicos

Analizado pelo método descrito por Nourooz-Zadeh et al. (1994), o plasma foi homogeneizado com metanol numa diluição de 1:5 e então centrifugado a 5000 g, 5 minutos a 4°C. Para cada poço de um placa foram transferidos 18ul do sobrenadante, num total de 6 poços por amostra, em 3 desses poços adicionou-se 2 µL de TPP a 10 mM (os hidroperóxidos são convertidos em hidroxila pela trifenilfosfina) e nos 3 restantes, adiciona-se 2 µL metanol. As amostras foram incubadas a temperatura ambiente por 30 minutos; foi adicionado 180ul de FOX-2

(constituído de xilenol laranja 100 mM, hidroxitolueno butilado 4 nM, ácido sulfúrico 25 nM e sulfato ferroso de amônio 250 nM, em metanol 90%) e incubado novamente a temperatura ambiente por 30 minutos. Os cátions ferrosos presentes na solução FOX2 são oxidados pelos hidroperóxidos na amostra, não somente pelos hidroperóxidos lipídicos, formando Fe^{3+} sendo que nas amostras já acrescentadas de TPP essa oxidação será menor. A leitura das placas foi a 550 nm utilizando leitor de microplacas (Apollo-8 Microplate Absorbance Reader LB 912-Berthold Technologies). É subtraído o valor da absorbância das amostras tratadas com TPP (não possuem hidroperóxidos lipídicos) do valor da absorbância das amostras as quais não foi acrescentado TPP, obtendo somente a quantidade de ferro oxidado por hidroperóxidos lipídicos. É realizada curva padrão com quantidades conhecidas de peróxido de hidrogênio, submetidas aos mesmos procedimentos das amostras, sem acrescentar TPP. Dividiu-se o valor da concentração de hidroperóxidos lipídicos pela concentração de proteínas totais do extrato metanólico, sendo a concentração de proteína nas amostras mensuradas pelo método de Bradford (1976). Os resultados foram expresso em $\mu\text{mol/mg}$ de proteínas.

3.3.9 Quantificação de Proteínas do plasma

Para quantificação de proteínas do plasma foi utilizado o método proposto por Bradford (1976). Com a utilização de microplacas e do reagente de Bradford, com albumina bovina sérica foi realizada

curva padrão com concentração conhecida de proteínas e o cálculo da concentração de proteínas na amostra foi feito com base nessa curva.

3.3.10 Quantificação de Proteína C-Reativa (pCr), albumina e hemograma

Após a coleta, o sangue, destinado à dosagem de pCr e albumina e à determinação do hemograma, foi processado no Serviço de Análises Clínicas do HU. A pCr foi determinada pelo método de imunonefelometria (Siemens Dade Behring Inc., Newark, DE, EUA) (LEDUE et al., 1998). A albumina foi determinada pelo método colorimétrico automatizado (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, EUA) empregando-se púrpura de bromocresol como reagente de cor (LASKY et al., 1985). Para a obtenção do hemograma foi utilizado o analisador hematológico automatizado Sysmex XE-2100D (Sysmex Corporation, Inc. Kobe, Japan).

3.3.11 Análise Antropométrica

A análise antropométrica consistiu de peso atual, peso usual, estatura, circunferência do braço e dobra cutânea tricípital.

O peso e a estatura foram aferidos com o participante descalço, com vestes leves em balança digital de plataforma, marca Tanita®, modelo UM 061, (Empresa Tanita Corporation, Tokyo, Japan) com capacidade máxima de 150 kg e escala de 100 g e fita métrica inelástica de 150 cm e escala de 1 mm., respectivamente. O indivíduo avaliado se

posicionou em pé na posição ereta no centro da plataforma, pés afastados à largura do quadril, com o peso dividido em ambos os pés, com a cabeça posicionada de forma que a linha da visão fosse perpendicular ao corpo, inspirando profundamente no momento da aferição (WHO, 1995). O peso usual, foi auto referido.

Para localização do ponto médio do braço, onde é medida a circunferência do braço (CB), esse foi flexionado em 90° com a palma virada para cima, e marcado o ponto médio entre o acrômio e o olécrano. Com auxílio de fita métrica inelástica com precisão de 1mm, o indivíduo estava em posição ereta, com os braços soltos e as palmas viradas para a perna, e então foi aferida a circunferência do ponto marcado (WHO, 1995).

A dobra cutânea tricípital (DCT), foi aferida no ponto médio do braço, na parte posterior, sobre o músculo do tríceps, com os braços do indivíduo soltos ao lado do corpo (WHO, 1995). O compasso utilizado foi o Lange Skinfold Caliper® (Beta Technology Incorporated, Santa Cruz, Califórnia, EUA) modelo Sahean SH 5020, com precisão de 1mm.

As medidas de circunferência e dobras cutâneas foram feitas em triplicata, e na divergência de resultados, calculada a média aritmética.

3.3.12 Indicadores do Estado Nutricional

Foram utilizados três indicadores:

- Índice de Massa Corporal: é definido pela razão do peso em quilogramas pela estatura ao quadrado em metros (kg/m^2). Para os indivíduos com idade entre 16 e 18 anos, os valores de referência foram

propostos pela WHO no ano de 2007, e a classificação foi realizada pela curva de IMC para idade (WHO, 2007). Para os indivíduos com 19 anos ou mais, os valores de referência e pontos de cortes foram estabelecidos pela WHO (2008).

- Circunferência muscular do braço (CMB) foi calculada através da fórmula proposta por Gurney e Jelliffe (1973): $CMB (cm) = CB (cm) - (\pi \times DCT (mm) / 10)$. E a adequação foi feita pelo resultado da divisão entre a circunferência muscular do braço obtida e a circunferência dada para o percentil 50 de acordo com o sexo e a idade do indivíduo apresentado por Frisancho (1981).

- Percentual de perda de peso: razão entre ΔP (diferença entre o peso usual e o peso atual) e o peso usual, multiplicado por 100, para ser expresso em percentual. Sua classificação é confrontada com o tempo de ocorrência segundo valores propostos por Blackburn et al. (1977).

3.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2007®. O banco de dados foi transformado mediante o software Stat-Transfer® (Circle Systems, Seattle, WA, Estados Unidos) e a análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA® versão 11.0 para Windows (StataCorp, Texas, Estados Unidos).

As variáveis quantitativas foram tratadas como: média e desvio padrão se a distribuição for simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se for assimétrica. Em contrapartida, as variáveis categóricas (tipo de

neoplasia, sexo, comorbidades, diagnóstico) foram descritas em categorias e frequência.

Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, sendo a hipótese nula de que a variável segue distribuição normal; se resultado $<0,05$, rejeita-se normalidade dos dados. Para a análise das correlações foram utilizadas as correlações de Pearson ou Spearman, conforme a distribuição dos dados, caso ambos os dados a serem correlacionados fossem assimétricos procedeu-se a transformação logarítmica.

3.4.1 Variáveis do estudo

Considerando os objetivos deste estudo, apresentam-se no quadro a seguir as variáveis do estudo, seus respectivos indicadores e sua classificação teórica.

Quadro 2 - Variáveis, suas características e indicadores utilizados para o modelo de análise

Variáveis	Características	Indicadores
Sexo	Masculino Feminino	Qualitativa nominal dicotômica
Idade	anos	Quantitativa discreta
Tipo de Neoplasia Hematológica	Linfoma de Hogkin Linfoma Não- Hodgkin LMA LMC LLA LLC Mieloma Múltiplo	Qualitativa nominal Politômica
Peso	kg	Quantitativa contínua

Variáveis	Características	Indicadores
IMC	kg/m ²	Quantitativa contínua
Adequação da Circunferência Muscular do Braço	%	Quantitativa contínua
Adesão Celular	abs/10 ⁶ mononucleares/ mL	Quantitativa contínua
Capacidade Fagocítica	abs /abs adesão	Quantitativa contínua
Vesículas Catiônicas	abs /abs adesão	Quantitativa Contínua
Produção de Ânion Superóxido	abs /abs adesão	Quantitativa contínua
Atividade da Catalase plasmática	µmol de H ₂ O ₂ /min/mg de proteínas	Quantitativa contínua
Peroxidação lipídica	µmol/mg de proteínas	Quantitativa contínua
% de perda de peso	%	Quantitativa contínua

IMC: Índice de Massa Corpórea; LMA: Leucemia Mielóide Aguda, LMC: Leucemia Mielóide Crônica; LLA: Leucemia Linfóide Aguda; LLC: Leucemia Linfóide Crônica; H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio.

3.5 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O presente projeto foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSC (#108.360). Todos os

participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, após a leitura conjunta e sanadas todas as possíveis dúvidas.

4 RESULTADOS

4.1 MANUSCRITO

Indivíduos com doenças hematológicas malignas antes quimioterapia podem estar em alto risco inflamatório nutricional apesar de excesso de peso e apresentam diferenças nas funções de células mononucleares

Resumo

Neoplasias hematológicas são caracterizadas por células sanguíneas anormais que podem ter funções alteradas. Este estudo teve como objetivo avaliar os parâmetros de funcionalidade de células mononucleares e de estresse oxidativo, proteínas de fase aguda e estado nutricional de pacientes com neoplasias hematológicas, fornecendo uma representação dessas variáveis no momento do diagnóstico, comparações entre leucemias e linfomas e estabelecer correlações entre variáveis. Adesão, capacidade fagocítica, volume de vesículas catiônicas e produção de ânion superóxido de células mononucleares, peroxidação lipídica e atividade de catalase no plasma, albumina, proteína C-reativa (PCR) e estado nutricional foram avaliados em dezesseis indivíduos não tratados com diagnóstico de neoplasia hematológica. O principal diagnóstico foi leucemia aguda (n = 9), a mediana do IMC indicou sobrepeso (25,6 kg/m²). A mediana de albumina foi inferior (3,20 g / dl) e PCR superior (37,45 mg / L) aos valores de referência. Não houve diferenças em termos de funcionalidade das células, quando comparados pacientes com leucemia e linfoma (p > 0,05). Produção de ânion superóxido não se correlacionou com a peroxidação lipídica e

atividade de catalase. No entanto, forte correlação entre estes dois últimos foi encontrada ($r = 0,75$). Volume de vesículas catiônicas foi positivamente correlacionada com a capacidade fagocítica ($r = 0,42$). Albumina foi inversamente correlacionada com o IMC ($r = -0,53$). Esses resultados podem indicar alterações na funcionalidade celular de indivíduos com doenças hematológicas malignas e variáveis de estresse oxidativo, com distinção entre os diagnósticos principais, conferindo subsídios para futura execução de estudos que avaliam intervenções destinadas a esses parâmetros.

Palavras-chave: Neoplasias Hematológicas. Capacidade Fagocítica. Ânion Superóxido. Catalase. Peroxidação Lipídica. Estado Nutricional.

Introdução

O câncer é caracterizado por um crescimento descontrolado de células, as células alteradas podem invadir os tecidos e metastizar para locais distantes, desencadeando morbidade e, em alguns casos, morte do hospedeiro¹. Neoplasias hematológicas normalmente iniciam-se em tecidos produtores de células sanguíneas ou em tecidos relacionados a imunidade, que começam a produzir células anormais. As doenças mais prevalentes nesse grupo são as leucemias e os linfomas. Em indivíduos com leucemia, os leucócitos não executam funções normais e as células permanecem durante mais tempo na corrente sanguínea. As leucemias podem ser divididas em formas crônicas e agudas. A primeira é caracterizada pelo desenvolvimento mais lento e progressivo

agravamento das funções celulares, enquanto que a leucemia aguda é caracterizada por um rápido aumento de células anormais na corrente sanguínea. Os linfomas podem ser divididos em Hodgkin e Não-Hodgkin, são doenças malignas do sistema linfático, também consideradas neoplasias hematológicas².

Células mononucleares são leucócitos recrutados para promover a morte de patógenos pela liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio, por fagocitose de microorganismos e de debris de células e também realizam a apresentação de antígenos a células T, resultando numa defesa específica tanto contra microorganismos como contra células neoplásicas. Fora essas funções, essas células podem atuar nos ambientes tumorais e na periferia de tumores, contribuindo para o crescimento e expansão tumoral ou pela defesa do hospedeiro, dependendo de como essas células foram ativadas, o tipo de fenótipo que adquiriram além do próprio ambiente tumoral^{3,4}.

Produção de EROs e atividade de enzimas antioxidantes também estão alteradas em pacientes com neoplasias hematológicas⁵. Quando não são devidamente neutralizadas por enzimas antioxidantes, EROs podem desencadear a formação de reações em cadeia com ácidos graxos poliinsaturados presentes na bicamada lipídica da membrana celular, um processo denominado peroxidação lipídica⁶. Além disso, a produção de EROs pode exercer diferentes ações na proliferação de sobrevivência de células, embora o estresse oxidativo seja discutido como tendo um papel importante na carcinogênese, células neoplásicas também são sensíveis a compostos derivados da peroxidação lipídica⁷.

Apesar das questões ligadas a funcionalidade de células, o balanço entre o estresse oxidativo e os sistemas antioxidantes, o estado nutricional é um aspecto adicional relevante em pacientes com câncer. Especialmente durante o tratamento, o estado nutricional pode ser afetado negativamente ao extremo, comprometendo o prognóstico e a sobrevivência desses pacientes^{8,9}. Portanto, conhecer o estado nutricional antes do tratamento nessas doenças pode ser uma estratégia eficiente para prever, ao menos em partes, a capacidade do sujeito em resistir a agressividade do processo terapêutico. Além do mais, a relação entre o estado nutricional antes do tratamento e a função de células mononucleares ainda não é completamente conhecida nas neoplasias hematológicas.

Considerando a funcionalidade das células mononucleares nas neoplasias hematológicas, a relevância de suas funções nessas doenças e as relações desconhecidas desses parâmetros com o estado nutricional antes do tratamento, esse estudo objetiva avaliar alguns parâmetros das células mononucleares e a relação desses com o estado nutricional desses pacientes. Adicionalmente, avaliar as diferenças desses parâmetros entre os diagnósticos de leucemia e linfoma. Diferenças em parâmetros de funcionalidade celular e de estresse oxidativo são esperados com indivíduos com neoplasias hematológicas após comparar os diagnósticos de leucemia e linfoma, bem como um estado nutricional preservado antes da quimioterapia.

Métodos

Esse é um estudo descritivo dos pacientes diagnosticados com neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, antes de iniciarem o tratamento quimioterápico, recrutados entre Novembro de 2012 e Abril de 2013. Todos os procedimentos envolvendo humanos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. Critérios de inclusão foram: dezesseis anos ou mais de idade, diagnóstico de leucemia ou linfoma e indicação de tratamento quimioterápico. Os critérios de exclusão foram: cuidado paliativo, radioterapia, impossibilidade de ingestão oral, diagnóstico de doença infecciosa e estar em tratamento com estatinas e/ou fármaco anti-inflamatório. Todos os pacientes recrutados, que aceitaram a participar, forneceram o termo de consentimento livre e esclarecido assinado. A coleta de dados foi realizada no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Na entrada no estudo foram coletados dados antropométricos e retirada amostra de sangue, imediatamente antes do início da quimioterapia. A funcionalidade das células mononucleares foi avaliada pela: capacidade de adesão, fagocitose de zymosan, volume de vesículas catiônicas e produção de ânion superóxido. Para avaliar parâmetros do estresse oxidativo foram avaliados a atividade da enzima catalase no plasma e hidroperóxidos lipídicos plasmáticos. Proteína C-reativa (PCR), albumina e estado nutricional também foram avaliados

Estado Nutricional e dados de caracterização da amostra

Dados antropométricos foram aferidos por uma nutricionista, peso e altura foram medidos com auxílio de uma balança digital Tanita®, modelo A 061, (Company Tanita Corporation, Tokio, Japão) e com uma fita métrica inelástica, respectivamente. O peso usual (dos últimos seis meses) foi auto-referido pelo indivíduo. A dobra cutânea tricípital foi aferida com o antropômetro Lange Skinfold Caliper California® (Beta Technology Incorporated, Santa Cruz, EUA) e a circunferência do braço (usada para calcular a circunferência muscular do braço (CMB) com uma fita métrica inelástica. A adequação da CMB foi calculada dividindo o valor obtido pelo valor da CMB do percentil 50 de acordo com o sexo e a idade do participante, como apresentado por Frisancho¹⁰. Todas as medidas antropométricas seguiram técnicas padrão¹¹. O Índice de Massa Corpórea (IMC) foi calculado dividindo o peso pelo quadrado da altura¹¹ e o percentual de perda de peso (dos últimos seis meses) foi a razão entre a diferença do peso atual e do peso usual e o peso atual do indivíduo, multiplicado por 100. Data de nascimento, diagnóstico e comorbidades foram obtidos do prontuário.

Isolamento do Plasma e das Células Mononucleares

Amostras do sangue venoso foram coletadas em tubos heparina de lítio como anticoagulante. O sangue foi centrifugado (400g) e o plasma foi coletado após a centrifugação e congelado imediatamente a -80°C para análises posteriores da catalase e da peroxidação lipídica. As células mononucleares foram isoladas por centrifugação em um gradiente de densidade Ficoll-Paque™ PLUS. As células foram coletadas e

lavadas duas vezes com salina. Após isso, foram ressuspendidas em meio de cultura RPMI 1640 (Sigma, EUA) e o número de células foi determinado usando um contador de células automatizado (Advia® 60 Hematology System, Bayer). As células foram então utilizadas para ensaios de funcionalidade imediatamente após o isolamento.

Adesão Celular

Uma alíquota (100 μL de uma suspensão contendo 10^6 células mononucleares/ml foi adicionada em cada poço de uma placa de cultura de células de 96 poços que foi incubada a 37°C por uma hora. O meio de cultura foi então coletado e 150 μL de metanol 50% foi adicionado para fixação. Após 10 minutos, foi adicionado 100 μL de uma solução de 0,2% de Giemsa e incubado por outros 40 minutos em temperatura ambiente. Então, o sobrenadante foi descartado e os poços foram lavados. Finalmente, 200 μL de metanol 50% foi adicionado e após 30 minutos a temperatura ambiente, as placas foram lidas a 550 nm usando uma leitora de microplacas¹² (Apollo-8 Absorbance Microplate Reader LB 912, Berthold Technologies). A adesão de células mononucleares foi expressa como absorbância (Abs)/ 10^6 células mononucleares/ ml.

Fagocitose de Zymosan por Células Mononucleares

O método descrito por Pipe et al.¹³ foi adaptado. Células mononucleares foram adicionadas em poços de uma placa de cultura de células de 96 poços (10^5 células em 100 μL). Zymosan corado com vermelho neutro foi adicionado e a placa incubada por 30 minutos. Então, as células foram fixadas com solução de formol-cálcio de Baker

(4% de formaldeído, 2% de cloreto de sódio, 1% de acetato de cálcio) por 30 minutos. A coloração por vermelho neutro foi extraída com 0,1ml de álcool acidificado (10% de ácido acético, 40% de etanol em água destilada) por 30 minutos. A absorbância foi lida em leitora de microplacas a 550 nm e os resultados normalizados pela adesão celular.

Vesículas Catiônicas das Células Mononucleares

As vesículas catiônicas das células mononucleares foram avaliadas usando o método descrito por Pipe et al.¹³, incubando 10^5 células em 100 μ L por 30 minutos na presença de 20 μ L de vermelho neutro e então lavadas duas vezes com tampão fosfato. O vermelho neutro foi solubilizado em 0,1 mL de ácido etanóico (40:10%, v:v). A absorbância foi lida a 550 nm e os resultados foram normalizados pela adesão celular.

Produção De Ânion Superóxido Pelas Células Mononucleares

A produção de ânion superóxido pelas células mononucleares foi medida pela redução de nitroblue tetrazolium (NBT), usando o método descrito por Choi et al.¹⁴. Suspensões contendo 10^5 células mononucleares em 0,1 mL foram incubadas por uma hora a 37°C na presença de acetato misristato de forbol e NBT. Então as células foram fixadas com 50% de metanol por 10 minutos e levadas a estufa. A redução de NBT resulta na formação de azul de formazan o qual foi solubilizado incubando por 30 minutos com 120 μ L de 2M de hidróxido de potássio e 140 μ L de dimetilsulfóxido por poço. A absorbância foi lida a 550 nm e os resultados foram normalizados pela adesão celular.

Atividade Da Enzima Catalase No Plasma

Esse ensaio foi adaptado dos procedimentos descritos por Aebi¹⁵. Os dados foram expressos como mol de consumo de H₂O₂ por minuto e normalizados pela concentração de proteína na amostra (quantificada pelo método de Bradford¹⁶).

Hidroperóxidos Lipídicos Plasmáticos

O método descrito por Nourooz-Zadeh et al.¹⁷ foi utilizado. O plasma foi homogeneizado com metanol numa diluição de 1:5 e então centrifugado. O sobrenadante foi transferido para seis poços de uma placa de cultura de células de 96 poços, em três desses poços foi adicionado trifetilfosfina (TPP) e apenas metanol nos três restantes. As amostras foram incubadas por 30 minutos e adicionado a solução FOX-2 (constituído de xilenol laranja 100 mM, hidroxitolueno butilado 4 nM, ácido sulfúrico 25 nM e sulfato ferroso de amônio 250 nM, em metanol 90%) e incubado novamente. A absorbância foi lida a 550 nm. O valor da absorbância das amostras tratadas com TPP foi subtraído da absorbância das amostras não tratadas com TPP, uma curva padrão foi criada com concentrações conhecidas de peróxido de hidrogênio. Os resultados foram expresso em $\mu\text{mol} / \text{mg}$ de proteína (a concentração de proteína foi quantificada pelo método de Bradford¹⁶).

Quantificação de Proteína C-Reativa (PCR), Albumina e Hemograma

PCR foi determinada por imunonefelometria (Siemens Dade Behring Inc., Newark, EUA)¹⁸ e albumina foi determinada por um

método colorimétrico automatizado (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, USA) empregando púrpura de bromocresol como um reagente de cor¹⁹. Para obtenção do hemograma completo um contador hematológico automatizado foi utilizado Sysmex XE-2100D (Sysmex Corporation, Kobe Inc., Japão).

Análises Estatísticas

Variáveis quantitativas foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil considerando que todas as variáveis foram assimétricas. Variáveis categóricas foram apresentadas como categorias e frequências. Para correlacionar as variáveis, teste de Person ou Spearman foram utilizados segundo a distribuição dos dados, após a transformação logarítmica. Para comparar os resultados emntre os diagnósticos de leucemia e linfomas, o teste de Mann-Whitney foi utilizado, diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico STATA® versão 11.0 para Windows (StataCorp, Texas, EUA).

Resultados

Características dos Indivíduos do Estudo

Trinta e sete novos indivíduos diagnosticados com neoplasias hematológicas foram tratados pela equipe médica do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina no período de Novembro de 2012 a Abril de 2013. Desse, dezenove não foram

considerados elegíveis para o presente estudo de acordo com os critérios de exclusão. Dos dezenove indivíduos elegíveis, dois recusaram a participar. Portanto dezesseis indivíduos foram incluídos no estudo e participaram da coleta de dados, conforme fluxograma apresentado na Figura 1.

Dez indivíduos eram do sexo feminino (62,5%), com mediana de idade de 47 anos, variando entre 18,7 e 79,6 anos. O diagnóstico primário de neoplasia hematológica foi leucemia aguda, representado por nove indivíduos (56,2%). Os outros diagnósticos eram leucemia crônica, linfoma de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin e mieloma múltiplo. Nove pacientes não apresentavam comorbidades, os restantes sete apresentavam: osteoporose, diabetes tipo II, hipertensão, artrite reumatóide, depressão, gastrite, úlcera gástrica, hérnia hiatal, esofagite, hipotireoidismo. Esses dados encontram-se resumidos na Tabela 1.

Proteínas de Fase Aguda, Estado Nutricional e Hemograma

Proteínas de fase aguda, as variáveis do estado nutricional e os dados do hemograma são apresentados nas Tabelas 2 e 3. Os valores na mediana de albumina, hematócrito, hemoglobina, contagem de células vermelhas do sangue e das plaquetas são menores do que os valores de referência, já a proteína C-reativa na mediana é 749% maior do que o valor de referência (mediana = 37,45mg / L). Concentrações de albumina também variaram para os pacientes com leucemia e foram um pouco maior (106,4%) do que em pacientes com linfoma. Com relação às variáveis nutricionais, apresentadas na Tabela 2, IMC, percentual de

perda de peso e adequação da circunferência muscular do braço, observa-se que a maioria dos indivíduos está acima do peso segundo o IMC (mediana = 25,6 kg/m²) e, apesar de grande variação na mediana, a porcentagem de perda de peso é de 0,96%, não sendo considerada uma perda significativa de acordo com a classificação de Blackburn et al.²⁰. A adequação da mediana da circunferência muscular do braço de 99,5%, indica que os indivíduos são bem nutridos por este parâmetro.

Descrição dos Parâmetros de Funcionalidade e de Estresse Oxidativo

Os resultados para adesão celular, a capacidade fagocítica, vesículas catiônicas, produção de ânion superóxido por células mononucleares, atividade da enzima catalase no plasma e os hidroperóxidos lipídicos plasmáticos são apresentados na Figura 2 e 3. Na mediana a capacidade fagocítica e o volume das vesículas catiônicas de células mononucleares do sangue periférico e de PCR era 177,9%, 232,6% e 163%, respectivamente, mais alta em pacientes com diagnóstico de linfoma, em comparação com aqueles com diagnóstico de leucemia, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa, considerando-se o pequeno número de indivíduos em cada grupo, o que não confere poder suficiente para o teste estatístico avaliar uma possível diferença. Adesão de células mononucleares foi 200% maior em indivíduos com leucemia do que em pacientes com linfoma, a produção de ânion superóxido por estas células foi 331,6% maior. A atividade da catalase no plasma foi 173,8% maior também em pacientes com leucemia, essas diferenças não foram significativas. Para a peroxidação

lipídica, os valores da mediana indicam uma possível igualdade nos diagnósticos, no entanto os valores para a leucemia variaram bastante e este diagnóstico apresentou um valor maior no percentil 75 do que os linfomas.

Correlações entre as Variáveis de Estudo

Algumas variáveis foram selecionadas para serem correlacionadas, correlações fracas foram consideradas com r de 0,0-0,29, correlações moderadas variaram de 0,30 a 0,69 e fortes correlações foram superiores a 0,70. De todas as análises de correlações realizadas neste estudo, apenas as mais relevantes foram escolhidas para serem apresentadas aqui. Volume de vesículas catiônicas mostrou uma correlação moderada e positiva com capacidade fagocítica ($r = 0,42$), a produção de ânion superóxido teve uma correlação fraca e inversa com a atividade da catalase no plasma ($r = -0,13$) e uma correlação positiva fraca com a peroxidação lipídica no plasma ($r = 0,26$). Peroxidação lipídica plasmática teve uma correlação forte e positiva com a atividade de catalase plasma ($r = 0,75$). Albumina teve uma correlação inversa moderada com o IMC ($r = -0,53$), com a adequação da CMB ($r = -0,35$) e uma correlação moderada e positiva com o percentual de perda de peso ($r = 0,68$). Além disso, a PCR foi fraca e positivamente correlacionada com o IMC ($r = 0,17$), moderada e positivamente com a adequação da CMB ($r = 0,32$) e moderada e inversamente com o percentual de perda de peso ($r = -0,55$). Não foram observadas

correlações entre as funções de células mononucleares e outros parâmetros do estado nutricional.

Discussão

Os indivíduos aqui estudados estavam acima do peso, com base no IMC, ao contrário do que é normalmente esperado para pacientes com câncer. Nessas doenças a deterioração do estado nutricional dos pacientes, aparentemente ocorre após o início do tratamento, provavelmente como uma consequência do mesmo. Malihi et al.²¹ realizaram um estudo para monitorar o estado nutricional de pacientes com mais de 15 anos diagnosticadas com leucemia aguda antes e após a quimioterapia. Eles observaram que, antes da quimioterapia, nenhum dos pacientes avaliados pela Avaliação Subjetiva Global Produzida Pelo Paciente apresentou desnutrição grave, 19,05% estavam moderadamente desnutridos e 80,95% estavam eutróficos. Após a quimioterapia, entretanto, 76,01% foram classificados como moderadamente desnutridos, 15,87% estavam gravemente desnutridos e apenas 7,94% estavam eutróficos. Convém destacar que a presença de excesso de peso e obesidade em tais pacientes no início do tratamento pode ser considerado vantajoso. Brunner et al.²² avaliaram a associação entre IMC no momento do diagnóstico e sobrevida de pacientes com 60 anos ou mais e diagnóstico de leucemia mielóide aguda, o risco de mortalidade aumentou para pacientes com um IMC menor que 25 kg/m², em comparação com aqueles com o IMC maior que ou igual a 30kg/m². Da mesma forma, Medeiros et al.²³ avaliaram o IMC de 1.974 pacientes

adultos com leucemia mielóide aguda, antes do tratamento quimioterápico, descobriram que a obesidade estava associada a uma melhor resposta ao tratamento e sobrevida quando comparados aos dos indivíduos eutróficos. Melhores taxas de sobrevivência foram observados em pacientes obesos ou com sobrepeso com linfoma e linfoma de células B grandes e difusas, um tipo de linfoma Não-Hodgkin²⁴.

A avaliação da albumina no soro é considerado um método simples para estimar proteínas viscerais. Desnutrição e inflamação sistêmica suprimem a síntese de albumin²⁵, caracterizada como uma proteína de fase aguda negativa. No presente estudo, encontraram-se valores semelhantes de albumina (mas menores do que os valores de referência), para os diagnósticos de leucemia e linfoma, embora ligeiramente mais elevados para o diagnóstico de leucemia. Correlacionando os valores de albumina sérica de ambos os diagnósticos com os indicadores do estado nutricional, uma correlação inversa moderada foi observada com IMC e CMB e forte e positiva com o percentual de perda de peso. Espera-se, em princípio, que um melhor estado nutricional (maior IMC, melhor adequação da CMB e menor porcentagem de perda de peso) também levariam a uma maior presença de albumina sérica, enquanto o oposto foi encontrado. De acordo com Gupta e Lis²⁵, uma correlação inversa entre o IMC e albumina em indivíduos com câncer, indica a possibilidade de aumento da síntese de albumina para compensar pacientes com distúrbios metabólicos e, em seguida, nas fases mais avançadas da doença, a supressão esperada da

albumina por desnutrição e inflamação ocorrerá. Considerando-se que os pacientes recém-diagnosticados foram avaliados, pode-se propor que as correlações apresentadas podem referir-se a compensação acima mencionada. Nas neoplasias hematológicas há um outro ponto interessante a ser considerado na relação entre a albumina e IMC, a prevalência dessas doenças parece apresentar uma relação direta com sobrepeso e obesidade^{26,27}. Por conseguinte, a correlação entre os níveis séricos de albumina e IMC pode ser modificado nestas doenças devido aos valores elevados de IMC geralmente apresentados por esses pacientes.

A mesma relação inesperada com IMC foi visto quando os dados de PCR e IMC foram correlacionados. Esta observação também pode ser uma consequência do IMC mediano dos indivíduos. A PCR é uma proteína de fase aguda positiva, que tem a sua síntese no fígado aumentada quando este é estimulado por mediators²⁸ produzidos pelas células normais e neoplásicas. Valores de PCR foram maiores em pacientes com linfoma do que naqueles com leucemia. Estudos consideram a PCR como um preditor independente de desfechos clínicos ou como um parâmetro para o prognóstico de pacientes com certos tipos de linfomas^{29,30}. Como consequência da alta PCR e baixas concentrações séricas de albumina, a relação entre essas variáveis resultou em valores altos, em determinadas situações clínicas este parâmetro é um indicativo de risco inflamatório nutricional³¹. Por isso, uma atenção especial para esses pacientes deve ser dada durante o curso clínico.

É importante para avaliar a funcionalidade de leucócitos, especialmente considerando que as infecções durante o tratamento quimioterápico de pacientes com neoplasias hematológicas podem levar ao aumento da morbidade e mortalidade³². Hofmann et al.³³ observaram que pacientes recém-diagnosticados com leucemia linfóide ou mielóide aguda apresentaram menor capacidade fagocítica que neutrófilos de indivíduos saudáveis, Hubel et al.³⁴, que avaliaram a capacidade fagocítica de neutrófilos de pacientes com leucemia não linfocítica aguda antes da quimioterapia, descobriram que pacientes com capacidade fagocítica maior também tinham menos ou infecções mais leves do que pacientes com menor capacidade fagocítica. Espera-se, portanto, como demonstrado no presente estudo, que os pacientes com leucemia tenham uma capacidade fagocítica inferior em comparação com os pacientes com linfomas, provavelmente devido ao maior número de células blásticas no sangue periférico.

O volume lisossomal é indicado aqui pelo volume das vesículas catiônicas e representa o grau de inchaço lisossomal, como resultado de processamento pós-fagocitose do material internalizado³⁵. O volume de vesículas catiônicas teve uma correlação moderada e positiva com a atividade fagocítica. Estes resultados mostram concordância com a atividade fagocítica, onde as células que têm maior capacidade de fagocitose também têm maior captação de vermelho neutro, o que pode indicar uma capacidade para processar o material fagocitado³⁵. Os lisossomos, principal tipo de vesículas catiônicas, são organelas produzidas pelo aparelho de Golgi, responsável pela reciclagem e

destruição de organelas ou moléculas oriundas de autofagia, endocitose e fagocitose³⁶.

Pacientes com leucemia apresentaram maior produção de ânion superóxido, quando comparados com os pacientes com linfoma, embora esta diferença não tenha sido significativa. As células leucêmicas contêm altas concentrações de espécies reativas de oxigênio, devido a mudanças nas vias pró e antioxidante. O aumento da produção de espécies reativas podem ser tanto devido à ativação de oncogenes e, como resultado de mutações independentes da actividade oncogénica nas mitocôndrias e no citocromo P450, por exemplo⁵. De acordo com Er, et al.³⁷, a geração de ânion superóxido por leucócitos foi significativamente maior em pacientes com leucemia mielóide aguda do que em indivíduos saudáveis. O ânion de superóxido parece promover um fenótipo maligno no ambiente tumoral³⁸. O aumento da produção de ânion superóxido em pacientes com leucemia, como foi observado no presente estudo, pode promover instabilidade genética, maior sobrevivência, crescimento e motilidade celular, peroxidação lipídica, oxidação dos aminoácidos e danos ao DNA⁵, caso esteja em desequilíbrio com protecção antioxidante. A superóxido dismutase é a enzima responsável pela dismutação do ânion superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, o qual é então processado pela enzima catalase⁵. As correlações entre ânion superóxido e atividade da catalase e concentração de peróxidos lipídicos foram fracas. Isto aconteceu provavelmente porque o ânion superóxido foi avaliado em células mononucleares e os outros parâmetros foram dosados no plasma.

Vale a pena mencionar que a produção de ânion superóxido nem sempre está alterada em neoplasias hematológicas³⁹.

Como mencionado anteriormente, a enzima superóxido dismutase reduz as concentrações de ânion superóxido, criando peróxido de hidrogénio, o qual é decomposto em um radical hidroxila e pode causar dano celular. A catalase, por sua vez, coordena a decomposição de duas moléculas de peróxido de hidrogénio a água e oxigénio molecular⁵. Zelen et al.³⁹ avaliaram a atividade da catalase no plasma de pacientes não tratados com leucemia linfocítica crônica (LLC) e observou um incremento de tal atividade em comparação com a atividade de indivíduos saudáveis. Os mesmos autores também observaram que a progressão da doença foi associada com a atividade de catalase significativamente superior. Em leucemias mielóides, a alta atividade da catalase contribui tanto para a progressão da doença como para a resistência à terapia, atuando como um promotor de tumores. Por outro lado, na leucemia linfocítica, atividade da catalase reduzida contribui para a aquisição de uma instabilidade genômica, favorecendo mutações, menor de defesa contra os peróxidos e um ambiente permissivo para mutações secundárias⁵.

Collado et al.⁴⁰ avaliaram a atividade da catalase em linfócitos do sangue periférico de pacientes não tratados com LLC e observaram menor atividade desta enzima quando comparados com indivíduos saudáveis, Zaric et al.⁴¹ também ao avaliarem pacientes com LLC, em diferentes fases da doença, revelaram que atividade da catalase no plasma de pacientes com doença mais avançada foi maior do que em

controles saudáveis e maior do que em doentes com doença menos avançada, enquanto a atividade no ligado celular foi menor. As diferenças podem surgir devido às condições experimentais e métodos de trabalho⁴¹ ainda assim, como apontado por Irwin et al.⁵, a catalase parece ter papéis contraditórios, dependendo do tipo de leucemia e status tratamento. No presente estudo, existe uma grande variação tanto para a atividade da catalase e peroxidação lipídica, em pacientes com leucemia, essa variação pode ser devido aos tipos de leucemia e estágios da doença.

Como Zelen et al.³⁹, que observaram um aumento tanto na atividade da catalase e nos produtos da peroxidação lipídica no plasma de indivíduos com leucemia linfocítica crônica, uma forte correlação positiva entre a atividade da catalase e hidroperóxidos lipídicos plasmáticos também foi encontrada no presente estudo. Isto pode indicar que a maior concentração de peróxidos lipídicos pode promover a estimulação do sistema enzimático antioxidante, pelo menos envolvendo a catalase, nestes pacientes. No entanto, a concentração de peróxidos lipídicos, nem sempre é elevada em neoplasias hematológicas como mostrou o estudo da Devi et al.⁴², que avaliou a peroxidação lipídica no plasma de pacientes com diferentes tipos de leucemia, antes do tratamento. No mesmo estudo, embora a geração de ânion superóxido foi alta, eles não encontraram nenhuma diferença para este parâmetro entre os vários diagnósticos de leucemia.

Ahmad et al.⁴³ e Ahmad et al.⁴⁴, avaliaram a peroxidação lipídica por malondialdeído plasmático e hidroperóxidos lipídicos e por

substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e hidroperóxidos lipídicos plasmáticos, respectivamente, em pacientes com leucemia mielóide crônica, observaram um aumento na peroxidação lipídica em comparação com os valores de indivíduos saudáveis. Estudo de Ahmad et al.⁴³ atribuiu o fato ao aumento da geração de radicais livres ou remoção inadequada destas espécies pelas enzimas antioxidantes. Em contraste, o presente estudo observou uma fraca correlação entre a geração de ânion superóxido e peroxidação lipídica, a geração de ânion superóxido pode ser equilibrada por uma maior resposta enzimática antioxidante. Embora não possamos confirmar essa hipótese, estudos futuros podem ser planejadas para avaliar tal questão.

Limitações devido a fatores como a heterogeneidade dos diagnósticos e do número restrito de indivíduos incluídos precisam ser mencionados. Outra limitação encontrada neste estudo foi o ampla faixa de idade dos participantes, essa variação pode levar a diferenças biológicas em parâmetros de funcionalidade das células, bem como diferenças nos parâmetros de estresse oxidativo e estado nutricional de indivíduos. Estudos futuros devem controlar esses potenciais fatores de confusão para chegarem a conclusões mais sólidas.

Conclusão

Indivíduos com neoplasias hematológicas possuem, em sua maioria, excesso de peso, de acordo com o IMC. Esta observação pode ser responsável pelas relações inesperadas na nutrição clínica entre albumina sérica ou PCR e IMC. Além do IMC, esses pacientes apresentaram alterações clinicamente relevantes da albumina sérica e

PCR, sugerindo um alto risco inflamatório nutricional. Funções das células mononucleares tendem a estar diminuídas na leucemia, quando comparado com indivíduos com linfoma. Aparentemente, não há correlação entre as funções leucocitárias analisadas e o estado nutricional no momento do diagnóstico nesses pacientes. No plasma, observou-se uma forte correlação entre a concentração de peróxidos lipídicos no plasma e atividade da catalase. Esta informação pode ser potencialmente aplicada em novos estudos para investigar o estresse oxidativo nestes pacientes com repercussões para a terapia anti neoplásica. Os resultados do presente estudo reforçam que, apesar de seu IMC, os pacientes com doenças hematológicas malignas requerem aconselhamento nutricional clínico. Isto é especialmente relevante devido ao fato que o início do tratamento quimioterápico pode comprometer seriamente o estado nutricional.

Agradecimentos

Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Coordenação de aprimoramento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
Programa de Pós-Graduação em Nutrição – Universidade Federal de Santa Catarina

Departamento de Oncologia e Hematologia – Hospital Universitário
-Universidade Federal de Santa Catarina

Suporte Financeiro:

Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Programa de Bolsas- Demanda Social- Coordenação de aprimoramento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Programa de Pós-Graduação em Nutrição – Universidade Federal de Santa Catarina

Referências

- 1 Riddon RW. Cancer Biology; Oxford: Oxford University Press, 2007. 568 p.
- 2 National Cancer Institute. Cancer Topics – Leukemia; Estados Unidos da América: NCI, 2013 : <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/leukemia> [11 jan 2013].
- 3 Ginderachter JA, Movahedi K, Ghassabeh GH, Meerschaut S, Beschin A, Raes G, Baetselier P. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: Picking the best of both worlds for tumor promotion. *Immunobiology* 2006; **211**: 487-501.
- 4 Siveen KS, Kuttan G. Role of macrophages in tumour progression. *Immunol Lett* 2009; **123** : 97-102.
- 5 Irwin ME, Rivera-Del Valle N, Chandra J. Redox Control of Leukemia: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2013; **18** : 1349-1383.
- 6 Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Acta Pathol Microbiol Immunol* 2007; **115** : 81-103.

7 Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, Chapple S, Cohen G, Feher J, Grune T, Lengyel G, Mann G, Pamplona R, Poli G, Portero-Otin M, Riahi Y, Salvayre R, Sasson S, Serrano J, Shamni O, Siems W, Siow RCM, Wiswedel I, Zarkovic K, Zarkovic N. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 2010; **44** : 1125-1171.

8 Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Consenso Nacional de Nutrição Oncológica. Rio de Janeiro: Inca, 2009.

9 Mcmillan, D.C. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; **12** : 223-226.

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

11 World Health Organization. Technical Report, nº. 854. Physical Status: The use and interpretation of antropometry. Geneva, Switzerland: WHO, 1995.

12 Rosen, H., Gordon, S. Monoclonal antibody to the murine type 3 complement receptor inhibits adhesion of myelomonocytic cells in vitro and inflammatory cell recruitment in vivo. *Journal of Experimental Medicine* 1987; **166**(6):1685-701.

13 Pipe, R.K.; Coles J. A.; Farley, S. R. Assays for measuring immune response in the mussel *Mytilus edulis*. *Technology Fish Immunology* 1995; **4**:93-100.

14 Choi H.S., Kim J.W., Cha Y.N., Kim C. A quantitative nitroblue tetrazolium assay for determining intracellular superoxide anion production in phagocytic cells. *J Immunoassay Immunochem.* 2006; **27**(1):31-44.

15 Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; **105** : 121-126.

16 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities utilizing the principle of protein dye binding. *An Biochem* 1976;**142** : 79-83.

17 Nourooz-Zadeh, J.; Tajaddini-Sarmadi, J.; Wolff, S.P. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Anal Biochem* 1994;**220**: 403-09.

18 Ledue, T.B.; Weiner, D.L.; Sipe, J.D.; Poulin, S.E.; Collins, M.F.; Rifai, N. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. *Ann Clin Biochem* 1998; **35** : 745-753.

19 Lasky FD, Li ZM, Shaver DD. Evaluation of a bromocresol purple method for the determination of albumin adapted to the DuPont aca discrete clinical analyzer. *Clin Biochem* 1985; **18** : 290-296.

20 Blackburn GL; Bistrrian BR; Maini BS; Schlamm HT; Smith MF. Nutritional and metabolic assessment of the hospitalized patient. *J Parent Enter Nutr* 1977;**1** : 11-22.

21 Malihi Z, Kandiah M, Chan YM, Hosseinzadeh M, Azadi MS, Yeganeh Z. Nutritional status and quality of life in patients with acute leukaemia prior to and after induction chemotherapy in three hospitals in Tehran, Iran: a prospective study. *J Hum Nutr Diet* 2013 : 1-9.

22 Brunner AM, Sadrzadeh H, Feng Y, Drapkin BJ, Ballen KK, Attar EC, Amrein PC, Mcafee SL, Chen YB, Neuberg DS, Fathi AT. Association between baseline body mass index and overall survival among patients over age 60 with acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*, 2013.

23 Medeiros BC, Othus M, Estey EH, Fang M, Appelbaum FR Impact of body-mass index on the outcome of adult patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2012; **97**.

24 Carson KR, Bartlett NL, McDonald JR, Luo S, Zeringue A, Liu J, Fu Q, Chang SH, Colditz GA. Increased Body Mass Index Is Associated With Improved Survival in United States Veterans With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol* 2012, **30** : 3217-3222.

25 Gupta D, Lis CG. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: A systematic review of the epidemiological literature. *Nutrition Journal* 2010; **9** : 2-16.

26 MacInnis RJ, English DR, Hopper JL, Giles GG. Body size and composition and the risk of lymphohematopoietic malignancies. *J Natl Cancer Inst* 2005; **97**(15):1154-7.

27 Söderberg K, Kaprio J, Verkasalo Pk, Pukkala E, Koskenvuo M, Lundqvist E, Feychting M. Overweight, obesity and risk of haematological malignancies: a cohort study of Swedish and Finnish twins. *Eur J Cancer* 2009; **45**(7):1232-8.

28 Majello, B; Arcone, R.; Toniatti, C.; Ciliberto, G. Constitutive and IL-6-induced nuclear factors that interact with the human C-reactive protein promoter. *The EMBO Journal* 1990; **9**:457-465.

29 Cao Y, Shi Y, Chen J, Tan Y, Cai Y, Luo H, Qiu M, Cai X, Jin Y, Sun Y, Jiang W. Serum C-reactive protein as an important prognostic variable in patients with diffuse large B cell lymphoma. *Tumor Biology* 2012; **33** : 1039-1044.

30 Li Y, Li Z, Xia Y, Huang J, Huang H, Xia K, Lin T, Li S, Cai X, Wu-Xiao Z, Jiang W. Serum C-Reactive Protein (CRP) as a Simple and Independent Prognostic Factor in Extranodal Natural Killer/T-Cell Lymphoma, Nasal Type. *Plos One* 2013; **8**.

- 31 Crozier, J.E.; Leitch, E.F.; McKee, R.F.; Anderson, J.H.; Horgan, P.G.; McMillan, D.C. Relationship between emergency presentation, systemic inflammatory response, and cancer-specific survival in patients undergoing potentially curative surgery for colon cancer. *The American Journal of Surgery*, 2009; **197**: 544-49.
- 32 Levine, A. S.; Siegel, S.E.; Schreiber, A. D.; Hauser, J.; Preisler, H.; Goldstein, I. M; Seidler, F.; Simon, R.; Perry, S.; Bennett, J. E.; Henderson, E. S. Protected Environments and Prophylactic Antibiotics — A Prospective Controlled Study of Their Utility in the Therapy of Acute Leukemia. *N Engl J Med* 1973; **288**:477-483.
- 33 Hofmann WK, Stauch M, Hoffken K. Impaired granulocytic function in patients with acute leukaemia: only partial normalisation after successful remission-inducing treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; **124** : 113-116.
- 34 Hubel K, Hegener K, Schnell R, Mansmann G, Oberhauser F, Staib P, Diehl V, Engert A. Suppressed neutrophil function as a risk factor for severe infection after cytotoxic chemotherapy in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Ann Hematol* 1999; **78** : 73-77.
- 35 Bonatto SJR, Oliveira HHP, Nunes EA, Pequito D, Iagher F, Coelho I, Naliwaiko K, Kryczyk M, Brito GAP, Repka J, Sabóia LV, Fukujima G, Calder PC, Fernandes LC. Fish Oil Supplementation Improves Neutrophil Function During Cancer Chemotherapy. *Lipids* 2011.
- 36 Gronbaek K, Jaattela M. Engaging the lysosomal compartment to combat B cell malignancies. *J Clin Invest* 2009; **119** : 2133-2136.
- 37 Er T, Tsai S, Wu S, Chiang W, Lin H, Lin S, Wu S, Tsai L, Liu, T. Antioxidant status and superoxide anion radical generation in acute myeloid leukemia. *Clin Biochem* 2007; **40** : 1015-1019.
- 38 Tanaka M, Kuribayashi K, Kogawa K, Nakamura K, Watanabe N. Intracellular superoxide dismutase activity defines invasiveness of the

murine T-lymphoma cell line L5187Y-ML25 in vitro and in vivo. *Leuk Res* 2013; **37** : 89-92.

39 Zelen I, Djurdjevic P, Popovic S, Stojanovic M, Jakovljevic V, Radivojevic S, Baskic D, Arsenijevic N. Antioxidant enzymes activities and plasma levels of oxidative stress markers in B chronic lymphocytic leukemia patients. *J Buon* 2010; **15** : 330-336.

40 Collado R, Oliver I, Tormos C, Egea M, Miguel A, Cerdá C, Ivars D, Borrego S, Carbonell F, Sáez GT. Early ROS-mediated DNA damage and oxidative stress biomarkers in Monoclonal B Lymphocytosis. *Cancer Lett* 2012; **317** : 144-149.

41 Zaric M, Mitrovic M, Nikolic I, Popovic S, Djurdjevic P, Baskic D. Activity of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in plasma and lysates of chronic lymphocytic leukemia patients. *Med. Cas* 2011; **45** : 9-16, 2011.

42 Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000; **293** : 53-62.

43 Ahmad R, Tripathi A K, Tripathi P, Singh R, Singh S, Singh RK. Oxidative stress and antioxidant status in patients with chronic myeloid leukemia. *Indian J Clin Biochem* 2008; **23** : 328-333.

44 Ahmad R, Tripathi AK, Tripathi P, Singh R, Singh S, Singh RK. Studies on lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant status as indices of oxidative stress in patients with chronic myeloid leukaemia. *Singapore Med J* 2010; **51** : 110-115.

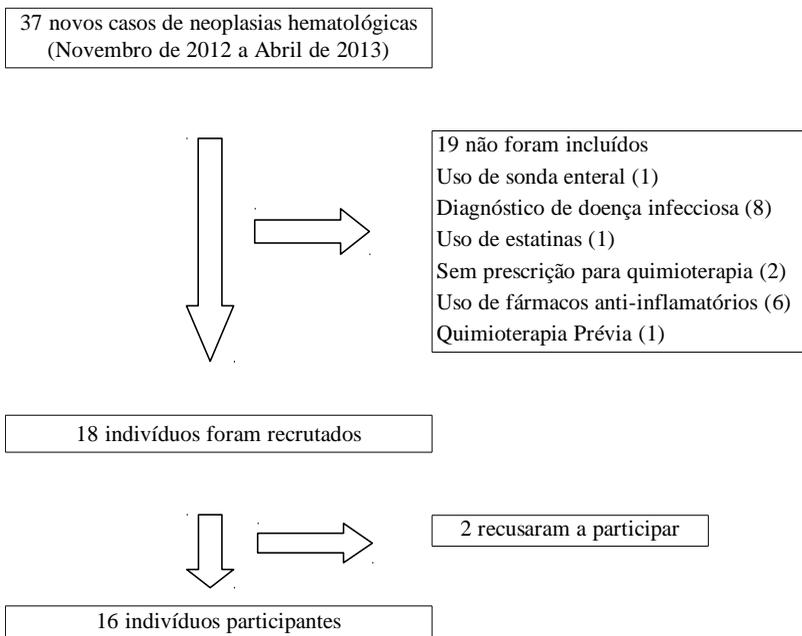


Figura 1 – Fluxograma para descrever a entrada dos indivíduos no estudo

Tabela 1 – Características dos Indivíduos (n=16)

Variável	n	%
Sexo		
Feminino	10	62,5
Masculino	6	37,5
Idade – Média (mínimo; máximo)	16	47 (18,70; 79,60)
Diagnóstico		
Leucemia Aguda	9	56,2
Leucemia Crônica	1	6,2
Linfoma de Hodgkin	2	12,5
Linfoma Não-Hodgkin	3	18,7
Mieloma Múltiplo	1	6,2
Comorbidades		
Ausente	9	56,3
Presente	7	43,7

Comorbidades: Osteoporose, Diabetes tipo 2, Hipertensão Arterial Sistêmica, Artrite Reumatóide, Depressão, Gastrite, Úlcera Gástrica, Hérnia Hiatal, Esofagite, Hipotireoidismo.

Tabela 2 – Peso atual, altura, IMC, percentual de perda de peso, adequação da circunferência muscular do braço, PCR, albumina e Razão PCR/albumina de indivíduos com neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico (n=16).

Parâmetro	Mediana [IIQ]	Valor de Referência
Peso Atual (kg)		-
Todos os indivíduos	68,75 [63,75; 79,70]	
Leucemias (n=10)	70,90 [66,00; 81,30]	
Linfomas (n=5)	64,00 [63,50; 64,60]	
Altura (m)		-
Todos os indivíduos	1,63 [1,54; 1,73]	
Leucemias (n=10)	1,61 [1,53; 1,80]	
Linfomas (n=5)	1,60 [1,59; 1,67]	
IMC (kg/m²)		18,5-24,9
Todos os indivíduos	25,57 [24,04; 29,20]	
Leucemias (n=10)	26,53 [24,92; 28,19]	
Linfomas (n=5)	22,77 [22,43; 25,55]	
Percentual de P.P. (%)		-
Todos os indivíduos	0,96 [-1,43; 5,76]	
Leucemias (n=10)	4,64 [0,00; 6,30]	
Linfomas (n=5)	-0,54 [-0,79; -0,13]	
Adequação CMB (%)		-
Todos os indivíduos	99,50 [86,90; 111,10]	
Leucemias (n=10)	103,91 [86,86; 111,13]	
Linfomas (n=5)	95,33 [86,26; 106,34]	
PCR (mg/L)		< 5,0
Todos os indivíduos	37,45 [7,20; 68,85]	
Leucemias (n=10)	26,10 [7,60; 54,40]	
Linfomas (n=5)	63,90 [6,80; 91,50]	
Albumina (g/dL)		3,4 a 5,0
Todos os indivíduos	3,20 [2,85; 3,60]	
Leucemias (n=10)	3,30 [2,80; 3,60]	
Linfomas (n=5)	3,10 [3,10; 3,40]	
Razão PCR/albumina		-
Todos os indivíduos	13,66 [2,05; 23,60]	
Leucemias (n=10)	8,86 [2,11; 18,13]	
Linfomas (n=5)	20,61 [2,00; 31,48]	

IIQ: Intervalo Interquartil; PCR: Proteína C-Reativa; IMC: Índice de Massa Corporal; P.P.: Perda de Peso; CMB: Circunferência Muscular do Braço.

Tabela 3 – Parâmetros hematológicos de indivíduos com neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico (n=16).

Parâmetro	Mediana [IIQ]	Valor de Referência
Hematócrito (%)		M: 40,0 - 52,0 / F: 37,0 - 47,0
Todos os indivíduos	25,40 [20,60; 35,90]	
Leucemias (n=10)	21,35 [20,40; 25,40]	
Linfomas (n=5)	36,10 [30,50; 196,65]	
Hemoglobina (g/dL)		M: 13,0 - 18,0 / F: 12,0 - 16,0
Todos os indivíduos	8,30 [7,20; 11,80]	
Leucemias (n=10)	7,60 [6,90; 8,80]	
Linfomas (n=5)	11,90 [9,80; 64,00]	
Eritrócitos (10⁶/mm³)		M: 4,5 - 6,0 / F: 4,0 - 5,2
Todos os indivíduos	2,50 [2,16; 4,06]	
Leucemias (n=10)	2,23 [2,08; 2,84]	
Linfomas (n=5)	4,46 [3,57; 215,30]	
Leucócitos (células/mm³)		3.800 - 11.000
Todos os indivíduos	7860 [4840; 22480]	
Leucemias (n=10)	11205 [5300; 27370]	
Linfomas (n=5)	6490 [3955; 8535]	
Plaquetas (unidades/mm³)		150.000 - 440.000
Todos os indivíduos	58000 [33000; 136000]	
Leucemias (n=10)	47500 [28000; 74000]	
Linfomas (n=5)	159000 [136000; 242000]	

IIQ: Intervalo Interquartil.

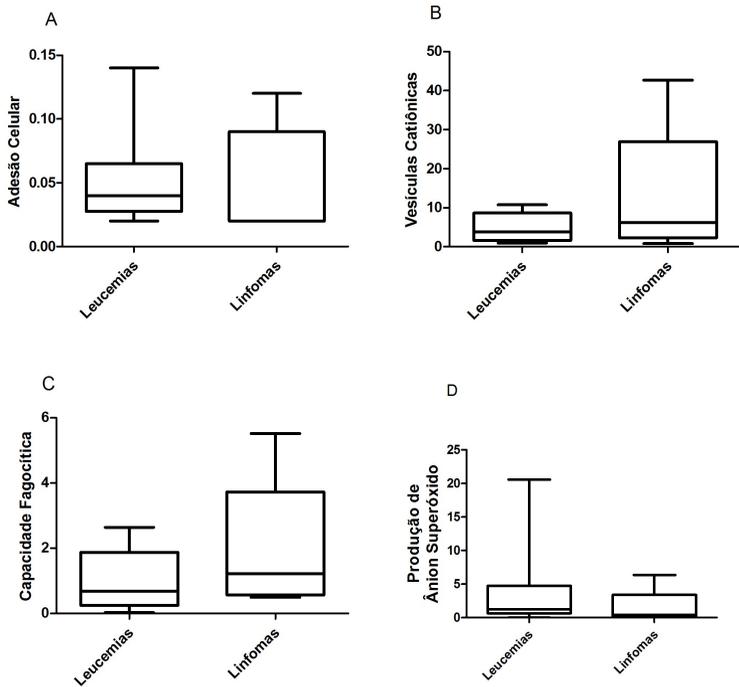


Figura 2 - Gráficos Box Plot mostrando a distribuição das variáveis entre os diagnósticos de Leucemias (n=10) e Linfomas (n=5). A) Adesão Celular; B) Vesículas Catiônicas; C) Capacidade Fagocítica; D) Produção de Ânion Superóxido.

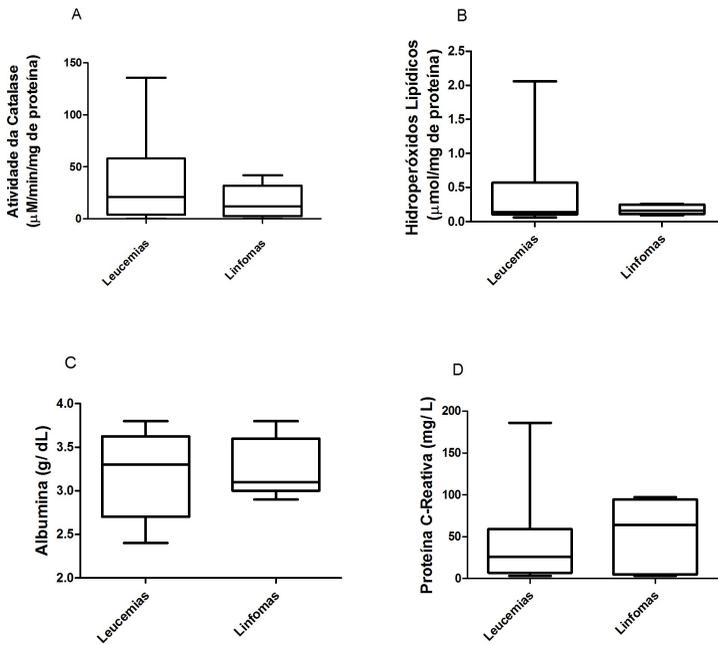


Figura 3 - Gráficos Box Plot mostrando a distribuição das variáveis entre os diagnósticos de Leucemias (n=10) e Linfomas (n=5). A) Atividade da Catalase; B) Hidroperóxidos Lipídicos; C) Albumina; D) Proteína C-Reativa.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo é a primeira fase de um projeto maior que pretende avaliar o efeito da suplementação de óleo de peixe nas variáveis aqui apresentadas. Nesta fase objetiva-se avaliar parâmetros de funcionalidade de células mononucleares, de estresse oxidativo, proteínas de fase aguda e indicadores do estado nutricional de indivíduos portadores de neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico. Diante dos resultados desse estudo, considera-se:

- a) Pacientes com leucemia possuem maior adesão de células mononucleares, embora também possuam maior contagem de leucócitos que pacientes com linfoma.
- b) A capacidade fagocítica de células mononucleares está diminuída em diagnósticos de leucemia quando comparado com linfoma.
- c) Vesículas catiônicas correlacionam-se positivamente com a capacidade fagocítica de células mononucleares de indivíduos com neoplasias hematológicas.
- d) Produção de ânion superóxido maior em leucemias porém sem correlação com atividade da enzima catalase no plasma e peroxidação lipídica plasmática.
- e) Forte correlação entre atividade da enzima catalase e peroxidação lipídica plasmática em indivíduos com neoplasias hematológicas e grande variação nesses parâmetros para indivíduos com leucemia.
- f) Pacientes com neoplasias hematológicas apresentam, em sua maioria, excesso de peso pelo IMC no momento do diagnóstico

Esses pontos indicam uma menor função celular nos pacientes com leucemias quando comparado com pacientes com linfoma. A produção de ânion superóxido não correlacionada com a peroxidação lipídica pode indicar equilíbrio entre a produção de EROs e a defesa antioxidante nesses indivíduos, também constatada com a forte correlação entre peroxidação lipídica e catalase plasmática em ambos os diagnósticos. Embora, os parâmetros de estresse oxidativo parecem controversos quando considerado vários diagnósticos e momentos da doença, sugere-se a realização de mais estudos que avaliem essas variáveis em pacientes com esses diagnósticos. Os indivíduos com neoplasias hematológicas necessitam de acompanhamento nutricional principalmente após o início do tratamento quimioterápico, visto que, no momento do diagnóstico, a maioria apresenta excesso de peso, sendo a perda de peso durante o tratamento um indicador de ruim prognóstico.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

AHMAD, R.; TRIPATHI, A.K.; TRIPATHI, P.; SINGH, R.; SINGH, S.; SINGH, R.K. Oxidative stress and antioxidant status in patients with chronic myeloid leukemia. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v.23, n.4,p.328-333, 2008.

AHMAD, R.; TRIPATHI, A.K.; TRIPATHI, P.; SINGH, R.; SINGH, S.; SINGH, R.K. Studies on lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant status as indices of oxidative stress in patients with chronic myeloid leukaemia. **Singapore Medical Journal**, v.51, n.2, p.110-115, 2010.

BALESTIERI, F.M.P. **Imunologia**. Barueri: Manole, 2006. 900 p.

BALKWILL F.R.; MANTOVANI A. Cancer-related inflammation: Common themes and therapeutic opportunities . **Seminars in Cancer Biology**, 2012.

BEN-NERIAH, Y; KARIN, M. Inflammation meets cancer, with NF- κ B as the matchmaker. **Nature Immunology**, v.12, n.8, p. 715-723, 2011.

BISWAS, S.K.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. **Nature Immunology**, v.11, n.10, p.889-896, 2010.

BLACKBURN, G.L.; BISTRIAN, B.R.; MAINI, B.S.; SCHLAMM, H.T.; SMITH, M.F. Nutritional and metabolic assessment of the hospitalized patient. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.1, p.11-22, 1977.

BLUM, D.; OMLIN, A.; BARACOS, V.E.; SOLHEIM, T.S.; TAN, B.H.L.; STONE, P.; KAASA, S.; FEARON, K.; STRASSER, F. Cancer cachexia: A systematic literature review of items and domains associated

with involuntary weight loss in cancer. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v.80, p.114-144, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Annal Biochemistry**, 72: 248-254, 1976.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Portaria GM/MS nº 2.439, de 8 de dezembro de 2005a.

Instituir a Política Nacional de Atenção Oncológica: Promoção, Prevenção, Diagnóstico,

Tratamento, Reabilitação e Cuidados Paliativos, a ser implantada em todas as unidades 54

federadas, respeitadas as competências das três esferas de gestão.

Disponível em: <

<http://www.saude.mg.gov.br>>. Acesso em: 18 fev. 2013.

_____. **Ministério da Saúde**. Portaria SAS/MS nº 741, de 19 de dezembro de 2005b.

Definir as Unidades de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia, os Centros de

Assistência de Alta Complexidade em Oncologia (CACON) e os Centros de Referência de

Alta Complexidade em Oncologia e suas aptidões e qualidades.

Disponível em: <

<http://www.saude.mg.gov.br>>. Acesso em: 18 fev. 2013.

_____. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Consenso Nacional de Nutrição Oncológica**. Rio de Janeiro: Inca; 2009.

_____. **Estimativa 2012: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011.

BRUNNER, A.M.; SADRZADEH, H.; FENG, Y.; DRAPKIN, B.J.; BALLEEN, K.K.; ATTAR, E.C.; AMREIN, P.C.; MCAFEE, S.L.; CHEN,

Y.B.; NEUBERG, D.S.; FATHI, A.T. Association between baseline body mass index and overall survival among patients over age 60 with acute myeloid leukemia. **American Journal Of Hematology**, 2013.

CAO, Y.; SHI, Y.; CHEN, J.; TAN, Y.; CAI, Y.; LUO, H.; QIU, M.; CAI, X.; JIN, Y.; SUN, Y.; JIANG, W. Serum C-reactive protein as an important prognostic variable in patients with diffuse large B cell lymphoma. **Tumor Biology**, v.33, p.1039-1044, 2012.

CARSON, K.R.; BARTLETT, N.L.; MCDONALD, J.R.; LUO, S.; ZERINGUE, A.; LIU, J.; FU, Q.; CHANG, S.H.; COLDITZ, G.A. Increased Body Mass Index Is Associated With Improved Survival in United States Veterans With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. **Journal of Clinical Oncology**, v.30, n.26, p.3217-3222, 2012.

CASSILETH, P.A.; LYNCH, E.; HINES, J.D.; OKEN, M.M.; BENNETT, J.M.; McGLAVE, P.B.; EDELSTEIN, M.; HARRINGTON, D.P.; O'CONNELL, M.J. Varying intensity of postremission therapy in acute myeloid leukemia. **Blood**, v.79, n.8, p.1924-1930, 1992.

CHOI H.S.,KIM J.W., CHA Y.N., KIM C. A quantitative nitroblue tetrazolium assay for determining intracellular superoxide anion production in phagocytic cells. **Journal of Immunoassay and Immunochemistry**, v.27, n.1, p.31-44, 2006.

COLLADO, R.; OLIVER, I.; TORMOS, C.; EGEEA, M.; MIGUEL, A.; CERDÁ, C.; IVARS, D.; BORREGO, S.; CARBONELL, F.; SÁEZ, G.T. Early ROS-mediated DNA damage and oxidative stress biomarkers in Monoclonal B Lymphocytosis. **Cancer Letters**, v.317, p.144-149, 2012.

COUSSENS, L.M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v.420, p.860-867, 2002.

CRUZ-MERINO, L.; LEJEUNE, M.; FERNÁNDEZ, E.N.; CARRASCO, F.H.; LÓPEZ, A.G.; VACAS, A.I.; PULLA, M.P.; CALLAU, C.; ÁLVARO, T. Role of Immune Escape Mechanisms in Hodgkin's Lymphoma Development and Progression: A Whole

NewWorld with Therapeutic Implications. **Clinical and Developmental Immunology**, v.2012, p.1-24, 2012.

DEVI, G.S.; PRASAD, M.H.; SARASWATHI, I.; RAGHU, D.; RAO, D.N.; REDDY, P.P. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. **Clinica Chimica Acta**, v. 293, p.53-62, 2000.

DEWEY, A.; BAUGHAN, C.; DEAN, T.; HIGGINS, B.; JOHNSON, I. Eicosapentaenoic acid (EPA, an omega-3 fatty acid from fish oils) for the treatment of cancer cachexia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 1, 2007.

DIGHIERO, G.; HAMBLIN, T.J. Chronic lymphocytic leukaemia. **Lancet**, v.371, p. 1017-1029, 2008.

DONOHUE, C.L.; RYAN, A.M.; REYNOLDS, J.V. Cancer Cachexia: Mechanisms and Clinical Implications. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011, p.1-13, 2011.

ER, T.; TSAI, S.; WU, S.; CHIANG, W.; LIN, H.; LIN, S.; WU, S.; TSAI, L.; LIU, T. Antioxidant status and superoxide anion radical generation in acute myeloid leukemia. **Clinical Biochemistry**, v.40, p.1015-1019, 2007.

FRISANCHO, A.R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.34, p.2540-2545, 1981.

GAGO-DOMINGUEZ, M.; CASTELAO, J.E. Lipid peroxidation and renal cell carcinoma: Further supportive evidence and new mechanistic insights. **Free Radical Biology & Medicine**, v.40, p.721-733, 2006.

GAYNOR, J.; CHAPMAN, D.; LITTLE, C.; MCKENZIE, S.; MILLER, W.; ANDREEFF, M.; ARLIN, Z.; BERMAN, E.; KEMPIN, S.; GEE, T.; CLARKSON, B. A Cause-Specific Hazard Rate Analysis of Prognostic

Factors Among 199 Adults With Acute Lymphoblastic Leukemia: The Memorial Hospital Experience Since 1969. **Journal of Clinical Oncology**, v. 6, n.6, 1014-1030, 1988.

GERMANO, G.; ALLAVENA, P.; MANTOVANI, A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. **Cytokine**, v.43, p.374-379, 2008.

GINDERACHTER, J.A.; MOVAHEDI, K.; GHASSABEH, G.H.; MEERSCHAUT, S.; BESCHIN, A.; RAES, G.; BAETSELIER, P. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: Picking the best of both worlds for tumor promotion. **Immunobiology**, v.211, p.487-501, 2006.

GOLDMAN, J.M.; MELO, J.V. Chronic Myeloid Leukemia — Advances in Biology and New Approaches to Treatment. **The New England Journal of Medicine**, v.349, p.1451-1464, 2003.

GRONBAEK, K.; JAATTELA, M. Engaging the lysosomal compartment to combat B cell malignancies. **The Journal of Clinical Investigation**, v.119, n.8, p.2133-2136, 2009.

GUÉRAUD, F.; ATALAY, M.; BRESGEN, N.; CIPAK, A.; ECKL, P.M.; HUC, L.; JOUANIN, I.; SIEMS, W.; UCHIDA, K. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. **Free Radical Research**, v. 44, n.10, p.1098-1124, 2010.

GUPTA, D.; LIS, C.G. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: A systematic review of the epidemiological literature. **Nutrition Journal**, v.9, n.69, p.2-16, 2010.

GURNEY, J.M.; JELLIFFE, D.B. Arm anthropometry in nutritional assessment: nomogram for rapid calculation of muscle circumference and cross-sectional muscle and fat areas. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.26, p.912-915, 1973.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. In: A Célula e seu Funcionamento. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro, 1997. 9 ed., p.11-24.

HOFMANN, W.K.; STAUCH, M.; HOFFKEN, K. Impaired granulocytic function in patients with acute leukaemia: only partial normalisation after successful remission-inducing treatment. **Journal of Research on Clinical Oncology**, v.124, p. 113-116, 1998.

HUBEL, K.; HEGENER, K.; SCHNELL, R.; MANSMANN, G.; OBERHAUSER, F.; STAIB, P.; DIEHL, V.; ENGERT, A. Suppressed neutrophil function as a risk factor for severe infection after cytotoxic chemotherapy in patients with acute nonlymphocytic leukemia. **Annals of Hematology**, v.78, p.73-77, 1999.

IRWIN, M.E.; RIVERA-DEL VALLE, N.; CHANDRA, J. Redox Control of Leukemia: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.18, n.11, p.1349-1383, 2013.

JAISWAL, S.; CHAO, M.P.; MAJETI, R.; WEISSMAN, I.L. Macrophages as mediators of tumor immunosurveillance. **Trends in Immunology**, v.31, n.6, p.212-219, 2010.

JUBINSKY, P.T.; DICKENS, D.S.; SHORT, M.K. New Roles for Mononuclear Phagocytes in Cancer Biology. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v.30, n.8, p.584-591, 2008.

KARIHTALA, P.; SOINI, Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica**, v.115, p.81-103, 2007.

KINNUNEN, P.K.J.; KAARNIRANTA, K.; MAHALKA, A.K. Protein-oxidized phospholipid interactions in cellular signaling for cell death: From biophysics to clinical correlations. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1818, p.2446-2455, 2012.

KRYSTON, T.B.; GEORGIEV, A.B.; PISSIS, P.; GEORGAKILAS, A.G. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.711, p.193-201, 2011.

LASKY, F.D.; LI, Z.M.; SHAVER, D.D. Evaluation of a bromocresol purple method for the determination of albumin adapted to the DuPont aca discrete clinical analyzer. **Clinical Biochemistry**, v.18, n.5, p.290-296, 1985.

LEDUE, T.B.; WEINER, D.L.; SIPE, J.D.; POULIN, S.E.; COLLINS, M.F.; RIFAI, N. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. **Ann Clin Biochem**, v.35, n.6, p.745-753, 1998.

LI, Y.; LI, Z.; XIA, Y.; HUANG, J.; HUANG, H.; XIA, K.; LIN, T.; LI, S.; CAI, X.; WU-XIAO, Z.; JIANG, W. Serum C-Reactive Protein (CRP) as a Simple and Independent Prognostic Factor in Extranodal Natural Killer/T-Cell Lymphoma, Nasal Type. **Plos One**, v.8, n.5, 2013.

MACINNIS, R.J.; ENGLISH, D.R.; HOPPER, J.L.; GILES, G.G. Body size and composition and the risk of lymphohematopoietic malignancies. **Journal of the National Cancer Institute**, v.97, n.15, p.1154-1157, 2005.

MALIHI, Z.; KANDIAH, M.; CHAN, Y.M.; HOSSEINZADEH, M.; AZADI, M.S.; YEGANEH, Z. Nutritional status and quality of life in patients with acute leukaemia prior to and after induction chemotherapy in three hospitals in Tehran, Iran: a prospective study. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, p.1-9, 2013.

MANTOVANI, A.; ALLAVENA, P.; SICA, A.; BALKWILL, F. Cancer-related inflammation. **Nature**, v. 454, n. 24, p. 436-444, 2008.

MATARRESE, P.; CIARLO, L.; TINARI, A.; PIACENTINI, M.; MALORNI, W. Xeno Cannibalism as an Exacerbation of Self-Cannibalism: A Possible Fruitful Survival Strategy for Cancer Cells. **Current Pharmaceutical Design**, v.14, p.245-252, 2008.

MEDEIROS, B.C.; OTHUS, M.; ESTEY, E.H.; FANG, M.; APPELBAUM, F.R. Impact of body-mass index on the outcome of adult patients with acute myeloid leukemia. **Haematologica**, v.97, n.9, 2012.

McKENZIE, S.B. Advances in understanding the biology and genetics of acute myelocytic leukemia. **Clinical Laboratory Science**, v. 18, v.1, p. 28-37, 2005.

MCMILLAN, D.C. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v.12, p.223-226, 2009.

MOSSER, D.M.; EDWARDS, J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nature Reviews**, v.8, p.958-970, 2010.

NATIONAL CANCER INSTITUTE – NCI. **Cancer Topics – Leukemia**. Estados Unidos da América: NCI, 2013. Disponível em: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/leukemia>. Acesso em: 11 de janeiro de 2013.

NEGRE-SALVAYRE, A.; AUGÉ, N.; AYALA, V.; BASAGA, H.; BOADA, J.; BRENKE, R.; CHAPPLE, S.; COHEN, G.; FEHER, J.; GRUNE, T.; LENGYEL, G.; MANN, G.; PAMPLONA, R.; POLI, G.; PORTERO-OTIN, M.; RIAHI, Y.; SALVAYRE, R.; SASSON, S.; SERRANO, J.; SHAMNI, O.; SIEMS, W.; SIOW, R.C.M.; WISWEDEL, I.; ZARKOVIC, K.; ZARKOVIC, N. Pathological aspects of lipid peroxidation. **Free Radical Research**, v. 44, n.10, p.1125-1171, 2010.

NISHIKAWA, M.; HASHIDA, M.; TAKAKURA, Y. Catalase delivery for inhibiting ROS-mediated tissue injury and tumor metastasis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, p.319-326, 2009.

NOGAI, H.; DORKEN, B.; LENZ, G. Pathogenesis of Non-Hodgkin's Lymphoma. **Journal of Clinical Oncology**, v.29, n.14, p.1803-1811, 2011.

NOUROOZ-ZADEH, J.; TAJADDINI-SARMADI, J.; WOLFF, S.P. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. **Analytical Biochemistry**, v.220, p.403-409, 1994.

PIPE, R.K.; COLES J. A.; FARLEY, S. R. Assays for measuring immune response in the mussel *Mytilus edulis*. **Technology Fish Immunology**, v.4, n.93, p.93-100, 1995.

PUI, C.H.; JEHA, S. New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. **Nature Reviews**, v. 6, p.149-165, 2007.

PUI, C.H.; ROBISON, L.L.; LOOK, A.T. Acute lymphoblastic leukaemia. **Lancet**, v.371, p.1030-1043, 2008.

ROSEN, H., GORDON, S. Monoclonal antibody to the murine type 3 complement receptor inhibits adhesion of myelomonocytic cells in vitro and inflammatory cell recruitment in vivo. **Journal of Experimental Medicine**, v.166, n.6, p.1685-1701, 1987.

RUDDON, R.W. **Cancer Biology**, Oxford: Oxford University Press, 2007. 568 p.

SAWYERS, C.L. Chronic Myeloid Leukemia. **The New England Journal of Medicine**, v.340, n.17, p.1330-1340, 1999.

SCHOTTENFELD, D.; BEEBE-DIMMER, J. Chronic Inflammation: A Common and Important Factor in the Pathogenesis of Neoplasia. **A Cancer Journal for Clinicians**, v.56, p.69-83, 2006.

SIVEEN, K.S.; KUTTAN, G. Role of macrophages in tumour progression. **Immunology Letters**, v.123, p.97-102, 2009.

SÖDERBERG, K.; KAPRIO, J.; VERKASALO, P.K.; PUKKALA, E.; KOSKENVUO, M.; LUNDQVIST, E.; FEYCHTING, M. Overweight, obesity and risk of haematological malignancies: a cohort study of

Swedish and Finnish twins. **European Journal of Cancer**, v.45, n.7, p.1232-1238, 2009.

TANAKA, M.; KURIBAYASHI, K.; KOGAWA, K.; NAKAMURA, K.; WATANABE, N. Intracellular superoxide dismutase activity defines invasiveness of the murine T-lymphoma cell line L5187Y-ML25 in vitro and in vivo. **Leukemia Research**, v.37, p.89-92, 2013.

TANNO, T.; MATSUI, W. Development and Maintenance of Cancer Stem Cells under Chronic Inflammation. **Journal of Nippon Medical School**, v.78, n.3, p.138-145, 2011.

ULLERY, J.C.; MARNETT, L.J. Protein modification by oxidized phospholipids and hydrolytically released lipid electrophiles: Investigating cellular responses. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1818, p.2424-2435, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **BMI-for-age (5-19 years)**. Geneva, Switzerland: WHO, 2007. Disponível em: <http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/index.html>. Acesso em: 30 nov. 2011.

_____. **BMI classification**. Geneva, Switzerland: WHO, 2008. Disponível em: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html>. Acesso em: 30 nov. 2011.

_____. Technical Report, n°. 854. Physical Status: The use and interpretation of antropometry. Geneva, Switzerland: WHO, 1995.

ZARIC, M.; MITROVIC, M.; NIKOLIC, I.; POPOVIC, S.; DJURDJEVIC, P.; BASKIC, D. Activity of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in plasma and lysates of chronic lymphocytic leukemia patients. **Med. Cas.**, v.45, n.2, p.9-16, 2011.

ZELEN, I.; DJURDJEVIC, P.; POPOVIC, S.; STOJANOVIC, M.; JAKOVLJEVIC, V.; RADIVOJEVIC, S.; BASKIC, D.; ARSENIJEVIC, N. Antioxidant enzymes activities and plasma levels of oxidative stress

markers in B-chronic lymphocytic leukemia patients. **Journal of Buon**, v.15, n.2, 330-336, 2010.

ZIECH, D.; FRANCO, R.; GEORGAKILAS, A.G.; GEORGAKILA, S.; MALAMOU-MITSI, V.; SCHONEVELD, O.; PAPPA, A.; PANAYIOTIDIS, M.I. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. **Chemico-Biological Interactions**, v.188, p.334-339, 2010.

APÊNDICES**Apêndice A – Formulário para Coleta de Dados****I – IDENTIFICAÇÃO**

Nº prontuário HU: _____ Nº identificação na pesquisa: _____

Nome:	
Sexo:	Data de nascimento:
Telefones:	
E-mail:	
Procedência/Ender eço:	

Diagnóstico/Localização: _____

Estadiamento: _____

Comorbidades/Doenças prévias: _____

Protocolo QT: _____

Outros fármacos utilizados: _____

II- AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Altura:	Peso atual:	IMC:
Classificação IMC:		
Peso Usual:	%Perda de Peso:	Tempo Perda de Peso:
Classificação Perda de Peso:		
CB:	CB%:	Classificação CB%:
DCT:	DCT%:	Classificação DCT%:
CMB:	CMB%:	Classificação DCT%:

Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), através do professor em caráter de dedicação exclusiva Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade e colaboradores estão desenvolvendo, com a parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina e o Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago uma pesquisa intitulada: **AVALIAÇÃO DA PROPORÇÃO LINFOCITÁRIA (Th1, Th2, Th17) E MARCADORES INFLAMATÓRIOS (IL-4, IL-17A, IFN- γ , TNF- α) EM INDIVÍDUOS COM LEUCEMIAS AGUDAS E LINFOMAS NÃO-HODGKIN EM QUIMIOTERAPIA SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE PEIXE.**

A pesquisa acontecerá no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago localizado no Campus Universitário, bairro Trindade no município de Florianópolis, estado de Santa Catarina.

Serão convidados a participar indivíduos com diagnóstico de leucemias agudas e linfomas não-Hodgkin, que estejam com indicação de iniciar tratamento quimioterápico na referida instituição hospitalar. Participarão indivíduos de ambos os sexos com idade no intervalo de dezenove a sessenta anos que não façam uso de nutrição enteral via sona ou ostomia e não se encontrem em tratamento paliativo.

O objetivo do presente estudo é: Avaliar a proporção linfocitária (Th1, Th2, Th17), marcadores inflamatórios (IL-4, IL-17A, IFN- γ , TNF- α) e o perfil lipídico celular de indivíduos oncológicos antes e após suplementação de 2 g/dia de óleo de peixe. Para avaliação dos sujeitos elegíveis será necessário aferição de: peso, estatura, circunferência do braço e dobra cutânea tricipital; além de coleta de amostra de sangue para avaliação bioquímica laboratorial e de informações sobre seu consumo alimentar. Os pacientes serão

distribuídos em dois grupos (GS e GNS), sendo que os pacientes do GS serão orientados a ingerir suplemento nutricional de óleo de peixe, na quantidade de 2,0 gramas por dia, sendo 450mg de ácidos graxos poliinsaturados da família omega-3 [360mg de ácido eicosapentaenóico (EPA) e 240mg de ácido docosahexaenóico (DHA)] durante nove semanas. Todas as avaliações serão realizadas no momento do aceite em participar da pesquisa e após nove semanas.

O estudo não prevê risco, uma vez que os procedimentos de avaliação nutricional não são invasivos, a suplementação de ácidos graxos Omega-3 de cadeia longa não apresenta risco e o exame laboratorial faz parte da rotina do processo de avaliação da terapêutica.

O estudo não prevê custos aos sujeitos. Uma vez que os procedimentos serão realizados na própria instituição onde realizam tratamento da enfermidade e as cápsulas (para quem fizer uso) serão fornecidas pelo pesquisador.

Os indivíduos que aceitarem a participar da pesquisa têm liberdade de desistir ou interromper a sua participação na pesquisa no momento que desejar, sem nenhum ônus para o mesmo.

Os indivíduos serão avaliados apenas por profissionais (médicos, nutricionistas, enfermeiros) devidamente treinados e vinculados as instituições parceiras. Haverá contatos telefônicos com os pacientes uma vez por semana, a fim de acompanhar as variáveis do período.

Este estudo justifica-se, pois se acredita que estratégias terapêuticas para atenuar a resposta inflamatória aguda exacerbada sejam elas medicamentosas ou nutricionais, devem ser exploradas na tentativa de melhora da saúde e qualidade de vida de pacientes com câncer.

Se você estiver de acordo em participar do estudo, garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas neste trabalho com a finalidade de gerar conhecimento em saúde.

Se você tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato com o pesquisador responsável: Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade pelo telefone: (48) 96156587 ou (48) 96028107 ou e-mail: erasmotrindade@ccs.ufsc.br.

Eu,.....
 portador do RG: Fone para contato:..... fui esclarecido sobre a pesquisa:
AVALIAÇÃO DA PROPORÇÃO LINFOCITÁRIA (Th1, Th2, Th17) E MARCADORES INFLAMATÓRIOS (IL-4, IL-17A, IFN- γ , TNF- α) EM INDIVÍDUOS COM LEUCEMIAS AGUDAS E LINFOMAS NÃO-HODGKIN EM QUIMIOTERAPIA SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE PEIXE e concordo que estes dados sejam utilizados na realização da mesma.

participante da pesquisa

Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade
 pesquisador principal

Florianópolis, ____/____/_____.

Apêndice C - Nota de Imprensa

Parâmetros de funcionalidade de células mononucleares e de estresse oxidativo de indivíduos com neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico

Estudo desenvolvido junto ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pela mestranda Carolina de Quadros Camargo sob a orientação do Prof. Dr. Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, financiado pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição/UFSC - Programa de Bolsas Demanda Social / Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES),

Participaram desse estudo 16 indivíduos com diagnóstico de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário de Santa Catarina antes do tratamento quimioterápico. Neoplasias hematológicas são cânceres que se iniciam em tecidos produtores de células sanguíneas e no sistema linfático. São principalmente representadas por leucemias e linfomas, ambos os diagnósticos são caracterizados por células sanguíneas anormais que podem desempenhar funções alteradas, sendo que essas desempenham papéis importantes na defesa do organismo contra infecções. Esse estudo teve como objetivo avaliar algumas dessas funções celulares de indivíduos com diagnóstico de neoplasia hematológica assim como parâmetros de estresse oxidativo e o estado nutricional. Como resultado, esse estudo indica uma menor função celular nos pacientes com leucemias quando comparado com

pacientes com linfoma e equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante. Observamos também, que ao contrário do que se espera para o paciente com câncer, a maioria desses pacientes inicia o tratamento com excesso de peso, ressaltando que indivíduos com neoplasias hematológicas necessitam de acompanhamento nutricional principalmente após o início do tratamento quimioterápico.

Preende-se dar sequência a essa pesquisa suplementando os pacientes recrutados com óleo de peixe e avaliar o efeito desse ácido graxo nos parâmetros previamente descritos, investigando dessa maneira intervenções que busquem melhorar essas funções celulares e consequentemente a resposta desses indivíduos ao tratamento.

Mais informações podem ser solicitadas pelos e-mails: carolqc@gmail.com ou erasmotrindade@gmail.com.