

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-
INSATURADOS n-3 EM CÂNCER GASTROINTESTINAL:
EFEITOS SOBRE A INFLAMAÇÃO, O ESTADO
NUTRICIONAL, A COMPOSIÇÃO CORPORAL, ÍNDICES
PROGNÓSTICOS E A QUALIDADE DE VIDA DURANTE O
TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciência da Saúde da Universidade Federal Santa Catarina em cumprimento a requisito para a obtenção do título de Doutor em Nutrição, área de concentração Metabolismo e Dietética, sob a orientação do Professor Doutor Erasmo Benício de Santos de Moraes Trindade.

FLORIANÓPOLIS
2017

Mocellin, Michel Carlos

Suplementação de ácidos graxos poli-insaturados n
3 em câncer gastrointestinal: efeitos sobre a
inflamação, o estado nutricional, a composição
corporal, índices prognósticos e a qualidade de vida
durante o tratamento quimioterápico / Michel Carlos
Mocellin ; orientador, Erasmo Benicio Santos de
Moares Trindade, 2017.

222 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, , Programa de Pós-Graduação em Nutrição,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Nutrição. I. Trindade, Erasmo Benicio Santos
de Moares. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III.
Título.

Folha de aprovação

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

A DEUS por mais esta conquista, guiada pelos seus ensinamentos e proteção.

Aos meus familiares que sempre me deram amor e força, valorizando meus potenciais.

Ao Professor Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, pela orientação, apoio, dedicação, esforço, pelos conselhos, pela cobrança, pelo incentivo a busca permanente de conhecimento, e acima de tudo, pela amizade que se reafirmou nesse período.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição – UFSC, por propiciar ambientes ricos em sabedoria; por estimular a construção do conhecimento; e pela confiança depositada, e até mesmo, por ser exemplo a não serem seguidos.

As nutricionistas, Maria Emilia de Souza Fabre, Scheila Gevaerd, Mariana Gascue de Alencastro e Gilvana Nazaré Ribeiro Costa pela contribuição no recrutamento dos pacientes e por permitir a convivência profissional: importante estímulo e exemplo.

As assistentes sociais, Maria Luiza Juruá Kappel, Fabiola Coral e Uilna Gonzaga Lima Deturche, pela imensurável contribuição na identificação e recrutamento dos pacientes elegíveis ao estudo.

Ao serviço de enfermagem ambulatorial do CEPON-SC, coordenado pela Enfermeira Graça, pela contribuição na coleta de material biológico dos pacientes, e aos demais profissionais pelo acolhimento e colaboração prestada.

A Carolina de Quadros Camargo por dividir a árdua tarefa de executar o ensaio clínico.

Ao colega Ricardo Fernandes por compartilhar de momentos ricos em conhecimento durante esta jornada, bem como pelo auxílio prestado no planejamento e execução do estudo.

A Ingritty Barbosa por auxiliar na determinação de alguns marcadores bioquímicos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de uma bolsa de estudos, com a qual foi possível dedicação exclusiva ao doutorado.

A empresa Tiarajú® pela doação dos suplementos utilizados neste estudo. A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Nutrição pelo auxílio prestado durante o doutorado.

Ao serviço de análises clínicas do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, pela dosagem de PCR e albumina.

A Thayz Rodrigues Chagas, Paula Zareli e Débora Demartini, pela amizade incondicional e preciosa.

A todos os meus amigos e amigas que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho.

Aos pacientes que participaram desta pesquisa, motivo maior deste trabalho, pois sem eles nenhuma dessas páginas estaria completa.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desta tese de Doutorado.

*A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê. (Arthur Schopenhauer)*

RESUMO

Introdução: O câncer pode se desenvolver em tecidos inflamados, assim como, o próprio tumor é responsável pela instalação e manutenção cíclica de um estado inflamatório. As moléculas inflamatórias secretadas por diferentes células (tumoriais, do tecido subjacente e do sistema imune) atuam local e sistemicamente: em células cancerígenas promovem instabilidade gênica, ativação de vias antiapoptóticas, e, evasão da resposta imune anticâncer e da ação de agentes supressores de crescimento, além de estimular a angiogênese, contribuindo com a sobrevivência, o crescimento e a disseminação tumoral; efeitos sistêmicos incluem alterações metabólicas (resposta hepática de fase aguda, aumento da taxa metabólica em repouso e do catabolismo proteico e lipídico) e hormonais, bem como efeitos anorexígenos. Os desfechos comuns desta intrincada teia de relações incluem deterioração do estado nutricional - com perda de massa magra, menor resposta aos agentes quimioterapêuticos e aumento dos efeitos colaterais do tratamento, resultando por fim, em redução da qualidade de vida do paciente e pior prognóstico. Estudos clínicos e *in vitro* têm demonstrado que os ácidos graxos poli-insaturados n-3 (AGPI n-3), especialmente os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA), exercem ação anti-inflamatória e anti-caquética, assim como são capazes de induzir a apoptose em células tumorais, podendo contribuir, desta forma, com a terapia anti-câncer.

Objetivo: Avaliar os efeitos da suplementação dos AGPI n-3 sobre marcadores de inflamação, qualidade de vida, estado nutricional, composição corporal e índices prognósticos em câncer gastrointestinal.

Método: Para responder o objetivo pretendido realizamos revisões sistemáticas com meta-análises e um ensaio clínico randomizado. Para a execução das revisões sistemáticas buscamos em bases de dados por ensaios clínicos controlados, realizados *in vivo* e em humanos, que avaliaram os efeitos da suplementação dos AGPI n-3 sobre marcadores de inflamação em câncer colorretal (CCR) ou gástrico (CG). Os estudos encontrados foram triados para elegibilidade pela análise do título e resumo, e selecionados quando preencheram os critérios de inclusão após análise do texto completo ou após contato com os autores. Os estudos elegíveis foram então avaliados quanto ao risco de vieses e tiveram dados de interesse extraídos pelos revisores. Com o auxílio do software estatístico STATA, as médias finais pós-intervenção foram combinadas e comparadas com as do grupo controle, resultando em uma medida de efeito resumo (meta-análise). O ensaio clínico randomizado (ECR),

placebo controlado e triplo-cego, foi realizado com pacientes com câncer gastrointestinal, os quais foram suplementados com óleo de peixe provendo 1,55 g/dia de EPA e DHA (grupo intervenção) ou azeite de oliva extra virgem (grupo controle) durante as primeiras 9 semanas de tratamento quimioterápico. Estes, tiveram marcadores de inflamação circulantes (citocinas, prostaglandina E₂ - PGE₂, Proteína C reativa - PCR) determinados com o auxílio de kits comerciais; qualidade vida avaliada pela aplicação de questionários validados para esta população; composição corporal estimada por bioimpedância elétrica; estado nutricional avaliado por meio de indicadores antropométricos; e, índices prognósticos mensurados pelo cálculo da relação PCR/albumina e da razão neutrófilo-linfócito (RNL). Os dados foram analisados estatisticamente comparando os valores finais de cada grupo e as diferenças de média (calculada pela subtração do valor final pelo basal de cada paciente). Além disso, análises de significância clínica também foram consideradas.

Resultados: *Quanto aos estudos de revisão sistemática e meta-análise* - Foram encontrados 18 estudos elegíveis realizados com CCR ou CG (nove para cada localização). Metade deles utilizaram uma fórmula imunomoduladora como fonte dos AGPI n-3, e a outra metade, utilizou óleo de peixe (oito estudos) ou AGPI-n-3 isolados (um estudo). Em apenas quatro a suplementação ocorreu concomitante a quimioterapia. As meta-análises mostraram em suas análises globais redução significativa de IL-6 e aumento de albumina com a suplementação dos AGPI n-3, tanto nos estudos com CCR, quanto nos com CG. Adicionalmente nos estudos com CG, se observou também, redução de TNF- α e aumento de pré-albumina. Todavia, destacamos que mais de 80% dos estudos incluídos estavam sujeitos a presença (confirmada ou suspeita) de algum viés metodológico.

Quanto ao ensaio clínico randomizado – Foram randomizados 56 pacientes para os grupos de estudo no período de março de 2015 a março de 2016, tendo perdas de seguimento variáveis (de até 30% para os desfechos primários de inflamação, qualidade de vida, estado nutricional e composição corporal) conforme o desfecho em questão. Os resultados mostraram que a suplementação dos AGPI n-3 durante as primeiras 9 semanas de quimioterapia preveniu a perda de massa magra (inferência clínica apenas) e reduziu os sintomas de náusea, vômito e perda de apetite nos 22 pacientes analisados pertencentes ao grupo intervenção, quando comparados aos 23 pacientes controles. Para as análises de marcadores inflamatórios foram considerados 40 pacientes (20 para cada grupo), e foi demonstrado que alguns subgrupos (pacientes com estágio IV e que não

reduziram massa magra durante o estudo) tiveram redução (comparação intra-grupo final vs. basal ou das diferenças de médias entre os grupos) ou menores concentrações (comparação entre os grupos considerando apenas os valores finais), ao final de 9 semanas de suplementação de óleo de peixe, de diversos marcadores inflamatórios (IL-6, IL-8 TNF, PGE₂, PCR). Também foi observada redução dos valores dos índices relação PCR/albumina e RNL, bem como maiores contagens de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos em alguns subgrupos.

Conclusão: As evidências apresentadas pelas meta-análises sugerem uma potencial ação moduladora da inflamação dos AGPI n-3, haja vista que os estudos incluídos, ao serem combinados, demonstraram uma redução de mediadores pró-inflamatórios. Também foi observada alteração nas concentrações das proteínas hepáticas de fase aguda, corroborando com a redução da inflamação. Os achados do ECR também sugerem uma ação de redução da inflamação após a suplementação de 1,55 g/dia de EPA e DHA por 9 semanas, além de ação anticatabólica, repercutindo possivelmente em melhor tolerância à quimioterapia (reduzindo alguns sintomas de efeitos colaterais), melhor estado de composição corporal e menor risco indicado por índices prognósticos. Todavia, observa-se pelo ECR que são alguns subgrupos de pacientes que compartilham algumas características clínicas que se beneficiam.

Palavras-chave: Óleo de peixe; Ácidos graxos poli-insaturados n-3; Quimioterapia; Câncer gastrointestinal; Qualidade de vida; Inflamação; Estado nutricional; Composição corporal; Prognóstico.

ABSTRACT

Background: Cancer can start in an inflamed tissue, as well as the tumor microenvironment is responsible for the cyclical installation and maintenance of an inflammatory state. Inflammatory molecules secreted by different cells (tumor, underlying tissue and immune system) act locally and systemically: on cancer cells, they promote gene instability, activation of antiapoptotic pathways, and, evasion of the anti-cancer immune response and the action of growth suppressive agents, besides stimulating angiogenesis, contributing to survival, tumor growth and dissemination; systemic effects include hormonal and metabolic alterations (acute phase response, increased resting metabolic rate, and, protein and fat breakdown), as well as, appetite loss. The results of this changes include deterioration of nutritional status - with loss of lean mass, lower response to chemotherapeutic agents and increased side effects of treatment, promoting a worsening patient's quality of life and prognosis. Clinical and *in vitro* studies have demonstrated that n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA), especially eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids, exert anti-inflammatory and anti-cachectic activity, as well as, are capable of inducing apoptosis in tumor cells, thus contributing to anti-cancer therapy.

Objective: To evaluate the effects of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) supplementation on inflammatory markers, quality of life, nutritional status, body composition and prognostic indexes in gastrointestinal cancer.

Methods: We made systematic reviews with meta-analysis and a randomized clinical trial to achieve the objectives. In systematic reviews we searched in several databases for controlled clinical trials performed *in vivo* and in humans, and, that assessed the effects of n-3 PUFA supplementation on inflammatory markers in colorectal (CRC) or gastric cancer (GC). The eligibility screening of retrieved studies was made by analysis of their title and abstract, and were selected when the inclusion criteria was fulfilled (the eligibility was guaranteed by full text analysis or by consult to the authors of the study). The eligible studies were judged about risk of bias and had data extracted by the reviewers. The mean values and standard deviation of the outcomes after n-3 PUFA supplementation were introduced in STATA software, and then, were compared with the values of the control group, in order to generate a summary measure (meta-analysis). The second design was a randomized clinical trial, triple blind, performed with gastrointestinal cancer patients, who received fish oil supplementation (intervention group) providing

1.55 g/day of EPA and DHA, or extra virgin olive oil (control group) for the first nine weeks of chemotherapy. In this RCT, before and after the supplementation period, we evaluated: inflammatory markers (cytokines, prostaglandin E₂ - PGE₂, C-reactive protein - CRP) using commercial kits; quality of life through the application of questionnaires validated for cancer population; body composition by the application of electrical bioimpedance; nutritional status through measurement of anthropometric indicators; and the risk provided by prognostic indexes (CRP/albumin ratio and neutrophil-lymphocyte ratio - NLR). For comparison analyzes between study groups in order to find differences in the outcomes assessed, we used appropriated statistical analysis, but also, we considered the clinical relevance of the findings.

Results: *Findings of the systematic reviews and meta-analysis:* We found 18 eligible studies with CRC or GC (nine for each type). Half of them used an immunomodulatory formula as a source of EPA and DHA, and the other half used fish oil (eight studies) or isolated n-3 PUFA (one study). In only four studies n-3 PUFA supplementation occurred in patients receiving chemotherapy. Meta-analysis showed an effect of n-3 PUFA in reducing IL-6 and increasing albumin concentrations (global analyzes), both in CRC and GC studies. Additionally, in GC global meta-analysis, we observed a reduction of TNF- α and an increase of pre-albumin concentrations with n-3 PUFA supplementation. We alert that more than 80% of the included studies had bias confirmed or suspected.

Findings of the RCT: 56 patients were randomized into the study groups at the recruitment period (march/2015 to march/2016). The follow up losses for primary endpoints (inflammatory markers, quality of life, nutritional status and body composition) were \leq 30% (the losses were variable according to the outcome analysed). The results showed that supplementation of n-3 PUFAs during the first nine weeks of chemotherapy prevented the loss of lean mass (clinical inference only) and reduced the symptoms of nausea, vomiting and loss of appetite in the 22 patients allocated to the intervention group, when compared to the 23 control patients. For the inflammatory biomarkers investigated, 40 patients (20 for each group) were analysed. It was shown that some subgroups (patients with stage IV cancer and who did not present loss of lean mass during the study) had a reduction (9 weeks vs. basal), or lower circulating concentrations (intervention grupo vs. control group at 9 weeks) at the end of nine weeks of fish oil supplementation, in various inflammatory markers (IL-6, IL-8 TNF, PGE₂, CRP). We also observed a reduction of CRP/albumin ratio and RNL values, as well as an increase

in total white blood cell count and in the number of neutrophil and lymphocyte cells in some subgroups.

Conclusion: Evidences from meta-analyzes suggests a potential action of n-3 PUFA in contributing to the resolution of inflammation, since the included studies, when combined, demonstrated a reduction of proinflammatory biomarkers. The effects on acute phase proteins (CRP, albumin and prealbumin) also corroborate with the reduction of inflammation. In the same way, the findings from RCT suggest a reducing effect of the fish oil supplementation on inflammation after nine weeks of chemotherapy, as well as an anticatabolic activity, resulting possibly in a better tolerance to chemotherapy (reducing some side effects symptoms), better body composition and lower risk indicated by prognostic indexes. However, the benefits were not observed for all patients that ingested fish oil, it seems that some subgroups of patients with gastrointestinal cancer who share some clinical characteristics experienced the benefits of fish oil supplementation.

Key-Words: Fish oil, n-3 polyunsaturated fatty acids, Chemotherapy, Gastrointestinal cancer, Quality of life, Inflammation, Nutritional status, Body composition, Prognostic

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema da via de biossíntese dos ácidos graxos poli-insaturados EPA e DHA.....	62
Figura 2: Esquema da síntese de eicosanoides derivados de ARA, EPA e DHA.	68
Figura 3: Fluxograma dos passos executados na elaboração das revisões sistemáticas e metanálises.	82
Figura 4: Fluxograma do Ensaio Clínico Randomizado.	88

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Testes e procedimentos de screening para o câncer gastrointestinal.....	36
Quadro 2: Principais fármacos quimioterápicos empregados no tratamento do câncer gastrointestinal.....	38
Quadro 3: Índices prognóstico baseados no estado inflamatório e/ou nutricional do paciente e seu valor preditivo para desfechos em câncer gastrointestinal - evidências a partir de metanálises.	60
Quadro 4: Recomendações globais para o consumo dos AGPI n-3.....	66
Quadro 5: Questionários e suas respectivas escalas para avaliação da qualidade de vida de portadores com câncer.....	103
Quadro 6: Variáveis de exposição, desfechos e de caracterização da amostras e respectiva classificação teórica que foi adotada para as análises estatísticas.	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais características metodológicas dos ensaios clínicos em que a suplementação dos AGPI n-3 ocorreu concomitante a quimioterapia.....	72
Tabela 2: Características do protocolo de suplementação dos AGPI n-3 e resultados obtidos nos ensaios clínicos	72
Tabela 2: Características do protocolo de suplementação dos AGPI n-3 e resultados obtidos nos ensaios clínicos	73
Tabela 3: Informações utilizadas no cálculo do tamanho da amostra e seus respectivos tamanhos amostrais.	87
Tabela 4: Lista de randomização estratificada pela localização tumoral e adaptada à co-variável sexo, gerada pelo software estatístico STATA.	90
Tabela 5: Informação nutricional dos suplementos dietéticos utilizados como intervenção e placebo neste estudo.....	92
Tabela 6: Composição dos suplementos dietéticos e dos óleos vegetais por 10 g e o seu respectivo índice inflamatório.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG – Ácidos graxos
AGPI – Ácidos graxos poli-insaturados
AI – *Adequate Intake* (Ingestão adequada)
AINEs – anti-inflamatórios não esteroidais
ALA – *Alfa-Linoleic acid* (Ácido alfa-linolênico)
ALB – albumina
ARA – Ácido Araquidônico
ARG – arginina
ATP – *Adenosine Triphosphate* (adenosina trifosfato)
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CB – circunferência do braço
CBA – *Cytometric Bead Array* (ensaio citométrico de esferas ordenadas - citometria de fluxo)
CCB – Centro de Ciência Biológicas
CCR – Câncer Colorretal
CD(s) – Células dendrítica(s)
Células T CD4(+) – linfócitos T helper/auxiliares (Th)
Células T CD8(+) – linfócitos T citotóxicos
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
CEPON – Centro de Pesquisas Oncológicas
CG – Câncer gástrico
COX – Ciclo-oxigenase
DCT – Dobra Cutânea Tricipital
DHA – *Docosahexaenoic Acid* (Ácido Docosahexaenoico)
DM – Diabetes mellitus
DNA – ácido desoxirribonucleico
DRI's – *Dietary Reference Intake* (Ingestão dietética recomendada)
DST's – Doenças sexualmente transmissíveis
ECR – Ensaio Clínico Randomizado
EET - epóxi-eicosatrienóico
EGF – *Epidermal Growth Factor* (Fator de crescimento epidérmico)
ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ensaio imunoenzimático)
EORTC – *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (Organização Européia para a Pesquisa e Tratamento do cancer)
EPA – *Eicosapentaenoic Acid* (Ácido Eicosapentaenoico)
ESPEN – *The European Society for Clinical Nutrition and Metabolism*
EUA – Estados Unidos da América
GC – grupo controle

GLU – glutamina
GM-CSF – *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor* (Fator estimulante de colônias de macrófagos granulócitos)
GPR120 – *G Protein Coupled Receptor 120* (Receptor acoplado a proteína G 120)
GO – grupo ômega-3
HGF – *Hepatocyte Growth Factor* (Fator de crescimento para hepatócitos)
HIF– *Hypoxia-Inducible Factor* (Fator induzido por hipóxia)
HIV – *Human Immunodeficiency Virus* (Vírus da imunodeficiência humana)
HMGB – *High-mobility Group Protein* (Grupo de proteínas de alta mobilidade)
HPETE - hidroperoxieicosatetraenóicos
HPV – *Human papillomavirus* (Papilomavírus humano)
H. pylori – *Helicobacter pylori*
ICAM – *Intercellular Adhesion Molecule* (Molécula de adesão intercelular)
IFN – *Interferon* (Interferon)
I κ B – proteína I-kappa B
IL – *Interleukin* (Interleucina)
IMC – Índice de Massa Corpórea
INCA – Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
iNOS – *Nitric Oxide Synthase inducible isoform* (Óxido nítrico sintase - forma induzida)
JAK – Janus quinase
LMF – *Lipid Mobilizing Factor* (fator mobilizador de lipídios)
LT – Leucotrieno
LOX – lipoxigenase
MAPK - Proteínas quinases ativadas por mitógenos
MCP – *Monocyte Chemoattractant Protein* (proteína quimioatraente para monócitos)
MMP – *Matrix Metalloproteinase* (metaloproteinases de matriz)
mRNA – *Messenger Ribonucleic Acid* (Ácido ribonucleico mensageiro)
MyD88 – *Myeloid Differentiation Factor 88* (Fator de diferenciação mielóide 88)
NF- κ B – *Nuclear Factor - Kappa B* (Fator de Transcrição nuclear kappa B)
NK – célula natural *Killer*
NO – *Nitric Oxide* (Óxido nítrico)
NO• – Radical óxido nítrico

NR – Não reportado
NPY – neuropeptídeo Y
PA – Peso atual
PCR – Proteína C-reativa
PG - Prostaglandina
PIF – *Proteolysis-inducing factor* (fator indutor de proteólise)
PPAR – *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors* (Receptores ativados por proliferadores de peroxissomas)
PPGN – Programa de Pós-Graduação em Nutrição
PUFA – *Polyunsaturated Fatty Acids* (ácidos graxos poli-insaturados - AGPI)
QOL – *Quality of Life* (qualidade de vida)
QTx – quimioterapia
RDT - Radioterapia
RNA – *Ribonucleic Acid* (Ácido ribonucleico)
RNS – *Reactive Nitrogen Species* (espécies reativas de nitrogênio)
RNL – Razão neutrófilo-linfócito
ROS – *Reactive Oxygen Species* (espécies reativas de oxigênio)
Rv - resolvína
STAT – *Signal Transducer and Activator of Transcription* (Sinal de Tradução e Ativação de Transcrição)
TCM – Triglicerídeos de cadeia média
TGF – *Transforming Growth Factor* (Fator de crescimento transformador)
TGI – trato gastrointestinal
Th – Linfócito T helper/auxiliar (cél TCD4+)
TLR – *Toll Like Receptor* (Receptores do tipo Toll like)
TNF – *Tumor Necrosis Factor* (Fator de Necrose Tumoral)
TNFR – *Tumor Necrosis Factor Receptor* (receptores para TNF)
T_{reg} – Células T reguladoras
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
UL – *Tolerable Upper Intake Level* (Limite máximo de ingestão segura)
VCAM – *Vascular Cell Adhesion Molecule* (molécula de adesão á células vasculares)
VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor* (Fator de Crescimento Vascular Endotelial)
WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1	DEFINIÇÕES ADOTADAS.....	27
2.2	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DO CÂNCER GASTROINTESTINAL.....	31
2.3	SCREENING, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER GASTROINTESTINAL	34
2.4	INFLAMAÇÃO E CÂNCER.....	40
2.4.1	Visão geral	40
2.4.2	Inflamação e câncer colorretal	47
2.4.3	Inflamação e câncer gástrico.....	50
2.5	CÂNCER, INFLAMAÇÃO E SEUS EFEITOS SOBRE O ESTADO NUTRICIONAL, COMPOSIÇÃO CORPORAL E QUALIDADE DE VIDA	53
2.6	ÍNDICES PROGNÓSTICOS INFLAMATÓRIOS E NUTRICIONAIS COMO PREDITORES DE DESFECHOS NO CÂNCER GASTROINTESTINAL	59
2.7	ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS n-3	59
2.7.1	Aspectos bioquímicos e metabólicos	59
2.7.2	Consumo dos AGPI n-3 e recomendações dietéticas	65
2.7.3	Implicações dos AGPI n-3 sobre a inflamação e o câncer	67
2.7.4	Evidências geradas a partir de ensaios clínicos realizados com humanos	70
3	JUSTIFICATIVA, ORIGINALIDADE, RELEVÂNCIA E CONTRIBUIÇÃO CIENTÍFICA	75
4	OBJETIVOS	77
4.1	OBJETIVO GERAL.....	77
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	77

5	HIPÓTESES.....	79
6	MATERIAIS E MÉTODOS	81
6.1	REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E METANÁLISE.....	81
6.2	ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO	84
6.2.1	Tipo de estudo.....	84
6.2.2	Participantes do estudo	84
6.2.2.1	Cálculo do tamanho da amostra.....	86
6.2.3	Desenho do estudo.....	86
6.2.4	Randomização dos participantes.....	89
6.2.5	Suplementos dietéticos	91
6.2.6	Mascaramento.....	94
6.2.7	Instrumentos e técnicas de coleta de dados.....	95
6.2.7.1	Caracterização dos indivíduos	96
6.2.7.2	Coleta e preparo do material biológico.....	97
6.2.7.3	Determinação de marcadores inflamatórios.....	97
6.2.7.4	Avaliação do estado nutricional.....	98
6.2.7.4.1	Antropometria.....	98
6.2.7.4.2	Indicadores do estado nutricional	99
6.2.7.5	Obtenção dos parâmetros imunitários.....	100
6.2.7.6	Determinação dos índices prognósticos.....	100
6.2.7.6.1	Relação PCR/albumina.....	100
6.2.7.6.2	Razão neutrófilo-linfócito (RNL).....	100
6.2.7.7	Determinação da composição corporal.....	101
6.2.7.8	Mensuração da qualidade de vida durante o tratamento	102
6.2.8	Tratamento e análise dos dados	105
6.2.8.1	Variáveis de exposição e desfecho	105
6.2.8.2	Análises estatísticas	105

6.2.8.3	Aspectos éticos do estudo	109
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	111
7.1	ARTIGO 1	112
7.2	ARTIGO 2	112
7.3	ARTIGO 3	112
7.4	ARTIGO 4	113
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	169
	REFERÊNCIAS	175
	APÊNDICES.....	201
	Apêndice A – Formulário de coleta e registro de dados.....	201
	Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.	202
	ANEXOS	205
	ANEXO A – Protocolos quimioterápicos instituídos no Centro de Pesquisas Oncológicas, Florianópolis, SC, no período de recrutamento dos pacientes.	205
	ANEXO B – Laudo laboratorial da análise da composição dos suplementos dietéticos utilizados neste estudo.....	212
	ANEXO C – Questionários para avaliação da qualidade de vida.	214
	ANEXO D – Parecer de aprovação da pesquisa emitido pelo CEP-CEPON – 2014.....	222

1 INTRODUÇÃO

O câncer representa atualmente uma das principais causas de morte por doenças crônicas em todo o mundo de tamanho impacto para o indivíduo, sua família e para a sociedade. Estima-se que em 2015, aproximadamente 8,8 milhões¹ de pessoas morreram vítimas de câncer e que 30-50% dos casos poderiam ser prevenidos por meio da adoção de hábitos/estilos de vida saudáveis, incluindo práticas alimentares e de atividade física, o não uso de tabaco e práticas de autocuidados de saúde, ou ainda, pela imunização contra agentes infecciosos causadores câncer (WHO, 2017).

O surgimento de células tumorais em sítios de inflamação foi descrito pela primeira vez em 1863 por Rudolf Virchow, o qual observou que os tumores sempre estavam fixados em locais de inflamação crônica (BALKWILL; MANTOVANI, 2001). Todavia, não só o câncer pode estar inserido em um macroambiente inflamatório, mas como o próprio tumor representa um microambiente com características de inflamação (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010). Estas características incluem a presença de células e mediadores inflamatórios, remodelação tecidual, e, angiogênese (BALKWILL; CHARLES; MANTOVANI, 2005). Acredita-se que aproximadamente 20% de todos os tumores são originários a partir de uma reação inflamatória crônica (GRIVENNIKOV; KARIN, 2011).

As células imunes e os mediadores inflamatórios são detectados na maioria, se não em todos os cânceres, independentemente da inflamação extrínseca estar ou não implicada em seu desenvolvimento. Uma das razões para esta alta prevalência de mediadores inflamatórios é que as alterações oncogênicas nas células levam à indução de vias inflamatórias em células pré-malignas e malignas. Assim, não só a inflamação pode causar câncer, mas o câncer também causa inflamação. Estes mediadores secretados (incluem citocinas, quimiocinas e prostaglandinas) no microambiente tumoral coordenam respostas pró-inflamatórias, que podem atuar de forma autócrina, parácrina e/ou endócrina, dentro e fora do tecido tumoral (CRUSZ; BALKWILL, 2015).

Além disso, o próprio tratamento da doença, ao utilizar agentes terapêuticos citotóxicos ou técnicas invasivas, resulta em um estado caracterizado pela migração e ativação de leucócitos e reações

¹ Dentre os tipos de câncer que mais matam, os cânceres colorretal e gástrico estão entre as primeiras cinco posições do rank, tanto para homens quanto para mulheres (WHO, 2017).

bioquímicas sinalizadas pela produção de quimiocinas e citocinas, estimulando uma resposta inflamatória local e sistêmica e, desta forma, contribuindo com a inflamação relacionada ao câncer (SCHWENK et al., 2000; HAGEMANN; BALKWILL; LAWRENCE, 2007). Adicionalmente, a hipóxia ocasionada pelo desequilíbrio entre a oferta de oxigênio pela vasculatura e a demanda pelo tumor em contínuo e rápido crescimento, mediante o fator induzido por hipóxia (HIF), fornece estímulo adicional para a concretização de um ambiente inflamatório associado ao tecido tumoral (MAMLOUK; WIELOCKX, 2013).

São várias as consequências de uma resposta inflamatória exacerbada associada ao câncer, dentre as quais destaca-se: crescimento e sobrevivência do tumor; invasão, migração e metástases de células tumorais; resposta alterada a hormônios e agentes quimioterápicos e; maior toxicidade à quimioterapia (MANTOVANI et al., 2008). Estas consequências, por sua vez, impactam em alterações do metabolismo de nutrientes e menor consumo alimentar, resultando rotineiramente na perda de peso involuntária e depleção de massa muscular, ou seja, promove deterioração do estado nutricional com alteração da composição corporal. Como resultado final desta intrincada teia de relações, tem-se a diminuição da capacidade funcional do indivíduo assim como maior sintomatologia, impactando na sua percepção de bem-estar geral e pior prognóstico clínico, assim como, pior qualidade de vida (ARGILES, 2005; NICOLINI et al., 2013).

A compreensão da inflamação relacionada ao câncer continua a aumentar e estamos começando a traduzir esse conhecimento para o desenvolvimento de alvos terapêuticos da imunidade e/ou inflamação. Estudos clínicos demonstraram que a ingestão de ácidos graxos poli-insaturados da família n-3 (AGPI n-3), especialmente os ácidos graxos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA), são capazes de modificar reações autoimunes e inflamatórias suprimindo a transformação neoplásica, a angiogênese e o crescimento de células tumorais, assim como promovem uma série de desfechos positivos como ganho de peso, redução da toxicidade ao fármaco quimioterápico, melhor resposta à quimioterapia e melhora da qualidade de vida no indivíduo oncológico (DEGRAFFENRIED et al., 2003; HARDMAN, 2004; VAN DER MEIJ, et al. 2013; ELTWERI et al., 2017).

EPA e DHA, encontrados principalmente no óleo de peixe, são rapidamente incorporados aos fosfolípidos de membrana de células imunitárias e tumorais sugerindo potenciais alterações nas suas funções em virtude da modificação na composição da membrana, influenciando, especialmente a sinalização intracelular (SIMOPOULOS, 2002).

Contudo, EPA e DHA ainda são precursores de moléculas com ação anti-inflamatória, dentre os quais, os mais investigados são os eicosanoides derivados das vias da ciclo-oxigenase (COX) e da lipoxigenase (LOX) (CALDER, 2015).

No entanto, apesar do número considerável de estudos que avaliaram os efeitos dos AGPI n-3 nos diferentes tipos de câncer, não parece haver um consenso nos resultados encontrados. Sugere-se que essa discrepância se deva aos diferentes protocolos implementados e as diferentes características clínicas dos pacientes que compartilham de um mesmo tipo de câncer. Não se tem até o momento, recomendações específicas no que tange dose e tempo de suplementação, visando contribuir com o tratamento anticâncer, muito embora, várias entidades nacionais e internacionais como o INCA e a ESPEN, por exemplo, cite estes ácidos graxos como possíveis adjuvantes em seus *guidelines*.

Uma grande parte dos estudos que embasam estes apontamentos de adjuvância foram realizados com fórmulas imunomoduladoras. Estas fórmulas representam suplementos completos, isto é, contendo carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, que são enriquecidos (concentrados) em AGPI n-3 e outros agentes dietéticos considerados imunomoduladores com arginina, glutamina e nucleotídeos. Nestes estudos, os resultados encontrados não podem ser totalmente atribuídos aos AGPI n-3. Também, a de se considerar que a maior parcela de estudos foi realizada em situação de cirurgia, havendo escassez maior do entendimento dos efeitos destes agentes em pacientes recebendo quimio e/u radioterapia.

Desta forma, visando contribuir com o entendimento da ação dos AGPI n-3 sobre o câncer executamos este estudo baseado na seguinte problemática: *quais são os efeitos da suplementação de EPA e DHA sobre marcadores de inflamação, o estado nutricional, a composição corporal, a qualidade de vida e índices prognósticos de indivíduos com câncer gastrointestinal?*

Com o intuito de descrever os mecanismos pelos quais os AGPI n-3 podem ser considerados adjuvantes no tratamento do câncer e na tentativa de responder parcialmente esta pergunta, apresentamos este trabalho estruturado da seguinte forma: Após estas considerações iniciais, descreveremos a revisão da literatura sobre as temáticas inflamação, câncer, AGPI n-3, estado nutricional e qualidade de vida, e, suas interrelações na próxima seção. A seguir, apresentamos a justificativa e originalidade deste estudo, bem como, as contribuições científica e social (seção três); os objetivos propostos (seção quatro); e, as hipóteses pré-estabelecidas (seção cinco). Os métodos empregados na execução deste

estudo estão descritos detalhadamente na sexta seção. Na sequência (seção 7), são apresentados os resultados obtidos acompanhados da discussão acerca². Por fim, com base em experiências dos pesquisadores, associados aos resultados obtidos, são descritas as considerações finais, sequenciadas pelos elementos pós-textuais (referências, apêndices e anexos).

² Os resultados e a discussão estão apresentados na forma de artigos científicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DEFINIÇÕES ADOTADAS

Para melhor entendimento deste estudo adotamos as definições apresentadas a seguir para corresponder aos seus respectivos termos principais:

- Ácidos graxos poli-insaturados n-3 (AGPI n-3): representam uma família de ácidos graxos que compartilham a primeira insaturação no carbono de número três (designação bioquímica “n” ou “ω” cuja contagem da cadeia carbônica se inicia do grupo metil terminal e progride em direção ao grupo hidroxila) (HARDMAN, 2004). Dentre os ácidos graxos presentes nesta família, destacamos a ácido graxo essencial linolênico (ALA; 18:3n-3) e os ácidos graxos sintetizados endogenamente a partir do ALA, o eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3) e o docosahexaenoico (DHA; 22:6n-3). Principais fontes dietéticas destes ácidos graxos incluem: ALA: óleos de soja, linhaça e de canola; EPA e DHA: óleo de algas, de peixes de águas profundas e fria e de krill (DECKELBAUM; TORREJON, 2012). Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA), EPA, DHA, fish oil, marine oil* e suas variações de escrita.
- Angiogênese: processo de formação de novos vasos sanguíneos a partir de um pré-existente (HERTIG, 1935 *apud* PARDANAUD; YASSINE; DIETERLEN-LIEVRE, 1989).
- Câncer: é o termo comum usado para representar todos os tumores malignos. Tumor, por sua vez, sinônimo de neoplasma, é uma massa anormal de tecido, cujo crescimento ultrapassa e não é coordenado com o dos tecidos normais, persistindo da mesma maneira excessiva após a interrupção dos estímulos que deram origem a mudança (WILLIS, 1952). Podem invadir outros tecidos e se disseminar organicamente pelas vias sanguíneas e linfáticas, cujo processo é chamado de metástase (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017). Para fins deste trabalho, é pertinente a definição de alguns dos tipos citológicos de tumores de acordo com o *National Cancer Institute* (2017):

- Carcinoma: tumor maligno que acomete a pele ou tecidos que recobrem/revestem as estruturas internas/órgãos, de crescimento lento;
- Adenocarcinoma: tumor maligno que se desenvolve em células glandulares secretoras que revestem certas estruturas/órgãos interno;
- Sarcoma: tumor maligno que se desenvolvem nos ossos ou partes moles do organismo (cartilagem, gordura, músculo, vasos sanguíneos, tecidos fibrótico ou conjuntivo);
- Linfoma: tumor maligno que se desenvolve em células do sistema imunitário, acometendo especialmente linfócitos.

Termos em língua inglesa sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *cancer, tumor, neoplasm*.

- Câncer gastrointestinal: grupo de tumores malignos que se desenvolvem na porção anatômica que se estende do estômago até o intestino grosso (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017). Para fins deste trabalho, resolvemos incluir neste grupo o câncer de reto e de canal anal, uma vez que dão sequência às estruturas anatômicas subjacentes ao intestino. Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *gastrointestinal, gastric, stomach, colorectal, colon, rectal, anal, instestinal* e suas diversas variações de escrita.
- Citocinas: pequenas proteínas liberadas pelas células, especialmente leucócitos, com função de interação e comunicação entre as células. Fazem parte desta categoria as quimiocinas (citocinas com atividades quimiotáticas) e as interleucinas. As citocinas podem atuar sobre as células que as produzem e secretam (ação autócrina), nas células próximas (ação parácrina) ou, em alguns casos, em células distantes (ação endócrina). É comum que diferentes tipos de células secretem a mesma citocina ou que uma única citocina interaja com diferentes tipos de células (pleiotropia). As citocinas são redundantes em sua atividade, o que significa que funções similares podem ser estimuladas por diferentes citocinas. Muitas vezes, elas são produzidas em cascata, uma vez que uma citocina estimula suas células alvo para produzir citocinas adicionais. As citocinas também podem atuar de forma sinérgica ou antagônica

(ZHANG; AN, 2007). Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *cytokine, interleukin* e algumas citocinas específicas como TNF e VEGF.

- Composição corporal: proporção dos compartimentos ósseo, muscular, visceral, hídrico e gorduroso do corpo humano. Muitas vezes a análise da composição corporal é dividida em apenas dois compartimentos (“tecido gorduroso” e “tecido livre de gordura” ou “tecido magro”) dependendo da capacidade do método de avaliação em distinguir os compartimentos corporais supramencionados (WANG; PIERSON; HEYMSFIELD, 1992). Este conceito está intimamente relacionado ao conceito de estado nutricional, uma vez que é o resultado final do processo de ingestão dietética. Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *body composition, fat mass, free fat mass, muscle mass, lean mass*.
- Estado nutricional: representa o estado de saúde e metabólico de um indivíduo decorrente da ingestão dietética de nutrientes. Um estado nutricional adequado existe quando a ingestão dietética for suficiente para cobrir as necessidades nutricionais do indivíduo, sem excedê-las. O contrário, isto é, estado nutricional inadequado é caracterizado pela ingestão dietética insuficiente ou excessiva. Estas deficiências ou excessos geram inicialmente alterações metabólicas na utilização de nutrientes, as quais, por sua vez, resultam em alterações nos tecidos corporais (JEEJEEBHOY; DETSKY; BAKER, 1990). Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *nutritional status, malnutrition, obesity, cachexia*.
- Índices prognósticos: na ausência de um conceito, sugerimos a seguinte definição tomando como base os conceitos de prognóstico médico e de índices preditivos: previsão de um provável desfecho de uma doença com base na condição do indivíduo e no curso habitual da doença como observado em situações semelhantes, utilizando para tanto, características/variáveis do paciente que são introduzidas em um modelo estatístico para gerar um índice com maior valor preditivo para determinado desfecho. Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *prognostic index, clinical prognostic*.

- Inflamação: representa um mecanismo inespecífico de defesa do organismo. Trata-se de uma reação complexa a vários agentes nocivos que consiste de respostas vasculares, migração e ativação de leucócitos, e, reações sistêmicas (ROBBINS; KUMAR; COTRAN, 2010). As moléculas que participam deste processo, seja, direcionando o processo inflamatório, ou sendo um produto desta reação, são consideradas mediadores/marcadores inflamatórios. Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *inflammation, interleukin, cytokine, acute phase protein* e suas variações de escrita;
- Proteína de fase aguda: proteína cuja concentração plasmática aumenta (proteínas de fase aguda positiva – exemplos: PCR, ceruloplasmina e amiloide C sérico) ou diminui (proteínas de fase aguda negativa – Exemplos: albumina e pré-albumina) por pelo menos 25% durante eventos inflamatórios. As alterações nas concentrações de proteínas de fase aguda são em grande parte devido a mudanças na sua produção por hepatócitos (MORLEY, KUSHNER, 1982). Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *acute phase protein, CRP, albumin*.
- Qualidade de vida: percepção de um indivíduo sobre sua posição na vida considerando a cultura e os valores nos quais ele vive, bem como, seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações. É um conceito amplo que é afetado de forma complexa pela capacidade física, estado psicológico, nível de independência, relações sociais e sua relação com as características marcantes do ambiente onde vive (THE WORLD HEALTH ORGANIZATION QUALITY OF LIFE ASSESSMENT, 1995; 1998). Termos em língua inglesa e sinônimos utilizados nas buscas por referências nas bases de dados: *quality of life, status performance*.
- Quimioterapia: representa uma das linhas do tratamento antineoplásico de ação sistêmica. São empregados fármacos que interferem no ciclo celular, inibindo a replicação das células e estimulando a apoptose (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016). Alguns tipos de fármacos antineoplásico, desenvolvidos recentemente, apresentam certa seletividade às células tumorais, o que é de grande valia, pois minimiza seus efeitos deletérios sobre as células normais, causa esta dos efeitos colaterais da

quimioterapia. Termos em língua inglesa utilizado nas buscas por referências nas bases de dados: *chemotherapy*.

- Resposta Th₁ e Th₂: representa um padrão na produção de citocinas por linfócitos T da subclasse CD4⁺ (linfócitos T auxiliares). Resposta do tipo Th₁ é caracterizada pela produção de citocinas pró-inflamatórias que coordenam a defesa contra parasitas intracelulares, especialmente vírus, e que estão envolvidas nas respostas auto-imunes, sendo o interferon-gama (IFN- γ), a principal citocina desta resposta. As citocinas do tipo Th₂ incluem as interleucinas 4, 5, e 13, que estão associadas com a promoção de respostas por linfócitos B produtores de Imunoglobulina E e por eosinófilos, além da interleucina-10, que exerce atividade anti-inflamatória. Em excesso, a resposta Th₂ inibe a ação microbicida mediada por Th₁ (BERGER, 2000). Termos em língua inglesa utilizado nas buscas por referências nas bases de dados: *inflammation, cytokines, interleukin, interferon (IFN)*.

2.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DO CÂNCER GASTROINTESTINAL

Os dados do mais recente estudo sobre a epidemiologia do câncer em nível mundial, realizado pela compilação das estatísticas de registros de câncer de 184 países no ano de 2012, inclusive do Brasil, chamado de projeto GLOBOCAN 2012, atribuem ao câncer gástrico a quinta posição e ao câncer colorretal, a terceira posição no *ranking* dos tipos mais incidentes, correspondendo por cerca de 2,3 milhões (15%) dos casos de câncer registrados naquele ano (FERLAY et al., 2013).

Os dados ainda revelam uma redução nas taxas de incidência do câncer colorretal na população de países desenvolvidos, historicamente caracterizados como sendo os mais acometidos: Estado Unidos, Canadá, Austrália, Nova Zelândia e França, e um aumento constante nos países em desenvolvimento, se destacando Filipinas, Tailândia, Colômbia e Costa Rica. Eslováquia e Espanha, apesar de serem países desenvolvidos merecem destaque, uma vez que nos últimos 40 anos, as taxas de incidência deste tipo de câncer mais que dobraram na população masculina (FERLAY et al., 2013). Ao contrário do câncer colorretal, o câncer gástrico apresenta maior incidência em países em desenvolvimento (70% dos casos em 2012), sendo duas vezes mais frequente em homens do que mulheres. Metade dos casos totais ocorreram na Ásia oriental, especialmente na China. Todavia, sua taxa de

acometimento da população, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, vem caindo gradativamente desde 1975 quando se iniciou o acompanhamento dos dados estatísticos mundiais sobre o câncer. Atualmente, as maiores taxas são observadas no Japão, China, Costa Rica e Colômbia (FERLAY et al., 2013).

As taxas de mortalidade em ambos os tipos de cânceres são semelhantes (8,8% do total para câncer colorretal, e 8,5%, para câncer gástrico). Tanto para homens como para mulheres, a taxa de mortalidade por câncer gástrico tem-se reduzido constantemente nos últimos 40 anos na maioria dos países, e isto pode ser atribuído ao *screening* e/ou tratamentos mais eficazes, à redução do uso de tabaco, ao maior acesso a frutas e vegetais frescos e ao menor consumo de alimentos salgados e enlatados, além, de redução dos casos de infecção por *H. pylori* devido a melhora das condições de saneamento e ao uso de antibióticos. Contudo, a mortalidade por câncer colorretal ainda é crescente em países como Espanha, Colômbia, Costa Rica e República da Korea, onde observa-se um concomitante aumento da prevalência da obesidade nestes países, e em particular, uma ocidentalização dos hábitos alimentares na República da Korea (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015; FERLAY et al., 2013).

Na população brasileira, a incidência do câncer é estimada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) pela publicação do documento intitulado “Estimativa da Incidência de Câncer no Brasil”, sendo o mais recente, o documento publicado em 2015, que fornece perspectivas numéricas para os anos de 2016 e 2017 (BRASIL, 2015). Para fins de análise de tendência também serão apresentadas as taxas esperadas para os anos 2014 e 2015 (BRASIL, 2014).

Espera-se para o país no biênio 2016-2017, segundo o INCA, 34.280 novos casos de CCR (um aumento de aproximadamente 1.700 casos quando comparado com o biênio 2014-2015) e 20.520 de CG (um aumento de 130 casos na comparação com o biênio anterior). Considerando a prospecção por região geográfica espera-se/eram esperados (casos biênio 2016-2017/2014-2015): Região Sul: 6.610/6.060 novos casos de CCR e 3.720/3.490 de CG; Santa Catarina = 1.090/970 novos casos de CCR e 850/780 de CG; e Florianópolis = 90/130 novos casos de CCR e 50/50 de CG. As demais localizações (canal anal e intestino delgado) não apresentam estimativas isoladas por estes documentos.

As taxas de incidência sugerem que o risco de CCR aumenta com a idade (mais de 90% dos casos são diagnosticados em indivíduos com faixa etária maior ou igual a 50 anos) (FERLAY et al., 2013). Outros

estudos mostram que fatores modificáveis como obesidade, sedentarismo, dieta rica em carne vermelha ou processada, elevado consumo de álcool, tabagismo e baixa ingestão de frutas e legumes aumentam as chances de desenvolvimento deste tipo de câncer. Fatores hereditários que incluem história pessoal ou familiar de CCR e/ou pólipos, história pessoal de doença inflamatória crônica do intestino, e certas doenças genéticas hereditárias (por exemplo, síndrome de Lynch, e polipose adenomatosa familiar) também são fatores de risco. Por outro lado, o consumo de alimentos fontes de cálcio e de níveis mais altos de vitamina D parece desempenhar efeito protetor contra o CCR. Esta proteção também é conferida com o uso regular de anti-inflamatórios, como aspirina e com terapia hormonal na menopausa (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017b; 2017; SONG; GARRETT; CHAN, 2015).

Mais de 50% dos casos de câncer de estômago pode ser atribuída à infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), bactéria esta, que pode ser transmitida de pessoa para pessoa através de rotas fecal-oral ou por via oral-oral. Fontes de transmissão ambientais incluem água contaminada com dejetos humanos (PARKIN, 2006; YOON; KIM, 2015). Fatores de risco de ordem alimentar para este tipo de câncer incluem consumo de dietas ricas em alimentos defumados, carne ou peixe “hiper salgados” para serem conservados e vegetais em conserva. Por outro lado, consumir frutas e legumes frescos pode reduzir o risco. O uso de tabaco também aumenta o risco, especialmente para o desenvolvimento de tumores na porção superior do estômago, mais próximo do esôfago (AMERICAN CANCER SOCIETY 2017c; 2016; YOON; KIM, 2015).

O câncer anal é raro e representa de 1 a 2% de todos os tumores do cólon e de 2 a 4% de todos os tipos de câncer que acometem o intestino grosso. Dieta balanceada, com boa ingestão de frutas, legumes e verduras e pobre em gordura pode prevenir o câncer anal. Algumas infecções, como as causadas pelo papilomavírus humano (HPV) e pelo HIV (vírus da imunodeficiência humana), são apontadas como responsáveis pelo aumento da incidência de tumores anais. Outras doenças sexualmente transmissíveis (DST's), como condilomatose, gonorreia, herpes genital e clamídia, assim como a prática do sexo anal, o tabagismo e a fístula anal crônica são relacionadas ao desenvolvimento desse tipo de câncer (SALATI; AL KADI, 2012; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017a).

Os tumores que podem acometer o intestino delgado podem ser do tipo carcinoide (35 a 42% dos casos), adenocarcinoma (30 a 40% dos casos), linfoma (15 a 20% dos casos), ou ainda, sarcoma (10 a 15% dos casos). Acredita-se que o seu processo de carcinogênese se assemelha ao do câncer colorretal. Fatores promotores já identificados incluem: idade

maior que 60 anos; ingestão excessiva de álcool e uso de tabaco; presença de alergia ou enteropatia sensível ao glúten, bem como de doença de Crohn, ou de qualquer outra doença inflamatória intestinal; e causas hereditárias como polipose adenomatosa familiar, Síndromes de Lynch e de Peutz-Jeghers e fibrose cística. Por outro lado, dieta rica em fibra alimentar pode ser um fator de proteção para o desenvolvimento deste tipo de câncer (PAN; MORRISON, 2011; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017d).

2.3 *SCREENING*, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER GASTROINTESTINAL

Os cânceres que se desenvolvem na região gastrointestinal, de maneira geral, não apresentam sinais e sintomas nos estágios iniciais, dificultando sua identificação e reduzindo as chances de cura. Em virtude disto, a triagem recebe uma grande importância na detecção precoce destes tipos de câncer. Os procedimentos de triagem normalmente são realizados em indivíduos com um ou mais fatores de risco ou que apresentam sinais e sintomas sugestivos da presença de câncer e estão definidos dentro de políticas públicas de cada país (LAMBERT, 2012). Entretanto, a *American Cancer Society* orienta que todo indivíduo com 20 anos de idade ou mais deva procurar por, ou, receber visitas frequentes de profissionais de saúde para, procedimentos de cuidados de saúde, e que neste momento o profissional deva examiná-lo em busca de sinais e sintomas que possam sugerir alteração da morfologia ou função dos órgãos e sistemas orgânicos, partindo então, para exames mais precisos de diagnóstico e, deve também, realizar o aconselhamento para a adoção de práticas e hábitos que possam reduzir as chances de desenvolvimento de câncer (SMITH et al., 2014).

Sintomas compartilhados pelos cânceres abrangidos no grupo gastrointestinal incluem: dor na região acometida, especialmente após a ingestão de alimentos (estômago) ou quando da passagem do bolo fecal (intestinos e canal anal); perda de peso não intencional; fraqueza e fadiga refratária à redução da contagem total de eritrócitos, ocasionada normalmente pela perda de sangue (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017a; b; c; d). Sintomas específicos podem ocorrer normalmente nos estágios mais avançados, como: sangramento retal, sangue nas fezes, mudança no hábito intestinal, cólicas e dor no abdome inferior no câncer de cólon e reto (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017b); rápida plenitude após a ingestão de pequenas refeições, azia ou má-digestão, náusea e vômitos sanguinolentos e acúmulo de líquido no abdome no

câncer gástrico (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017c); sangramento e/ou prurido retal, nódulo ou massa celular na abertura anal, estreitamento das fezes, e, inchaço dos gânglios linfáticos na região anal e na virilha no câncer anal (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017a).

Os testes/exames atualmente empregados para a triagem diagnóstica de câncer gastrointestinal, bem como, alguns testes sugeridos em estudos científicos com alta perspectiva para o procedimento de *screening*, uma vez que apresentam boa sensibilidade e especificidade diagnóstica, estão apresentados no quadro que segue.

Para a confirmação do diagnóstico de câncer e identificação do tipo citológico é necessária a análise por biópsia. Neste procedimento uma amostra do suposto tecido tumoral é removida do indivíduo e analisada microscopicamente para averiguação do tamanho e da forma da célula e do seu respectivo núcleo, podendo assim, estabelecer o seu grau de diferenciação celular (anaplasia) comparado às células do mesmo tecido consideradas normais.

Com base nas informações disponibilizadas nos exames físicos, endoscópicos e por imagem, e na biópsia, os tumores são classificados em estágios (clínicos e/ou patológicos) considerando critérios universais, os quais dizem respeito sobre a extensão da infiltração tumoral e da disseminação para linfonodos e outros órgãos. Na ausência de cirurgia, o estadiamento tumoral é considerado clínico, enquanto que o emprego de procedimentos cirúrgicos, os quais permitem avaliar melhor a extensão da infiltração tumoral, associado às informações fornecidas pelos procedimentos diagnósticos utilizados no estadiamento clínico, o estadiamento tumoral é então denominado patológico. O sistema de estadiamento tumoral mais empregado atualmente foi desenvolvido pela *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* em conjunto com a *Union for International Cancer Control (UICC)* – Sistema TNM – e considera quatro fatores principais: 1) localização primária do tumor; 2) tamanho e extensão da infiltração tumoral; 3) quantidade de linfonodos comprometidos; e, 4) presença ou ausência de metástase em áreas distantes. A importância desta etapa consiste em auxiliar o profissional oncologista no estabelecimento de um prognóstico, bem como, do plano terapêutico mais apropriado para o indivíduo portador de câncer (COMPTON et al., 2012).

Quadro 1: Testes e procedimentos de *screening* para o câncer gastrointestinal.

Câncer	Exame/teste utilizado	Exame/teste em perspectiva	Referência(s)
<i>Estômago*</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Endoscopia - Exame de contraste radiológico - Tomografia computadorizada - Ressonância magnética - Ecoendoscopia 	<ul style="list-style-type: none"> - Pepsinogênios séricos - Anticorpo <i>H. pylori</i> - Citotoxina associada ao gene A (cagA) - Gastrina-17 (G-17) 	HAMASHIMA, 2014; PASECHNIKOV et al., 2014; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017c
<i>Intestino delgado*</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Endoscopia - Exame de contraste radiológico - Tomografia computadorizada - Ressonância magnética 		AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017d
<i>Côlon e reto</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Pesquisa de sangue oculto nas fezes - Sigmoidoscopia flexível - Contraste duplo enema - Colonoscopia - Ressonância magnética - Colonoscopia virtual - Ultrassom 	<ul style="list-style-type: none"> - Testes de DNA fecal 	SMITH et al., 2014; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017b
<i>Canal anal*</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Toque retal - Papanicolau anal - Anoscopia - Tomografia computadorizada - Ultrassom - Ressonância magnética 		LISZEWSKI et al., 2014; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017a

* Apesar de serem propostos, na prática clínica o *screening* para estes tipos de câncer só é realizado quando da suspeita, ao contrário do câncer colorretal que deve ser investigado rotineiramente mesmo sem a suspeita.

Fonte: Do autor.

Dependendo da localização, do estágio e do grau do tumor, bem como, da saúde geral do indivíduo, vários tipos de tratamento podem ser utilizados de maneira individual ou combinada. A ressecção total do tumor é o tratamento primário, retirando a região gastrointestinal afetada e os linfonodos próximos, com exceção do câncer de canal anal, o qual a combinação de radioterapia e quimioterapia, ou radioterapia isolada, representa o tratamento primário. A quimioterapia empregada antes do procedimento cirúrgico de ressecção tumoral (quimioterapia neoadjuvante) tem como objetivo reduzir o tamanho da massa tumoral para facilitar sua remoção, enquanto, que empregada após a realização cirúrgica (adjuvante), objetiva destruir qualquer célula tumoral que possa ter permanecido no organismo após o tratamento cirúrgico, bem como controlar o crescimento tumoral e/ou diminuir a possibilidade de recidiva. Adicionalmente, a quimioterapia também pode ser empregada com o intuito de aliviar os sintomas ocasionados pela doença e proporcionar melhor qualidade de vida durante o tratamento. Já, a radioterapia, nos cânceres gastrointestinais é comumente empregada combinada à outra modalidade terapêutica, ou isolada no caso do câncer no canal anal, com o mesmo objetivo que a quimioterapia (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017a; b; c; d).

Entretanto, a ação do quimioterápico não é seletiva, ou seja, interfere na função e replicação de células normais ao mesmo tempo que exerce sua função antineoplásica, e isto promove uma série de efeitos colaterais que estão associados mais frequentemente, a manifestações do trato gastrointestinal e do sistema imunológico, uma vez que estes são constituídos por células de rápida divisão (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016).

No quadro dois, estão descritos os quimioterápicos mais comumente utilizados no tratamento do câncer gastrointestinal e seus respectivos princípios de ação e efeitos colaterais observados.

Mais recentemente, foram criados fármacos derivados da biotecnologia (ex. cetuximabe e o bevacizumabe), designados de anticorpos monoclonais, que são capazes de reconhecer e ligar-se a antígenos tumorais específicos (alvos) e desencadear respostas imunológicas, poupando células normais e promovendo efeitos menos tóxicos que a quimioterapia tradicional. Entretanto, seu alto custo é um importante limitante para sua prescrição (TONON; SECOLI; CAPONERO, 2007).

Não obstante, a evolução natural da doença neoplásica, assim como, os métodos terapêuticos adotados no tratamento do câncer, impactam sobre o consumo alimentar e conseqüentemente sobre o estado

nutricional destes indivíduos, resultando mais comumente em desnutrição; menor tolerância ao tratamento e às infecções oportunas; pior prognóstico, refletido no aumento da morbimortalidade; e diminuição da qualidade de vida. Deste modo, a terapia nutricional orientada de forma adequada, surge como um adjuvante no tratamento do câncer, provendo energia e nutrientes suficientes para a manutenção da homeostase corporal e prevenindo a ocorrência dos fatores associados à má nutrição (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017).

Quadro 2: Principais fármacos quimioterápicos empregados no tratamento do câncer gastrointestinal.

Quimioterápico*	Câncer	Efeitos colaterais mais comuns
<i>Capecitabina:</i> Impede a síntese de DNA e RNA	Estômago, intestino delgado, cólon e reto	Diarreia; náusea; vômitos; feridas na boca ou nos lábios; cansaço ou fraqueza; dormência, formigamento, coceira de mãos ou / e pés; vermelhidão da pele, prurido, secura; baixa contagem de glóbulos vermelhos (anemia), com aumento do risco de fadiga (cansaço); irritação da pele
<i>5-Fluorouracil:</i> Impede a síntese de DNA e RNA	Estômago, intestino delgado, cólon e reto, canal anal	Baixa contagem de células brancas do sangue com maior risco de infecção; baixa contagem de plaquetas com o aumento do risco de sangramento; náuseas e vômitos; falta de apetite; feridas na boca, lábios ou garganta; perda de cabelo; diarreia; unhas quebradiças; aumento da sensibilidade ao sol, com o risco de queimaduras graves; pele seca
<i>Oxaliplatina:</i> Causa parada do ciclo celular por impedir a síntese de DNA e RNA	Intestino delgado, cólon e reto	Náusea; vômitos; dormência e formigamento nas mãos e / ou pés; dormência dos lábios; diarreia; dor abdominal; feridas na boca; cansaço (fadiga); alterações na função hepática
<i>Irinotecano:</i> Bloqueia a ação da enzima topoisomerase I, causando quebras na estrutura do DNA	Intestino delgado, cólon e reto	Diarreia; náuseas / vômitos; contagem de glóbulos brancos reduzido com o aumento do risco de infecção; queda de cabelo ou perda de pelos do corpo; dor abdominal; perda de apetite; sensação de fraqueza

Quadro 2: Principais fármacos quimioterápicos empregados no tratamento do câncer gastrointestinal. (Continuação)

<p><i>Cisplatina:</i> Causa parada do ciclo celular por impedir a síntese de DNA e um pequeno efeito sobre o RNA</p>	<p>Estômago, canal anal</p>	<p>Danos renais; diminuição dos níveis sanguíneos de magnésio, potássio e cálcio; náuseas; vômitos; baixa contagem de células brancas do sangue com maior risco de infecção; baixa contagem de plaquetas com o aumento do risco de sangramento; baixa contagem de glóbulos vermelhos (anemia); alteração do paladar, incluindo gosto metálico de alimentos; sensação de formigamento ou dormência nas mãos e / ou pés causada pela irritação de nervos; inchaço nas mãos, pés ou pernas</p>
<p><i>Docetaxel:</i> Interfere na formação e na função dos microtúbulos, que são parte da estrutura interna das células necessários para a divisão celular</p>	<p>Estômago</p>	<p>Baixa contagem de glóbulos brancos com maior risco de infecção grave; febre; retenção de líquidos (pode incluir inchaço nas mãos ou pés, falta de ar); náuseas; diarreia; perda de cabelo e de pelos do corpo; fraqueza e cansaço; baixa contagem de glóbulos vermelhos (anemia); parada da menstruação em mulheres; erupção cutânea</p>
<p><i>Epirubicina:</i> Se liga aos filamentos das bases de DNA inibindo a síntese de DNA; interage com RNA polimerases e inibe topoisomerase II</p>	<p>Estômago</p>	<p>Contagem baixa de leucócitos e risco aumentado de infecção; baixa contagem de plaquetas com aumento do risco de sangramento; baixa contagem de células vermelhas do sangue, com aumento do risco de anemia e fadiga; parada da menstruação nas mulheres; fadiga; náuseas; vômitos; feridas na boca; diarreia; perda de cabelo.</p>

* Estes quimioterápicos podem ser administrado isolado ou combinados

Fonte: AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017a; b; c; d.; CHU; DEVITA JR., 2014.

2.4 INFLAMAÇÃO E CÂNCER

2.4.1 Visão geral

A inflamação é um mecanismo normal de defesa do organismo a infecções e outras desordens. Ao se tornar excessiva, pode gerar danos irreparáveis ao tecido do hospedeiro, resultando em doenças agudas e crônicas (CALDER, 2008). Algumas características inerentes à inflamação estão presentes também no câncer. Esta relação pode ser vista pela presença de células e mediadores inflamatórios no tecido tumoral, remodelação tecidual e angiogênese (BALKWILL; CHARLES; MANTOVANI, 2005).

Até 20% de todos os cânceres surgem em associação com a inflamação crônica e a maioria, senão todos, dos tumores sólidos contêm infiltrado inflamatório. Células do sistema imunológico têm amplo impacto na iniciação, crescimento e progressão tumoral e muitos desses efeitos são mediados por citocinas pró-inflamatórias (GRIVENNIKOV; KARIN, 2011)

Mantovani et al. (2008) explicam a conexão entre inflamação e câncer considerando duas vias: extrínseca e intrínseca. A primeira surge de condições infecciosas ou inflamatórias que podem promover o desenvolvimento de câncer, como a doença inflamatória intestinal, que aumenta o risco de câncer colorretal. As prováveis explicações para o desenvolvimento tumoral a partir de uma infecção ou inflamação incluem: regeneração tecidual contínua encontrada na resposta inflamatória, proporcionando maiores chances de ocorrência de mutações, e então de proliferação dessas células mutadas; a criação de microrregião mutagênica, através da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio pelas células imunológicas recrutadas; e promoção de angiogênese, classicamente presente no processo inflamatório e fundamental para o desenvolvimento tumoral (COUSSENS; WERB, 2002). A segunda surge de alterações genéticas que causam câncer e inflamação, dentre as quais citam-se: ativação de vários tipos de oncogenes por mutação; rearranjo ou amplificação cromossomal; e, inativação de genes supressores tumorais. As células já transformadas produzem mediadores inflamatórios que promovem a instalação de um microambiente inflamatório (MANTOVANI et al., 2008).

As duas vias convergem, resultando em ativação de fatores de transcrição, como o fator de transcrição nuclear κB (NF- κB), sinal de tradução e ativação de transcrição 3 (STAT3) e o fator induzido por hipóxia-1 α (HIF1 α) em células tumorais. Estes fatores de transcrição

coordenam a produção de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e quimiocinas, assim como a produção da ciclo-oxigenase-2 (COX-2). Os mediadores inflamatórios, em conjunto, recrutam e ativam leucócitos, mastócitos, macrófagos e eosinófilos. As citocinas produzidas pelas células tumorais ativam nas células imunitárias recrutadas e do estroma os mesmos fatores de transcrição previamente ativados em células tumorais. Como resultado tem-se a produção de mais mediadores inflamatórios e concretização do ambiente inflamatório relacionado ao câncer (MANTOVANI et al., 2008).

Ainda, danos causados às células tumorais pelo emprego de agentes terapêuticos (radio e/ou quimioterapia) estimulam a liberação de moléculas sinalizadoras, como exemplo, o grupo de proteínas de alta mobilidade 1 (HMGB1), quimiocinas e citocinas a partir de células afetadas. As proteínas HMGB1 estimulam o recrutamento quimiotático de monócitos, células T e células dendríticas (CD) para o tecido tumoral; induz a apresentação de antígenos por CD e a geração de células T antígeno-específico; além de estimular a síntese e liberação de citocinas pró-inflamatórias pelas CD e/ou macrófagos ativados, contribuindo desta forma, com a inflamação associada ao tumor (HAGEMANN; BALKWILL; LAWRENCE, 2007).

Não obstante, outro importante fator associado ao tumor, especificamente aos tumores sólidos, em que, dentre seus efeitos, está o estímulo para a secreção de mediadores inflamatórios, é o baixo suprimento de oxigênio às células tumorais, chamado de hipóxia. De acordo com Finger e Giaccia (2010), a hipóxia é causada por um desequilíbrio entre crescimento tumoral e a formação de novos vasos sanguíneos para sustentar o aporte de nutrientes e de oxigênio. As células tumorais se multiplicam em velocidade maior que a taxa de formação de novos vasos que irrigam a massa celular em contínuo crescimento. De acordo com os autores, a hipóxia está fortemente ligada a metástase tumoral e a desfechos clínicos negativos para o indivíduo. Por um lado, a deficiência no aporte de oxigênio pode limitar a divisão celular, mas por outro, células com maior potencial maligno são selecionadas e sobrevivem, assim como, induz adaptações celulares, tais como metabolismo anaeróbico e instabilidade genética, direcionando para um maior comportamento invasivo. Todas as adaptações a esta situação são orquestradas pelo fator induzido por hipóxia (FINGER; GIACCIA, 2010).

A hipóxia causa necrose celular estimulando a secreção de mediadores inflamatórios que recrutam mais células inflamatórias. Evidências têm demonstrado o acúmulo de macrófagos nas áreas de

hipóxia, e isto pode ser devido à presença de agentes quimioatraentes tais como endotelina II e fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) que são secretados pelas células vasculares a partir do estresse ou necrose celular causada pela deficiência de suprimento de oxigênio (MAMLOUK; WIELOCKX, 2013).

O HIF expresso em células tumorais promove uma supressão da resposta imune anticâncer, por induzir um fenótipo celular não voltado para a vigilância imunológica ou, a secreção de agentes imunossupressores (BARSOUIM et al., 2011); induz o fenótipo do tipo M2 em macrófagos associados ao tumor, que possuem menor habilidade de apresentar antígenos e suprimem a proliferação e atividade de células T (LEWIS; MURDOCH, 2005); inibe diretamente a atividade de células T que representam a imunidade anticâncer (MAMLOUK; WIELOCKX, 2013); estimula o recrutamento de células T reguladoras (T_{reg}) além de induzir células *T naives* para se diferenciarem no subtipo pro-inflamatório Th17 ou imunossupressor T_{reg} (DANG et al., 2011); estimula a expressão de arginase 1 e óxido nítrico sintase induzida (iNOS) em células mielóides associadas ao tumor, com consequente produção de óxido nítrico (NO), exercendo ação pró-inflamatória e imunossupressora de células T (TAKEDA et al., 2010); além de estimular a ativação de CDs em processos inflamatórios, assim como, ativar NF- κ B, o qual exerce um papel central na inflamação (MAMLOUK; WIELOCKX, 2013).

Os macrófagos associados ao tumor do tipo M2, juntamente com células mielóides, mediados por HIF, produzem e secretam diversos fatores angiogênicos e linfangiogênicos, tais como VEGF, IL-8, fator de crescimento para fibroblastos e proteínas de matriz (MMP), contribuindo com o crescimento tumoral. Ainda, HIF estimula a expressão das vias enzimáticas da ciclo-oxigenase (COX) e da lipoxigenase (LOX) em células imunológicas, especialmente macrófagos associados ao tumor, e tumorais, incrementando o potencial de invasão e de disseminação do tumor, além de contribuir com a secreção de eicosanoides pró-inflamatórios (MAMLOUK; WIELOCKX, 2013; YANG et al., 2013).

A infiltração de neutrófilos no tecido tumoral constitui a primeira linha de defesa contra lesão ou infecção. Quando as reações contra patógenos/antígenos tornam-se excessivas ou inapropriadas podem contribuir para o crescimento e a propagação do câncer e para a imunossupressão associada ao desenvolvimento da doença (CHIN; PARKOS, 2007).

O NF- κ B é a chave que coordena a inflamação. Trata-se de um fator de transcrição onipresente em todos os tipos de células e no citoplasma, na forma “*resting stage*”. Sua atividade é regulada por outros

fatores de transcrição tais como STAT3, p53, receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPAR- γ) e beta-catenina. Por muitas razões o NF- κ B e os produtos de genes regulados por ele desempenham um papel crucial na tumorigênese: 1) quase todos os produtos de genes ligados à inflamação são regulados pela ativação de NF- κ B (por exemplo, TNF, IL-1, IL-6, quimiocinas, COX-2, 5-LOX, PCR); 2) NF- κ B é ativado em resposta ao tabaco, o estresse, compostos alimentares tais como excesso de glicose, ácidos graxos saturados e poli-insaturados da família n-6, obesidade, álcool, agentes infecciosos, radiação e os estímulos ambientais, que juntos respondem por até 95% de todos os cânceres; 3) NF- κ B tem sido associado com a transformação de células normais em células com potencial cancerígeno; 4) NF- κ B é constitutivamente ativo nas células tumorais; 5) NF- κ B também tem sido associado com a sobrevivência das células-tronco cancerosas (células progenitoras que foram adquirindo potenciais de autorrenovação); 6) NF- κ B regula a expressão da maioria dos produtos de genes antiapoptóticos associado com a sobrevivência do tumor; 7) NF- κ B regula também a produção de genes ligados à proliferação de tumores, como c-myc, ciclina D1 e COX-2. Além disso, a maioria dos fatores de crescimento (por exemplo, EGF, TNF, IL-6) que estão associados à proliferação de tumores ativam NF- κ B, ou são regulados por este fator de transcrição; 8) NF- κ B controla a expressão de genes relacionados com angiogênese, invasão e metástase de câncer (por exemplo, MMP, moléculas de adesão e VEGF); 9) enquanto a maioria dos agentes cancerígenos ativam NF- κ B, a maioria dos agentes quimiopreventivos foram comprovados como supressores da ativação deste fator de transcrição (KARIN, 2006; AGGARWAL; GEHLOT, 2009).

Os mediadores e as células inflamatórias estão envolvidos na migração, invasão e metástase de células malignas, não apenas nos estágios iniciais da oncogênese (MANTOVANI et al., 2008).

A prostaglandina E2, derivada da atividade da COX-2, pode promover a iniciação e a progressão do tumor por estimular a proliferação celular, angiogênese, migração celular e invasão, enquanto inibe apoptose (CHAPKIN; MCMURRAY; LUPTON, 2007).

A capacidade invasiva de células malignas aumenta na presença de citocinas inflamatórias como TNF, IL-1 e IL-6, possivelmente, pela regulação positiva na expressão de receptores de quimiocinas estimulada por estas citocinas (BALKWILL; CHARLES; MANTOVANI, 2005). Os receptores de quimiocinas e seus ligantes dirigem o movimento de células (quimiotaxia) durante a inflamação, o câncer e a manutenção da homeostase dos tecidos, pois a presença destes receptores afeta a

motilidade, o poder de invasão e de sobrevivência das células. Durante o processo de transformação, muitas células expressam receptores para quimiocinas e utilizam este como apoio à migração e a sobrevivência em locais distantes do tumor original (BALKWILL, 2004).

Um microambiente formado por uma inflamação não resolvida em que se observam efeitos deletérios causados pela secreção descontrolada de mediadores por células do sistema imunológico, mesenquimais e epiteliais, contribui para a iniciação do tumor e/ou para sua progressão. As citocinas são consideradas reguladores da inflamação e apresentam ações pró- ou anti-inflamatórias. $\text{INF-}\gamma$, TNF, $\text{IL-1}\alpha / \beta$, IL-6, e quimiocinas são citocinas conhecidas por seu importante papel na inflamação e no desenvolvimento do câncer (BEN-NERIAH; KARIN, 2011; KURASHY; KARIN; GRIVENNIKOV, 2011).

TNF- α tem um papel importante tanto na atividade anti como na pró-tumoral, exercendo diversas ações na inflamação crônica, que varia entre a recuperação do tecido lesado e/ou a destruição do tecido. TNF- α , produzida por células malignas, leucócitos, e outras células do microambiente tumoral, atua principalmente através de receptores ligados à membrana (TNFR1 e TNFR2) de maneira autócrina e parácrina (LOCKSLEY; KILLEEN; LENARDO, 2001). Ações autócrinas do TNF documentadas na literatura incluem danos genéticos às células malignas ou células com potencial maligno, aumentando a sobrevivência das células tumorais e induzindo a transição epitelial-mesenquimal (BALKWILL, 2009). Apesar da exposição local à elevada concentração de TNF- α destruir a vascularização do tumor e promover necrose tumoral, uma produção sustentada de TNF- α pode facilitar o desenvolvimento e a remodelação de tecidos estromais contribuindo para o crescimento do tumor, ou então, propiciar sua disseminação endógena (BALKWILL; JOFFROY, 2010). TNF- α também pode promover a angiogênese através da indução de uma variedade de fatores angiogênicos, como timidina fosforilase e as metaloproteinases de matriz (MMPs) (BALKWILL; MANTOVANI, 2001; AGGARWAL, 2003). Além disso, o TNF- α tem um papel vital em eventos que causam danos ao DNA com o auxílio de outras citocinas inflamatórias ($\text{INF-}\gamma$ e $\text{IL-1}\beta$), por aumentar a expressão da forma induzida da enzima óxido nítrico sintase (iNOS) e a produção de radical óxido nítrico ($\text{NO}\bullet$), responsáveis diretamente por danos no DNA, além da inibição da sua reparação (JAISWAL et al., 2000). TNF- α também está envolvido com vias reguladoras de quimiocinas em processos inflamatórios que levam a tumorigênese (BALKWILL; JOFFROY, 2010). Estas ações de TNF, e citocinas e/ou quimiocinas relacionadas ao TNF, também podem contribuir para a imunossupressão

linfocitária local. O resultado final é o maior crescimento do tumor primário, a propagação metastática facilitada e a regulação da extensão e do fenótipo da infiltração de leucócitos, bem como, contribuição na angiogênese. O TNF também tem sido implicado na produção de derrame pleural e resistência à quimioterapia (BALKWILL, 2009). Assim, o TNF assegura a sua posição como um importante mediador da carcinogênese associada a inflamação, contribuindo para um microambiente tumorigênico através da regulação de várias moléculas como citocinas, fatores angiogênicos e de metaloproteinases que causam danos no DNA e promovem o crescimento e a metástase tumoral (SENLÓ et al., 2014).

IL-1 β é outra citocina que conforme já descrito, é regulada por NF- κ B. Parece ter importante associação com o crescimento e a progressão de carcinoma gástrico humano (KAI et al., 2005) e câncer colorretal (MIKI et al., 2004). Os possíveis mecanismos envolvidos incluem a indução da expressão de genes metastáticos, tais como MMP, e a estimulação da produção de proteínas e fatores de crescimento angiogênicos pelas células do infiltrado, como VEGF, IL-8, IL-6, TNF- α e TGF β (LEWIS et al., 2006).

A IL-8 é uma quimiocina pró-inflamatória associada à promoção da quimiotaxia de neutrófilos e degranulação. A expressão aumentada de IL-8 e/ou seus receptores (CXCR1 e CXCR2) foi caracterizada em células cancerígenas, células endoteliais, neutrófilos e macrófagos associados ao tumor, sugerindo que esta citocina pode funcionar como um fator regulador importante no microambiente do tumor. A indução da sinalização de IL-8 ativa múltiplas vias intracelulares em diversas células alvo, promovendo respostas angiogênicas em células endoteliais, aumento da proliferação e da sobrevivência em células endoteliais e tumorais, e, potencializando a migração de células tumorais, células endoteliais e neutrófilos no tumor. Consequentemente, a expressão de IL-8 correlaciona-se com a angiogênese, malignidade e metástase de tumores em vários modelos in vivo. Além do mais, IL-8 pode também conferir resistência ao tratamento quimioterápico nas células tumorais (WAUGH; WILSON, 2008).

PGE₂ é um eicosanoide derivado dos AGPI n-6 (ácido araquidônico - ARA) que apresenta diversos efeitos biológicos na inflamação e no câncer. Sua produção é originária da metabolização deste ácido graxo (recrutado da membrana celular) pela família de enzimas da ciclooxigenase (COX). Existem duas isoformas maiores de COX: COX-1 expressa na maioria das células do corpo e faz parte da maquinaria fisiológica normal delas, e a isoforma COX-2, que é induzida por inflamação (citocinas) e por fatores de crescimento. Seu receptor de

membrana é o EP (NAKANISHI; ROSENBERG, 2013). Células tumorais de câncer colorretal e gástrico expressam altos níveis de COX-2, promovendo produção continuada de PGE₂ (caso a membrana celular seja rica em ARA) (WANG; DUBOIS, 2010; WANG; CHEN; LIU, 2014). Se isso não bastasse, também apresentam altos níveis de expressão do receptor EP, sendo fortemente susceptíveis de sofrerem a ação desta prostaglandina. A principal ação nas células tumorais de PGE₂ é inibir a ativação de fatores de supressão do crescimento e o reparo ao DNA dos genes mutados. Também exerce um importante papel no ambiente tumoral, agindo sobre outras células (suprime a ação de células NK; induz a polarização de macrófagos associados ao tumor para o tipo 2; aumenta a produção de VEGF pelos fibroblastos; e, regula a atividade de células T_{reg} e de células supressoras mieloides) (NAKANISHI; ROSENBERG, 2013).

IL-6 é um estimulador potente da proliferação e crescimento de células tumorais. A maior parte da IL-6 é produzida por macrófagos de lâmina própria e células dendríticas, durante estágios iniciais do processo de carcinogênese, e, por células T durante estágios posteriores de progressão tumoral, em resposta, provavelmente, ao alto conteúdo inflamatório dos tumores sólidos, e, a lesão e morte contínua de células epiteliais durante o desenvolvimento do tumor. As células epiteliais e tumorais, bem como os fibroblastos associados a tumores, também são capazes de produzir IL-6 e podem contribuir significativamente para o *pool* total dessa citocina (GRIVENNIKOV; KARIN, 2011). Sua sinalização envolve o receptor de membrana para IL-6 (IL-6R) e proteína transdutora de sinal gp130, a qual leva a ativação de vias intracelulares, mediadas por Ras, MAPK, STAT3, AKT, JAK, NF-κB, que são responsáveis, dentre outros fatores, pela inibição da produção de agentes supressores; pelo aumento da expressão de fatores anti-apoptóticos; pela indução do crescimento e proliferação celular; pela manutenção da inflamação no ambiente tumoral; pelo aumento do potencial glicolítico da célula; pela resistência contra o potencial oxidante gerado pela quimio e/ou radioterapia; pela angiogênese; pela inibição do reparo de DNA; e, pela resistência ao tratamento anticâncer (KUMARI et al., 2016). Níveis elevados de IL-6 estão associados ao crescimento agressivo do tumor e redução da resposta a terapias em diversos tipos de câncer, incluindo colorretal e gástrico. Pacientes com níveis circulantes elevados desta citocina geralmente estão associados a um pior prognóstico e menor sobrevida, enquanto baixas concentrações de IL-6 estão associadas a uma melhor resposta à terapia anticâncer (GRIVENNIKOV; KARIN, 2011; KUMARI et al., 2016).

As células tumorais coexistem com células do sistema imunológico: macrófagos associados ao tumor, células T-reguladoras (T_{reg}), células dendríticas e células mielóides supressoras. Macrófagos M2 e T_{reg} são as principais fontes de citocinas anti-inflamatórias, IL-4, IL-10, IL-13 e fator transformador de crescimento- β (TGF β), que suprimem a imunidade anticâncer mediada por células natural *killer* (NK), células T citotóxica CD8(+) e citocinas pró-inflamatórias (IL-2 e IFN- γ), uma vez que inibem a ativação destas células e a produção das respectivas citocinas. Simultaneamente, as células tumorais ativam células imunitárias e as usam de forma exploratória para o seu crescimento e desenvolvimento, por meio da produção de citocinas (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) que promovem diretamente o crescimento das células tumorais, em um ambiente imunossuprimido (SERUGA et al., 2008). Logo, a inflamação associada ao câncer estimula respostas pró-tumorais como: proliferação e sobrevivência de células tumorais; angiogênese e linfangiogênese; invasão, migração e metástase; inibição da resposta imune adaptativa; além de resultar em resposta alterada a hormônios e a agentes quimioterápicos (MANTOVANI et al., 2008).

Por outro lado, a IL-12 está envolvida com inibição do crescimento tumoral por inibir o processo de angiogênese no tecido tumoral. Essa inibição perpassa pelo estímulo para a diferenciação de linfócitos T para o subtipo Th_1 , produtor de IFN- γ , e consequente ativação de células NK e TCD8+ (TUGUES et al., 2015).

Nas duas próximas subseções, será apresentada uma visão mais específica da relação existente entre inflamação e os cânceres colorretal e gástrico. Salienta-se que esta relação no câncer de intestino delgado e de canal anal, por serem cânceres considerados “de baixa incidência”, foi pouco explorada pela literatura científica, e por este motivo, não recebem um tópico sobre o tema.

2.4.2 Inflamação e câncer colorretal

Existe uma associação bastante tênue entre inflamação e câncer colorretal. Mesmo estando intimamente associada à predisposição genética, a inflamação contribui significativamente para o processo de carcinogênese colorretal, evidenciado pela diminuição da sua incidência com o uso regular de agentes anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e pela maior incidência em portadores de doença inflamatória intestinal (JANAKIRAM; RAO, 2014).

A análise patológica de tecido tumoral de cólon e de reto demonstra a infiltração de variados tipos celulares que participam da

imunidade inata, tais como neutrófilos, mastócitos, células NK, células dendríticas (CD) e macrófagos associados a tumores (ATREYA; NEURATH, 2008). Estas células contribuem com a resposta imunológica anti-tumor pela supressão do crescimento tumoral e da angiogênese; promovem o recrutamento além de interagir com outras células envolvidas na resposta imunológica adaptativa, sendo responsáveis pela vigilância imunológica; auxiliam na detecção precoce e na eliminação de células anormais, que podem evoluir de adenomas para adenocarcinomas no CCR (JANAKIRAM; RAO, 2014).

No entanto, quando uma inflamação crônica existe e persiste, cria um microambiente que concorre com os mecanismos da vigilância imunológica, ocorrendo a inibição de respostas imunitárias anti-tumorais e favorecendo a formação e ativação de DCs tolerogênicas e a infiltração de células T_{reg}, que contribuem com o crescimento de células do tumor, uma vez que estas células inibem a imunidade anti-câncer representada por células TCD4+ do subtipo Th₁ e TCD8+. A infiltração de células T_{reg} está associada com pior prognóstico (DUNN; OLD; SCHREIBER, 2004; ERDMAN et al., 2005).

Os neutrófilos, por sua vez, conduzem para a resolução da inflamação. Eventualmente, os fibroblastos desempenham um papel na reparação de tecidos através da secreção de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6, IL-8, e PGE₂, o que contribui com a resposta dos neutrófilos. As células epiteliais juntamente com as células do estroma auxiliam na reparação/cicatrização de feridas. A resolução da inflamação pelo recrutamento dos neutrófilos pode conduzir à remissão completa da inflamação e inibir assim, umas das causas do processo de carcinogênese: a proliferação de células aberrantes. No entanto, se este processo ativo de resolução da inflamação é prejudicado, a reparação tecidual em curso, eventualmente, pode levar a inflamação crônica, o que predispõe ao desenvolvimento do câncer. As vias da COX e da LOX, bem como, células inflamatórias, estão envolvidas na geração de mediadores lipídicos e respostas de genes pró-inflamatórios, criando um microambiente favorável para o crescimento e a proliferação tumoral e metástases (JANAKIRAM; RAO, 2014).

O ácido araquidônico, ácido graxo poli-insaturado da família n-6, presente em fosfolipídios das membranas celulares, ao ser metabolizado por três vias enzimáticas (COX, LOX e do citocromo P450) dá origem a diversos eicosanoides que estão envolvidos com reações pró-inflamatórias e pró-tumorais: os formados por ação da COX são prostaglandina I₂ (PGI₂), D₂ (PGD₂), E₂ (PGE₂) e tromboxano A₄, enquanto que leucotrienos (LT) da série 4 são formados pela ação da via

enzimática da LOX. Outros metabólitos da LOX envolvem ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos (HPETE), tais como 5-HPETE, 12-HPETE e 15-HPETE. Os metabólitos de P450 são os ácidos epóxi-eicosatrienóicos (EETs), resultando em quatro EETs isoméricos (5,6-EET, 8,9-EET, 11,12-EET, e 14,15-EET) (CATHCART; LYSAGHT; PIDGEON, 2011).

A COX-2 é a forma induzida da COX que medeia a síntese de prostaglandinas e apresenta ação pró-inflamatória. A expressão tecidual da COX-2 está aumentada em 50% dos adenomas e em 85% de adenocarcinomas. Em tumores intestinais humanos, a COX-2 é expressa em células epiteliais e do estroma, e é geralmente induzida pela IL-1 β e pelo TNF- α (JANAKIRAM; MOHAMMED; RAO, 2011; JANAKIRAM; RAO, 2014). A expressão aumentada de COX-2 no intestino de camundongos aumentou a formação do tumor induzido por azoximetano (AL-SALIHI et al., 2009); e a deficiência desta enzima diminuiu significativamente a carcinogênese em modelos animais com câncer de cólon, confirmando um papel de destaque para a COX-2 no processo de carcinogênese colorretal (OSHIMA et al., 1996; CHULADA et al., 2000).

Os efeitos pró-inflamatórios e pró-tumorigênicos da COX-2 são mediadas pelo seu principal produto, PGE₂, que estimula a proliferação de células tumorais, promovendo o crescimento, a angiogênese e a sobrevivência do tumor, ao passo que inibe a apoptose. PGE₂ ativa diversas vias de sinalização oncogênicas, incluindo β -catenina e fatores de transcrição, Ras, e o fosfatidilinositol 3-quinase (CASTELLONE; TERAMOTO; GUTKIND, 2006; WANG; DUBOIS, 2006).

PGD₂, outro metabólito importante da COX-2, parece ser um regulador negativo da tumorigênese por possuir propriedades anti-tumorais (MURATA et al., 2008). É produzido localmente por células inflamatórias nos locais de inflamação; e o seu receptor (DP1) também é altamente expresso nas células endoteliais do tumor. O receptor DP1 é expresso em CDs que desempenham papel-chave na iniciação de uma resposta imunológica adaptativa a antígenos (HAMMAD et al., 2003). Estes estudos sugerem que diferentes prostaglandinas derivados da COX-2 têm efeitos opostos sobre a inflamação e a proliferação de células tumorais e que a modulação seletiva destas prostaglandinas pode impedir o crescimento tumoral no CCR.

Entre as vias da LOX, a 5-LOX e a 12-LOX estão intimamente relacionadas com a inflamação e a carcinogênese. Em contrapartida, os metabólitos de outra via da LOX, a 15-LOX, estão positivamente relacionados a inibição da inflamação e da carcinogênese (JANAKIRAM;

RAO, 2014). Uma série de estudos tem demonstrado o envolvimento de 5-LOX em estágios iniciais de CCR (BORTUZZO et al., 1996; DING; TONG; ADRIAN, 2003; TONG et al., 2005). Hong et al. (1999) relataram a expressão elevada de 5-LOX e proteína ativadora de 5-LOX em linhagens celulares de cânceres epiteliais. Alta expressão de 5-LOX e os seus receptores foi observada em indivíduos com CCR mostrando pior prognóstico (OHD et al., 2003).

O acúmulo de 5-HETE e LT após ativação de 5-LOX resultou na proliferação de células tumorais em câncer pancreático (DING et al., 1999). Vias da COX e LOX estão associadas de tal maneira que a perturbação em uma via podem conduzir à expressão aumentada da outra via; assim, a inibição equilibrada destas duas vias é favorável para a inibição do CCR (JANAKIRAM; RAO, 2014).

A inflamação também está associada com a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS). O papel dos radicais livres na carcinogênese é conhecido a bastante tempo (CERUTTI, 1985; GOLDSTEIN; WITZ, 1990). Células inflamatórias ativadas produzem ROS e RNS que podem induzir danos ao DNA e mutação nas células epiteliais adjacentes. A literatura nesta área, geralmente, é consistente com a visão de que o aumento da produção de ROS e a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) que acompanham uma resposta inflamatória, tem um papel central na mediação da angiogênese durante o crescimento do tumor (JANAKIRAM; RAO, 2014). Um aumento significativo na expressão de ROS foi relatado por Haklar et al. (2001) em tumores do cólon.

2.4.3 Inflamação e câncer gástrico

Ooi et al. (2009) referem que 70% dos portadores de câncer gástrico (GC) apresenta umas das três vias oncogênicas alteradas, que são: via de células progenitoras/tronco (40% dos casos de GC), via do NF- κ B (46% dos casos de GC), e via Wnt/ β -catenina (39% dos casos de GC). Vias do NF- κ B e STAT3 foram apontadas como principais reguladoras da liberação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores importantes dos processos de proliferação de células tumorais e de persistência da inflamação crônica. A ativação dessas vias resulta em maior secreção de citocinas (YANG, 2007; RIUS et al., 2008; MACCALLI et al., 2014). Existe uma intrincada associação entre a carcinogênese gástrica e a expressão elevada de genes que promovem a ativação celular e a liberação de citocinas, especialmente IL-1, IL-6, TNF, que também são reguladas pelo NF- κ B (YIN et al., 2013). Fator de

transcrição STAT3 age tanto na iniciação quanto na progressão do CG através da sua ativação por citocinas, como IL-6 e IL-11, as quais estão envolvidas no processo de carcinogênese gástrica (GIRAUD; MENHENIOTT; JUDD, 2012).

O trato gastrointestinal tem rápido *turnover* epitelial e está propenso a lesão por infecções e toxinas alimentares. Essas condições promovem uma prevalência elevada de câncer nesta região (FOX; WANG, 2007).

Várias vias de sinalização, tais como, via Wnt/ β -catenina, exercem papel em assegurar a homeostase e manter o equilíbrio do epitélio gástrico (LICKERT et al., 2001). Além disso, a via de sinalização Wnt é descrita em etapas importantes de reparação tecidual e renovação de células-tronco em lesões crônicas teciduais relacionadas à carcinogênese (BEACHY; KARHADKAR; BERMAN, 2004). Oshima et al. (2006) demonstraram que a via Wnt em associação com outras vias de sinalização inflamatória são capazes de promover metaplasia de células progenitoras da mucosa gástrica de ratos. Em outro modelo animal, observou-se que os macrófagos ativados na mucosa gástrica inflamada ou infectada por *H pylori* expressam TNF- α estimulando as células vizinhas a promover a atividade de Wnt/ β -catenina em várias etapas da inflamação, promovendo o desenvolvimento de CG (OGUMA et al., 2008).

Além de citocinas, os membros da superfamília de receptores de hormônios nucleares, que são fatores de transcrição ativados por ligantes, os receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs), estão envolvidos em diversas etapas no processo de carcinogênese gástrica. PPAR γ , em particular, está envolvido no controle do metabolismo da glicose e da inflamação, além de participar da proliferação celular, diferenciação e apoptose. Ficou evidente nos estudos de Sato et al. (2000) e Konturek et al. (2003) que as linhagens celulares de câncer gástrico, especialmente o CG relacionado com *H pylori*, expressam PPAR γ . Ligantes de PPAR γ , induzem a inibição do crescimento de linhagens celulares de CG, e agonistas de PPAR γ pode ter potencial papel terapêutico no câncer (SATO et al., 2000).

Da mesma forma que no câncer colorretal, a expressão de COX-2 também está aumentada em células do epitélio gástrico inflamadas, bem como, em células tumorais, contribuindo com a exacerbação da inflamação e a carcinogênese, e, com o crescimento e a proliferação do tumor, respectivamente (SENOL et al., 2014). Ainda, ROS e RNS, pelos motivos semelhantes que no câncer colorretal, também exercem um papel

importante na inflamação e carcinogênese gástrica (FEDERICO et al., 2007).

Ainda não está bem evidenciado na literatura se portadores de câncer gástrico apresentam concentrações elevadas de TNF (SENL et al., 2014). TNF- α e IL-1 β são essenciais no início da inflamação crônica. Trabalhos têm mostrado que a expressão aumentada de IL-1 β , na ausência de infecção por *H. pylori*, é suficiente para causar o câncer gástrico. Além disso, a IL-1 β é uma das citocinas pró-inflamatórias essenciais envolvidas na infecção por *H. pylori* que direciona a resposta da mucosa gástrica para atrofia, metaplasia, e transformação neoplásica (EL-OMAR, 2001; POLLARD, 2004). IL-1 α ainda, foi demonstrada como reguladora da expressão de COX-2 (UEFUJI; ICHIKURA; MOCHIZUKI, 2005). Estudo têm demonstrado que a IL-1 α promove a angiogênese e a proliferação de células endoteliais vasculares em linhagens celulares de câncer gástrico (FURUYA et al., 2000; MA et al., 2008).

IL-6 desempenha um papel importante na estimulação do crescimento e metástases do tumor por promover a invasão do estroma e dos vasos sanguíneos pelas células tumorais. Estudo *in vitro* realizado com várias linhagens celulares de câncer gástrico foi observado que tais linhagens celulares expressavam mRNA para a IL-6, e que este era um indicador positivamente relacionado com o crescimento celular de CG (ITO et al., 1997). Em células gástricas tumorais, a IL-6 pode agir de maneira autócrina e/ou parácrina: ação autócrina inclui a secreção e o reconhecimento desta citocina pela própria célula tumoral, tendo como resposta a partir da ligação de IL-6 ao seu receptor de membrana, aumento da atividade mitótica (ASHIZAWA et al., 2005); ação parácrina de IL-6 consiste no estímulo para a produção de fator de crescimento de hepatócitos (HGF) pelas células tumorais, induzindo a movimentação das células tumorais para o local metastático, promovendo maior potencial de invasão para linfonodos e/ou metástases hepáticas (ASHIZAWA et al., 2005). Além disso, IL-6 é um importante potencializador das ações de TNF- α e de IL-1 β . IL-6 promove a adesão de células tumorais e células endoteliais pelo aumento da expressão de moléculas de adesão intercelular tais como ICAM, VCAM e E-selectina em associação com o TNF- α e IL-1 β (SENL et al., 2014). A IL-6 pode regular o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e a angiogênese em câncer gástrico, como demonstrado no estudo de Huang et al. (2004), em que o aumento da dose de IL-6, bem como da duração da sua estimulação em linhagens celulares de CG produziu uma quantidade significativa de VEGF.

IL-10 e TGF- β são conhecidos não somente por seus efeitos de supressão da imunidade antitumoral e inflamatória, mas são também reguladores centrais de células T_{reg} que podem inibir as respostas imunitárias mediadas por células T CD4(+) e CD8(+) (TSUJIMOTO et al., 2010). A expressão de TGF- β 1 foi demonstrada como um marcador de prognóstico clínico e exerce ação angiogênica na carcinogênese gástrica por promover indiretamente a regulação positiva de VEGF (SAITO et al., 1999).

2.5 CÂNCER, INFLAMAÇÃO E SEUS EFEITOS SOBRE O ESTADO NUTRICIONAL, COMPOSIÇÃO CORPORAL E QUALIDADE DE VIDA

Indivíduos com câncer são frequentemente suscetíveis a alterações no estado nutricional, seja pela própria doença, seja por seu tratamento. As alterações metabólicas decorrentes da doença e a perda de peso têm um impacto negativo nas funções orgânicas do indivíduo, com influência no prognóstico e na qualidade de vida (BRASIL, 2013a).

Fatores como alteração no paladar, falta de apetite, aversões alimentares, depressão, alterações mecânicas e funcionais do trato gastrointestinal (TGI), e a presença de sintomas digestivos, contribuem para a deterioração do estado nutricional. É gerado, então, um ciclo vicioso, no qual está envolvida a redução na ingestão dietética, especialmente de alimentos fontes de proteína, com consequente aceleração do catabolismo proteico muscular e o aparecimento de astenia e fadiga física e mental. Por sua vez, esses fatores contribuem para a perpetuação da anorexia e da perda de peso, acarretando redução na qualidade de vida dos indivíduos e menor resposta ao tratamento (CARVALHO, CAMILO, RAVASCO, 2011).

A desnutrição está presente em até 70% dos indivíduos diagnosticados com câncer em relação a outros diagnósticos (CORONHA; CAMILO; RAVASCO, 2011). A perda de peso involuntária é comum entre os indivíduos com câncer avançado, resultando em grandes perdas acumuladas ao longo do tempo, estando associada à baixa qualidade de vida, à baixa resposta ao tratamento e à alta mortalidade (VIGANO et al., 2000). A desnutrição é o diagnóstico secundário mais frequente em indivíduos com câncer e sua presença pode agravar ainda mais o quadro clínico, prejudicando a resposta terapêutica. Geralmente, o aumento do risco nutricional, caracterizado pela perda de peso não intencional, redução da ingestão alimentar com concomitante aumento das necessidades calóricas, acomete portadores de tumores

sólidos e está associado também, ao tratamento antineoplásico (ARGILES, 2005; BRASIL, 2013a).

Entre as principais consequências da desnutrição em indivíduos oncológicos, estão: alterações da resposta imunológica, aumento do risco de infecções, maior gravidade dos efeitos colaterais do tratamento, depleção de massa magra, diminuição da capacidade funcional, redução da qualidade de vida e da sobrevida (TISDALE, 2009).

O tratamento anticâncer, assim como a própria doença, tem efeitos agressivos para o indivíduo, deixando o organismo vulnerável e debilitado, o que aumenta o risco de comprometimento nutricional (VON MEYENFELDT, 2005). O tratamento quimioterápico é realizado, frequentemente, com a utilização de um conjunto de fármacos, envolvendo substâncias de propriedades antineoplásicas e medicações coadjuvantes. As alterações nutricionais relacionadas a esse tratamento podem decorrer de ações diretas desses medicamentos no metabolismo, ou de efeitos adversos sobre o TGI (BRASIL, 2013a). Cerca de 30% dos quimioterápicos são indutores de náuseas e vômitos, sendo a cisplatina considerada o agente de maior potencial hematogênico. A diarreia e a mucosite manifestam-se pela interferência dos quimioterápicos no ciclo celular de células de divisão rápida, promovendo a irritação, inflamação e alterações funcionais na mucosa. Os quimioterápicos utilizados no CCR ou CG mais associados ao aparecimento da diarreia são fluorouracil e a oxaliplatina. A mucosite relaciona-se com odinofagia, sangramento e infecção local, tendo como principais agentes indutores o 5-fluorouracil e a cisplatina. A xerostomia, por sua vez, é causada por competição dos quimioterápicos por receptores de neurotransmissores da acetilcolina, que inibem a transmissão de impulsos parassimpáticos das células salivares (CALIXTO-LIMA et al., 2012).

Além do impacto das complicações relacionadas ao tratamento antineoplásico, o portador de câncer ainda apresenta diversas alterações metabólicas compatíveis com um estado de hipermetabolismo, o qual, sem a compensação por uma ingestão diária aumentada, pode culminar em perda ponderal. Se a diminuição de peso ocorrer, sobretudo à custa de depleção de massa magra, surge a possibilidade de sarcopenia, que está associada à diminuição de capacidade funcional, maior incidência de toxicidade da quimioterapia, aumento do tempo de internação e aumento da probabilidade de infecções. Por sua vez, a perda de peso e de massa magra pode chegar a um estado mais grave e irreversível, o de caquexia neoplásica, inversamente relacionada com tempo de sobrevida e prognóstico (CORONHA; CAMILO; RAVASCO, 2011; ARGILES, 2005).

A caquexia do câncer é definida como uma síndrome multifatorial caracterizada por uma perda contínua de massa muscular esquelética (com ou sem perda de gordura) que não pode ser completamente revertida pelo suporte nutricional convencional e leva à incapacidade funcional progressiva. A fisiopatologia perpassa por um balanço proteico e energético negativo, impulsionado por uma combinação de ingestão alimentar reduzida e metabolismo anormal (FEARON et al., 2011).

A caquexia, cujo sintoma mais notável é a acentuada e rápida perda de peso, apresenta várias manifestações clínicas como anorexia, alterações no paladar, astenia, fadiga exacerbada perda de peso involuntária (massa gorda e magra), perda da imunocompetência e de habilidades motoras e físicas, apatia, desequilíbrio iônico, anemia, náuseas e alterações no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios (BROWN, 2002). Dados atuais corroboram um conceito de caquexia do câncer como uma combinação variável de ingestão nutricional reduzida e alterações catabólicas/hipermetabólicas (BLUM et al., 2011).

O diagnóstico de pré-caquexia é feito quando da presença de disfunções metabólicas (intolerância à glicose e anorexia) associadas a perda de peso involuntária de até 5% nos últimos seis meses. Quando esta perda de peso for maior que 5%, ou o IMC < 20 kg/m² associado a perda de peso > 2%, ou ainda, a presença de sarcopenia associada a perda de peso > 2%, tem-se o diagnóstico de caquexia. Sarcopenia por sua vez, pode ser diagnosticada pela redução da musculatura do indivíduo a baixo do percentil 5 dos valores de referência para população e sexo específicas. Entretanto, pode-se utilizar os seguintes indicadores para o diagnóstico de sarcopenia: área muscular do braço determinada por antropometria (homens < 32 cm²; mulheres < 18 cm²); índice do músculo esquelético apendicular determinado por absorciometria de raios-X de dupla energia (homens < 7,26 kg/m²; mulheres < 5,45 kg/m²); índice do músculo esquelético lombar determinado por tomografia computadorizada (homens < 55 cm²/m²; mulheres < 39 cm²/m²); ou, índice de massa livre de gordura de corpo inteiro, sem considerar o tecido ósseo, determinado por impedância bioelétrica (homens < 14,6 kg/m²; mulheres < 11,4 kg/m²) (FEARON et al., 2011).

A ingestão alimentar reduzida em indivíduos com câncer é causada por anorexia primária e pode ser agravada pelo impacto de sintomas nutricionais secundários. É o mais frequente sintoma associado ao câncer presente em cerca de 24% dos indivíduos no diagnóstico, alcançando 80% na doença avançada (CALIXTO-LIMA et al., 2012). As principais causas de anorexia no indivíduo portador de câncer incluem: fatores psicológicos tais como ansiedade e depressão; concentrações elevadas de citocinas

inflamatórias IL-1 β , TNF- α e IL-6, as quais induzem menor expressão de mRNA de neuropeptídeo y (NPY) no hipotálamo, além de estimular a secreção de serotonina, triptofano e de leptina; e, a redução da resposta hipotalâmica aos hormônios controladores da fome/saciedade pela ativação do sistema melanocortina (NICOLINI et al., 2013).

Outros sintomas atrelados ao tratamento antineoplásico também interferem diretamente na ingestão alimentar e contribuem com a perda de peso no indivíduo portador de câncer. Sintomas do trato gastrointestinal são frequentemente associados aos efeitos colaterais do tratamento rádio e/ou quimioterápico, bem como consequência da própria doença. As náuseas e os vômitos aparecem como principais queixas, ocorrendo entre 21% e 68% dos indivíduos em cuidados paliativos e em até 80% naqueles em tratamento quimioterápico. A diarreia é outro sintoma comum, especialmente durante a quimioterapia, porém os tumores do trato digestivo e os neuroendócrinos também podem induzir a esse sintoma (SHADAD et al., 2013). A presença de constipação pode ocorrer como resultado do tratamento antineoplásico, pelo elevado uso de opioides ou pelo próprio crescimento tumoral, causando obstrução intestinal e aderências. Geralmente está associada a estresse físico, social e emocional, além de induzir dores de cabeça, fadiga, dor abdominal, hemorroidas, náuseas e vômitos (ABERNETHY; WHEELER; ZAFAR, 2010).

A disfagia, com ou sem odinofagia, é consequência secundária de sintomas como xerostomia, mucosite, estomatite e disgeusia, que afetam a sensibilidade da boca e da faringe, resultando em menor estímulo ao centro de deglutição, com aumento do tempo de trânsito dos alimentos pela faringe (CALIXTO-LIMA et al., 2012).

Em contrapartida, sugere-se que o gasto energético em repouso dos indivíduos com câncer avançado é significativamente maior quando comparado com o de indivíduos saudáveis. Assim, é necessário que a ingestão energética seja aumentada, em média, entre 300 e 400 kcal por dia, e a proteica em até 50,0% (FEARON; ARENDS; BARACOS, 2013).

O aumento na demanda energética é reflexo do rápido crescimento tumoral, o qual requer maior quantidade de energia para sobrevivência e replicação celular, além de alterações no metabolismo de nutrientes causadas pela secreção de elevadas concentrações de citocinas inflamatórias, sendo estas alterações mais perceptíveis na caquexia associada ao câncer. No metabolismo de carboidratos, observa-se intolerância à glicose; resistência à insulina e aumento da gliconeogênese a partir de aminoácidos e de lactato, vias estas que demandam moléculas de ATP nas suas reações, e explicam grande parte do aumento energético

no câncer; além de um desvio do metabolismo glicolítico aeróbio para anaeróbio (efeito Warburg), em que cada molécula de glicose geram substancialmente menos ATP, caracterizando uma ineficiência na produção de energia. O metabolismo de lipídios altera-se concomitantemente, com redução na hidrólise de lipídios exógenos; contínua oxidação de ácidos graxos endógenos, mesmo após a administração de glicose, resultado da secreção de fator mobilizador de lipídios (LMF) pelo tumor; redução da expressão de mRNA de lipoproteína lipase; e, estímulo da via lipolítica pela alta concentração de citocinas inflamatórias. Já o metabolismo de proteínas é caracterizado por uma intensa proteólise para suprir a demanda da gliconeogênese hepática com conseqüente redução da síntese muscular proteica, efeito mediado pela secreção de fator indutor de proteólise (PIF), além de disponibilizar aminoácidos para a produção de proteínas de fase aguda, estimuladas especialmente por IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Estas mesmas citocinas, ainda, ativam vias proteolíticas como a via dependente de ubiquitina-proteossoma, contribuindo com a redução da massa proteica. Contudo, o uso de medicamentos como glicocorticoides, também apresentam efeito proteico-catabólico e pode estimular a proteólise (ARENDS, 2010; NICOLINI et al., 2013).

As alterações promovidas pelo câncer impactam ainda, sobre o nível de atividade física desses indivíduos, e a sua diminuição pode representar uma resposta adaptativa na tentativa de reduzir o déficit entre a ingestão e o gasto energético (MOSES et al., 2004).

A fadiga relacionada ao câncer é definida como uma subjetiva sensação de cansaço físico, emocional e/ou cognitivo, que está relacionada ao câncer e ao seu tratamento, não sendo proporcional à atividade física recente e interferindo na capacidade funcional do indivíduo (EICKMEYER et al., 2012). Pode atingir cerca de 74% dos indivíduos, especialmente nos estágios avançados da doença, e está frequentemente associada a sintomas como dor, dispneia, perda do apetite e náuseas (RAAF et al., 2013). Além disso, é o principal fator contribuinte para redução na atividade física, que está diminuída em pelo menos um terço dos casos após o diagnóstico da doença, quadro que geralmente se perpetua por meses ou anos após o tratamento, interferindo na qualidade de vida dos indivíduos portadores de cânceres (BLANCHARD et al., 2003). A etiologia da fadiga é multifatorial e inclui anemia, deficiências nutricionais, disfunção endócrina e cardiopulmonar, alterações no humor, dor, distúrbios do sono, falta de condicionamento físico, efeitos relacionados ao tratamento e à malignidade do tumor (EICKMEYER et al., 2012).

As alterações na composição corporal de indivíduos com câncer diferem das encontradas nas de etiologia não oncológica e são decorrentes de várias transformações metabólicas ocasionadas pela interação tumor-hospedeiro, que repercute em modificações da composição corporal, traduzidas pela ocorrência de depleção dos depósitos proteicos, expansão do espaço de fluidos e esgotamento das reservas de tecido adiposo, resultando, em consequência, em variações do peso corpóreo desses indivíduos (CORONHA; CAMILO; RAVASCO, 2011; TISDALE, 2009).

Outro aspecto relevante relacionado à modificação da composição corporal do indivíduo portador de câncer, além das alterações dos compartimentos muscular e adiposo, refere-se às variações do estado de hidratação. Essas alterações são decorrentes da presença de hipoalbuminemia, alterações eletrolíticas, edema, linfedema, ascite, presença de metástases e uso de medicamentos, como os corticosteroides (BRASIL, 2013a).

No indivíduo oncológico, a qualidade de vida é amplamente influenciada por aspectos nutricionais e de composição corporal. A má nutrição é frequentemente apontada pelos doentes como causa da perda de função física, cognitiva e social (MARIN CARO; LAVIANO; PICHARD, 2007; CORONHA; CAMILO; RAVASCO, 2011). Embora a intervenção nutricional não seja amplamente considerada como parte do tratamento específico para o câncer, é um elemento fundamental em todas as etapas da abordagem ao indivíduo oncológico. O uso de terapia nutricional pode se tornar decisivo para melhorar o ganho de peso, preservar a integridade intestinal, restabelecer a imunidade, acelerar a cicatrização de feridas, diminuir a mortalidade e reduzir o tempo e os custos de hospitalização, além de propiciar melhor qualidade de vida (BRASIL, 2013a).

O mais recente estudo multicêntrico sobre o perfil nutricional do indivíduo portador de câncer no Brasil foi conduzido pelo INCA no ano de 2012. Participaram, neste estudo 4.822 indivíduos oncológicos maiores de 20 anos de idade, de ambos os sexos, internados em 25 instituições de tratamento do câncer no mês de novembro do referido ano, distribuídas pelas cinco regiões do país, sendo uma delas, o Centro de Pesquisas Oncológicas de Florianópolis. Os dados revelaram que 44,2% dos homens e 43% das mulheres investigadas relataram perda de peso antes da internação, sendo os tumores gastrointestinais os mais associados a este relato. Quanto a presença de sintomas que impactavam na redução da ingestão alimentar, menos de 50% da amostra relatou não ter problemas para se alimentar. Os principais sintomas gastrointestinais

relatados incluíram falta de apetite, náusea, constipação, xerostomia e “cheiros que incomodam”, sendo mais frequentes nos indivíduos portadores de tumores abdominais, principalmente estômago e intestino. Apenas, 1,7% dos adultos e 2,6% dos idosos com tumores de estômago, e, 11,8% dos adultos e 11,5% dos idosos com tumores de intestino, relataram não ter problemas para se alimentar. Ingestão alimentar menor que o habitual foi relatada em 48% dos investigados no momento da internação (BRASIL, 2013a).

Neste mesmo estudo, também foi avaliada as reservas corporais de gordura e de massa muscular por meio do exame físico contemplado na avaliação subjetiva global produzida pelo paciente. Os resultados mostraram que 33% e 32,4% dos avaliados apresentavam algum grau de déficit de massa gordurosa e muscular, respectivamente. Quanto a distribuição de líquidos corporais, observou-se a presença de edema e ascite em até 9% dos indivíduos avaliados. Por fim, a presença de desnutrição, avaliada pela aplicação da avaliação subjetiva global produzida pelo paciente, estava presente em 45,1% dos indivíduos, sendo que entre aqueles portadores de tumores gástrico, 73% foram classificados como desnutridos, enquanto que entre os portadores de tumores de intestino, reto e canal anal, este percentual foi de 43,8% (BRASIL, 2013a).

2.6 ÍNDICES PROGNÓSTICOS INFLAMATÓRIOS E NUTRICIONAIS COMO PREDITORES DE DESFECHOS NO CÂNCER GASTROINTESTINAL

Estimar o prognóstico do paciente é útil para informá-lo sobre os prováveis resultados de sua doença, bem como, auxilia na tomada de decisões médicas sobre procedimentos, testes e terapias mais adequadas a serem adotadas (HARRELL; LEE; MARK, 1996).

A seguir (quadro 3) são apresentados alguns índices prognósticos utilizados em estudos com câncer gastrointestinal, em que metanálises demonstraram seu valor preditivo para alguns desfechos.

2.7 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS n-3

2.7.1 Aspectos bioquímicos e metabólicos

Ômega-3 (n-3) é o nome dado a uma família de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), na qual a primeira insaturação encontra-se no carbono três. Quando formado por dezoito carbonos e três insaturações é

Quadro 3: Índices prognóstico baseados no estado inflamatório e/ou nutricional do paciente e seu valor preditivo para desfechos em câncer gastrointestinal - evidências a partir de metanálises.

Índice	Variáveis utilizadas pelo índice	Desfecho(s) de predição	Estudo(s) de metanálise
<i>Relação PCR/albumina</i>	PCR e albumina sérica	Sobrevida	Li et al. (2017); Xu et al., (2017)
<i>Razão neutrófilo/linfócito (RNL)</i>	Contagem de neutrófilos e linfócitos circulantes	Invasão em linfonodos, sobrevida, tamanho tumoral	Tang et al. (2016); Tsai et al. (2016); Xin-Ji et al. (2015); Chen et al. (2015)
<i>Glasgow prognostic score</i>	PCR e albumina sérica	Sobrevida	Liu et al. (2017); Woo, Kim, Kim (2015)
<i>Índice prognóstico nutricional</i>	Albumina e contagem total de leucócitos circulantes	Sobrevida, complicações no pós-operatório, metástase em linfonodos, invasão em vasos linfáticos	Yang et al. (2016); Sun et al. (2014)
<i>Razão plaquetas/linfócitos</i>	Contagem de plaquetas e de linfócitos circulantes	Sobrevida	Zhou et al. (2014); Guo et al. (2017)
<i>Razão Linfócitos/Monócitos</i>	Contagem de linfócitos e monócitos circulantes	Sobrevida	Song et al. (2016); Guo et al. (2017)

denominado ácido alfa-linolênico (ALA) [18:3 n-3], com vinte carbonos e cinco insaturações, de eicosapentaenoico (EPA) [20:5 n-3] e com vinte e dois carbonos e seis insaturações, de docosaexaenoico (DHA) [22:6 n-3] (HARDMAN, 2004).

Apenas as plantas sintetizam o ácido graxo n-3 alfa-linolênico (ALA), uma vez que o organismo de mamíferos não possui as enzimas desaturases capazes de incluir uma dupla ligação antes do carbono cinco, e por isso, ele é considerado essencial (ROYNETTE et al., 2004). Pode

ser abundantemente encontrado no óleo de linhaça, e em menor quantidade nos óleos de canola e soja, além de vegetais de folha verde escura (CALDER; DECKELBAUM, 2008).

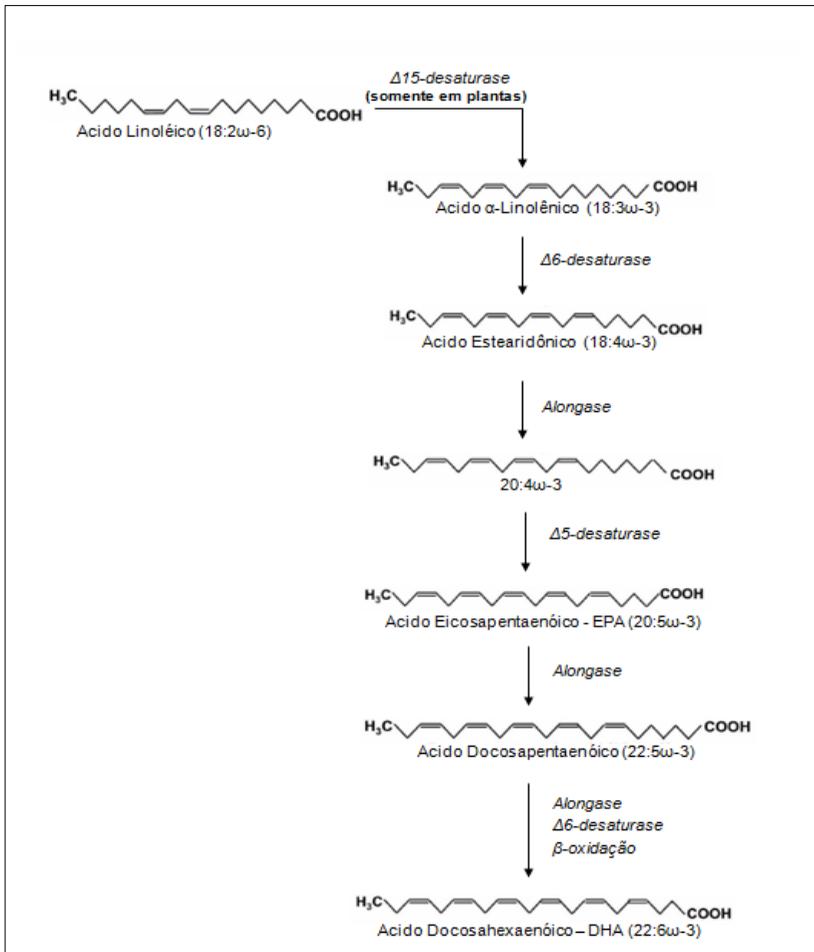
Os seres humanos têm um mecanismo enzimático que converte ALA em ácidos graxos n-3 de cadeia longa com maior bioatividade (EPA e DHA). A interconversão ocorre no retículo endoplasmático das células hepáticas e envolve duas famílias de enzimas: alongases, que adicionam duas unidades de carbono; e desaturases, que inserem duplas ligações na molécula do ácido graxo (BURDGE; CALDER, 2005) (Figura 1).

Em contrapartida, o DHA pode ser substrato para retroconversão metabólica a EPA por meio de uma reação de β -oxidação. O percentual de DHA que pode ser retroconvertido a EPA é de aproximadamente 1,4% em humanos com consumo normal de DHA, aumentando para 12% em indivíduos com consumo crônico (CONQUER; HOLUB, 1997; STARK; HOLUB, 2004).

A interconversão de ácidos graxos a partir de ALA é limitada e pode variar em subgrupos populacionais (BURDGE; CALDER, 2005). Tabagismo, consumo de álcool, Diabetes Mellitus, estresse, ingestão elevada de gordura *trans*, senescência e a ingestão insuficiente de energia, proteína, zinco, magnésio, cobre e das vitaminas B3, B6 e C influenciam de forma negativa o processo de interconversão de ácidos graxos no organismo humano por reduzirem a atividade das enzimas desaturases (MARTIN et al., 2006).

Estudos em humanos apontam que apenas uma pequena quantidade de ALA é convertida em EPA e DHA. Chiu et al. (2008) sugerem que cerca de 2 a 10% do total de ALA ingerido passa por esse processo e é biotransformado em EPA e DHA. Goyens et al. (2005) encontraram uma conversão de aproximadamente 7% de ALA para EPA e de apenas 0,013% para DHA. Hussein et al. (2005) encontraram percentuais de conversão ainda mais baixos: 0,3% para EPA e < 0,01% para DHA. Arterburn, Hall e Oken (2006) sugerem que a conversão de ALA em EPA varia de 0,3 a 8% nos homens, e em DHA, < 4%, e, muitas vezes, é indetectável no sexo masculino. Eles ainda afirmam que esse processo é mais eficaz nas mulheres: até 21% é convertido em EPA e até 9% é convertido em DHA. Emken, Adlof & Gulley (1994) mostraram que uma dieta rica em ácido linoléico reduz a eficácia do processo de conversão de ALA em ácidos graxos n-3 de cadeia longa em 40% e uma redução na acumulação em fosfolipídios de 70%. Em virtude desta baixa conversão, que chega a ser insignificante, Cockbain, Toogood e Casco (2012) classificam EPA e DHA como ácidos graxos “essenciais”. Sendo assim, a maneira mais segura e eficaz de elevar as concentrações de ácidos

Figura 1: Esquema da via de biossíntese dos ácidos graxos poli-insaturados EPA e DHA.



Fonte: Traduzido e adaptado de Burdge e Calder (2005).

graxos n-3 de cadeia longa EPA e DHA em fosfolipídios plasmáticos e de membrana é através da sua ingestão de alimentos fontes ou por meio de suplementos dietéticos.

EPA e DHA são produzidos primariamente pelas algas. Logo, peixes e frutos do mar que se alimentam de algas são ricos em EPA e DHA, assim como produtos derivados de sua extração lipídica (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006). É importante considerar que

diferentes tipos de peixes contêm quantidades diferentes destes ácidos graxos e podem conter diferentes proporções de EPA:DHA. Isso se deve a inúmeros fatores que incluem as características metabólicas do peixe, a sua alimentação, a temperatura da água em que vivem, e a estação do ano. De forma geral, os peixes com elevado teor de gordura (salmão, cavala, atum, arenque, sardinha) contêm mais AGPI n-3 que os peixes com reduzido teor (atum) (CALDER, 2012).

O óleo de peixe obtido da carne de peixes ricos em gorduras, ou do fígado de peixes com reduzido teor de gorduras, é rico em EPA e DHA, compreendendo até 30% dos ácidos graxos presentes. Um grama de óleo de peixe encapsulado pode fornecer 0,3 g de EPA mais DHA. No entanto, a variabilidade das proporções relativas de ácidos graxos n-3 de cada tipo de peixe é refletida também no óleo de peixe derivado. Como exemplo, o óleo de fígado de bacalhau é mais rico em EPA, enquanto que o óleo de atum, em DHA. Existem ainda, fórmulas disponíveis de EPA e/ou DHA isolados e concentrados (CALDER, 2012).

Após os processos de digestão e absorção os AGPI n-3 constituem componentes básicos estruturais de triglicerídeos, fosfolipídios e ésteres de colesterol. Apenas uma pequena quantidade encontra-se disponível na forma de ácidos graxos livres *in vivo*. O destino final é definido de acordo com a necessidade orgânica: armazenamento de energia (estoque em adipócitos); unidades estruturais de membranas; ou, produção de eicosanoides (ARAB, 2003).

A quantificação/medição *in vivo* do padrão de consumo destes ácidos graxos pode ser feita pelas determinações de ácidos graxos livres no soro; de componentes circulantes de triglicerídeos; de componentes da membrana de eritrócitos, fosfolipídios ou ésteres de colesterol, ou de tecido adiposo de vários locais (ARAB, 2003). O que determina o biomarcador a ser utilizado é o período (curto, médio ou longo-prazo) da ingestão dietética que se pretender medir (CANTWELL, 2000).

Os marcadores de curto prazo são as concentrações séricas ou plasmáticas de ácidos graxos isolados ou constituintes de triglicerídeos, que podem refletir o consumo de ácidos graxos da última refeição; ou ainda, de ésteres de colesterol ou fosfolipídios, que reflete o consumo dos últimos dias. De médio prazo, membranas de eritrócitos fornecem estimativas da ingestão nos últimos 120 dias (tempo que corresponde à meia-vida destas células). Tecido adiposo é o meio preferido para a medição de ácidos graxos como um reflexo de longo prazo (aproximadamente 2,5 anos), desde que o indivíduo não tenha passado por uma perda de peso grave nesse período (CANTWELL, 2000; ARAB, 2003).

A incorporação em membranas ocorre de forma dose-dependente, e parece atingir o pico após três semanas da administração diária dos AGPI n-3 (COCKBAIN; TOOGOOD; CASCO, 2012). Gibney e Hunter (1993) encontraram um grau de incorporação máximo de EPA no plasma, plaquetas, linfócitos, neutrófilos e monócitos em duas semanas após início da suplementação diária com 1,2 a 2,4 g de EPA em oito voluntários saudáveis. Read et al. (2007) ao suplementar indivíduos com CCR avançado em quimioterapia com uma fórmula líquida oral contendo 2,18 g de EPA e 0,92 g de DHA durante nove semanas observaram o pico de incorporação em fosfolipídios plasmáticos na terceira semana após a suplementação diária (0,53% e 2,6% de EPA e DHA no momento basal para 5,3% e 7,04%, respectivamente, ao final da terceira semana), se mantendo constantes até o final do estudo. Hillier et al. (1991) forneceram óleo de peixe (3,2 g de EPA e 2,2 g de DHA por dia) a 11 indivíduos com doença inflamatória intestinal ativa e coletou amostras de tecido do cólon na semana 3, 6 e 12. Os resultados encontrados mostraram aumento de sete vezes o conteúdo de EPA na mucosa intestinal ao final da terceira semana de suplementação, enquanto que o conteúdo de DHA havia dobrado. As concentrações foram mantidas, sem aumento, até o final do período de estudo. Yaqoob et al. (2000) observaram pico de incorporação de EPA e DHA em fosfolipídios plasmáticos após quatro semanas de suplementação com 9 g/dia de óleo de peixe encapsulado contendo 2,1 g de EPA e 1,1 g de DHA durante 12 semanas em voluntários saudáveis (n = 40). Ao repetir as análises do perfil de ácidos graxos em fosfolipídios plasmáticos oito semanas após o término da suplementação, observaram uma queda de 7,2 vezes nas concentrações de EPA (3,6% na semana 12 para 0,5% na semana 20). A concentração de DHA também apresentou queda, porém em menor proporção (1,4 vezes: 4,9% na semana 12 para 3,6% na semana 20). Esses resultados confirmam o baixo acúmulo/armazenamento desses ácidos graxos, especialmente de EPA, implicando em um consumo contínuo para manutenção dos níveis (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006).

Bonatto et al. (2012) verificaram aumento de 1,6 vezes na concentração de EPA em células polimorfonucleares de indivíduos portadores de câncer gastrointestinal e pulmonar em quimioterapia suplementados com 2 g/dia de óleo de peixe (0,3 g de EPA e 0,4 g de DHA por dia) durante oito semanas, enquanto que a concentração de DHA duplicou. Popovic et al. (2009) observaram aumento significativo na concentração de EPA em fosfolipídios plasmáticos de 13 indivíduos com icterícia obstrutiva (causa primária obstrução das vias biliares) após sete dias de suplementação diária com 5 g de óleo de peixe encapsulado

contendo 0,9 g de EPA e 0,6 g de DHA (0,18% para 0,55%). No entanto, a concentração de DHA não apresentou aumento expressivo (2,22% para 2,53%).

Em um estudo prévio, seis portadores de CCR foram suplementados com 2 g/dia de óleo de peixe contendo 0,6 g/dia de EPA e DHA durante nove semanas, foi observado um acréscimo significativo nas concentrações plasmáticas de EPA e DHA no grupo que recebeu a suplementação, enquanto que o grupo controle, não apresentou alteração. Ainda, neste mesmo estudo, observou-se que a medida que houve um aumento nas concentrações de EPA e DHA, as concentrações plasmáticas de ácido araquidônico (AGPI n-6) caíram significativamente (MOCELLIN et al., 2013).

2.7.2 Consumo dos AGPI n-3 e recomendações dietéticas

O consumo de peixes ricos em gorduras entre as populações ocidentais é tipicamente baixo, o que implica em baixo consumo também de EPA e DHA. A média de ingestão de ácidos graxos n-3 de cadeia longa entre os adultos do norte europeu, Europa oriental, da América do Norte e Austrália estava estimada em 0,15 a 0,25 g/dia. Populações, como os japoneses, que consomem peixes oleosos em maiores quantidades e com maior regularidade do que as populações ocidentais têm maior consumo de ácidos graxos n-3 de cadeia longa. Com o advento da industrialização alimentícia, o consumo desde os dois últimos séculos dos AGPI n-3 tem decaído gradativamente entre a população mundial, à medida que gordura saturada, AGPI n-6 e gordura *trans*, aumentaram (SIMOPOULOS, 2000). Coincidentemente, neste período, as taxas de incidência de doenças crônicas, como diabetes, câncer, obesidade, tiveram um aumento bastante expressivo.

De acordo com as *Dietary References Intakes* (DRI's), a quantidade que corresponde à Ingestão Adequada (AI) dos AGPI n-3 para adultos saudáveis é de 1,6 e 1,1 g/dia para homens e mulheres respectivamente. Deste total, aproximadamente 10% deve ser de EPA e DHA (aproximadamente de 0,06 a 0,12% do total de energia consumida) e o restante de ácido alfa-linolênico (ALA). Não existe limite máximo (UL) estabelecido (INSTITUTE OF MEDICINE, 2005). Ainda, referenciando o balanço do consumo n-6:n-3 (ácido linoléico: ácido α -linolênico), recomenda-se uma razão de 5:1 a 10:1 (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1994). A *World Health Organization* (2003) orienta o consumo regular de peixes duas vezes por semana para a prevenção de

doenças crônicas, prevendo que cada refeição forneça uma quantidade estimada de 200 a 500 mg de EPA e DHA somados.

Um sumário mais detalhado sobre as recomendações globais para o consumo dos AGPI n-3 encontra-se no quadro 4.

Quadro 4: Recomendações globais para o consumo dos AGPI n-3.

Organização	Tipo de organização	População alvo	Recomendação
<i>World Health Organization (2002)</i>	Oficial	População adulta	AGPI n-3: 1-2% do total de energia/dia
<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (2010)</i>	Oficial	0-6 meses	DHA: 0,1-0,18% do total de energia
		6-24 meses	DHA: 10-12 mg/kg
		2-4 anos	EPA + DHA: 100-150 mg
		4-6 anos	EPA + DHA: 150-200 mg
		6-10 anos	EPA + DHA: 200-250 mg
		Gestante/lactante	EPA + DHA: 0,2-0,3 g/dia
<i>International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids – ISSFAL (2004)</i>	Organização Científica de Especialistas	População adulta Saúde cardiovascular	EPA + DHA: \geq 500 mg/dia
		Gestante/lactante	DHA: 200 mg/dia
<i>NATO Workshop on ω-3 and ω-6 Fatty Acids (1989)</i>	Workshop	População adulta	EPA + DHA: 300-400 mg/dia
<i>World Association of Perinatal Medicine (2008)</i>	Grupo de trabalho	Gestantes/lactantes	DHA: 200 mg/dia
		Crianças quando a amamentação não é possível	0,2 a 0,5% do total de gordura
<i>World Gastroenterology Organisation (2008)</i>	Organização Científica de Especialistas	População adulta	3-5 porções de peixe por semana

Fonte: *Global Organization for EPA and DHA Omega-3 (2014)*.

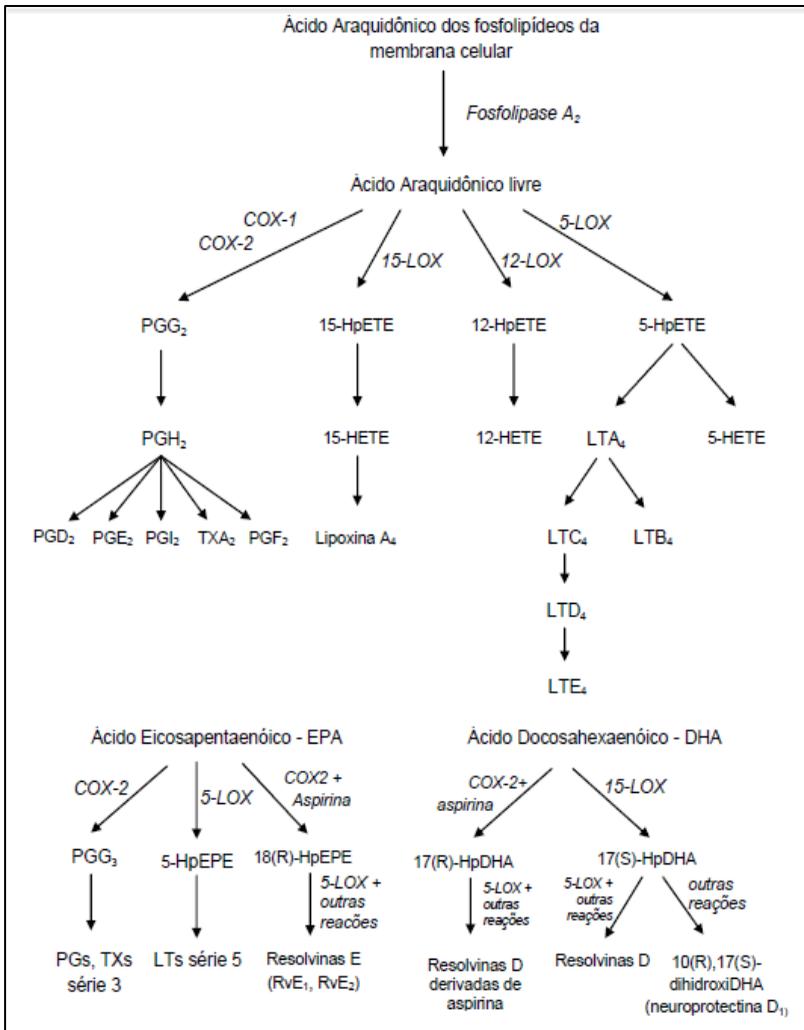
No Brasil, a Sociedade Brasileira de Cardiologia recomenda para os indivíduos com doença arterial coronariana o consumo de suplemento de EPA e DHA na dose de 1g/dia (SPOSITO et al., 2007).

2.7.3 Implicações dos AGPI n-3 sobre a inflamação e o câncer

Os AGPI são responsáveis pela formação de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) que são mediadores e reguladores da intensidade e duração da resposta inflamatória (TILLEY; COFFMAN; KOLLER, 2001). Assim, uma das formas de regulação da resposta inflamatória é através da regulação negativa da síntese de eicosanoides pró-inflamatórios.

Os AGPI da família ômega-3 (DHA, EPA e ALA) competem entre si e com outro AGPI da família ômega-6 (ARA) pela sua incorporação em fosfolipídios de membrana. A proporção relativa destes ácidos graxos representa o seu padrão de consumo dietético, e determina, após clivagem pela enzima fosfolipase, a disponibilidade dele como substrato para as vias enzimáticas da COX-2 e da 5-LOX e, conseqüentemente, determina o equilíbrio entre os eicosanoides. A membrana fosfolipídica normalmente contém maiores concentrações de ARA do que de EPA e/ou DHA. Os ácidos graxos de 20 carbonos são mobilizados da membrana celular pela ação das fosfolipases A2 e C e, subsequentemente, metabolizados pela COX ou LOX. O ARA é metabolizado em prostaglandinas (PGE₂) e tromboxanos de série 2, e leucotrienos de série 4 (LTB₄). A metabolização de EPA gera eicosanoides derivados da COX que recebem o sufixo “3” e os da LOX, o sufixo “5” (DUPERTUIS; MEGUID; PICHARD, 2007; PATTERSON; GEORGEL, 2014) (Figura 2).

As séries pares geradas tendem a ser pró-inflamatória e proliferativa em muitos tecidos. As séries ímpares produzidas pela mobilização de EPA e/ou DHA – que são preferencialmente utilizados pelas enzimas COX e LOX – tendem a promover menor inflamação e proliferação, sendo menos favoráveis ao desenvolvimento e crescimento de células cancerígenas (SIMOPOULOS, 2002; HARDMAN, 2004). Dentre as ações pró-inflamatórias de LTB₄ e da PGE₂ está o aumento na produção de IL-1, IL-6 e TNF- α (TILLEI; COFFMAN; KOLLER, 2001).

Figura 2: Esquema da síntese de eicosanoides derivados de ARA, EPA e DHA.

Abreviações: COX, ciclo-oxigenase; HETE, Ácido hidroxieicosatetraenóico; HpETE, ácido hidroxiperoxieicosatetraenóico; HpEPE, ácido hidroxiperoxieicosapentaenóico; HpDHA, ácido hidroxiperoxidocosahexaenóico; LOX, lipoxigenase; LT, leucotrieno; PG, prostaglandina; TX, tromboxano.

Fonte: Adaptado de Calder (2009).

As resolvinas, protectinas e as lipoxinas são consideradas moléculas endógenas pró- resolução da inflamação, pois promovem absorção e eliminação de micro-organismos e células apoptóticas pelos macrófagos nos locais de inflamação. Resolvinas e protectinas são biossintetizadas a partir de ácidos graxos n-3 de cadeia longa (EPA e DHA), e lipoxina a partir

do ARA (SERHAN; CHIANG; VAN DYKE, 2008). Os neutrófilos liberados no exsudato podem mudar seu fenótipo para gerar mediadores de proteção derivados de ácidos graxos a fim de promover a resolução e retorno da homeostase (SERHAN, 2009).

Os mediadores formados a partir de EPA são gerados por uma série de reações envolvendo COX-2 e 5-LOX e são denominados de resolvinas-E. Estes mediadores parecem exercer potente ação anti-inflamatória em neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células T (CALDER, 2008; SEKI; TANI; ARITA, 2009).

Os mediadores derivados de DHA são denominados de resolvinas D e são produzidos por vias similares. Apresentam potente ação de inibição da infiltração por neutrófilos (SERHAN; CHIANG; VAN DIKE, 2008). Estes achados tornam o DHA tão importante quanto o EPA na modulação da resposta inflamatória (CALDER, 2008). O DHA é, ainda, convertido em outra molécula chamada protectina. Estas são distinguidas pela presença de três duplas ligações conjugadas. Possuem potente bioatividade no bloqueio da ativação de neutrófilos e na redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias (SERHAN; CHIANG; VAN DIKE, 2008; SERHAN, 2009). A combinação de moléculas pró-resolução e antagonistas das vias COX e LOX parece ser uma boa estratégia para a recuperação e a restauração do controle da inflamação (SERHAN; CHIANG; VAN DIKE, 2008).

Mediadores da resposta inflamatória derivados dos ácidos graxos EPA e DHA também podem interferir na apoptose celular via inibição de NF- κ B. Quando ativado, este fator de transcrição bloqueia a morte celular e apoptose, sendo frequentemente regulado em células cancerígenas, resultando em células que são resistentes aos fármacos quimioterápicos ou à radiação ionizante e não morrem em resposta ao dano genético que tenha ocorrido (KARIN, 2006). Estudos sugerem efeitos diretos dos AGPI n-3 e de seus mediadores sobre a expressão genética através da inibição da ativação de NF- κ B (NOVAK et al., 2003).

A inibição da ação de NF- κ B pode ser explicado por diversos mecanismos: 1) por meio da ativação de cascatas de sinalização intracelular pela ligação dos AGPI n-3 com o receptor de membrana GPR120 que impede a fosforilação de I κ B e ativação de NF- κ B; 2) pela

inibição da translocação nuclear de NF- κ B pelo também fator de transcrição nuclear, PPAR γ , ativado por AGPI n-3; e, 3) pela redução na produção de substâncias inflamatórias pela COX-2 e 5-LOX, que são estímulos para a ativação da cascata do NF- κ B via receptores de membrana TLR-4 e MyD88 (VANDEN BERGHE et al., 2003; CALDER, 2015).

O aumento na biodisponibilidade dos AGPI n-3 dá origem a endocanabionoides (etanolamida docosahexaenoil e eicosapentaenoil) que demonstraram apresentar propriedades anti-inflamatórias em modelos de cultura celular. Por exemplo, tanto etanolamida docosahexaenoil quanto a eicosapentaenoil diminuíram a produção de IL-6 e de proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1) em adipócitos. Além disso, etanolamida docosahexaenoil parece ser um potente inibidor da produção de óxido nítrico e de MCP-1 por macrófagos estimulados por IL-6 (CALDER, 2015).

Estudos têm observado que EPA é capaz de inibir a inflamação *in vivo*, promove ganho de peso, melhora a resposta à terapia, reduz complicações e aumenta a sobrevida em vários tipos de câncer (JHO et al., 2004; ELIA et al., 2006; FENTON et al., 2013). O ganho ou manutenção de peso, bem como de massa magra a partir do consumo dos AGPI n-3 pode ser explicado pela redução da inflamação e pela ativação da via mTOR-p70s6k que apresenta um papel chave no controle da síntese proteica muscular, ainda que por caminhos não totalmente esclarecidos (SMITH et al., 2011; DÍ GIROLAMO et al., 2014).

Entretanto, as ações aqui relatadas dos AGPI n-3 estão relacionadas a uma dose-resposta em modelos clínicos e animais, *in vivo* e *in vitro* delimitados e específicos. Neste sentido, a generalização dos resultados é limitada. Por outro lado, isto serve de estímulo para a realização de novas pesquisas com modelos diferentes e com protocolos de suplementação dos AGPI n-3 diferentes, a fim de comprovar tais benefícios com a suplementação destes ácidos graxos, especialmente no câncer gastrointestinal.

2.7.4 Evidências geradas a partir de ensaios clínicos realizados com humanos

No modelo de câncer gastrointestinal, vários ensaios clínicos foram conduzidos: estudos que envolveram apenas pacientes com câncer colorretal (PURASIRI et al., 1994; BRAGA et al., 2002; HORIE et al., 2006; READ et al., 2007; LIANG et al., 2008; TRABAL et al., 2010; SILVA et al., 2012; ZHU et al., 2012; MOCELLIN et al., 2013;

SORENSEN et al., 2014), apenas câncer gástrico (CHEN et al., 2005; FARRERAS et al., 2005; KLEK et al., 2005; OKAMOTO et al., 2009; MAKAY et al., 2011; FUJITANI et al., 2012; MARANO et al., 2013; WEI et al., 2014; NEMATİ et al., 2015; IDA, et al., 2017), ou com ambos (BRAGA et al., 1996; GIANOTTI et al., 1999; XU et al., 2006; de MIRANDA TORRINHAS et al., 2013; MA et al., 2015).

Deste total, em apenas cinco, a suplementação com AGPI n-3 ocorreu concomitante a quimioterapia (READ et al., 2007; TRABAL et al., 2010; SILVA et al., 2012; MOCELLIN et al., 2013; NEMATİ et al., 2015). Também destaca-se que em 14, os AGPI n-3 foram ofertados como parte de um suplemento/dieta imunomodulador contendo carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, além de outros agentes imunomoduladores (arginina, glutamina, ou nucleotídeos) (BRAGA et al., 1996; GIANOTTI at al., 1999; BRAGA et al., 2002; CHEN et al., 2005; FARRERAS et al., 2005; HORIE et al., 2006; READ et al., 2007; OKAMOTO et al., 2009; TRABAL et al., 2010; FUJITANI et al., 2012; de MIRANDA TORRINHAS et al., 2013; MARANO et al., 2013; SORENSEN et al., 2014; IDA, et al., 2017).

Quanto aos desfechos avaliados, todos eles avaliaram pelo menos um marcador de inflamação (citocinas e/ou proteínas de fase aguda). Apenas um avaliou o efeito dos AGPI n-3 sobre as concentrações de PGE₂ circulantes (de MIRANDA TORRINHAS et al., 2013), mas foi realizado com pacientes cirúrgicos. Dois, realizados com pacientes em quimioterapia, avaliaram qualidade de vida (READ et al., 2007; TRABAL et al., 2010); oito, avaliaram desfechos antropométricos indicativos do estado nutricional (XU et al., 2006; READ et al., 2007; OKAMOTO et al. 2009; TRABAL et al., 2010; SILVA et al., 2012; MOCELLIN et al., 2013; NEMATİ et al, 2015; IDA et al., 2017); e, dois avaliaram composição corporal (READ et al., 2007; MOCELLIN et al., 2013).

As características metodológicas dos estudos em que a suplementação dos AGPI n-3 ocorreu concomitante à quimioterapia estão apresentados na tabela 1, e os detalhes dos protocolos de suplementação, bem como os desfechos avaliados e os resultados obtidos, na tabela 2.

Os resultados para os desfechos antropométricos demonstraram que a suplementação dos AGPI n-3, independente da dose ofertada, proporcionou aumento de peso no grupo intervenção (diferença de peso positiva), enquanto que nos estudos controlados, o grupo controle perdeu peso (diferença de peso negativa), e essa diferença de peso calculada pela subtração do peso final pelo inicial, quando comparada ao grupo controle,

Tabela 1: Principais características metodológicas dos ensaios clínicos em que a suplementação dos AGPI n-3 ocorreu concomitante a quimioterapia.

Estudo (ano)	País	Desenho do estudo	Localização tumoral	Fórmula AGPI n-3	Fórmula Controle	N/n
Nemati et al. (2015)	Irã	ECR duplo-cego	Gástrico	<i>Tablets</i> de óleo de peixe	Parafina	15/15
Mocellin et al. (2013)	Brasil	ECR	Colorretal	Cápsulas de óleo de peixe	-	6/5
Silva et al. (2012)	Brasil	ECR	Colorretal	Cápsulas de óleo de peixe Dieta imunomoduladora (EPA + antioxidantes)	-	10/8
Trabal et al. (2010)	Espanha	ECR	Colorretal	Dieta imunomoduladora (EPA + antioxidantes)	-	6/7
Read et al. (2007)*	Austrália	Antes e depois	Colorretal	Dieta imunomoduladora (EPA)	-	23

Abreviações: AGPI – Ácidos graxos poli-insaturados; ECR – Ensaio clínico randomizado; EPA – ácido eicosapentaenoico; n – número de indivíduos analisados no grupo controle; N – número de indivíduos analisados no grupo que recebeu AGPI n-3.

* Estudo não controlado.

Tabela 2: Características do protocolo de suplementação dos AGPI n-3 e resultados obtidos nos ensaios clínicos em que a suplementação ocorreu concomitante a quimioterapia.

Ensaio (ano)	Dose EPA+DHA	Duração / período de suplementação	Via de administração	Resultados
Nemati et al. (2015)	3 g (1,8 g EPA + 1,2 g DHA)	6 semanas	Oral	↑ ALB e transferrina ↑ <i>peso final e durante</i> ; ↔ <i>IMC</i> ↓ PCR e PCR/ALB; ↔ ALB, IL-1β, TNF-α, IL-10 e IL-17A
Mocellin et al. (2013)	0,6 g/dia	9 semanas	Oral	↔ <i>peso final e durante o estudo</i> , <i>IMC, Massa gorda e massa magra*</i>

Tabela 2: Características do protocolo de suplementação dos AGPI n-3 e resultados obtidos nos ensaios clínicos em que a suplementação ocorreu concomitante a quimioterapia. (Continuação)

Ensaio (ano)	Dose EPA+DH A	Duração / período de suplementação	Via de administração	Resultados
Silva et al. (2012)	0,6 g/dia	9 semanas	Oral	↔ PCR, ALB, PCR/ALB, IL-1 β , TNF- α e IL-6 ↔ <i>peso e IMC final</i> ; ↑ <i>peso e IMC durante o estudo</i>
Trabal et al. (2010)	2 g/dia	12 semanas	Oral	↔ ALB ↑ <i>peso durante o estudo</i> ↔ QOL-C30; ↑ função social
Read et al. (2007)	3,1 g/dia	9 semanas	Oral	↔ PCR, IL-1 β , 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, GM-CSF e RANTES; ↑ eotoxina ↑ <i>peso durante o estudo</i> ; ↔ <i>massa magra</i> ** ↔ QOL-C30

Peso e/ou IMC durante o estudo refere-se a alteração de peso calculado pela subtração do peso final pelo inicial. Abreviações: ↔ - sem significância estatística entre os grupos intervenção e controle no final do estudo; ↓ - valores significativamente menores ($p < 0,05$) no grupo intervenção ao final do estudo quando comparado ao controle; ↑ - valores significativamente maiores ($p < 0,05$) no grupo intervenção ao final do estudo quando comparado ao controle; ALB – Albumina; IL – Interleucina; IMC – Índice de Massa Corporal; PCR – Proteína C-Reativa; PCR/ALB – razão entre PCR e albumina; QOL – Qualidade vida global; TNF – Fator de necrose tumoral.

* composição corporal avaliada por dobras cutâneas.

** composição corporal avaliada por bioimpedância elétrica.

do após 12 semanas de acompanhamento e suplementação. Todavia, relata que ambos os grupos tiveram uma redução na função física ($p > 0,05$) e que somente no grupo controle essa redução foi clinicamente

relevante (10 pontos de diferença na escala entre os grupos). Função social, por sua vez, foi positivamente afetada pela intervenção com diferença estatística significativa entre os grupos ($p = 0,038$). Em relação a escala de sintomas, o grupo controle experienciou maior fadiga e dor, enquanto que o grupo que recebeu 2,0 g/dia dos AGPI n-3, apresentou maior perda de apetite ($p > 0,05$, mas com relevância clínica, isto é, 10 pontos de diferença na escala entre os grupos). No estudo do tipo antes e depois de Read et al. (2007), não foram observadas melhoras significativas nas escalas do questionário após três e nove semanas de suplementação diária de 3,1 g/dia dos AGPI n-3. De acordo com os autores o estado global de saúde e bem-estar apresentou uma tendência de melhora durante o curso da suplementação ($p = 0,05$).

Por fim, os marcadores de inflamação foram pouco afetados pela suplementação dos AGPI n-3. Apenas albumina, transferrina e PCR tiveram alterações significativas em dois estudos.

3 JUSTIFICATIVA, ORIGINALIDADE, RELEVÂNCIA E CONTRIBUIÇÃO CIENTÍFICA

A elaboração desta tese está JUSTIFICADA nos seguintes pilares:

- A continuação da investigação dos efeitos dos AGPI n-3 em situações oncológicas iniciado em 2009 pelo grupo de pesquisa e motivados pelos resultados obtidos nestes estudos (SILVA et al., 2012; MOCELLIN et al., 2013; CAMARGO et al, 2016; CHAGAS et al., 2017);
- O impacto negativo da inflamação exacerbada sobre o estado nutricional, a resposta à terapia e a qualidade de vida do indivíduo com câncer;
- As evidências existentes, porém, não conclusivas, até o presente momento dos possíveis benefícios do uso dos AGPI n-3 no câncer gastrointestinal;
- A ausência de um estudo com protocolo semelhante, especialmente no que tange dose e tratamento anticâncer em que a suplementação dos AGPI n-3 ocorreu concomitantemente, além de outros pontos inéditos, como desfechos não investigados, que caracterizam a originalidade desta pesquisa;
- A necessidade e a busca por terapias não farmacológicas, de baixo custo e fácil acesso, moduladoras da inflamação que podem servir como tratamento adjuvante ao antineoplásico.

A ORIGINALIDADE, por sua vez, embasada na seção anterior onde são apresentados estudos realizados *in vivo* com seres humanos portadores de câncer gastrointestinal e que receberam suplementação dos AGPI n-3 durante a quimioterapia, encontra-se descrita nos itens a seguir:

- A ausência de estudos que testaram doses de suplementação dos AGPI n-3 entre 1 e 2 g/dia;
- A ausência de estudos que determinaram como desfechos inflamatórios os eicosanoides derivados de ácidos graxos;
- Reduzido número de estudos que avaliaram o efeito da suplementação dos AGPI n-3 na composição corporal e na qualidade de vida.

Já a RELEVÂNCIA reside na ausência de uma recomendação específica sobre dose e tempo de ingestão dos AGPI n-3 nesta situação clínica, reflexo de lacunas do conhecimento teórico sobre a dose-resposta destes ácidos graxos nos diversos tipos de câncer, bem como, sobre o

momento/tempo de suplementação ideal e tipo de paciente que poderá se beneficiar.

Por fim, os achados deste estudo **CONTRIBUEM** com o preenchimento, mesmo que em partes, desta lacuna de conhecimento teórico sobre a ação dos AGPI n-3, ao mesmo tempo, que contribui com as evidências científicas para a implementação destes ácidos graxos como adjuvantes da terapia antineoplásica. Ao influenciar positivamente o prognóstico do paciente, destaca-se o importante impacto sobre os custos dos sistemas de saúde públicos e privados, que poderão ser minimizados, assim como, os dias que poderão ser adicionados a vida do paciente.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da suplementação dos ácidos graxos poli-insaturados n-3 (EPA e DHA) em câncer gastrointestinal.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste estudo compreendem:

- a) elaborar revisão sistemática da literatura publicada, a fim de encontrar e reunir as evidências sobre os efeitos dos AGPI n-3 nos marcadores de inflamação no câncer colorretal e gástrico³.
- b) realizar meta-análises a partir dos estudos identificados pela revisão sistemática, objetivando resumir em um tamanho de efeito o impacto da suplementação dos AGPI n-3 sobre os marcadores de inflamação;
- c) avaliar, ainda por análise estatística (metanálise), características dos protocolos de suplementação e dos desenhos metodológicos dos estudos que podem influenciar os efeitos dos AGPI n-3 sobre os desfechos investigados;
- d) verificar/determinar/avaliar por meio de um ensaio clínico randomizado os efeitos da suplementação de óleo peixe concentrado em AGPI n-3 durante nove semanas em indivíduos com câncer gastrointestinal recebendo quimioterapia, e comparar com o grupo controle os seguintes parâmetros:
 - concentrações de marcadores de inflamação (citocinas, PGE₂ e proteínas de fase aguda),
 - composição corporal,
 - dados antropométricos e o estado nutricional,
 - qualidade de vida, e
 - risco indicados por índices prognósticos (relação PCR/albumina e razão neutrófilo-linfócito).

³ Os cânceres gástrico e colorretal foram os selecionados por serem os tipos de cânceres englobados na categoria gastrointestinal com maior número de estudos investigando os efeitos da suplementação dos AGPI-n3.

5 HIPÓTESES

As hipóteses abaixo foram elaboradas na etapa de planejamento do estudo, sendo mantidas da forma que foram apresentadas.

- a) Hipóteses primárias a serem confirmadas ou refutadas:
 - a.1) estudo de revisão sistemática da literatura: as evidências dos estudos científicos publicados indicarão que a suplementação dos AGPI n-3 modula positivamente (diminui) a inflamação associada aos cânceres colorretal ou gástrico, refletida por concentrações de marcadores inflamatórios que contribuem com o desenvolvimento e progressão tumoral reduzidas.
 - a.2) ensaio clínico: a suplementação com AGPI n-3 modulará positivamente os níveis dos marcadores inflamatórios circulantes, reduzindo as concentrações de citocinas pró-inflamatórias, refletindo sobre a resposta de fase aguda, os parâmetros antropométricos, o estado nutricional, a composição corporal e o risco de complicações inflamatórias e nutricionais.

- b) Hipóteses secundárias a serem confirmadas ou refutadas:
 - b.1) a suplementação com AGPI n-3 propiciará manutenção ou ganho de peso e/ou massa magra nos indivíduos que serão suplementados;
 - b.2) a suplementação de AGPI n-3 propiciará melhor qualidade devida ao portador de câncer gastrointestinal em tratamento quimioterápico;
 - b.3) a suplementação reduzirá sinais e sintomas gastrintestinais associados ao câncer a ao tratamento quimioterápico;
 - b.4) a suplementação reduzirá também, o risco de complicações inflamatórias e nutricionais.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E METANÁLISE

As revisões sistemáticas da literatura, com meta-análises, tinham como objetivos reunir as evidências publicadas sobre os efeitos da suplementação dos AGPI n-3 nos marcadores de inflamação de indivíduos com câncer colorretal ou gástrico e resumi-las em uma única medida de efeito, com a finalidade principal de orientar a elaboração de recomendações acerca.

Para a elaboração destas, foram seguidas as orientações indicadas pelo PRISMA *statement - Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (LIBERATI et al., 2009) e pelo *Handbook* para revisões sistemáticas de estudos de intervenção, elaborado pelo Grupo Cochrane (HIGGINS; GREEN, 2011).

As etapas executadas em cada uma delas estão descritas no fluxograma da figura 3. Elas foram delineadas para responder a perguntas de pesquisa criadas utilizando a estratégia PICO (DA COSTA SANTOS; DE MATTOS PIMENTA; NOBRE, 2007), onde:

P – paciente: portador de câncer colorretal ou gástrico, isolados;

I – intervenção: suplementação dos AGPI n-3, isolados, na forma de óleo de peixe e/ou adicionados em fórmulas completas⁴ (suplemento líquido);

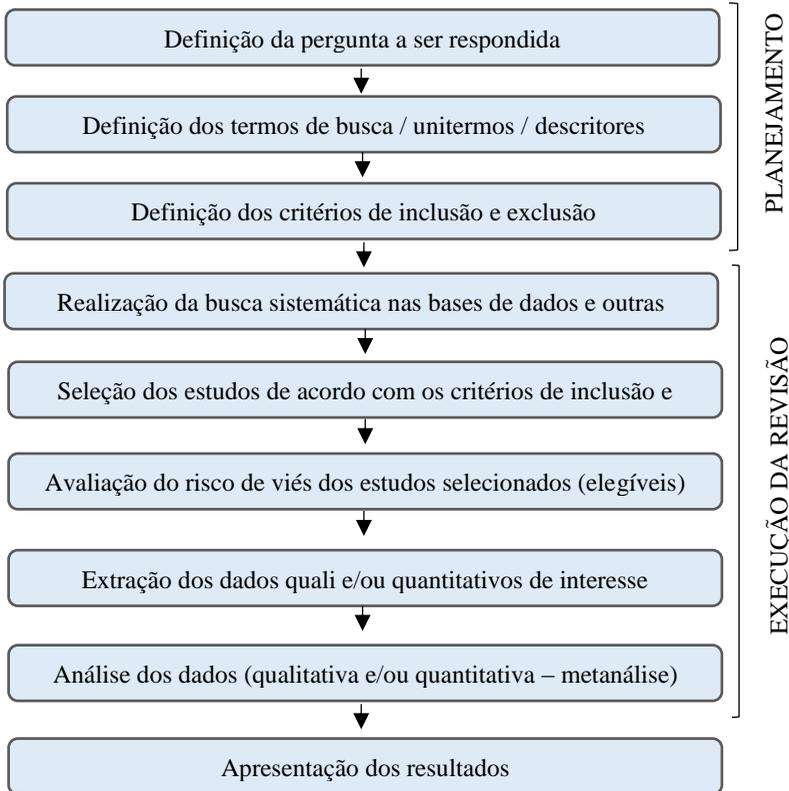
C – comparação: grupo controle recebendo placebo ou não (foi considerado placebo um produto que não continha AGPI n-3 ou que a quantidade presente destes AGPI eram muito menores que a presente no suplemento do grupo intervenção);

O – desfechos: marcadores de inflamação (citocinas e/ou proteínas de fase aguda).

Após a definição das perguntas de pesquisa, foram definidos os unitermos (termos de busca/descriptores) com base em palavras-chave de estudos conhecidos, nos *Medical Subject Headings* (MeSH terms), e expressões comuns da temática, considerando todas as possíveis variações de escrita. Também foram definidas as estratégias de busca, considerando o uso de operadores booleanos (OR e AND), aspas (“”), símbolos de truncamento (\$/#) e parênteses, adaptando a estratégia de acordo com as particularidades de cada base de dados pesquisada.

⁴ Fórmulas completas refere-se a um suplemento contendo macro e micronutrientes.

Figura 3: Fluxograma dos passos executados na elaboração das revisões sistemáticas e metanálises.



Fonte: adaptado de Liberati et al. (2009) e Higgins & Green (2011).

Ainda na etapa de planejamento, foram definidos os critérios de inclusão (ensaios clínicos controlados; estudos realizados *in vivo* em humanos; artigos completos publicados; avaliação de pelo menos um desfecho de interesse; amostra constituída apenas pelo tipo de câncer de interesse; língua da publicação inglesa, portuguesa ou espanhola; além dos apresentados nos itens da estratégia PICO) e de exclusão (artigos publicados em outra língua que não as mencionadas anteriormente; resumos, anais de eventos e literatura cinzenta; estudos realizados com

amostra contendo diversas localizações tumorais; e estudos que recrutaram pacientes com menos de 18 anos de idade).

Uma vez planejadas, as etapas de execução das revisões foram implementadas.

A busca por estudos elegíveis foi realizada em bases de dados (PubMed, Scopus, Web of Science, Science Direct e CENTRAL-Cochrane) e nas referências de estudos clínicos e de revisões relevantes. Adicionalmente o Google Scholar também foi utilizado, em uma busca paralela e utilizando uma estratégia mais simples (não contabilizada nos resultados das bases de dados). As listas de referências resultantes em cada base de dados foram transferidas para um software gerenciador de referências, para subsidiar as etapas seguintes de identificação de estudos repetidos e seleção.

A triagem de elegibilidade foi realizada pela leitura dos títulos, sendo eliminados aqueles muito discrepantes dos objetivos da revisão. Os estudos cujos títulos forneceram aparente elegibilidade, tiveram resumo e texto completos analisados para confirmação do preenchimento dos critérios de inclusão. Aqueles elegíveis tiveram os seguintes dados extraídos por dois revisores independentes: autor e ano, país de realização, tipo de estudo, técnica de randomização (se randomizado), características do paciente incluído (sexo, idade média, proporção de desnutridos), número de indivíduos randomizados e analisados, dose e tempo de suplementação dos AGPI n-3, tratamento antineoplásico associado, uso de medicamentos pelos pacientes, dentre outros. Ao mesmo tempo, que foi feita a leitura atenta dos artigos para a extração dos dados, também foi realizada a avaliação da qualidade (risco de viés) dos estudos pelos revisores, de maneira independente. Esta foi feita com o objetivo de identificar potenciais vieses, utilizando para tanto a ferramenta Cochrane (HIGGINS; GREEN, 2011) e/ou o *check list* CONSORT (MOHER et al., 2010). Tanto os dados de caracterização dos estudos, quanto a avaliação do risco de viés, foram registrados em planilhas desenvolvidas para estes fins, para comparação entre os revisores ao final das etapas. Os dados discrepantes, foram reconsultados no(s) artigo(s) original(is) por ambos os revisores até consenso, ou na falta deste, o veredito final era dado por um terceiro revisor.

A realização destas etapas por dois revisores independentes é importante para evitar possíveis erros de identificação/interpretação das informações ou, até mesmo, erros na digitação dos dados extraídos.

Na sequência, foram realizadas análises inferenciais (apenas considerando os resultados encontrados em cada estudo), e, metanálises

para combinar estatisticamente os resultados de cada marcador de inflamação que foi avaliado, em pelo menos, dois estudos.

Para a elaboração das metanálises foram utilizados os dados numéricos de média e desvio padrão ao final do período de suplementação de cada grupo, bem como o número de indivíduos envolvidos nessas análises. Para sumarizar os resultados em uma única medida de efeito, foi calculada a diferença de médias padronizadas (SMD) empregando o modelo de efeitos randômicos, adotando como nível de significância valor $p < 0,05$. Para testar a heterogeneidade no padrão de dispersão dos resultados, foi calculado o I^2 considerando como heterogêneos valores $\geq 50\%$, e, o teste Q de Cochran, com valor $p < 0,10$ indicando heterogeneidade.

Considerando a presença de características metodológicas diferentes entre os estudos, assim como a presença de vieses, foram realizadas análises estratificadas por subgrupos, visando redução da heterogeneidade das análises. Adicionalmente foram executadas análises de sensibilidade para avaliar o impacto que cada estudo exercia sobre a medida de efeito sumária da meta-análise.

Todas as análises estatísticas descritas nesta subseção foram realizadas no software STATA versão 13.0 (StataCorp LP, Texas, EUA).

Dados/informações necessários e não disponíveis nos artigos, foram solicitados por e-mail enviado ao autor correspondente informado na publicação.

6.2 ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

6.2.1 Tipo de estudo

Ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego (HOCHMAN et al., 2005).

6.2.2 Participantes do estudo

A amostra deste ensaio clínico foi constituída por indivíduos entre 18 a 70 anos de idade (inclusive), de ambos os sexos e com diagnóstico histopatológico de câncer do trato gastrointestinal (estômago, intestino, colón, reto e canal anal), que realizaram tratamento antineoplásico quimioterápico, assistidos e recrutados entre março de 2015 a março de 2016 no Ambulatório do Centro de Pesquisas Oncológicas de Florianópolis – CEPON, Santa Catarina, Brasil, e que concordaram em participar deste estudo.

O Centro de Pesquisas Oncológicas – CEPON de Florianópolis é a Instituição de referência na prevenção e tratamento do câncer no estado de Santa de Catarina. Seus serviços de alta complexidade são destinados apenas para indivíduos portadores de câncer, integrado ao Sistema Único de Saúde, que são provenientes principalmente da grande Florianópolis. Atualmente, apresenta serviços ambulatoriais e de internação, concentrando serviços terapêuticos de radioterapia e quimioterapia, médico, nutricional, psicológico, farmacêutico, assistência social, entre outros.

Os critérios para elegibilidade foram: idade maior que 18 anos e menor ou igual a 70 anos; diagnóstico histopatológico de carcinoma nas localizações supracitadas; ser paciente ambulatorial; ser “virgem de quimioterapia” mas ter indicação para tratamento quimioterápico na Instituição; performance status de a ECOG ≤ 2 (OKEN et al., 1982); não apresentar doença inflamatória, infecciosa ou diabetes; não estar em cuidados paliativo; não estar gestante; não apresentar alergia aos componentes dos suplementos ofertados; apresentar capacidade para ingestão de cápsulas via oral; não fazer uso crônico de anti-inflamatórios ou ter feito uso no dia anterior das avaliações basais; não ter feito consumo de suplementos contendo AGPI n-3 nos seis meses precedentes a sua inclusão no estudo; não estar participando de outra pesquisa clínica cuja intervenção altere os desfechos pretendidos ou teste novos protocolos e/ou fármacos quimioterápicos; e, apresentar capacidade cognitiva para entender o protocolo do estudo e responder aos questionamento realizados. A elegibilidade foi confirmada mediante análise do prontuário do indivíduo na Instituição e por questionamentos feitos ao paciente.

A prescrição de radiação ionizante concomitante a quimioterapia não representou critério para a não inclusão do indivíduo no estudo. Entretanto, este fato foi considerado nas análises estratificadas (pacientes somente em quimioterapia vs. pacientes em radio + quimioterapia).

Foram excluídos do estudo aqueles participantes elegíveis e randomizados que não cumpriram com o protocolo do estudo (consumo de menos de 80% das cápsulas avaliados pelo relato do participante) e que fizeram uso de algum outro suplemento contendo AGPI n-3 durante o período de acompanhamento.

No anexo A estão apresentados os protocolos quimioterápicos instituídos no CEPON para o tratamento das localizações abrangidas neste estudo.

6.2.2.1 Cálculo do tamanho da amostra

Para o cálculo do tamanho da amostra foi considerado:

- a) os resultados obtidos nos estudos realizados em 2009 (SILVA et al., 2012) e 2010 (MOCELLIN et al., 2013) no próprio CEPON/SC e com indivíduos portadores de câncer colorretal, com um desenho metodológico semelhante ao pretendido (os bancos de dados foram unidos e utilizado a média e desvio padrão de cada grupo de tratamento para os desfechos comuns em ambos os estudos);
- b) poder do estudo de 80%;
- c) intervalo de confiança de 95%;
- d) acréscimo de 10% referentes a possíveis perdas de seguimento, e
- e) cálculos executados no software online OpenEpi®.

Os resultados obtidos indicaram um tamanho amostral mínimo de 44 indivíduos (20 por grupo de tratamento + 10% de perdas) de acordo com o índice da relação PCR/Albumina, e, o maior tamanho ($n=451$), de acordo com IL-1 β (tabela 3). Destaca-se que os únicos desfechos com diferença significativa entre os grupos ao final do tratamento foram PCR e relação PCR/albumina, os quais foram menores no grupo que recebeu óleo de peixe. Também, salienta-se que o maior tamanho amostral obtido representava uma proporção absoluta maior que a prospecção de incidência anual para os 2014 e 2015 projetadas pelo INCA (vide subseção 2.2) para Florianópolis. Por estes motivos, foram incluídos no estudo todos os indivíduos elegíveis que aceitaram participar e que foram assistidos no CEPON no período determinado para o recrutamento (março/2015 à março/2016).

6.2.3 Desenho do estudo

Este estudo foi desenhado para representar um ensaio clínico, randomizado, com dois braços paralelos (figura 4).

A identificação dos indivíduos potencialmente elegíveis foi realizada pela equipe de assistência social da Instituição⁵, uma vez que todo paciente de primeira consulta passava pelo serviço para orientação e triagem social (pacientes novos que iriam iniciar tratamento), e, pelos pesquisadores que faziam a conferência diária da agenda de pacientes que iriam começar quimioterapia (pacientes antigos).

⁵ Os assistentes sociais receberam instruções sobre o perfil do paciente elegível para a pesquisa e auxiliaram na identificação daqueles potencialmente elegíveis.

Tabela 3: Informações utilizadas no cálculo do tamanho da amostra e seus respectivos tamanhos amostrais.

Desfecho	Diferença de médias (GC – GO)*	Desvio padrão médio*	n GO	n GC	n total
PCR (mg/L)	17,85 [‡]	4,87	22	22	48
Albumina (g/dL)	0,11	0,27	99	99	218
Índice PCR/Albumina	4.53 [‡]	4.87	20	20	44
IL-1 β (pg/mL)	-1,15	4,12	205	205	451
TNF- α (pg/mL)	-49,99	108,11	110	110	242
Diferença de peso (kg)	-0.85	2,42	131	131	262

GC: Grupo controle; GO: Grupo Omega; PCR: proteína C-reativa; IL: Interleucina; TNF: fator de necrose tumoral.

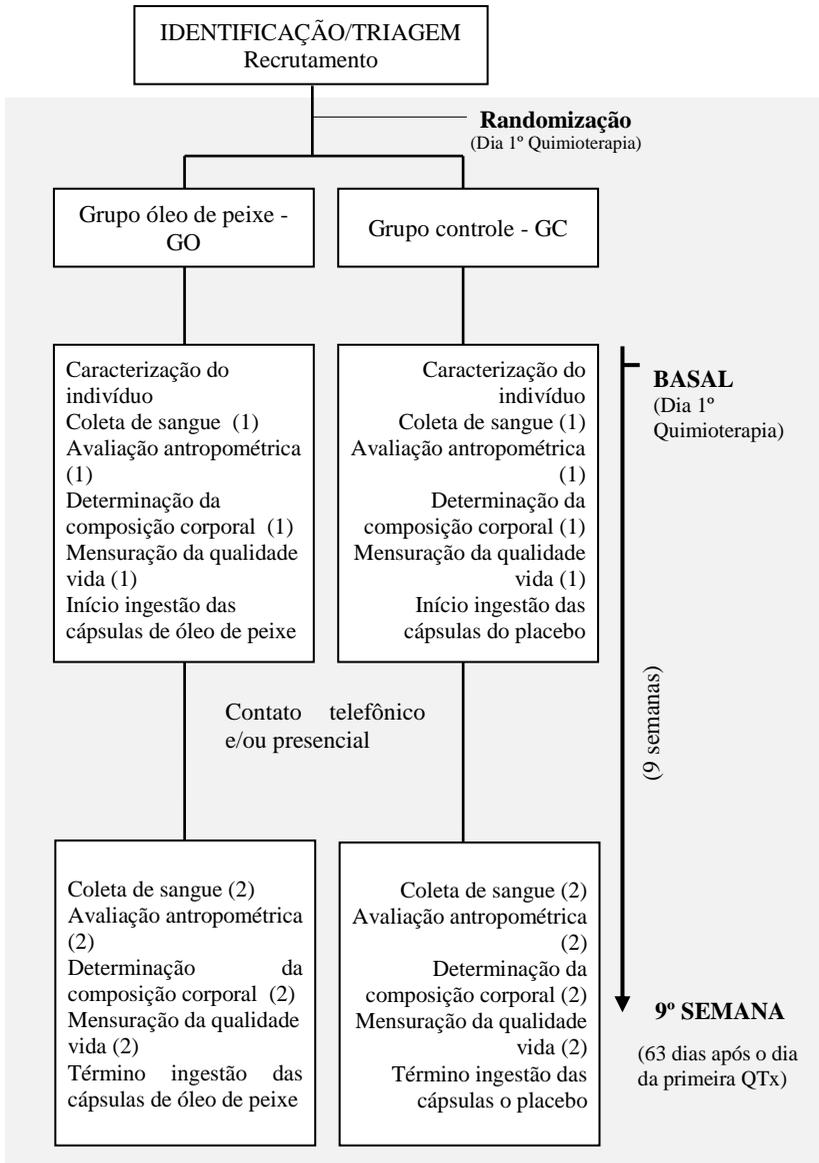
* Dados referentes aos estudos de Silva et al., (2012) e Mocellin et al. (2013).

[‡] Valor final no grupo intervenção estatisticamente menor ($p < 0,05$) que no grupo controle.

Fonte: Dos autores.

Os indivíduos identificados pelo serviço de assistência social foram encaminhados aos pesquisadores para averiguação da real elegibilidade (análise das informações clínicas e demográficas presentes no prontuário eletrônico e por questionamentos feitos aos pacientes), e, em caso de cumprimento com os critérios estabelecidos, foi apresentado o estudo (objetivos, protocolo e os compromissos de cada parte envolvida) e realizado o convite para participação. Aqueles indivíduos identificados pela conferência da agenda de primeira quimioterapia, foram contatados via telefone após análise do prontuário para confirmação parcial da elegibilidade, onde foram questionados para comprovação da elegibilidade, e então, receberam as mesmas explicações e o convite para participação no estudo.

No dia da primeira quimioterapia intravenosa (realizada na Instituição), designado de momento basal, antes do procedimento, o indivíduo elegível que aceitou participar da pesquisa assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido após a sua leitura (realizada pelo pesquisador) e explicação das dúvidas que poderiam surgir. Na sequência, foi randomizado para um dos dois grupos de estudo: Grupo óleo de peixe (GO) o qual foi orientado a ingerir 2 cápsulas/dia de óleo de peixe concentrado em AGPI n-3, ou, Grupo controle (GC), o qual fez a ingestão

Figura 4: Fluxograma do Ensaio Clínico Randomizado.

Abreviaturas: GO – Grupo óleo de peixe; GC – grupo controle (azeite de oliva); QTx - quimioterapia.

Fonte: Do autor.

diária de 2 cápsulas do placebo (azeite de oliva extra virgem). Neste mesmo momento, posterior à randomização, os indivíduos receberam o frasco contendo as cápsulas referentes ao grupo para o qual fora alocado, assim como as orientações de consumo. Aqueles indivíduos que iriam realizar quimioterapia oral, em domicílio, deviam comparecer na Instituição no dia de início do consumo das cápsulas ou no dia anterior (conforme preferência) para o processo de randomização, e, para receber as cápsulas dos suplementos e as instruções de consumo.

Neste mesmo dia (basal) os indivíduos também foram submetidos as avaliações iniciais pretendidas (antropometria, composição corporal, coleta de sangue, qualidade de vida) antes da infusão ou ingestão oral do quimioterápico.

Foi orientada a manutenção do consumo do padrão alimentar habitual durante o período de suplementação.

A ingestão dos suplementos foi continuada pelos 63 dias seguintes, caracterizando o momento final, designado de 9º Semana. As avaliações finais foram realizadas em qualquer dia da 9ª semana ou início da 10ª semana, considerando a preferência de logística do próprio paciente. Os pesquisadores tentaram padronizar o momento para as avaliações finais ocorrerem na data exata do 63º dia ou nos dias mais próximos deste.

Durante o período de participação no estudo, os participantes foram contatados em diversos momentos pelos pesquisadores, especialmente quando da ida para o CEPON para algum procedimento, com a finalidade de averiguar o cumprimento do protocolo de suplementação, bem como, identificar possíveis efeitos adversos associados aos suplementos e para prestar qualquer assistência nutricional necessária.

6.2.4 Randomização dos participantes

A técnica de randomização que foi adotada é do tipo estratificada por blocos adaptada à co-variáveis (SURESH, 2011). Foram criados três estratos representando as localizações tumorais abrangidas no estudo: 1) gástrico, 2) colorretal (cólon e reto) e, 3) outros (intestino delgado e canal anal), assim definidos de acordo com a incidência prevista para 2015 e 2016. Blocos contendo dois códigos de alocação cada (um para o GC e outro para o GO / 1:1) foram atribuídos a cada nível de um respectivo estrato. Por sua vez, cada código do bloco de cada nível estava subordinado ao sexo do indivíduo (co-variável), haja vista que a literatura tem demonstrado que o sexo do indivíduo exerce influência sobre a

concentração de marcadores inflamatórios circulantes (CHROUSOS, 2010) (tabela 4).

Tabela 4: Lista de randomização estratificada pela localização tumoral e adaptada à co-variável sexo, gerada pelo software estatístico STATA.

Estratos	Nível	Co-variável	
		Masculino	Feminino
Gástrico	1	Intervenção	Placebo
Gástrico	2	Placebo	Intervenção
Gástrico	3	Intervenção	Placebo
Gástrico	4	Placebo	Intervenção
Gástrico	5	Placebo	Intervenção
Gástrico	...	Intervenção	Placebo
Colorretal	1	Intervenção	Placebo
Colorretal	2	Intervenção	Placebo
Colorretal	3	Placebo	Intervenção
Colorretal	4	Placebo	Intervenção
Colorretal	5	Intervenção	Placebo
Colorretal	...	Placebo	Intervenção
Outros	1	Placebo	Intervenção
Outros	2	Intervenção	Placebo
Outros	3	Intervenção	Placebo
Outros	4	Placebo	Intervenção
Outros	...	Placebo	Intervenção

Grupos de tratamento: Intervenção = óleo de peixe; Placebo = azeite de oliva.
Estes grupos foram substituídos por códigos numéricos aleatórios para o mascaramento do pesquisador.

Fonte: Do autor.

A aleatorização na distribuição dos grupos de tratamento dentro de cada bloco entre os níveis de estrato foi gerada pelo Software estatístico STATA vs. 13.0 para Windows (StataCorp, Texas, EUA).

Da mesma forma que o sexo, existem evidências de que o estadiamento tumoral também possa influenciar a concentração de marcadores inflamatórios. Os resultados de estudos demonstram que a concentração destes é significativamente maior quanto mais avançado for o estágio do tumor (KNUPFER; PREISS, 2010; ABE VICENTE et al., 2014; BALASOIU et al., 2014). Desta forma, a randomização deveria considerar o estadiamento tumoral, além de outras variáveis como fármaco quimioterápico, estado nutricional, entre outras, como co-variáveis. No entanto, devido ao pequeno número de participantes que era

esperado, e, a randomização destes ocorrer ao mesmo tempo que a seleção da amostra, inviabilizou a inclusão de outras co-variáveis no processo de randomização.

Para minimizar o impacto destas variáveis nos resultados, optou-se por análises de subgrupos.

6.2.5 Suplementos dietéticos

Os suplementos utilizados neste estudo foram: óleo de peixe concentrado em AGPI n-3 (Omega 3 Concentrate[®]) e azeite de oliva extra virgem (Cápsulas de Oliveira[®]), ambos fabricados e doados pela empresa Tiarajú (Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil). A apresentação deles se deu na forma de cápsulas gelatinosas, acrescidos de glicerina (umectante).

A dosagem testada e orientada de consumo pelos participantes foi de 2 cápsulas/dia (tanto de óleo de peixe, quanto do placebo), podendo ele optar por ingerir em dose única, ou fracionada, em um horário precedente à uma refeição principal, preferencialmente antes do almoço ou o jantar, para evitar o gosto residual que poderia ocorrer após a ruptura da cápsula no estômago, comprometendo o cegamento do participante.

A informação nutricional de ambos os suplementos está descrita na tabela 5, asseguradas pelo laudo anexado a este trabalho (ANEXO B).

De acordo com o fabricante o óleo de peixe concentrado em AGPI n-3 era importado e apenas encapsulado pela Empresa Tiarajú. Este óleo foi extraído de sardinha, anchova e cavala, acrescida de um “mix” de tocoferóis, palmitato de ascorbila e extrato de alecrim (doses não informadas pelo fabricante). A forma bioquímica em que estes ácidos graxos se apresentavam era etil éster. Já, o óleo placebo consistia em azeite de oliva extra virgem encapsulado, oriundo de produção nacional, sem a adição de antioxidantes.

Ambos os suplementos dietéticos são registrados no Ministério da Saúde com os números 6.5204.0082.001-2 (Cápsulas de oliveira[®]) e 6.5204.0034.001-0 (Ômega-3 concentrate[®]).

As cápsulas foram entregues aos participantes acondicionadas em frascos opacos e apenas identificados com o código do grupo de estudo, contendo o número total de cápsulas que deveriam ser ingeridas durante as nove semanas de tratamento (126 unidades).

Os participantes foram orientados a registrar e informar aos pesquisadores todo e qualquer evento que poderia ser considerado um efeito adverso da suplementação, ao mesmo tempo, que os contatos de correio eletrônico e de telefone dos pesquisadores e do coordenador do

Tabela 5: Informação nutricional dos suplementos dietéticos utilizados como intervenção e placebo neste estudo.

Composição		Omega-3 Concentrate [®] (quantidade/2 cáp)	Cápsulas de oliveira [®] (quantidade/2 cáp)
		3,6 g	3,1 g
Valor energético (Kcal/KJ)		26/106	20/87
Proteínas (g)		0,7	0,7
Gordura Total (g)		2,5	2,0
Gordura Saturada (g)		NS	0,2
Gordura Monoinsaturada (g)		-	1,5
Gordura Poli-insaturada (g)		1,5	0,2
AGPI n-3 (g)		1,5	-
EPA (g)		1,0	-
DHA (g)		0,5	-
Ácido oleico (g)		-	1,3
Colesterol (mg)		NS	NS

NS: Quantidade não significativa

Fonte: Do fabricante: rótulo dos produtos. Confirmada pelo laudo de análise química enviado pelo fabricante.

estudo foram disponibilizados para os participantes comunicarem qualquer intercorrência atrelada a suplementação que poderia ocorrer.

O risco de efeitos adversos e tóxicos na dosagem proposta dos AGPI n-3 (1,55 g/dia) era baixo, uma vez que a dosagem consumida era menor que a dosagem máxima tolerada sem a presença de efeitos adversos (4,7 g/dia de EPA e DHA) (COLOMER et al., 2007) e a dosagem máxima testada sem efeitos tóxicos (13,1 g/dia de EPA + DHA) (BURNS et al., 1999).

A escolha por azeite de oliva como placebo foi baseada, principalmente, pelo baixo conteúdo de AGPI. Cavicchia et al. (2009) a partir de uma revisão da literatura por ensaios clínicos, desenvolveu um índice inflamatório dietético para caracterizar o potencial inflamatório da dieta. Ele considera 32 nutrientes, quatro produtos alimentares, quatro especiarias e cafeína para gerar um índice que pode assumir um valor médio negativo (pró-inflamatório) ou positivo (anti-inflamatório), com

maior potencial quanto mais afastado do valor zero. Para melhor entendimento quanto à escolha do azeite de oliva como sendo o placebo, foram calculados os potenciais inflamatório deste suplemento e dos demais óleos vegetais de acordo com Cavicchia et al. (2009) e comparados com o suplemento de óleo de peixe utilizado neste estudo (Tabela 6).

Tabela 6: Composição dos suplementos dietéticos e dos óleos vegetais por 10 g e o seu respectivo índice inflamatório.

Nutrientes	Omega-3 Concentrate®*	Cápsulas de oliveira®*	Óleo de soja	Óleo de milho	Óleo de girassol	Óleo de canola
Energia (Kcal)	72,2	64,5	88,4	88,4	88,4	88,4
Proteínas (g)	1,9	2,3	-	-	-	-
Gordura Total (g)	6,9	6,5	10	10	10	10
Saturada (g)	-	0,6	1,5	1,5	1,1	0,8
Monoinsaturada (g)	-	4,8	2,3	3,3	2,5	6,3
Poli-insaturada (g)	4,2	0,6	6	5,1	6,3	2,8
AGPI n-6 (g)	-	0,5	5,4	5	6,2	2,1
AGPI n-3 (g)	4,2	-	0,58	0,1	0,04	0,7
EPA (g)	2,8	-	-	-	-	-
DHA (g)	1,4	-	-	-	-	-
Índice Inflamatório**	13,85	-2,34	-2,36	-4,19	-4,47	-1,39

Informações nutricionais referentes à Tabela Brasileira de Composição Química de Alimentos versão 2011 (UNICAMP, 2011).

* Informação nutricional apresentada no rótulo do produto.

** Para o cálculo do Índice Inflamatório realizou-se uma adaptação da proposta de Cavicchia et al. (2009): não se considerou o valor energético no cálculo pois ele é oriundo do total de gordura. Se fosse considerado, estaríamos superestimando o potencial inflamatório do alimento/produto. Valor negativo: ação pró-inflamatória; valor positivo: ação anti-inflamatória.

Fonte: Do autor.

Como se pode observar o óleo concentrado em AGPI n-3 que foi utilizado como intervenção neste estudo é o único com um índice anti-inflamatório. Todos os demais óleos apresentados na tabela 6 apresentam potencial pró-inflamatório. Isto porque, com exceção dos AGPI n-3, todas as demais frações de gordura utilizados para o cálculo apresentam um índice negativo. O placebo não é o óleo com o menor potencial pró-inflamatório quando comparado aos demais óleos vegetais que poderiam ser usados como placebo. O óleo placebo usado, o óleo de soja e óleo de canola apresentam índices inflamatórios semelhantes. No entanto, o azeite de oliva extra virgem é o óleo com a menor proporção de AGPI n-6. A literatura científica, conforme já mencionado, mostra que os AGPI n-6 competem com os AGPI n-3 pelas reações bioquímicas, bem como, está relacionado com um potencial pró-inflamatório. Ensaio clínico publicado em 1999, envolvendo indivíduos com câncer de esôfago submetidos a esofagectomia, demonstrou que a substituição dos AGPI n-3 por óleo de soja em uma fórmula parenteral levou a um possível incremento nas concentrações de marcadores inflamatórios (FURUKAWA et al., 1999). Neste estudo, com três grupos de tratamento (óleo de soja, óleo de peixe contendo AGPI n-3 e controle livre de gordura), foi observada diferença estatística para IL-6 e PCR apenas entre os grupos que receberam óleo de peixe e de soja, enquanto que aqueles que não receberam nenhum tipo de gordura adicional, não diferiram dos outros dois grupos. Aliado a isto, os AGPI n-6 são utilizados para a produção de PGE₂, que é um de nossos desfechos pretendidos. Considerando o exposto, optou-se por utilizar um óleo com um dos menores potenciais inflamatórios entre os óleos vegetais, apresentando as menores proporções de AGPI n-6 e n-3.

6.2.6 Mascaramento

Os participantes do estudo, bem como, os pesquisadores responsáveis pelo recrutamento, coleta e análises laboratoriais, além do responsável pelo tratamento e análises estatística dos resultados foram cegados, caracterizando o estudo como triplo-cego.

As cápsulas dos suplementos dietéticos ofertados neste estudo apresentavam aparência idêntica e eram livres de odor, enquanto intactas. A orientação de consumo (próximo a uma refeição principal) tinha como objetivo minimizar a possibilidade do participante perceber o gosto residual quando da ruptura do envoltório da cápsula e liberação do conteúdo no estômago. Ainda, ambos os suplementos foram

aconicionados em frascos opacos idênticos e codificados apenas com números aleatórios correspondentes à lista de randomização.

A identificação dos grupos (para cada nível e estrato) da lista de randomização foi substituída por códigos numéricos aleatórios com 8 dígitos cada, selecionados sistematicamente a partir de uma tabela de números aleatórios. Nenhum código foi repetido. Estes processos de seleção dos códigos, substituição da identificação do grupo pelo respectivo código e codificação dos frascos de armazenamento das cápsulas foram realizados por um pesquisador não envolvido com a pesquisa. Os pesquisadores responsáveis pelo recrutamento, acompanhamento, coleta e tratamento estatístico dos dados tinham acesso apenas a lista contendo os estratos/níveis de randomização e os códigos numéricos. O mesmo código foi usado para identificar o frasco que era entregue ao participante (contendo as cápsulas com conteúdo do respectivo grupo de estudo que fora alocado). Esta ausência de conhecimento do grupo para o qual o participante estava sendo alocado, foi necessária para garantir a ocultação de alocação.

A ordem de escolha dos códigos foi sequencial aos níveis de cada bloco de randomização, isto é, o primeiro paciente do sexo masculino com câncer gástrico foi alocado para o grupo indicado no bloco do nível 1, correspondente ao estrato “sexo masculino” da lista de randomização deste tipo de câncer; o segundo, para o estrato correspondente ao sexo masculino do nível 2 desta lista, e assim por diante.

Após a construção do banco de dados, os códigos de randomização foram substituídos pelo mesmo pesquisador que os definiu, por outros dois códigos numéricos que representassem os dois grupos de estudo para as análises (ex. grupo 5 e grupo 6). O desceçamento só ocorreu após as análises estatísticas terem sido efetuadas.

No decorrer do estudo, resolvemos questionar o indivíduo após o término de sua participação no ensaio clínico, sobre qual suplemento ele achava que consumiu, e se, durante o período, ele sentiu gosto residual de óleo de peixe, visando nos certificar da eficácia do cegamento do participante.

6.2.7 Instrumentos e técnicas de coleta de dados

Conforme apresentado na figura 4, os dados coletados e os respectivos momentos de coleta foram:

- a) Basal, caracterizado como o dia da primeira quimioterapia do participante e pelo início da ingestão das cápsulas dos suplementos dietéticos: foram coletados dados de caracterização dos

participantes (dados clínicos e sociodemográficos), além de amostras sanguíneas, dados antropométricos e de composição corporal, bem como, foi aplicado o questionário para mensuração da qualidade de vida.

- b) 9ª semana, caracterizado como 63 dias após o basal e pelo fim do protocolo de suplementação: foram coletadas novas amostras sanguíneas, dados antropométricos e de composição corporal dos participantes, além de uma nova aplicação do questionário para a mensuração da qualidade de vida.

6.2.7.1 *Caracterização dos indivíduos*

Os participantes deste estudo foram caracterizados quanto à:

- a) dados pessoais: nome completo, sexo, data de nascimento, procedência, endereço residencial, telefone e número do prontuário;
- b) dados clínicos: localização do tumor, estadiamento (TNM), fármacos utilizados, protocolo quimioterápico (tipo, intervalo), presença de outras doenças, mudança de peso nos últimos meses, realização de cirurgia de ressecção tumoral progressiva (data de realização), tratamento radioterápico paralelo a quimioterapia;
- c) hábito tabágico: foram categorizados em fumante (fumou mais de 100 cigarros na vida e faz uso de tabaco atualmente); ex-fumante (fumou mais de 100 cigarros na vida mas cessou o uso em pelo menos 6 meses anteriores à sua inclusão no estudo); e não-fumante (nunca fumou ou fumou menos de 100 cigarros na vida) (FONSECA et al., 2013).
- d) data da última menstruação (se mulher).

As informações referentes a “dados pessoais” e “dados clínicos”, com exceção da mudança de peso, foram coletadas do prontuário eletrônico do paciente no CEPON (os dados pessoais foram confirmados posteriormente com o próprio paciente); os demais dados foram obtidos por meio de entrevista direta. Todas as informações foram registradas em formulário criado pelos pesquisadores (Apêndice A).

Tendo em vista a validade externa dos resultados, foram coletadas informações clínicas e demográficas daqueles indivíduos elegíveis, mas que se recusaram a participar do estudo ou que por algum motivo, não foram identificados e convidados para participar da pesquisa. São elas: sexo, data de nascimento, localização tumoral, estadiamento clínico, cirurgia de ressecção progressiva, protocolo quimioterápico, e quimioterapia

isolada ou combinada com radioterapia. Estas informações foram retiradas do prontuário eletrônico do indivíduo na Instituição.

6.2.7.2 *Coleta e preparo do material biológico*

Aproximadamente 15 mL de sangue foram coletados por um enfermeiro voluntário na região cubital do antebraço de cada participante, utilizando tubos de ensaio do tipo *vacutainer* contendo anticoagulante heparina sódica (2 tubos) ou seco (1 tubo). Para a coleta apenas se exigiu jejum alimentar de 2-3 horas, haja vista que não tínhamos disponível uma refeição para ofertar ao participante após a coleta, e que muitos passavam diversas horas realizando a quimioterapia. Todavia, alguns participantes compareciam em jejum noturno por motivos de logística pessoal. É importante destacar que tanto no basal quanto no momento final, a coleta de sangue foi realizada antes da infusão da quimioterapia.

Os tubos de sangue foram devidamente acondicionados em caixa térmica e transportadas até o Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas, Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, para serem processados. Eles foram submetidos a centrifugação a 2.500 rpm por 5 minutos, a uma temperatura aproximada de 4 °C, para separação do plasma e do soro. Alíquotas de 500 µL de plasma e de soro foram transferidas para criotubos devidamente identificados, os quais foram armazenados a -80°C para determinação de parâmetros séricos e plasmáticos ao final do estudo.

6.2.7.3 *Determinação de marcadores inflamatórios*

Foram determinados os seguintes marcadores para mensurar a resposta inflamatória:

- a) Citocinas plasmáticas: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF foram determinadas por citometria de fluxo (BD Biosciences FACSVerse flow cytometer® - BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) utilizando o kit comercial Cytometric Bead Array - Human Inflammatory Cytokine Kit® (BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) e seguindo as instruções do fabricante. Foram expressas em pg/mL. Os limiares mínimos de detecção de IL-12p70, TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10 foram 1,9 pg/mL, 3,7 pg/mL, 7,2 pg/mL, 2,5 pg/mL, 3,6 pg/mL e 3,3 pg/mL, respectivamente.
- b) PGE₂ plasmática: Foi determinada pelo método de *Sandwich Enzimamunoensaio* (ELISA), utilizando para tanto o kit comercial Amersham Prostaglandin E₂ Biotrak Enzymeimmunoassay

System® (GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido) seguindo as técnicas orientadas pelo fabricante. Foi expressa em pg/mL.

- c) Proteínas de fase aguda séricas: PCR e albumina foram determinadas por procedimento automatizado Dimension RxL Max® integrated chemistry system (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Alemanha) utilizando reagentes específicos. Albumina foi expressa em g/dL, enquanto que PCR em mg/dL.

As análises para a determinação das citocinas e da PGE₂ foram realizadas no Laboratório de Imunologia, Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, enquanto que PCR e albumina foram determinadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago. Todas elas foram realizadas após o último participante ter completado o protocolo de suplementação.

6.2.7.4 *Avaliação do estado nutricional*

6.2.7.4.1 Antropometria

Peso atual (kg), estatura (cm), circunferência do braço (cm) e dobra cutânea tricípital (mm) foram aferidas por profissional padronizado, seguindo técnicas propostas pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1995).

A altura foi aferida utilizando estadiômetro acoplado a uma balança antropométrica, com comprimento máximo de 2 m e escala de 0,1 cm. O participante estava descalço com ou sem meias finas, o mínimo de roupas possíveis, para possibilitar a visualização do posicionamento do indivíduo, com o peso distribuído igualmente entre os pés. Os calcanhares estavam juntos, e a cabeça posicionada de forma que a linha de visão estivesse perpendicular ao corpo. Os braços estavam relaxados ao lado do corpo. A cabeça, costas, nádegas e calcanhares estavam em contato com o estadiômetro. Uma vez posicionado, o indivíduo foi orientado a inspirar profundamente enquanto mantinha a posição ereta. A haste móvel do estadiômetro foi levada até o ponto mais alto na cabeça do avaliado, com pressão suficiente para comprimir o cabelo. Neste momento a medida foi lida e registrada (WHO, 1995).

O peso atual foi aferido em balança eletrônica de plataforma calibrada com capacidade máxima de 150 kg e escala de 100 g, da marca Toledo® (Empresa Toledo do Brasil, São Bernardo do Campo, SP, Brasil). O participante foi posicionado no centro da plataforma, imóvel,

sem apoios, com o peso distribuído igualmente em ambos os pés, livre do excesso de roupas. A leitura da medida foi efetuada assim que o número mostrado no painel digital estabilizou-se, sendo este registrado. O peso foi aferido antes da infusão da quimioterapia. O peso usual foi obtido pelo relato do indivíduo e também registrado (WHO, 1995).

A circunferência do braço (CB) foi aferida no ponto médio entre o acrômio e o olécrano, do braço esquerdo do participante, com a palma da mão voltada para coxa e o braço relaxado na lateral do tronco. Com o uso de uma fita métrica flexível e inelástica, com escala de 0,1 cm foi circundado o ponto médio, sem exercer pressão que poderia comprimir tecidos moles, realizada a leitura, e, registrada (WHO, 1995).

A dobra cutânea tricipital (DCT) foi aferida usando um adipômetro (compasso Lange Skinfold Caliper®, Beta Technology Incorporated, Santa Cruz, Califórnia, EUA), no mesmo ponto médio que a circunferência média do braço foi aferida, na parte posterior do mesmo. A pele e o tecido subcutâneo no local de 1 cm acima do ponto médio foram pinçadas com a mão esquerda do pesquisador usando o polegar e o indicador, de modo que a dobra cutânea ficasse na mesma direção que a posição do braço. As pinças do adipômetro, por sua vez, foram posicionadas perpendicularmente à dobra, e, realizada a leitura da medição. Foram feitas duas aferições consecutivas e calculada a média aritmética das leituras em caso de divergência (WHO, 1995).

Para a padronização das medidas antropométricas, foi adotada a técnica “erro técnico de medição (ETM)” conforme citado por Perini et al. (2005). Foram utilizados 11 voluntários adultos no procedimento, utilizando os mesmos equipamentos e seguindo as mesmas técnicas que foram empregadas para a coleta de dados neste estudo.

6.2.7.4.2 Indicadores do estado nutricional

Para a avaliação do estado nutricional foram calculados:

- a) Índice de massa corporal – IMC: razão entre o peso do indivíduo e a sua altura ao quadrado. O resultado foi apresentado em kg/m^2 e confrontado com valores de referência para a classificação do estado nutricional, propostos pela *World Health Organization* (WHO, 1995; 2000; 2004).
- b) Percentual de perda de peso: Resultado da divisão entre ΔP (diferença entre o peso atual e o peso usual) e o peso usual, multiplicado por 100, para ser expresso em percentual. (DETSKY et al., 1987).

- c) Circunferência muscular do braço: foi calculada pela subtração do valor obtido da circunferência do braço (cm) pela multiplicação de 0,3142 pelo valor da dobra cutânea tricipital (mm) (BISHOP; BOWEN; RITCHEY, 1981).

6.2.7.5 *Obtenção dos parâmetros imunitários*

Contagem total de leucócitos e das frações correspondentes a neutrófilo e linfócitos foram obtidas pela apresentação do hemograma pelo próprio paciente ou pelo registro dos seus valores no prontuário eletrônico. O hemograma era realizado rotineiramente para averiguação da toxicidade hematológica à quimioterapia. Era normalmente determinado antes de cada quimioterapia realiza de 7-7, 21-21 ou 28-28 dias, como critério de habilitação para uma nova infusão. O participante recebia uma guia do próprio CEPON para dosar estes parâmetros em laboratórios associados. As informações do hemograma coletadas eram correspondentes ao dia anterior ou ao mesmo dia da sua apresentação pelo paciente ou registro no prontuário.

6.2.7.6 *Determinação dos índices prognósticos*

6.2.7.6.1 Relação PCR/albumina

A relação PCR/Albumina representa um indicador simplificado do Índice de Prognóstico Nutricional e Inflamatório – IPIN (INGENBLEEK; CARPENTIER, 1985), proposto e validado por Corrêa et al. (2002). É calculado dividindo os valores de PCR (mg/L) pelos valores de albumina (g/dL). Os valores adotados para a classificação dos graus de risco de complicações foram: sem risco: < 0,4; baixo risco: 0,4-1,2; médio risco: 1,2-2,0; alto risco: > 2,0.

6.2.7.6.2 Razão neutrófilo-linfócito (RNL)

A RNL representa um indicador do estado inflamatório sistêmico e foi correlacionada com sobrevida em diversos tipos de cânceres sólidos, incluindo o colorretal (HARAM et al., 2017) e o gástrico (HU et al., 2015). É calculado pela simples divisão do valor da contagem de neutrófilos (cél./mm³) pela de linfócitos (cél./mm³). Adotamos como

ponto de corte para representar risco de prognóstico desfavorável um valor ≥ 3 ⁶.

6.2.7.7 *Determinação da composição corporal*

Percentual e peso (kg) de gordura corporal e massa livre de gordura⁷, bem como percentual e litros de água corpórea, foram mensurados por aparelho de Bioimpedância elétrica, tetrapolar e unifrequencial (50 kHz) (Analisador de Composição Corporal Maltron BF 906® - Maltron International Ltd, Rayleigh, Reino Unido). Foram implementadas as orientações do próprio fabricante para as análises. O participante estava em jejum alimentar e de grande quantidade de líquidos por pelo menos 2 horas, isento de objetos metálicos aderidos ao corpo, deitado em uma superfície não condutora de eletricidade, com o dorso relaxado e pernas, braços e mãos estendidas na lateral afastadas do tronco. Dois eletrodos foram posicionados no membro superior direito: um centralizado diretamente abaixo da terceira articulação do dedo do meio, e outro, no começo do punho. Igual número de eletrodos, também foram posicionados no membro inferior direito: um, onde o segundo e terceiro dedo encontram o pé, e o segundo, no começo do tornozelo⁸. Após, dados de sexo, idade, peso, etnia, nível de atividade física e altura foram inseridos no equipamento para a realização da estimativa dos parâmetros em questão⁹. As áreas em que os eletrodos foram fixados, foram higienizadas com álcool antes da fixação dos mesmos. A corrente elétrica emitida pelo aparelho e conduzida no paciente pelos eletrodos foi imperceptível, e a análise durou menos de 5 segundos. Os valores de percentagem e kilos/litros de gordura corporal, massa livre de gordura e água eram mostrados no visor do aparelho, sendo então registrados.

Antes da realização do exame, os pacientes foram orientados a urinar. Também procedeu a calibração do aparelho diariamente conforme técnica descrita pelo fabricante previamente às análises do dia. Os pacientes do sexo feminino que estavam no meio do ciclo menstrual, os

⁶ Outros pontos de corte foram utilizados para indicar risco no câncer gastrointestinal como RNL ≥ 5 . Todavia nós usamos o valor de RNL ≥ 3 como indicativo de risco conforme descrito por Bowen (2017).

⁷ Massa livre gordura também foi designada neste estudo de massa magra.

⁸ Para padronizar, a distância entre um eletrodo e o outro foi medida em aproximadamente 8 cm, para facilitar o posicionamento na reavaliação.

⁹ Os dados de peso e altura informados no equipamento foram aqueles aferidos previamente pelos pesquisadores.

pacientes de ambos os sexos que faziam uso contínuo de medicamentos diuréticos e/ou que possuíam marca-passo cardíaco não foram submetidos ao exame por recomendações do fabricante. Visando maior sensibilidade do resultado, os participantes foram orientados a não praticar exercício físico intenso nas últimas 12 horas e não ingerir bebidas alcoólicas e/ou com efeito diurético (chás, energéticos, etc.) nas últimas 24 horas precedentes a avaliação.

A partir dos valores de massa livre de gordura (kg) e do quadrado da altura (m), foi calculado o índice de massa magra (kg/m^2) para melhor representar a proporção deste compartimento corporal nos indivíduos.

6.2.7.8 *Mensuração da qualidade de vida durante o tratamento*

A qualidade de vida durante o tratamento quimioterápico foi mensurada por meio da aplicação de questionários validados para pacientes com câncer e traduzidos para a língua portuguesa: “*Quality of Life*” (QLQ-C30 vs 3.0) e suas extensões para câncer gástrico (STO22) e colorretal (CR29)¹⁰ (Anexo C). Estes questionários foram desenvolvidos pela *European Organization for Research and Treatment of Cancer – EORTC* e estão disponíveis gratuitamente para fins acadêmicos e de pesquisa, mediante solicitação de uso (AARONSON et al., 1993).

Os questionários eram constituídos por três dimensões a serem mensuradas: 1) capacidade física funcional, 2) presença e intensidade de sintomas relacionados à doença e ao tratamento, e, 3) percepção do *status* de saúde e da qualidade de vida. Estes domínios estavam distribuídos em 30 questões no QLQ-C30 vs. 3.0, 22 questões adicionais no STO22 e, 29 questões adicionais no CR29 vs. 2.1.

O quadro 5 relaciona a dimensão e o indicador a que cada pergunta se referia em cada questionário.

Os questionários foram aplicados pelos pesquisadores por meio de entrevista para evitar dificuldades de leitura e compreensão por parte do participante. As perguntas eram do tipo escalonadas crescentes, com quatro pontos (não, pouco, moderadamente ou muito), com exceção da escala de percepção do *status* de saúde, que apresenta sete pontos (1=péssima a 7=ótima). Para a interpretação dos resultados, considerou-se que *scores* médios elevados para a escala funcional representava um alto nível funcional; para a escala *status* de saúde global, um alto nível de

¹⁰ As extensões representam perguntas específicas para câncer colorretal ou gástrico, ao passo que o questionário QLQ-C30 possuía questões generalizadas que se aplicam a todos os tipos de cânceres.

qualidade de vida; e para a escala de sintomas, uma alta taxa de sintomatologia/problemas com a doença e o tratamento.

Quadro 5: Questionários e suas respectivas escalas para avaliação da qualidade de vida de portadores com câncer.

Domínio	Número de itens	Amplitude da escala do item*	Número dos itens
<u>QLO-C30</u>			
<i>Escala funcional</i>			
Física	5	3	1 – 5
Role – Atividades diárias/lazer	2	3	6, 7
Emocional	4	3	21 – 24
Cognitiva	2	3	20, 25
Social	2	3	26, 27
<i>Escala de sintomas</i>			
Fadiga	3	3	10, 12, 18
Náusea e vômito	2	3	14, 15
Dor	2	3	9, 19
Dispneia	1	3	8
Insônia	1	3	11
Anorexia	1	3	13
Constipação	1	3	16
Diarreia	1	3	17
Dificuldades financeiras	1	3	28
<i>Percepção do estado global de saúde</i>	2	6	29, 30
<u>Extensão STO22</u>			
<i>Escala funcional</i>			
Imagem corporal	1	3	49
<i>Escala de sintomas</i>			
Disfagia	3	3	31-33
Dor	4	3	34 – 37
Refluxo	3	3	38 – 40
Restrições alimentares	4	3	41 – 43, 46
Ansiedade	3	3	47, 48, 50
Boca seca	1	3	44
Sabor	1	3	45
Imagem corporal	1	3	49
Perda de cabelo	2/1	3	51, 52**

Quadro 5: Questionários e suas respectivas escalas para avaliação da qualidade de vida de portadores com câncer. (Continuação)

Domínio	Número de itens	Amplitude da escala do item*	Número dos itens
<u>Extensão CR29</u>			
<i>Escala funcional</i>			
Imagem corporal	3	3	45 – 47
Ansiedade	1	3	43
Peso	1	3	44
Interesse sexual (homem)	1	3	56
Interesse sexual (mulher)	1	3	58
<i>Escala de sintomas</i>			
Frequência com que urina	2	3	31, 32
Sangue e muco nas fezes	2	3	38, 39
Frequência com que defeca	2	3	52, 53
Incontinência urinária	1	3	33
Disúria	1	3	34
Dor abdominal	1	3	35
Dor na nádega	1	3	36
Inchaço	1	3	37
Boca seca	1	3	40
Perda de cabelo	1	3	41
Sabor	1	3	42
Flatulência [§]	1	3	49
Incontinência fecal [§]	1	3	50
Ferida na pele [§]	1	3	51
Vergonha [§]	1	3	54
Problemas com a ostomia [§]	1	3	55
Impotência	1	3	57
Dispareunia	1	3	59

* Corresponde à diferença entre possível resposta máxima e mínima do item.

** o item 52 só será considerado caso o participante responda sim para o item 51.

§ Estas perguntas só devem ser respondidas se o indivíduo tem ostomia (item 48).

Fonte: Aaronson et al. (1993).

6.2.8 Tratamento e análise dos dados

6.2.8.1 Variáveis de exposição e desfecho

Para o modelo de análise implementado considerou-se as variáveis descritas no quadro 6 como sendo de exposição e de desfechos, além daquelas que foram utilizadas para caracterização dos participantes.

6.2.8.2 Análises estatísticas

Os dados coletados foram organizados e digitalizados em planilhas do Microsoft Office Excel[®] versão 2016. Após, o banco de dados foi transferido para o programa estatístico STATA[®] versão 13.0 para Windows (StataCorp, Texas, EUA), onde foram realizadas as análises estatísticas, com o auxílio do software Stat Transfer[®] (Circle Systems, Washington, EUA).

A normalidade na distribuição dos dados dos desfechos foi testada pelo teste Shapiro Wilk, sendo consideradas assimétricas as variáveis que apresentaram valor p para este teste $< 0,05$.

Para a descrição das variáveis foram utilizadas média e desvio padrão, quando a distribuição foi simétrica, ou mediana e intervalo interquartil, quando assimétrica, com exceção do desfecho qualidade de vida e suas escalas, onde apresentamos os resultados na forma de média e desvio padrão, independente da simetria na distribuição dos dados, para permitir comparação com valores de referência.

O teste Qui quadrado foi aplicado para testar as diferenças entre as variáveis categóricas (dicotômicas e politômicas) entre os grupos de tratamento e/ou entre os momentos de estudo. Para as variáveis contínuas, os Test t de *Student* para variáveis independentes ou de Mann Whitney, foram utilizados para testar diferenças entre os grupos (GO vs. GC), se distribuição simétrica ou assimétrica, respectivamente. Já, para avaliar o comportamento de um marcador dentro de um mesmo grupo de estudo (basal vs. 9^o semana), foram aplicados os testes Test t de *Student* pareado, quando a distribuição da variável apresentou simetria, ou teste de Wilcoxon, quando variável era assimétrica. Também foi calculada a diferença de média de cada indivíduo, para cada desfecho contínuo, pela subtração do valor da 9^o semana pelo valor apresentado no basal (também designado de Δ), sendo as possíveis diferenças estatísticas entre os grupos identificadas pelos testes para variáveis independentes de acordo com a assimetria da distribuição.

Quadro 6: Variáveis de exposição, desfechos e de caracterização da amostras e respectiva classificação teórica que foi adotada para as análises estatísticas.

Categoria	Variáveis (unidade de medida/categorias)	de	Classificação teórica
Exposição	Suplementação com óleo de peixe contendo AGPI n-3 ou placebo		Nominal, dicotômica
Desfechos	<p>Citocinas plasmáticas (pg/mL); PGE₂ plasmática (pg/mL); PCR sérica (mg/L); Albumina sérica (g/dL); IMC (kg/m²); Peso (kg); CB (cm); DCT (mm); CMB (cm²); Massa gorda (%); Massa livre de gordura (%); Água corporal (%); Índice de massa magra (kg/m²); Relação PCR/Albumina (índice); RNL (índice); Mudança de todos os parâmetros durante as nove semanas de estudo</p> <p>Qualidade de vida (<i>score</i>); Capacidade funcional (<i>score</i>); Sintomas referentes à doença e ao tratamento (<i>score</i>); Mudança nos <i>scores</i> de todos os domínios durante as 9 semanas de estudo; Contagem de leucócitos, neutrófilos e linfócitos (cél/mm³)</p> <p>Risco indicado pela relação PCR/albumina e RNL (Sim/Não)</p>		<p>Dependentes, numérica, contínua</p> <p>Dependente, numérica, discreta</p> <p>Dependente, nominal, categórica</p>

Quadro 6: Variáveis de exposição, desfechos e de caracterização da amostras e respectiva classificação teórica que foi adotada para as análises estatísticas. (Continuação)

Caracterização da amostra	Idade (anos); Tempo entre cirurgia de ressecção e início da participação no estudo (dias)	Independente, numérica, discreta
	Sexo (Masc/Fem); Obesidade (Sim/Não); Outra doença (Sim/Não); Período fértil* (Sim/Não); Cirurgia progressiva de ressecção tumoral (sim/Não); Radioterapia + quimioterapia (Sim/Não); Quimioterapia oral (Sim/Não); Uso de anticorpo monoclonal (Sim/Não); Uso de medicamentos contínuos (Sim/Não); Perda de peso antes do estudo (Sim/Não); Localização tumoral (gástrico/colorretal); Convive com fumante (Sim/Não)	Independente, nominal, dicotômica
	Estágio tumoral (II/III/IV); Hábito tabágico (fumante/ex-fumante/não fumante); Protocolo de quimioterapia (XELOX/ 5FU-LV/ outros); Intervalo entre as seções de quimioterapia intravenosas (7-7/21-21/28-28 dias)	Independente, nominal, politômica
	Mudança de peso nos últimos 6 meses (kg); peso no início do estudo (kg), IMC no início do estudo (kg/m ²); Índice de massa magra no início do estudo (kg/m ²); Gordura corporal no início do estudo(%)	Dependente, numérica, contínua

* Apenas para participantes do sexo feminino.

Abreviações: 5FU-LV: protocolo 5-fluorouracil-leucovorin; AGPI n-3: ácidos poli-insaturados n-3; CB: circunferência do braço; CMB: circunferência muscular do braço; DCT: dobra cutânea tricipital; IMC: índice de massa corporal; PCR: proteína C-reativa; PGE₂: prostaglandina E2; RNL: razão neutrófilo-linfócito; XELOX: protocolo oxaliplatina + capecitabina.

Fonte: Do autor.

O tratamento dos dados referentes a qualidade vida foi realizado conforme orientação do EORTC (AARONSON et al., 1993; FAYERS et al., 2001; GIESINGER et al., 2016). Os valores coletados (1 a 4) foram

transformados em uma escala linear de 0 a 100, para quantificar os domínios avaliados (quanto maior o valor, maior a capacidade funcional e o *status* de saúde/qualidade de vida, e, maior a intensidade dos sintomas). Após, realizamos três modelos de análises: 1) comparação das médias de cada grupo para cada momento de estudo com os valores de referência apresentado por Scott et al. (2008), em busca de significância clínica¹¹ apenas; 2) comparação das diferenças de médias, ou Δ , entre os grupos utilizando o teste ranqueado de Mann Whitney (este método desconsidera possíveis diferenças existentes entre os grupos no momentos basal); e, 3) quantificação do número de indivíduos de cada grupo que apresentaram melhora e/ou piora nas escalas, com aplicação do teste Qui quadrado para identificar possíveis diferenças destas proporções.

Validade externa foi testada comparando as variáveis idade, sexo, localização tumoral, estadiamento clínico, cirurgia de ressecção tumoral progressa e tratamento com radio + quimioterapia entre os indivíduos randomizados e aqueles indivíduos elegíveis mas que não participaram da pesquisa por algum motivo.

Diferenças estatísticas foram consideradas significativas quando Valor p dos testes aplicados foram $< 0,05$.

Foram considerados nas análises para os desfechos apenas os indivíduos que cumpriram com o protocolo de suplementação e que se submeteram as avaliações pretendidas. Não foram consideradas as perdas de seguimento¹². Cabe destacar que por preferência de alguns indivíduos, a coleta de sangue não foi realizada, mas se submeteram a avaliação dos demais parâmetros, o que resultou em números diferentes para os diversos desfechos avaliados.

Considerando a presença de características clínicas e demográficas diferentes entre os participantes do estudo e, que poderiam exercer influência sobre os desfechos avaliados, foram realizadas análises globais e estratificadas por subgrupos.

¹¹ Significância clínica foi considerada quando as médias apresentavam uma diferença de pelo menos 10 pontos. Diferenças observadas de < 10 pontos foram consideradas irrelevantes clinicamente; de 10-20 pontos, diferença clínica existente de tamanho moderado; e > 20 pontos, diferença clínica de tamanho grande (OSOBA et al., 1998).

¹² Foram consideradas perdas de seguimento: os indivíduos que preencheram os critérios de exclusão; os óbitos e as desistências.

6.2.8.3 Aspectos éticos do estudo

Todo indivíduo convidado para participar do estudo recebeu as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental, assim como dos riscos e possíveis benefícios. Ao concordar com a participação, foi realizada a leitura do Termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice C) e sanadas dúvidas, caso existissem. Após o entendimento e reafirmar seu aceite, o TCLE foi assinado pelo participante.

Destaca-se que nenhum indivíduo foi obrigado a participar do estudo, assim como, deu-se a liberdade para que ele se retirasse do mesmo a qualquer momento. Além disso, todas as informações coletadas só serão utilizadas para fins acadêmicos ficando resguardado sigilo na identificação do paciente. Os resultados individuais também estão disponíveis para o participante, se houver o interesse. Os formulários preenchidos com as informações coletadas dos participantes estão de posse dos coordenadores deste estudo, Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade e/ou Prof. Dr. Everson Araujo Nunes, armazenados em arquivo pessoal, localizado na sala 214, Bloco A, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina. Ficarão armazenados por cinco anos (a contar do término do estudo), e após, serão incinerados.

O protocolo deste estudo foi elaborado de acordo com os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinki (RICKHAM, 1964) e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013b). Este estudo fez parte de uma proposta maior, intitulada “Câncer gastrointestinal e pulmonar, repercussões da ingestão de óleo de peixe durante o tratamento: efeitos sobre a qualidade vida, estado nutricional, e parâmetros imunometabólicos”, de responsabilidade e coordenação dos Professores Dr. Everson Araújo Nunes e Dr. Erasmo B.S.M. Trindade, cujo protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do CEPON, no dia 04 de abril de 2014, com o CAAE nº 24096013.7.0000.0121 e parecer nº 580.649¹³. Além disso, foi registrado nas plataformas ClinicalTrial.gov (NCT02699047) e Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos – REBEC (RBR-2XCD99).

¹³ O parecer de aprovação emitido pelo CEP está apresentado no anexo D.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão desta tese, serão apresentados na forma de artigo científico, conforme normas regimentais do Programa de Pós-Graduação em Nutrição – PPGN.

Informamos que os artigos já publicados foram colocados na íntegra para leitura da banca examinadora e que na versão final da referida tese, serão registrado, tão somente, os link dos periódicos em que esses se encontram.

Sendo assim, compõe esta seção quatro artigos científicos:

- **Artigo 1:** Artigo de revisão sistemática e meta-análise, publicado no periódico *Clinical Nutrition* (fator de impacto 4.548, Qualis Capes A1) que tinha como objetivo avaliar o efeito dos AGPI n-3 sobre marcadores de inflamação em câncer colorretal (MOCELLIN et al., 2016).
- **Artigo 2:** Artigo de revisão sistemática e meta-análise, também publicado no periódico *Clinical Nutrition* (fator de impacto 4.548, Qualis Capes A1) que tinha como objetivo avaliar o efeito dos AGPI n-3 sobre marcadores inflamatórios em câncer gástrico (MOCELLIN et al., 2017b).
- **Artigo 3:** Primeiro artigo original do ensaio clínico, publicado no periódico *Journal of Functional Foods* (fator de impacto 3.144, Qualis Capes A1), onde são apresentados os resultados da suplementação de óleo de peixe durante 9 semanas sobre o estado nutricional, composição corporal e qualidade de vida (MOCELLIN et al., 2017a).
- **Artigo 4:** Segundo artigo original do ensaio clínico, que será submetido ao periódico *Cancer* (fator de impacto 5.997, Qualis Capes A1) onde são apresentados os resultados da suplementação com óleo de peixe sobre os marcadores de inflamação, parâmetros imunitários e índices prognósticos.

7.1 ARTIGO 1

O artigo intitulado *A systematic review and meta-analysis of the n-3 polyunsaturated fatty acids effects on inflammatory markers in colorectal cancer* encontra-se disponível em:

- Site do periódico em que foi publicado:

[http://www.clinicalnutritionjournal.com/article/S0261-5614\(15\)00123-5/fulltext](http://www.clinicalnutritionjournal.com/article/S0261-5614(15)00123-5/fulltext)

- Site Science Direct:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261561415001235?rdoc=1&fmt=high&origin=gateway&docanchor=&md5=b8429449cfc9c30159a5f9aeaa92ffb&ccp=y>

7.2 ARTIGO 2

O artigo intitulado *A meta-analysis of n-3 polyunsaturated fatty acids effects on circulating acute-phase protein and cytokines in gastric cancer* encontra-se disponível em:

- Site do periódico em que foi publicado:

[http://www.clinicalnutritionjournal.com/article/S0261-5614\(17\)30169-3/fulltext](http://www.clinicalnutritionjournal.com/article/S0261-5614(17)30169-3/fulltext)

- Site Science Direct:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261561417301693?rdoc=1&fmt=high&origin=gateway&docanchor=&md5=b8429449cfc9c30159a5f9aeaa92ffb>

7.3 ARTIGO 3

O artigo intitulado *Fish oil effects on quality of life, body weight and free fat mass change in gastrointestinal cancer patients undergoing chemotherapy: A triple blind, randomized clinical trial* encontra-se disponível em:

- Site Science Direct:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617300531?via%3Dihub>

7.4 ARTIGO 4

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE SOBRE MARCADORES DE INFLAMAÇÃO E PARÂMETROS IMUNITÁRIOS EM CÂNCER GASTROINTESTINAL: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E TRIPLO-CEGO**RESUMO**

INTRODUÇÃO: A inflamação está intimamente relacionada com o câncer, exercendo um papel importante no crescimento e progressão tumoral, além de contribuir com a quimioresistência ao tratamento.

OBJETIVO: Avaliar o efeito da suplementação de óleo de peixe concentrado em AGPI n-3 (1,55 g/dia de EPA e DHA) sobre marcadores de inflamação e parâmetros imunitários em pacientes com câncer gastrointestinal em quimioterapia.

MÉTODO: Ensaio clínico randomizado, triplo-cego, com dois braços paralelos. Um recebeu óleo de peixe, e o outro (grupo controle), azeite de oliva extra-virgem durante as primeiras 9 semanas de quimioterapia. Citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e TNF), PGE₂, PCR, albumina e as contagens celulares de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos foram determinados antes e após o período de suplementação. Adicionalmente, calculamos os índices prognósticos relação PCR/albumina e razão neutrófilo/linfócito (RNL) para avaliar o grau de risco de cada paciente. Foram realizadas análises globais e por subgrupos de acordo com características demográficas e clínicas.

RESULTADOS: As análises globais não mostraram diferenças significativas entre os grupos para os marcadores de inflamação. No entanto, os pacientes com estágio IV e que receberam óleo de peixe reduziram significativamente as concentrações de IL-6, IL-8, PCR e relação PCR/albumina comparando o momento basal com o final. Também apresentou menor concentração de IL-8 ao final de 9 semanas quando comparado com o grupo controle. Os pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo tiveram menores níveis de TNF, IL-6, PGE₂, PCR e da relação PCR/albumina no grupo intervenção do que no controle. Em relação aos desfechos imunitários, as análises globais não mostraram diferenças entre os grupos. As análises estratificadas, demonstraram que o óleo de peixe proporcionou maiores contagens de linfócitos, neutrófilos e leucócitos em diversos subgrupos, na comparação com o grupo controle ao final de 9 semanas de suplementação. NRL também foi menor no grupo intervenção em alguns subgrupos (pacientes

que perderem peso durante o estudo e naqueles com 50 anos ou mais), indicando menor risco.

CONCLUSÃO: A suplementação de óleo de peixe concentrado em AGPI n-3 reduziu marcadores de inflamação e o risco indicado pelos índices de prognóstico utilizados, além de prover melhores contagens de células imunitárias que o grupo controle em diversos subgrupos (estágio IV, pacientes que perderam peso durante o estudo, que mantiveram massa magra durante o estudo, com 50 anos ou mais, que receberam 5FU-LV ou XELOX e nos que receberam quimioterapia intravenosa de 21 e 21 dias). Entretanto, são necessários outros estudos de igual modelo, pois não foi observado igual benefício em todos os pacientes do grupo intervenção.

PALAVRAS-CHAVE: câncer colorretal; câncer gástrico; citocinas; prostaglandina; ácidos graxos poli-insaturados n-3; neutrófilos; linfócitos.

INTRODUÇÃO

A participação das citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF, e, do eicosanoide prostaglandina E2 (PGE2), no microambiente tumoral já foi bem descrita na literatura científica. Elas contribuem para diversos processos que promovem o desenvolvimento, o crescimento, a sobrevivência e a disseminação das células tumorais¹⁻⁵. Já, IL-10 tem um duplo papel no câncer: promoção ou inibição dependendo do balanço existente entre esta e outras citocinas, e, de condições do tecido tumoral que controlam sua função em diferentes tipos celulares⁶. Por outro lado, IL-12 exerce uma aparente ação anticâncer, ao estimular fenótipos de linfócito T produtores de IFN- γ (Th1), atividade de NK e de células TCD8+, contribuindo com a rejeição orgânica ao tumor e inibindo a angiogênese. Por estes motivos, IL-12 é um potencial candidato a imunoterapia do câncer^{7,8}. Diante do impacto que estas e outras substâncias inflamatórias exercem sobre o tumor, terapias implementadas com objetivo de aumentar no organismo as concentrações daquelas com atividade anticâncer e/ou reduzir aquelas promotoras estão cada vez mais indicadas como adjuvantes, ou até mesmo, estão sendo utilizadas como tratamento isolado, ainda que experimental.

Os ácidos graxos poli-insaturados n-3 (AGPI n-3), por suas diversas propriedades anticâncer já evidenciadas, mas especialmente pela sua ação anti-inflamatória, podem ser considerados um adjuvante do tratamento desta doença. Estudos mostram que EPA e DHA podem

diminuir as concentrações de substâncias inflamatórias promotoras do desenvolvimento e crescimento de células tumorais, como IL-1 β , IL-6 e TNF, e assim contribuir com a erradicação das células malignas e/ou prover um melhor prognóstico clínico ao paciente com câncer⁹⁻¹¹.

Em uma publicação prévia deste estudo¹², nós mostramos que a suplementação com óleo de peixe exerceu efeito preventivo da perda de massa magra e reduziu alguns sintomas colaterais da quimioterapia (náusea/vômito e perda de apetite). Neste trabalho, iremos descrever os resultados do efeito da suplementação de óleo de peixe sob marcadores de inflamação e parâmetros imunitários.

Outros estudos realizados por nós, utilizando um protocolo de suplementação de óleo de peixe contendo baixa concentração de AGPI n-3 (600 mg/dia), em câncer colorretal, também em quimioterapia e por 9 semanas, demonstraram um impacto positivo sobre PCR e relação PCR/albumina^{13,14}. Todavia, as concentrações de citocinas (IL-1, IL-6, TNF, IL-10, IL-17), consideradas marcadores mais sensíveis para representar o status inflamatório, não tiveram modificação a partir da intervenção testada. Associado a isto, elaboramos duas revisões sistemáticas com metanálise para avaliar o efeito da suplementação destes ácidos graxos sobre marcadores de inflamação em câncer colorretal¹⁵ e gástrico¹⁶, e observamos que, apesar da heterogeneidade dos estudos incluídos e da maioria ser com pacientes cirúrgicos, doses com maior quantidade de EPA e DHA tinham maior impacto sobre as citocinas inflamatórias avaliadas, com resultados discrepantes para PCR e albumina. Dentre as citocinas com maior influência da suplementação, destacam-se IL-6 e TNF. Diante disso, postulamos que, para um maior impacto sobre citocinas inflamatórias circulantes, era preciso aumentar a dose de AGPI n-3 do suplemento ofertado nos estudos iniciais. E assim desenhamos este estudo, com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de óleo de peixe concentrado em AGPI n-3 (1,55 g/dia de EPA + DHA), durante 9 semanas, sobre marcadores inflamatórios (desfechos primários) e parâmetros imunitários (desfechos secundários), em pacientes com câncer gastrointestinal em tratamento quimioterápico.

MATERIAIS DE MÉTODOS

Participantes e desenho do estudo

Este é um Ensaio Clínico Randomizado em que participantes, pesquisadores e o estatístico foram mascarados durante a condução do estudo caracterizando-o como triplo-cego. Foi registrado em

ClinicalTrials.gov com o número NCT02699047 e no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob o código RBR-2XCD99.

Foram incluídos pacientes com tumor diagnosticado por exame histopatológico localizado no estômago, intestinos delgado e grosso, reto e canal anal, atendidos no Ambulatório do Centro de Pesquisas Oncológicas de Florianópolis – CEPON-SC no período de março de 2015 a março de 2016. Os pacientes eram elegíveis quando satisfizessem os seguintes critérios: ser paciente ambulatorial; idade maior ou igual a 18 anos de ambos os sexos; nunca ter realizado quimioterapia e/ou radioterapia; *performance status* ECOG ≤ 2 ; não apresentar doença inflamatória, infecciosa ou diabetes; não ser paciente paliativo; não estar gestante; não apresentar alergia aos componentes dos suplementos ofertados; apresentar capacidade para ingestão de cápsulas via oral; não fazer uso crônico de anti-inflamatórios ou ter feito uso no dia anterior das avaliações basais; não ter feito consumo de suplementos contendo AGPI n-3 nos 6 meses precedentes a sua inclusão no estudo; não estar participando de outra pesquisa clínica cuja intervenção altere os desfechos pretendidos ou teste novos protocolos e/ou fármacos quimioterápicos; e, apresentar capacidade cognitiva para entender o protocolo do estudo e responder aos questionamentos realizados.

Os pacientes elegíveis foram randomizados, utilizando uma lista estratificada por sexo e localização tumoral gerada por um software estatístico para um dos braços do estudo: 1) consumo de 2 cápsulas/dia de óleo de peixe contendo 1,55 g/dia de EPA e DHA (Omega 3 Concentrate[®], Tiarajú, Rio Grande do Sul, Brasil); ou 2) para o grupo controle - consumo de 2 cápsulas/dia de azeite de oliva extra-virgem (Cápsulas de Oliveira[®], Tiarajú, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil), ambos consumidos durante 9 semanas iniciando no dia da primeira quimioterapia. Os pesquisadores orientaram manutenção da dieta habitual e mantiveram contato via presencial ou telefônico em diversos momentos ao longo do estudo.

Este estudo foi conduzido seguindo orientações éticas internacionais (Declaração de Helsinki) de pesquisa envolvendo seres humanos além de ser aprovado por Comitê de Ética do CEPON-SC.

Mais detalhes sobre o protocolo da pesquisa encontram-se em outra publicação prévia e nos registros do estudo¹².

Coleta de sangue

Amostras de sangue foram coletadas por uma enfermeira no momento basal e na 9ª semana utilizando tubos de coleta de sangue BD Vacutainer[®] (tubos com heparina e tubos “secos” para obtenção de plasma

e soro, respectivamente) após um período de jejum alimentar do paciente (pelo menos duas horas). As amostras foram centrifugadas e alíquotas de soro/plasma foram coletadas e armazenadas a -80°C . Todos os biomarcadores foram determinados após o término da coleta de dados (exceção de células sanguíneas).

Determinação dos marcadores de inflamação

As concentrações de citocinas inflamatórias (IL-12p70, TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10) no soro foram determinadas por citometria de fluxo (BD Biosciences FACSVerse flow cytometer[®] - BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) usando um kit comercial (Cytometric Bead Array - Human Inflammatory Cytokine Kit[®] - BD Biosciences, San Diego, CA, EUA). Os dados foram quantificados usando o software FCAP Array[®] e expressos em pg/mL. Os limites de detecção de IL-12p70, TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10 foram 1,9 pg / mL, 3,7 pg/mL, 7,2 pg/mL, 2,5 pg/mL, 3,6 pg/mL e 3,3 pg/mL, respectivamente.

PGE₂ foi determinada no plasma usando um kit comercial (Amersham Prostaglandin E2 Biotrak Enzymeimmunoassay System[®] - GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido) e expresso em pg/ml. A cor desenvolvida na reação foi lida em espectrofotômetro a 630 nm.

As concentrações séricas de PCR (mg/dL) e albumina (g/dL) foram determinadas por procedimento automatizado Dimension RxL Max[®] integrated chemistry system (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Alemanha) utilizando reagentes específicos. O método para detecção de albumina foi uma adaptação do método roxo de bromocresol e o para PCR foi baseado em uma técnica de imunoensaio turbidimétrico de partículas melhoradas.

Relação PCR/albumina

A razão entre dois marcadores de grande utilidade clínica, um classicamente tido como indicador do status inflamatório (PCR), e, o outro, do estado nutricional (albumina), fornece um índice prognóstico (do estado inflamatório e nutricional) do paciente. As categorias de risco adotadas foram as propostas pelo seu criador, Corrêa et al. (2002)¹⁷: sem risco: <0,4; baixo risco: 0,4-1,2; médio risco: 1,2-2,0; alto risco: >2,0.

Parâmetros imunitários e razão neutrófilo-linfócito (RNL)

As contagens de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos (cél/mm³) foram fornecidas pelo paciente mediante apresentação do hemograma ou obtidas a partir do registro médico no prontuário do

paciente. Estes parâmetros fazem parte do protocolo da Instituição para avaliar toxicidade hematológica limitante da dose quimioterápica e era realizado frequentemente antes de cada quimioterapia. A quantificação destas células hematológicas ocorreu em diversos laboratórios associados a Instituição, com o paciente em jejum alimentar noturno. Mais comumente, a determinação foi feita no dia da quimioterapia ou no dia anterior.

RNL foi obtido dividindo o número de neutrófilos pelo número de linfócitos presentes no sangue total. Este índice pode ser considerado um indicador de inflamação sistêmica e tem um papel preditivo para a mortalidade em muitos tumores sólidos, incluindo colorretal e gástrico^{18,19}.

Diversos pontos de corte foram utilizados ao redor do mundo para indicar maior risco de desfechos associados a inflamação e mortalidade em pacientes com câncer gastrointestinal, conforme apresentado no estudo de Bowen et al (2017)²⁰. Assumiremos o ponto de corte ≥ 3 para indicar este risco.

Análise estatística

A definição da aplicação dos testes para as avariáveis contínuas seguiu o indicativo de simetria na distribuição dos dados fornecido pelo teste de Shapiro Wilk. Aplicou-se o teste *t* de *Student* para variáveis independentes (quando distribuição simétrica) ou o teste de Mann Whitney (quando distribuição assimétrica) para avaliar as diferenças existentes entre os grupos em cada momento do estudo, e os testes *t* de *Student* para dados pareados (dados simétricos) e o de Wilcoxon (dados assimétricos) para estabelecer as diferenças intragrupos nos diferentes momentos do estudo. Para as variáveis categóricas de caracterização dos participantes, utilizou-se o teste de Qui quadrado para identificar possíveis diferenças entre as proporções dos eventos.

Visando maior sensibilidade aos resultados foram realizadas análises globais (com todos os participantes que enceraram o estudo) e por subgrupos (sexo, idade, localização, estágio tumoral, protocolo de tratamento, intervalo entre as sessões de quimioterapia, perdedores de peso antes e durante o RCT, e redução de massa magra durante o *follow up* – estes dois últimos subgrupos parecem não ter importância clínica pois não é possível prever se o paciente perderá ou não peso e massa magra durante o estudo, mas no âmbito de uma pesquisa aplicada servirá para demonstrar o impacto destas variáveis sobre o efeito da intervenção testada).

Os dados foram analisados no software STATA versão 13.0 (StataCorp LP, College Station, Texas, USA) e o nível de significância adotado foi de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Recrutamento, randomização e características dos pacientes

Do total de pacientes elegíveis identificados no período de recrutamento, 14 não foram convidados pelos pesquisadores pela incapacidade de contato antes da realização da primeira quimioterapia (identificação retrospectiva) e seis se recusaram. Sendo assim, 56 pacientes foram randomizados para os grupos de estudo (28 para cada). Durante o seguimento houve oito perdas para cada grupo pelos motivos apresentados na figura 1, sendo o total analisado para os desfechos inflamatórios 40 pacientes (20 para cada).

Como os dados imunitários foram obtidos a partir da apresentação do hemograma pelo paciente ou do registro no seu prontuário realizado pelo médico, e considerando que o hemograma era realizado na maioria das vezes antes de cada quimioterapia e que nem sempre as avaliações pretendidas nesta pesquisa foram realizadas em um dia de quimioterapia, houve maior número de perdas para estes desfechos. Além do motivo acima exposto, soma-se o fato de não se encontrar registrado os valores das células hematológicas de nosso interesse no prontuário do paciente. Sendo assim, para o cálculo de NLR estavam disponíveis dados de 12 pacientes no grupo controle e 14 no óleo de peixe.

Os pacientes alocados nos grupos de estudo apresentavam características demográficas, clínicas e do estado nutricional semelhantes, conforme se observa na tabela 1. Destaca-se que nenhum paciente era desnutrido de acordo com seu IMC ($< 18,5 \text{ kg/m}^2$ foi considerado como indicativo de desnutrição), no entanto, 13 pacientes em cada grupo (65%) apresentavam diagnóstico de caquexia. Ainda, 16 pacientes em cada grupo (80%) apresentaram perda de peso involuntária nos últimos 6 meses, sendo esta perda significativamente maior entre os indivíduos do grupo controle do que no grupo intervenção. Isto porquê o grupo controle foi constituído por maior proporção de pacientes com mais de 10% de perda involuntária de peso nos últimos 6 meses (12 pacientes *vs* 8 pacientes). Apesar disso, as médias de peso e IMC eram muito similares entre os grupos. Ainda, salienta-se que 85% dos participantes apresentavam câncer colorretal e apenas um terço relatou a presença de outra doença [cardiovasculares (HAS, arritmia) – 8 pacientes; depressão – 1 paciente; hipotireoidismo – 2 pacientes]. As medicações de uso

contínuo eram destinadas ao controle destas doenças, ou como medidas analgésicas.

Figura 1: Fluxograma dos participantes durante o curso do ensaio clínico.

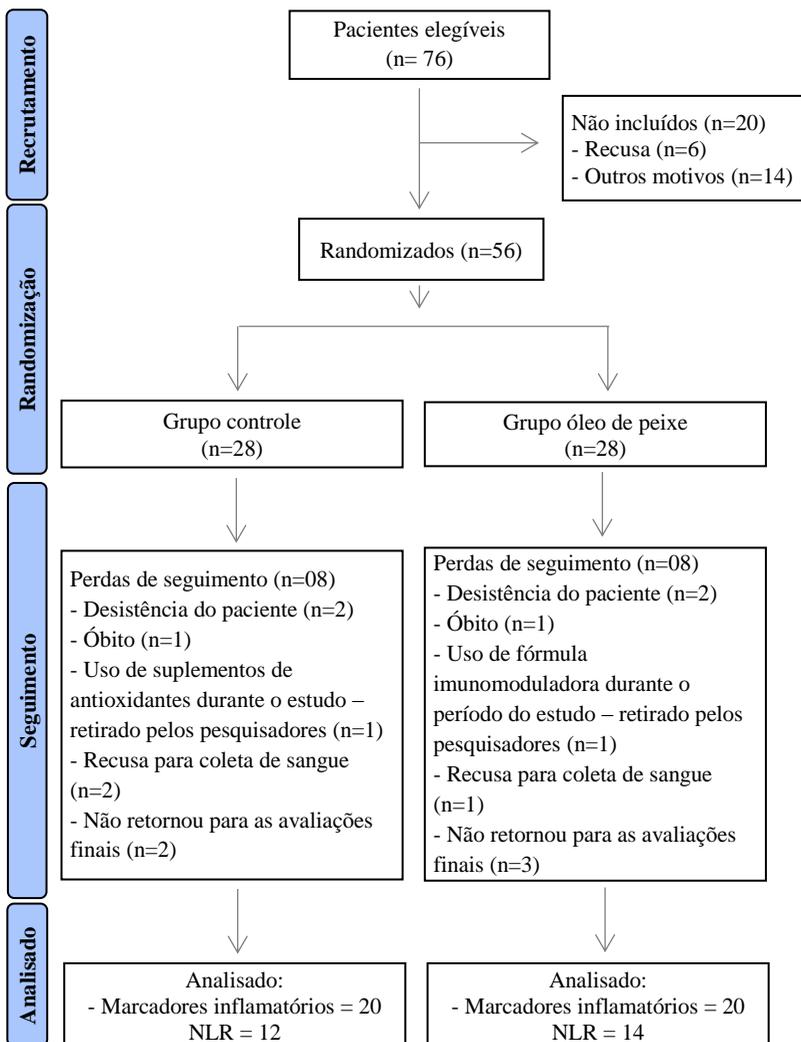


Tabela 1: Características demográficas, clínicas e do estado nutricional dos participantes incluídos na análise dos marcadores inflamatórios.

Variável	Grupo controle (n=20)	Grupo óleo de peixe (n=20)	Valor p
Sexo masculino (n/%)	13 (65,0)	11 (55,0)	0,519*
Idade (anos)	48 [34,5 - 55,5]	56 [48,5 - 60,5]	0,064**
Localização tumoral (n/%)			0,661***
Cólon e reto	16 (80)	18 (90)	
Estômago	4 (20)	2 (10)	
Estágio tumoral (n/%)			0,497*
II	2 (10,5)	5 (25,0)	
III	11 (57,9)	10 (50,0)	
IV	6 (31,6)	5 (25,0)	
Ressecção tumoral prévia (n/%)	17 (85,0)	17 (85,0)	1,000***
Tempo entre a ressecção tumoral e a inclusão no estudo (dias)	72,5 [49,5 - 87,5]	68 [51-87]	0,829**
Concomitante radioterapia (n/%)	4 (20,0)	2 (10,0)	0,661***
Protocolo de quimioterapia (n/%)			0,138*
XELOX	8 (40,0)	13 (65,0)	
5-FU/LV	5 (25,0)	5 (25,0)	
Outros	7 (35,0)	2 (10,0)	
Quimioterapia oral (capecitabina) (n/%)	8 (40,0)	13 (65,0)	0,113*
Uso de anticorpo monoclonal (n/%)	2 (10,0)	3 (15,0)	1,000***
Intervalo entre as sessões de quimioterapia intravenosa (n/%)			0,582*
7 dias	8 (40,0)	5 (25,0)	
21 dias	10 (50,0)	13 (65,0)	
28 dias	2 (10,0)	2 (10,0)	
Outras doenças (n/%)	6 (30,0)	6 (30,0)	1,000*
Uso de medicamentos contínuos (n/%)	8 (40,0)	6 (30,0)	0,507*
Obesidade (IMC \geq 30 kg/m ²) (n/%)	3 (15,0)	5 (25,0)	0,695***
IMC (kg/m ²)	26,6 (3,8)	26,6 (4,5)	0,985 [§]
Peso (kg)	73,0 (10,9)	72,4 (14,9)	0,881 [§]

Tabela 1: Características demográficas, clínicas e do estado nutricional dos participantes incluídos na análise dos marcadores inflamatórios. (Continuação)

Variável	Grupo controle (n=20)	Grupo óleo de peixe (n=20)	Valor p
Hábito tabágico (n/%) ^a			0,208*
Fumante	4 (20,0)	4 (20,0)	
Ex fumante	10 (50,0)	5 (25,0)	
Nunca fumou	6 (30,0)	11 (55,0)	
Convive com um fumante atualmente	3 (15,0)	2 (10,0)	1,000***
Massa gorda (%)	31,0 (10,4)	31,3 (9,0)	0,903§
Índice de Massa magra (kg/m ²) ^b	18,3 (1,5)	17,9 (1,8)	0,502§
Diagnóstico de caquexia (n/%) ^c	13 (65,0)	13 (65,0)	1,000*
Perdedores de peso nos últimos 6 meses (n/%)	16 (80,0)	15 (75,0)	1,000***
Peso perdido nos últimos 6 meses (%)	-15,6 (8,7)	-9,6 (5,3)	0,029§

Os dados das variáveis contínuas estão apresentados em média (DP) ou mediana [intervalo interquartil]

* Qui² de Pearson

** Teste de Mann-Whitney

*** Qui² exato de Fisher

§ Teste t para dados independentes

Critérios adotados: Fumante atual: fumou mais de 100 cigarros na vida e faz uso de tabaco atualmente; ex-fumante: fumou mais de 100 cigarros na vida mas cessou o uso em pelo menos 6 meses anteriores à sua inclusão no estudo; e não-fumante: nunca fumou ou fumou menos de 100 cigarros na vida.

^b Calculado pela divisão do peso da massa magra (kg) pelo quadrado da altura (m).

Crítérios para o diagnóstico de caquexia de acordo com Fearon et al. (2011)²¹: perda de peso não intencional > 5% em 6 meses; ou IMC <20 kg/m² e perda de peso não intencional > 2%; ou, presença de sarcopenia com perda de peso não intencional > 2%. Para diagnóstico de sarcopenia usamos o índice de massa magra < 14,6 kg/m² para homens e < 11,4 kg/m² para mulheres.

Marcadores de inflamação

Os valores dos marcadores de inflamação globais determinados antes e após a suplementação com óleo de peixe estão apresentados nas tabelas 2 e 3. Não se observou diferença significativa para nenhuma das citocinas dosadas, tampouco PCR, albumina, bem como a sua razão, e PGE₂. Considerando a classificação de risco fornecida pela relação PCR/albumina, nota-se a manutenção das proporções de indivíduos den-

Tabela 2: Valores dos biomarcadores de inflamação antes e após a intervenção.

Marcador	Grupo controle (n=20)	Grupo óleo de peixe (n=20)	Valor p*
<i>TNF (pg/mL)</i>			
Basal	0,39 (0,0; 1,05)	0,54 (0,0; 1,12)	0,826
9º semana	0,60 (0,0; 1,05)	0,37 (0,0; 0,79)	0,794
Valor p**	0,626	0,491	
Δ	-0,04 (-0,24; 0,19)	0,0 (-0,48; 0,09)	0,913
<i>IL-10 (pg/mL)</i>			
Basal	0,38 (0,22; 0,56)	0,47 (0,29; 0,86)	0,372
9º semana	0,61 (0,28; 0,90)	0,59 (0,43; 0,90)	0,665
Valor p**	0,083	0,278	
Δ	0,27 (-0,19; 0,62)	0,06 (-0,05; 0,23)	0,208
<i>IL-6 (pg/mL)</i>			
Basal	1,44 (0,72; 3,47)	2,21 (0,42; 4,05)	0,925
9º semana	2,85 (1,02; 9,49)	2,01 (1,19; 4,25)	0,417
Valor p**	0,140	0,970	
Δ	0,42 (-0,49; 6,94)	0,20 (-2,0; 1,56)	0,168
<i>IL-1β (pg/mL)</i>			
Basal	0 (0,0; 0,73)	0 (0,0; 1,14)	0,913
9º semana	0 (0,0; 0,12)	0 (0,0; 1,03)	0,222
Valor p**	0,304	0,984	
Δ	0 (-0,25; 0,0)	0 (-0,15; 0,38)	0,511
<i>IL-8 (pg/mL)</i>			
Basal	26,39 (10,07; 39,90)	14,95 (9,26; 64,98)	0,871
9º semana	22,06 (9,91; 35,95)	19,74 (10,22; 43,05)	0,957
Valor p**	0,911	0,296	
Δ	-0,23 (-18,91; 13,33)	-3,74 (-47,73; 12,85)	0,552
<i>PGE₂ (pg/mL)</i>			
Basal	6,01 (0,25; 7,77)	6,58 (0,44; 7,83)	0,725
9º semana	7,2 (3,85; 8,93)	5,45 (2,37; 9,28)	0,787
Valor p**	0,370	0,167	
Δ	0,74 (-1,94; 2,50)	0,84 (-0,54; 2,86)	0,746
<i>PCR (mg/dL)</i>			
Basal	6,35 (3,05; 26,2)	2,75 (2,2; 8,85)	0,204
9º semana	5,5 (2,4; 19,35)	2,7 (2,25; 4,3)	0,102
Valor p**	0,823	0,588	
Δ	0,6 (-8,05; 4,2)	0,15 (-3,85; 0,7)	0,317
<i>Albumina (g/dL)</i>			
Basal	3,8 (3,65; 3,90)	3,85 (3,75; 4,05)	0,269
9º semana	3,75 (3,45; 4,0)	3,65 (3,35; 3,95)	0,514
Valor p**	0,614	0,166	
Δ	0,10 (-0,30; 0,3)	-0,1 (-0,4; 0,1)	0,506

Os dados estão apresentados em mediana (intervalo interquartil). Δ = diferença de médias.

* Teste de Mann-Whitney (teste não pareado)

** Teste de Wilcoxon (testepareado)

Tabela 3: Valores da relação PCR/Albumina.

Marcador	Grupo controle (n=20)	Grupo óleo de peixe (n=20)	Valor p
<i>Razão PCR/albumina</i>			
Basal	1,69 (0,76; 6,72)	0,69 (0,58; 2,30)	0,234*
9º semana	1,66 (0,64; 5,32)	0,78 (0,64; 1,05)	0,133*
Valor p**	0,709	0,681	
Δ	0,29 (-2,18; 1,18)	0,10 (-0,98; 0,26)	0,304*
<i>Risco da relação PCR/ albumina (n/%)</i>			
Sem risco			0,545***
Basal	2 (10,0)	3 (15,0)	
9º semana	2 (10,0)	0 (0,0)	
Baixo risco			0,645‡
Basal	6 (30,0)	10 (50,0)	
9º semana	7 (35,0)	16 (80,0)	
Médio risco			1,000***
Basal	3 (15,0)	1 (5,0)	
9º semana	3 (15,0)	2 (10,0)	
Alto risco			0,402***
Basal	9 (45,0)	6 (30,0)	
9º semana	8 (40,0)	2 (10,0)	

Os dados da variável razão PCR/albumina estão apresentados em mediana (intervalo interquartil). Δ = diferença de médias.

* Teste de Mann-Whitney (teste não pareado)

** Teste de Wilcoxon (teste pareado)

*** Qui² exato de Fisher

‡ Qui² de Pearson

tro das categorias de risco antes e após a intervenção no grupo controle e uma realocação dos pacientes das categorias de “sem risco” e “alto risco” para as categorias de “baixo” e “médio risco” no grupo óleo de peixe. Considerando a mudança do grau de risco entre os grupos, 11 indivíduos de cada grupo permaneceram na mesma categoria de risco após a intervenção, 4 em cada grupo aumentaram o risco e 5 tiveram seu risco reduzido.

Salientamos que a maioria dos participantes (70% no momento basal e 75% no momento final) não apresentou valores detectáveis para IL-12 e por este motivo, não são apresentados resultados para este marcador.

As análises de subgrupos mostraram que os pacientes com câncer estágio IV e aqueles que não apresentaram redução de massa magra durante o estudo foram os que tiveram maior influência das

suplementações ofertadas conforme se observa nas tabelas suplementares S1 a S9.

Nas *mulheres* houve redução significativa no grupo óleo de peixe do marcador TNF [basal: 0,48 pg/mL (0,0-1,59); 9 semanas: 0,01 pg/mL (0,0-1,05); $p=0,031$; figura S2].

Considerando a categoria de *pacientes que não reduziram massa magra durante as 9 semanas do estudo* as análises demonstraram significância para: valores menores no grupo óleo de peixe do que controle após a suplementação de TNF [controle: 0,81 pg/mL (0,60-1,05); óleo de peixe: 0,2 pg/mL (0,0-0,68); $p=0,038$; figura S1], IL-6 [controle: 9,49 pg/mL (3,89-23,49); óleo de peixe: 2,06 pg/mL (1,15-4,05); $p=0,019$; figura S6], PGE2 [controle: 9,36 pg/mL (6,63-11,3); óleo de peixe: 4,72 pg/mL (1,72-5,51); $p=0,005$; figura S8], PCR [controle: 7,05 mg/dL (3,6-39,8); óleo de peixe: 2,6 mg/dL (2,4-3,5); $p=0,017$; figura S12], e para a relação PCR/albumina [controle: 2,0 (0,95-11,59); óleo de peixe: 0,79 (0,66-1,0); $p=0,021$; figura S17]. Nesta mesma categoria, segundo as análises do comportamento intragrupo dos marcadores, houve um aumento significativo no grupo controle para IL-10 [basal: 0,37 pg/mL (0,33-0,42); 9 semanas: 0,99 pg/mL (0,75-1,22); $p=0,017$; figura S3], e IL-6 [basal: 1,96 pg/mL (1,24-4,56); 9 semanas: 9,49 pg/mL (3,89-23,49); $p=0,025$; figura S4], ao passo que no grupo intervenção se observou uma redução de albumina [basal: 3,9 g/dL (3,8-4,2); 9 semanas: 3,5 g/dL (3,3-3,8); $p=0,022$; figura S14]. Por outro lado, *os pacientes que reduziram massa magra* e pertencentes ao grupo intervenção apresentaram valores significativamente maiores do que o controle ao final de 9 semanas para PGE2 [controle: 5,61 pg/mL (1,44-7,36); óleo de peixe: 9,48 pg/mL (8,38-13,01); $p=0,023$; figura S8].

Pacientes com *estágio III* e pertencentes ao grupo controle tiveram um aumento significativo nas concentrações de IL-10 [basal: 0,25 pg/mL (0,17-0,46); 9 semanas: 0,65 pg/mL (0,40-0,98); $p=0,036$; figura S3]. Já os do grupo óleo de peixe apresentaram um aumento dos valores da relação PCR/albumina [basal: 0,63 (0,5-0,9); 9 semanas: 0,96 (0,76; 1,10); $p=0,028$; figura S16] e de IL-6 [basal: 0,74 pg/mL (0,38-2,36); 9 semanas: 3,19 (1,95-4,44); $p=0,037$; figura S5].

O subgrupo *estágio IV* mostrou os melhores resultados para a suplementação testada: ao final de 9 semanas, o grupo óleo de peixe apresentou menores valores do que o controle para IL-6 [controle: 9,74 pg/mL (6,21-20,53); óleo de peixe: 1,57 pg/mL (1,23-1,8); $p=0,045$; figura S6], como resultado de uma redução significativa deste marcador ao se comparar os dois momentos do estudo [basal: 4,18 pg/mL (3,77-9,7); 9 semanas: 1,57 pg/mL (1,23-1,80); $p=0,043$; figura S5]. Também

se observou uma redução no grupo intervenção para IL-8 [basal: 63,8 pg/mL (18,02-140,79); 9 semanas: 14,38 pg/mL (10,8-55,23); $p=0,043$; figura S7], PCR [basal: 23,8 mg/dL (7,7-175,5); 9 semanas: 2,5 mg/dL (2,4-5,7); $p=0,043$; figura S11], e os valores da sua relação com albumina [basal: 6,26 (2,03-62,68); 9 semanas: 0,71 (0,63-1,78); $p=0,043$; figura S16]. Ainda, nesta mesma categoria, o grupo controle apresentou um aumento significativo para IL-6 [basal: 2,81 pg/mL (1,64-5,74); 9 semanas: 9,75 pg/mL (6,21-20,53); $p=0,028$; Figura S4]; PCR [basal: 4,3 mg/dL (1,7-65,1); 9 semanas: 16,5 mg/dL (4,7-69,8); $p=0,028$; figura S10]; e, para os valores da relação PCR/albumina [basal: 1,13 (0,41-19,15); 9 semanas: 4,74 (1,47-22,52); $p=0,028$; figura S15], mas reduziu albumina [basal: 3,8 g/dL (3,4-4,0); 9 semanas: 3,3 g/dL (3,1-3,5); $p=0,026$; figura S13].

Os *pacientes que apresentaram perda de peso durante as 9 semanas de follow-up* e que foram alocados no grupo controle apresentaram um aumento significativo de IL-10 [basal: 0,34 pg/mL (0,25-0,42); 9 semanas: 0,81 pg/mL (0,70-1,19); $p=0,018$; figura S3]; IL-6 [basal: 1,86 pg/mL (1,23-5,74); 9 semanas: 11,17 pg/mL (5,7-26,45); $p=0,028$; figura S4]; PCR [basal: 4,1 mg/dL (1,7-13,3); 9 semanas: 7,8 mg/dL (3,3-52,9); $p=0,028$; figura S10]; e da relação PCR/albumina [basal: 1,08 (0,41-5,32); 9 semanas: 2,17 (0,94-15,56); $p=0,028$; figura S15].

Por fim, os *pacientes que receberam quimioterapia contendo 5Fluorouracil + leucovorin* além do óleo de peixe, apresentaram um aumento de PGE2 na análise intragrupo [basal: 6,61 pg/mL (0,45-6,65); 9 semanas: 9,48 pg/mL (9,08-11,44); $p=0,043$; figura S9].

Também testamos as diferenças destes desfechos para os subgrupos de *pacientes em QTx + RDT e com mais ou menos de 50 anos de idade*, porém com valores dos testes estatísticos sem significância e por esta pouca influência exercida sobre os desfechos, resolvemos não apresentá-los.

Parâmetros imunitários e razão neutrófilo-linfócito

Os indicadores hematológicos e a RNL dos pacientes incluídos no estudo estão apresentados na tabela 4. Percebe-se que ambos os grupos tiveram uma redução na contagem total das células sanguíneas analisadas após 9 semanas de quimioterapia, porém sem diferenças estatísticas entre eles. Todavia, o grupo óleo de peixe teve uma redução significativa nos números totais de leucócitos e neutrófilos quando comparados os momentos basal e final ($p<0,05$), fato não observado no grupo controle.

Tabela 4: Valores da contagem de células hematológicas e da relação neutrófilo/linfócitos antes e após a intervenção.

Marcador	Grupo controle	Grupo óleo de peixe	Valor p*
<i>Leucócito totais (cél/mm³)</i>			
n	16	16	
Basal	6625 (6120; 7525)	6310 (5310; 7870)	0,692
9º semana	4685 (3720; 7395)	5070 (4340; 6395)	0,474
Valor p**	0,079	0,007	
Δ	-1235 (-2785; 265)	-650 (-1185; -60)	0,763
<i>Linfócitos (cél/mm³)</i>			
n	12	14	
Basal	1712 (1528; 2150,5)	1736,5 (1151; 2247)	0,797
9º semana	1533,5 (1235; 1835,5)	1814,5 (1519; 2281)	0,181
Valor p**	0,308	0,925	
Δ	-205,5 (-836,5; 173)	-92,5 (-699; 1358)	0,504
<i>Neutrófilos (cél/mm³)</i>			
n	15	16	
Basal	4012 (2870; 4792)	3669 (3062; 5685)	0,580
9º semana	2181 (1725; 3587)	2752,5 (2248; 3849)	0,527
Valor p**	0,156	0,026	
Δ	-678 (-2139; 387)	-702 (-2425,5; 163)	0,477
<i>Razão neutrófilo/linfócito</i>			
n	12	14	
Basal	2,24 (1,65; 3,39)	2,31 (1,78; 3,65)	0,607
9º semana	2,23 (1,06; 4,07)	1,69 (0,92; 2,52)	0,472
Valor p**	0,938	0,397	
Δ	0,22 (-1,24; 1,58)	-1,07 (-1,99; 0,96)	0,382

Os dados estão apresentados em mediana (intervalo interquartil). Δ = diferença de médias.

* Teste de Mann-Whitney (teste não pareado)

** Teste de Wilcoxon (teste pareado)

Em relação ao RNL, não se observou diferenças significativas entre e intragrupos de acordo com os momentos do estudo. No grupo controle, 7 indivíduos (58%) tiveram um aumento da razão enquanto que 6 (43%) apresentaram este comportamento no grupo óleo de peixe. Considerando a estratificação de risco (com ou sem), no momento basal 4 indivíduos (23,5%) do grupo controle e 5 (29,4%) do grupo intervenção apresentavam risco. No momento final, 5 indivíduos (35,7%) do grupo controle e 3 (15,8%) do grupo óleo de peixe foram categorizados com risco indicado por uma RNL ≥ 3 (p de Qui² exato de Fisher = 0,637).

Análises estratificadas para estes desfechos secundários requerem cautela na sua interpretação, pelo baixo número de observações (<5), especialmente para RNL. Por este motivo, foram feitas apenas comparações entre grupos.

De acordo com estas análises se observou que os valores de RNL foram menores para o grupo óleo de peixe ao final de 9 semanas de suplementação nos subgrupos de pacientes que perderam peso durante o estudo ($p=0,017$; figura S18) e com idade maior ou igual a 50 anos ($p=0,017$; figura S18).

Tomando em consideração a contagem de células imunitárias nas análises estratificadas, parece que o impacto hematológico do protocolo 5FU-LV foi menor no grupo óleo de peixe, uma vez que se observou valores de neutrófilos e leucócitos totais maior neste grupo do que no controle na 9ª semana (Figura S19 e S20). Também parece que o óleo de peixe proporcionou maior contagem de linfócitos na 9ª semana nos subgrupos de pacientes que perderam peso durante o estudo (figura S21); que realizaram quimioterapia intravenosa de 21-21 dias (figura S21); que receberam protocolo XELOX (figura S21); e que possuíam idade ≥ 50 anos (figura S21).

DISCUSSÃO

Ao final de 9 semanas de suplementação, o grupo que recebeu óleo de peixe apresentou significativo menores valores do que o grupo controle para TNF, IL-6, PGE₂, PCR e relação PCR/albumina nos pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo, e IL-6, nos pacientes com câncer avançado (estágio IV). Também, de acordo com as análises de comportamento dos marcadores dentro de cada grupo (basal vs. 9ª semana), se observou redução significativa de IL-6, IL-8, PCR e relação PCR/albumina no grupo intervenção e com câncer estágio IV. Comportamento inverso para IL-6, PCR, relação PCR/albumina foram observados no grupo controle e subgrupo estágio IV, assim como uma redução de albumina. Ainda, no grupo controle, houve aumento de IL-10 e IL-6 nos pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo; aumento de IL-10 nos pacientes com câncer estágio III e que perderam peso durante o estudo; além de, neste último subgrupo, ser observado também, aumento de IL-6, PCR e relação PCR/albumina.

IL-6 é um estimulador potente da proliferação e crescimento de células tumorais. A maior parte da IL-6 é produzida por macrófagos de lâmina própria e células dendríticas, durante estágios iniciais do processo

de carcinogênese, e, por células T durante estágios posteriores de progressão tumoral, em resposta, provavelmente, ao alto conteúdo inflamatório dos tumores sólidos, e, a lesão e morte contínua de células epiteliais durante o desenvolvimento do tumor. As células epiteliais e tumorais, bem como os fibroblastos associados a tumores, também são capazes de produzir IL-6 e podem contribuir significativamente para o *pool* total dessa citocina²². Sua sinalização envolve o receptor de membrana para IL-6 (IL-6R) e proteína transdutora de sinal gp130, a qual leva a ativação de vias intracelulares, mediadas por Ras, MAPK, STAT3, AKT, JAK, NF- κ B, que são responsáveis, dentre outros fatores, pela inibição da produção de agentes supressores; pelo aumento da expressão de fatores anti-apoptóticos; pela indução do crescimento e proliferação celular; pela manutenção da inflamação no ambiente tumoral; pelo aumento do potencial glicolítico da célula; pela resistência contra o potencial oxidante gerado pela quimio e/ou radioterapia; pela angiogênese; pela inibição do reparo de DNA; e, pela resistência ao tratamento anticâncer². Níveis elevados de IL-6 estão associados ao crescimento agressivo do tumor e redução da resposta a terapias em diversos tipos de câncer, incluindo colorretal e gástrico. Pacientes com níveis circulantes elevados desta citocina geralmente estão associados a um pior prognóstico e menor sobrevida, enquanto baixas concentrações de IL-6 estão associadas a uma melhor resposta à terapia anticâncer^{2,22}.

TNF pode regular o crescimento do tumor modulando a infiltração leucocitária no tecido tumoral. O recrutamento de células mielóides e a sua diferenciação em células que expressam marcadores de células endoteliais; a indução da polarização dos macrófagos associados ao tumor para um fenótipo imunossupressor; a indução da produção de VEGF por macrófagos; e, a modulação da atividade de linfócitos B para uma forma que inibe a imunidade antitumoral, são ações induzidas por TNF e que parecem promover a angiogênese e o crescimento tumoral²³. TNF possui dois receptores (TNFR1 e 2), cada um podendo levar a diferentes atividades desta citocina. Enquanto que TNFR1 é expresso em quase todas as células corporais e tumorais, TNFR2 é expresso especialmente em leucócitos. A ligação de TNF com o receptor 1 promove a ativação dos fatores de transcrição NF- κ B, AP-1 e Elk-1 levando a produção de citocinas inflamatórias e de fatores de crescimento, mas também pode induzir uma via de apoptose, dependendo do estado da célula. Já a ligação de TNF com o receptor 2, altamente expresso em células mielóides e outros leucócitos promove a produção de VEGF, que por sua vez, participa do processo de angiogênese. Ainda TNF-TNFR2 parece ativar células T_{reg} promovendo a resistência tumoral contra atividade do sistema

imune^{1,23}. Estudos realizados em modelos de câncer experimentais e humanos mostram que as células proliferativas e metastáticas tumorais produzem TNF e que seus antagonistas podem ser úteis no tratamento de pacientes com câncer avançado²⁴.

A IL-8 é uma quimiocina pró-inflamatória associada à promoção da quimiotaxia de neutrófilos e degranulação. A expressão aumentada de IL-8 e/ou seus receptores (CXCR1 e CXCR2) foi caracterizada em células cancerígenas, células endoteliais, neutrófilos e macrófagos associados ao tumor, sugerindo que esta citocina pode funcionar como um fator regulador importante no microambiente do tumor. A indução da sinalização de IL-8 ativa múltiplas vias intracelulares em diversas células alvo, promovendo respostas angiogênicas em células endoteliais, aumento da proliferação e da sobrevivência em células endoteliais e tumorais, e, potencializando a migração de células tumorais, células endoteliais e neutrófilos no tumor. Conseqüentemente, a expressão de IL-8 correlaciona-se com a angiogênese, malignidade e metástase de tumores em vários modelos *in vivo*. Além do mais, IL-8 pode também conferir resistência ao tratamento quimioterápico nas células tumorais. Portanto, a inibição dos efeitos da sinalização de IL-8 ou a redução de seus níveis pode ser uma intervenção terapêutica significativa no microambiente tumoral⁵.

PGE₂ é um eicosanoide derivado de AGPI n-6 (ácido araquidônico - ARA) que apresenta diversos efeitos biológicos na inflamação e no câncer. Sua produção é originária da metabolização deste ácido graxo (recrutado da membrana celular) pela família de enzimas da ciclooxigenase (COX). Existem duas isoformas maiores de COX: COX-1 expressa na maioria das células do corpo e faz parte da maquinaria fisiológica normal delas, e a isoforma COX-2, que é induzida por inflamação (citocinas) e por fatores de crescimento. Seu receptor de membrana é o EP⁴. Células tumorais de câncer colorretal²⁵ e gástrico²⁶ expressam altos níveis de COX-2, promovendo produção continuada de PGE₂ (caso a membrana celular seja rica em ARA). Também apresentam altos níveis de expressão do receptor EP, sendo fortemente susceptíveis de sofrerem a ação desta prostaglandina. A principal ação nas células tumorais de PGE₂ é inibir a ativação de fatores de supressão do crescimento e o reparo ao DNA dos genes mutados. Também exerce um importante papel no ambiente tumoral, agindo sobre outras células (suprime a ação de células NK; induz a polarização de macrófagos associados ao tumor para o tipo 2; aumenta a produção de VEGF pelos fibroblastos; e, regula a atividade de células T_{reg} e de células supressoras

mieloides)⁴. Diante disto, observa-se o importante papel deste marcador no crescimento tumoral e na evasão do sistema imune.

Os resultados favoráveis sobre TNF, IL-6, IL-8 e PGE₂ atribuídos a suplementação com óleo de peixe neste estudo, podem ser explicados por dois principais motivos: 1) EPA e DHA interferem na sinalização intracelular de NF-κB, via GPR130 e PPAR-γ, inibindo sua ação, mesmo na presença de estímulos para a sua ativação (são diversos os fatores que pode ativar a via do NF-κB, desde citocinas pró-inflamatórias, agentes oxidantes e hipóxia, até alguns fármacos quimioterápicos; fatores estes observados no ambiente tumoral); e, 2) EPA e DHA são usados preferencialmente pela COX-2 e a partir da sua metabolização são produzidos eicosanoides da série ímpar, com menor ação pró-inflamatória que a PGE₂²⁷. É importante destacar que muitos dos efeitos da inflamação sobre o câncer envolvem a via do NF-κB, e que este fator de transcrição modula a produção de citocinas pró-inflamatórias²⁸. Assim sendo, ao inibir a sinalização do NF-κB, podemos contribuir com o controle da inflamação e a terapia anticâncer.

Ao contrário de IL-6, IL-8, TNF e PGE₂, a IL-12 está envolvida com inibição do crescimento do tumor por inibir o processo de angiogênese no tecido tumoral. Essa inibição perpassa pelo estímulo para a diferenciação de linfócitos T para o subtipo Th1, produtor de IFN-γ, e consequente ativação de células NK e TCD8⁺⁸. Em nosso estudo, aproximadamente ¾ dos participantes não apresentaram níveis detectáveis para esta citocina. Podemos sugerir como explicação para este achado: 1) baixa sensibilidade do kit utilizado para a sua determinação; e/ou, 2) um estímulo para um padrão de produção de citocinas pró-tumoral, garantindo o crescimento e proliferação do tumor, com inibição da produção das citocinas indutoras da imunidade anticâncer. Seria interessante, além da dosagem de IL-12, a determinação dos fenótipos de linfócitos T para melhor avaliar os efeitos da suplementação de óleo de peixe sobre a imunidade antitumoral.

PCR é considerada uma proteína de fase aguda positiva. IL-6 é uma das principais citocinas reguladores da produção hepática desta proteína²⁹. Logo, é plausível o fato do óleo de peixe reduzir a produção de IL-6, e também impactar nos níveis de PCR, conforme observado em nosso estudo. E, ao reduzir PCR, também proporcionou redução nos valores da sua relação com albumina.

PGE₂ aumentou nos pacientes do grupo intervenção e que receberam 5FU-LV e foi significativamente maior no grupo óleo de peixe do que no controle ao final de 9 semanas de suplementação nos pacientes que reduziram massa magra durante o estudo, representando um resultado

que vai na contramão do esperado, já que EPA e DHA apresentam maior afinidade pelas enzimas da COX e LOX do que ARA, e são metabolizados a eicosanoides de série ímpar. Sugere-se que este achado seja devido a um grande consumo dietético de ARA ou de ácido linoleico (precursor de ARA) por este grupo de pacientes, causando um desequilíbrio na relação n-6:n-3, mesmo com a suplementação de AGPI n-3. Neste caso seria interessante o controle da relação n-6:n-3 da dieta para garantir a ausência da influência dos AGPI n-6 sobre este marcador. Ainda, podemos sugerir o não cumprimento do protocolo de suplementação com óleo de peixe como possível explicação para achado supramencionado.

Apesar de IL-10 ser considerada uma citocina anti-inflamatória, e que por esta classificação poderia ser desejado o aumento nas suas concentrações circulantes em pacientes com câncer, visando reduzir o estado inflamatório, não parece que ela contribuirá com o controle e erradicação do tumor. Pelo contrário, devido sua atividade imunossupressora, sugere-se que IL-10 contribua com evasão do sistema imune adaptativo pelo tecido tumoral, a medida que reduz ou inibe a apresentação de antígenos via regulação da expressão de moléculas MHC classe II em células apresentadoras de antígenos e classe I em células tumorais, além de estimular a diferenciação de células T para um fenótipo Th2^{6,30}. Em um estudo realizado com pacientes portadores de câncer de cólon, foi demonstrado que altas concentrações de IL-10 no pré-operatório de cirurgia de ressecção tumoral estava associado com menor sobrevida e maior chance de recidiva da doença após 22 meses de seguimento (tempo médio)³¹. Menor sobrevida esteve também associada com altas concentrações de IL-10 no pré-operatório de câncer gástrico^{32,33}. Outro estudo, ao traçar um perfil dos níveis de citocinas circulantes em pacientes com câncer colorretal, mostrou significativa maior concentração de IL-10 e de IL-23 nos pacientes com câncer do que nos controles saudáveis, e que os maiores valores foram observados no grupo de doença avançada, sugerindo um papel desta citocina no desenvolvimento e progressão tumoral³⁴. Em nosso estudo, não se observou diferenças significativas entre os grupos para IL-10 ao final de 9 semanas, mas no grupo controle houve um aumento desta citocina em diversas categorias. Fato este considerado indesejado.

É importante destacar que alguns fármacos quimioterápicos utilizados durante o tratamento do câncer gastrointestinal, como derivados da platina e 5-fluorouracil, também induzem sinalização inflamatória. Evidências em modelos animais mostram a ativação do NF- κ B e ERK1/2, e o aumento na produção de diversas citocinas como TNF,

IL-6 e IL-1 β , bem como da expressão de COX-2 após a administração destes fármacos³⁵. Por este motivo, se torna essencial a análise de marcadores de inflamação por protocolo quimioterápico, e ainda, seria interessante, considerar a dosagem utilizada para um melhor entendimento do efeito do óleo de peixe sobre estes desfechos nestas circunstâncias.

Os principais resultados favoráveis ao óleo de peixe foram observados no subgrupo de pacientes com câncer estágio IV. Podemos levantar algumas suposições que explicariam isso: 1) um maior nível de inflamação nestes pacientes do que nos estágios menos avançados (os pacientes do grupo óleo de peixe do estágio IV apresentavam valores significativamente maiores no momento basal de IL-6, IL-8, PCR e menores para albumina do que os pacientes deste mesmo grupo de estudo, mas com estágios II e III); e, 2) certo grau de “insuficiência” ou “deficiência” corpórea dos AGPI n-3. Assim sendo, este subgrupo poderia ser mais sensível à intervenção testada. Também foram observados maiores resultados benéficos no subgrupo de pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo. Nesta situação, supõem-se como explicação, o fato de que os AGPI n-3 consumidos não foram utilizados por vias de síntese muscular para prevenir a perda de massa magra, ficando disponíveis para aquelas reações de modulação da inflamação. Desta forma, podemos sugerir a existência de uma preferência para utilização dos AGPI n-3 em rotas metabólicas, quando do aumento da sua oferta: num primeiro momento seria utilizada para manutenção da massa magra corporal (se houver necessidade de preservá-la), e depois, para modulação da inflamação. Provavelmente a utilização dos AGPI n-3 por vias com ambas as finalidades ocorram ao mesmo tempo, no entanto, sugerimos a existência de uma preferência por sua utilização em vias metabólicas que representam a necessidade corporal naquele momento.

As análises dos desfechos para os subgrupos de pacientes que perderam (ou não) peso e massa magra durante o estudo, apesar de parecer irracional pois não se pode prever o comportamento destes parâmetros de antemão quando da aplicação prática deste protocolo de suplementação, foram efetuadas com o intuito de avaliar a sua influência sobre os desfechos. Observamos em nosso estudo que manter a massa magra durante as primeiras 9 semanas de tratamento quimioterápico são importantes para uma melhor ação anti-inflamatória do suplemento contendo AGPI n-3. Isso reforça a necessidade de se usar estratégias nutricionais e/ou farmacológicas preventivas da perda de peso e/ou de massa magra para prover, além de outros importantes desfechos clínicos

durante o tratamento, uma melhor eficácia da suplementação de AGPI n-3 associada a quimioterapia.

Em relação aos desfechos imunitários, observamos valores significativamente maiores no grupo óleo de peixe que no controle no momento final para neutrófilos, leucócitos totais e linfócitos em diversos subgrupos. Impacto semelhante do óleo de peixe sobre células imunitárias (polimorfonucleares) também foi observado por Bonatto et al (2012)³⁶ em um estudo com pacientes com câncer, especialmente gastrointestinal, recebendo quimioterapia. Manter os níveis de neutrófilos e de linfócitos adequados durante a quimioterapia é de grande importância clínica, pois não levará a interrupções no tratamento quimioterápico, e ao mesmo tempo, provê melhor defesa contra infecções oportunistas as quais os pacientes com neutropenia induzida por quimioterapia estão sujeitos. Os motivos pelos quais AGPI n-3 promovem maiores valores destes parâmetros durante a quimioterapia não são totalmente compreendidos. Especula-se uma influência destes ácidos graxos sobre as citocinas hematopoiéticas, assim como, ao serem incorporados em fosfolipídios de membrana das células saudáveis, incluindo as imunitárias, EPA e DHA podem melhorar sua capacidade de responder a agentes oxidantes como aqueles induzidos pela quimioterapia, além de serem metabolizados em resolvinas e protectinas, conferindo proteção ao dano celular³⁷.

Nas análises globais para estes parâmetros, observamos que o grupo óleo de peixe apresentou uma redução significativa para a contagem de leucócitos totais e neutrófilos na comparação intragrupo. Apesar de um valor p significativo, ao se comparar os valores medianos (leucócitos totais: intervenção = 5.070 cél/mm³; controle: 4.685 cél/mm³; neutrófilos: intervenção = 2.752,5 cél/mm³; controle = 2.181 cél/mm³) e o menor valor observado (leucócitos totais: intervenção = 3.810 cél/mm³; controle: 2.390 cél/mm³; neutrófilos: intervenção = 1.143 cél/mm³; controle = 1.000 cél/mm³) de cada um destes parâmetros entre os grupos, percebemos que os valores apresentados pelo grupo intervenção foram melhores. Ao avaliar a proporção de pacientes de cada grupo com valores abaixo da referência (leucócitos totais: ≥ 3.800 cél/mm³; neutrófilo: ≥ 1800 cél/mm³), observou-se que 4 pacientes dos 16 do grupo controle apresentaram valores de leucócitos abaixo da referência, enquanto que nenhum dos 16 do grupo intervenção. Dos 15 pacientes do grupo controle, 4 apresentaram valores de neutrófilos abaixo da referência, enquanto que 3 dos 16 do grupo óleo de peixe. Sendo assim, este resultado estatístico não condiz com a relevância clínica do achado, onde pela estatística, o óleo de peixe reduziu significativamente os valores, mas de acordo a análise clínica, a redução proporcionada foi menor que no controle.

Em nosso estudo, avaliamos dois indicadores de prognóstico clínico: as razões RCR/albumina e neutrófilo/linfócito (RNL). Ambos fornecem uma informação adicional do estado inflamatório do paciente, e adicionalmente, a relação PCR/albumina também fornece um indicativo do estado nutricional^{17,38}. Valores elevados de ambos já foram correlacionados com pior prognóstico em pacientes com câncer gastrointestinal, tanto cirúrgicos quanto em quimio e/ou radioterapia^{17-19,38-40}. Assim sendo, se a suplementação com óleo de peixe é capaz de reduzir o risco indicado por estes índices, como observado em alguns subgrupos em nosso estudo, poderá contribuir com melhor prognóstico do paciente a longo prazo. Outros estudos realizados por nós já demonstraram um efeito dos AGPI n-3 em reduzir o risco da relação PCR/albumina em câncer gastrointestinal sob quimioterapia¹³⁻¹⁵, mas não foram encontrados até o presente momento estudos que avaliassem o impacto desta intervenção sobre a RNL, o que torna este o primeiro estudo com este objetivo.

Os resultados globais não mostraram nenhuma modificação significativa para os desfechos inflamatórios. Todavia ao estratificar as análises por subgrupos, passou-se a observar efeitos significativos do óleo de peixe, evidenciando uma heterogeneidade na amostra recrutada. Partindo da inferência de que nem todo paciente portador de câncer gastrointestinal irá se beneficiar da suplementação de óleo de peixe durante a quimioterapia, se torna essencial, mas ao mesmo tempo, representa um desafio, identificar qual grupo de pacientes realmente terão adjuvância esperada com o uso de óleo de peixe. Neste nosso estudo, observamos que os pacientes com câncer estágio IV e que mantiveram ou aumentaram massa magra durante o estudo, são aqueles que mais se beneficiaram da intervenção testada considerando os desfechos inflamatórios. Entretanto, para os desfechos imunitários, os subgrupos de pacientes com 50 anos ou mais e que perderam peso durante o seguimento foram os mais beneficiados. Ainda, é interessante destacar que para os desfechos antropométricos, composição corporal e qualidade de vida apresentados na primeira publicação¹², os subgrupos de “perdedores de peso durante o estudo”, “estágio III” e “idade \geq 50 anos” foram os que apresentaram resultados significativamente melhores para o grupo óleo de peixe.

Esta possível heterogeneidade, pode ser advinda de diversos fatores, que em um ensaio clínico realizado com pacientes em situações de vida real, são difíceis de serem controlados. Além das diferenças clínicas e demográficas consideradas nas análises de subgrupos, ainda podemos citar como fatores confundidores não controlados por nós: a

composição de alimentação; o estresse psicológico; outros estilos de vida de impacto sobre a saúde; o possível não cumprimento do protocolo de suplementação; diferentes dosagens de fármacos quimioterápicos recebidos; o estado socioeconômico; sem desconsiderar fatores não explicados pela ciência como influenciadores do estado de saúde geral; e é claro, o metabolismo e fisiologia orgânica própria, já que um processo é capaz de influenciar outros e vice-versa.

Do ponto de vista clínico, qualquer benefício em qualquer desfecho justificaria o uso destes ácidos graxos como adjuvantes. No entanto, para as pesquisas científicas, se o postulado de que determinados grupos de pacientes com um mesmo tipo de câncer têm resultados diferentes com a suplementação de AGPI n-3 para um determinado desfecho, seria interessante o conhecimento de quais são estes grupos e quais os desfechos que sofrerão impacto, evitando submeter o paciente a um protocolo de pesquisa ineficaz, bem como, custos desnecessários; e, elucidar as aplicações reais destes AGPI n-3 em cada situação clínica.

Além da heterogeneidade da amostra, outra limitação deste estudo é o pequeno número de observações nas análises de subgrupos, que apesar de conotar a relevância clínica, sugere cautela na interpretação dos resultados.

Até o presente momento, o cumprimento com o protocolo de suplementação durante o período de estudo foi avaliado pelo relato do paciente do consumo diário das cápsulas quando dos retornos a Instituição para algum procedimento e/ou consulta. De acordo com estes, todos os pacientes alegaram consumir mais de 80% das cápsulas ofertadas. Também, destaca-se que nenhum paciente relatou efeitos adversos no consumo dos suplementos.

Em conclusão, o consumo de óleo de peixe durante as primeiras nove semanas de quimioterapia não alterou as concentrações de marcadores inflamatórios nas análises globais, muito embora, com redução da concentração sérica desses quando estratificados. Tal comportamento se estabeleceu naqueles pacientes com estágio IV, que não reduziram massa magra durante o estudo, com 50 anos ou mais, que perderam peso durante a 9 semanas de acompanhamento, que receberam 5FU-LV ou XELOX e nos que receberam quimioterapia intravenosa de 21 e 21 dias. Adicionalmente, vários destes subgrupos tiveram redução dos valores dos índices prognósticos utilizados, indicando menor risco de desfechos negativos a curto e longo-prazo. Acredita-se, portanto, que a suplementação de óleo de peixe ou dos AGPI n-3 concomitante com a quimioterapia para tratamento do câncer gastrointestinal pode prover

benefícios em algumas situações clínicas (estágio) nos pacientes oncológicos.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudos ao autor principal e outros co-autores deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e UFSC pelo apoio a pesquisa e financiamento de alguns reagentes utilizados. Ao Laboratório Tiarajú, pela doação dos suplementos utilizados. E, por fim, mas não menos importante, aos profissionais do Centro de Pesquisas Oncológicas de Florianópolis, pelo apoio no recrutamento e coleta de dados, e é claro, aos pacientes envolvidos, pela disponibilidade voluntária e esforço em contribuir com a Ciência.

REFERÊNCIAS

1. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(5):361-371. doi:10.1038/nrc2628.
2. Kumari N, Dwarakanath BS, Das A, Bhatt AN. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. *Tumor Biol*. 2016;37(9):11553-11572. doi:10.1007/s13277-016-5098-7.
3. Lewis AM, Varghese S, Xu H, Alexander HR. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *J Transl Med*. 2006;4:48. doi:10.1186/1479-5876-4-48.
4. Nakanishi M, Rosenberg DW. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer. *Semin Immunopathol*. 2013;35(2):123-137. doi:10.1007/s00281-012-0342-8.
5. Waugh DJJ, Wilson C. The interleukin-8 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*. 2008;14(21):6735-6741. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4843.
6. Mannino MH, Zhu Z, Xiao H, Bai Q, Wakefield MR, Fang Y. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Lett*. 2015;367(2):103-107. doi:10.1016/j.canlet.2015.07.009.
7. Lasek W, Zagożdżon R, Jakobisiak M. Interleukin 12: still a promising candidate for tumor immunotherapy? *Cancer Immunol Immunother*. 2014;63(5):419-435. doi:10.1007/s00262-014-1523-1.
8. Tugues S, Burkhard SH, Ohs I, et al. New insights into IL-12-

- mediated tumor suppression. *Cell Death Differ.* 2015;22(2):237-246. doi:10.1038/cdd.2014.134.
9. Laviano A, Rianda S, Molfino A, Fanelli FR. Omega-3 fatty acids in cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013;16(2):156-161. doi:10.1097/MCO.0b013e32835d2d99.
 10. D'Eliseo D, Velotti F. Omega-3 Fatty Acids and Cancer Cell Cytotoxicity: Implications for Multi-Targeted Cancer Therapy. *J Clin Med.* 2016;5(2):15. doi:10.3390/jcm5020015.
 11. Eltweri AM, Thomas AL, Metcalfe M, Calder PC, Dennison AR, Bowrey DJ. Potential applications of fish oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in the management of gastrointestinal cancer. *Clin Nutr.* 2017;36(1):65-78. doi:10.1016/j.clnu.2016.01.007.
 12. Mocellin MC, Camargo C de Q, Fabre ME de S, Trindade EBS de M. Fish oil effects on quality of life, body weight and free fat mass change in gastrointestinal cancer patients undergoing chemotherapy: A triple blind, randomized clinical trial. *J Funct Foods.* 2017;31:113-122. doi:10.1016/j.jff.2017.01.041.
 13. Silva J de AP, Trindade EBS de M, Fabre ME de S, et al. Fish Oil Supplement Alters Markers of Inflammatory and Nutritional Status in Colorectal Cancer Patients. *Nutr Cancer.* 2012;64(2):267-273. doi:10.1080/01635581.2012.643133.
 14. Mocellin MC, Pastore E Silva JDA, Camargo CDQ, et al. Fish oil decreases C-reactive protein/albumin ratio improving nutritional prognosis and plasma fatty acid profile in colorectal cancer patients. *Lipids.* 2013;48(9):879-888. doi:10.1007/s11745-013-3816-0.
 15. Mocellin MC, Camargo CQ, Nunes EA, Fiates GMR, Trindade EBSM. A systematic review and meta-analysis of the n-3 polyunsaturated fatty acids effects on inflammatory markers in colorectal cancer. *Clin Nutr.* 2016;35(2):359-369. doi:10.1016/j.clnu.2015.04.013.
 16. Mocellin MC, Fernandes R, Chagas TR, Trindade EBSM. A meta-analysis of n-3 polyunsaturated fatty acids effects on circulating acute-phase protein and cytokines in gastric cancer. *Clin Nutr.* May 2017. doi:10.1016/j.clnu.2017.05.008.
 17. Corrêa CR, Yooko A, Angeleli O, Barbosa L, Burini RC. Comparação entre a relação PCR / albumina e o índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN). *J Bras Patol e Med Lab.* 2002;38:183-190. doi:10.1590/S1676-24442002000300004.
 18. Haram A, Boland MR, Kelly ME, Bolger JC, Waldron RM, Kerin MJ. The prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in

- colorectal cancer: A systematic review. *J Surg Oncol*. 2017;115(4):470-479. doi:10.1002/jso.24523.
19. Hu Z-D, Huang Y-L, Qin B-D, et al. Prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio for gastric cancer. *Ann Transl Med*. 2015;3(4):50. doi:10.3978/j.issn.2305-5839.2015.03.26.
 20. Bowen RC, Ann N, Little B, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as prognostic indicator in gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(19):32171-32189. www.impactjournals.com/oncotarget. Accessed June 28, 2017.
 21. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: An international consensus. *The Lancet Oncology*. 2011;12(5):489-495.
 22. Grivennikov SI, Karin M. Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(Suppl 1):i104-i108. doi:10.1136/ard.2010.140145.
 23. Waters JP, Pober JS, Bradley JR. Tumour necrosis factor and cancer. *J Pathol*. 2013;230(3):241-248. doi:10.1002/path.4188.
 24. Candido J, Hagemann T. Cancer-related inflammation. *J Clin Immunol*. 2013;33(SUPPL.1):79-84. doi:10.1007/s10875-012-9847-0.
 25. Wang D, Dubois RN. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer. *Oncogene*. 2010;29(6):781-788. doi:10.1038/onc.2009.421.
 26. Wang Z, Chen J-Q, Liu J-L. COX-2 Inhibitors and Gastric Cancer. *Gastroenterol Res Pract*. 2014;2014:132320. doi:10.1155/2014/132320.
 27. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients*. 2010;2(3):355-374. doi:10.3390/nu2030355.
 28. Xia Y, Shen S, Verma IM. NF- κ B, an active player in human cancers. *Cancer Immunol Res*. 2014;2(9):823-830. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0112.
 29. Du Clos TW, Mold C. C-Reactive Protein: An Activator of Innate Immunity and a Modulator of Adaptive Immunity. *Immunol Res*. 2004;30(3):261-278. doi:10.1385/IR:30:3:261.
 30. Lee S, Margolin K. Cytokines in Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2011;3(4):3856-3893. doi:10.3390/cancers3043856.
 31. Galizia G, Orditura M, Romano C, et al. Prognostic Significance of Circulating IL-10 and IL-6 Serum Levels in Colon Cancer Patients Undergoing Surgery. *Clin Immunol*. 2002;102(2):169-178. doi:10.1006/clim.2001.5163.
 32. Szaflarska A, Szczepanik A, Siedlar M, et al. Preoperative plasma

- level of IL-10 but not of proinflammatory cytokines is an independent prognostic factor in patients with gastric cancer. *Anticancer Res.* 2009;29(12):5005-5012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20044609>. Accessed July 23, 2017.
33. Ikeguchi M, Hatada T, Yamamoto M, et al. Serum interleukin-6 and -10 levels in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2009;12(2):95-100. doi:10.1007/s10120-009-0509-8.
 34. Stanilov N, Miteva L, Deliysky T, Jovchev J, Stanilova S. Advanced Colorectal Cancer Is Associated With Enhanced IL-23 and IL-10 Serum Levels. *Lab Med.* 2010;41(3):159-163. doi:10.1309/LM7T43AQZIUPIOWZ.
 35. Vyas D, Laput G, Vyas AK. Chemotherapy-enhanced inflammation may lead to the failure of therapy and metastasis. *Onco Targets Ther.* 2014;7:1015-1023. doi:10.2147/OTT.S60114.
 36. Bonatto SJR, Oliveira HHP, Nunes EA, et al. Fish Oil Supplementation Improves Neutrophil Function During Cancer Chemotherapy. *Lipids.* 2012;47(4):383-389. doi:10.1007/s11745-011-3643-0.
 37. D'Eliseo D, Velotti F. Omega-3 Fatty Acids and Cancer Cell Cytotoxicity: Implications for Multi-Targeted Cancer Therapy. *J Clin Med.* 2016;5(2):15. doi:10.3390/jcm5020015.
 38. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 2005;91(3):181-184. doi:10.1002/jso.20329.
 39. Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, Iwasaki Y, Shibuya N, Kubota K. Clinical Significance of the C-Reactive Protein to Albumin Ratio for Survival After Surgery for Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2016;23(3):900-907. doi:10.1245/s10434-015-4948-7.
 40. Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Iseki Y, Ikeya T, Hirakawa K. Prognostic Significance of the Preoperative Ratio of C-Reactive Protein to Albumin in Patients with Colorectal Cancer. *Anticancer Res.* 2016;36(3):995-1001. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26976989>. Accessed July 24, 2017.

TABELAS E FIGURAS SUPLEMENTARES

Todos os testes aplicados para testar diferenças intra-grupos (momento basal vs. 9º semana) foram teste de Wilcoxon, enquanto que para testar diferenças inter-grupos (controle vs. intervenção) foram teste de Mann Whitney, devido a assimetria na distribuição dos dados.

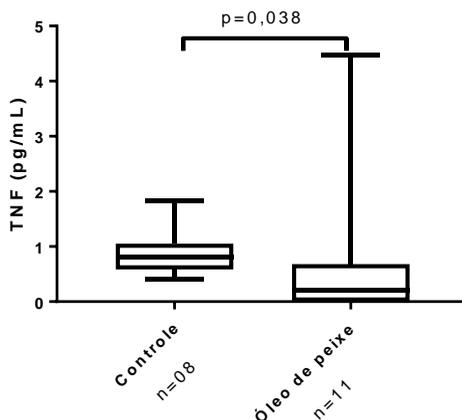
Descrição das categorias:

Nome	Descrição
<i>Homens</i>	Pacientes do sexo masculino
<i>Mulheres</i>	Pacientes do sexo feminino
<i>Câncer colorretal</i>	Paciente com câncer colorretal
<i>Estágio III</i>	Pacientes com câncer estágio III (classificação TNM)
<i>Estágio IV</i>	Pacientes com câncer estágio IV (classificação TNM)
<i>Protocolo XELOX</i>	Pacientes que receberam quimioterapia contendo Oxaliplatina + Capecitabina
<i>Protocolo 5FU-LV</i>	Pacientes que receberam quimioterapia contendo 5-Fluorouracil + Leucovorin
<i>QT intervalo 7-7 dias</i>	Pacientes que receberam quimioterapia intravenosa com intervalo entre as sessões de uma semana
<i>QT intervalo 21-21 dias</i>	Pacientes que receberam quimioterapia intravenosa com intervalo entre as sessões de 3 semanas
<i>Perdeu peso antes</i>	Pacientes que relataram histórico de perda de peso anterior a inclusão no estudo
<i>Não perdeu peso antes</i>	Pacientes que não relataram histórico de perda de peso anterior a inclusão no estudo
<i>Perdeu peso durante o estudo</i>	Pacientes que tiveram perda de peso durante as 9 semanas de estudo
<i>Não perdeu peso durante o estudo</i>	Pacientes que não tiveram perda de peso durante as 9 semanas de estudo
<i>Reduziu massa magra durante o estudo</i>	Pacientes que tiveram redução de massa magra avaliada por bioimpedância elétrica durante as 9 semanas de estudo
<i>Não reduziu massa magra durante o estudo</i>	Pacientes que não tiveram redução de massa magra durante as 9 semanas de estudo

Tabela S1: Valor p para as análises estratificadas para o marcador TNF.

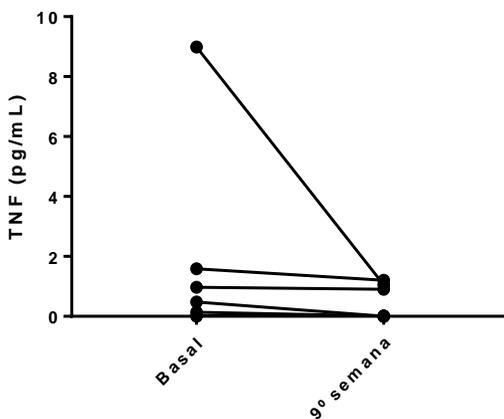
Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,326	0,463	0,579	0,519
Mulheres	0,031	0,855	0,704	0,744
Câncer colorretal	1,000	0,373	0,527	0,930
Estágio III	0,409	0,816	0,709	0,264
Estágio IV	0,600	0,225	0,580	1,000
Protocolo XELOX	0,440	0,885	0,307	0,360
Protocolo 5FU-LV	0,786	0,777	0,916	0,746
QT intervalo 7-7 dias	0,832	0,500	0,012	0,054
QT intervalo 21-21 dias	0,683	0,885	0,364	0,247
Perdeu peso antes	0,603	0,234	0,841	0,704
Não perdeu peso antes	0,853	0,572	0,803	1,000
Perdeu peso durante o estudo	0,799	0,384	0,600	0,295
Não perdeu peso durante o estudo	0,549	0,872	0,504	0,673
Reduziu massa magra durante o estudo	0,065	0,952	0,562	0,195
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,327	0,359	0,706	0,038

Figura S1: Comparação dos valores de TNF no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando apenas os pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo.



Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana.

Figura S2: Comportamento de TNF no grupo controle considerando apenas os pacientes do sexo feminino.

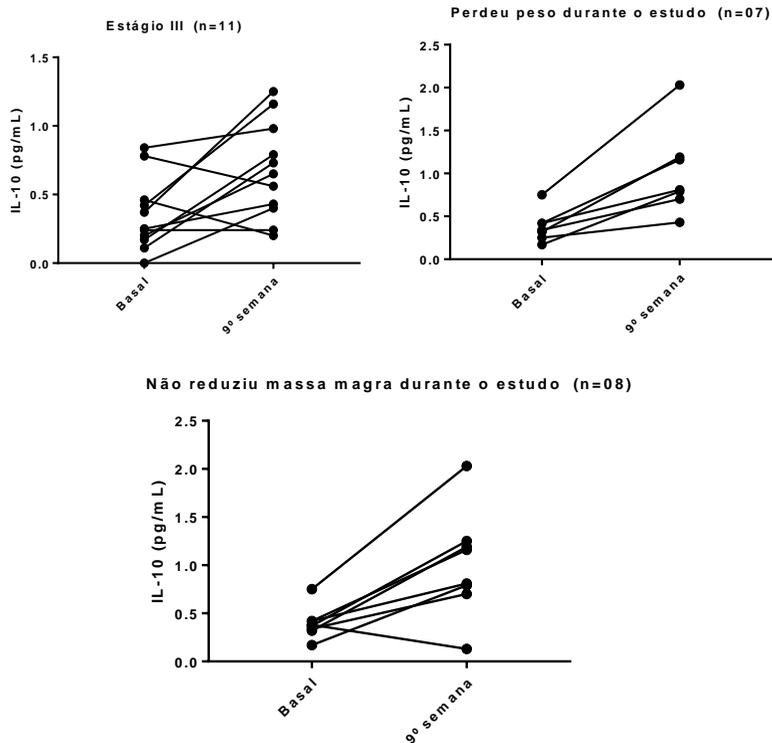


Teste aplicado: Wilcoxon. N = 7. Valor p = 0,031

Tabela S2: Valor p para as análises estratificadas para o marcador IL-10.

Marcador / subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,294	0,689	0,523	0,794
Mulheres	0,128	0,056	0,427	0,634
Câncer colorretal	0,339	0,183	0,679	0,512
Estágio III	0,036	0,053	0,832	0,274
Estágio IV	0,075	0,396	0,082	0,927
Protocolo XELOX	0,726	0,779	0,913	1,000
Protocolo 5FU-LV	0,138	0,500	0,917	0,917
QT intervalo 7-7 dias	0,327	0,414	0,188	0,057
QT intervalo 21-21 dias	0,307	0,779	0,780	0,577
Perdeu peso antes	0,289	0,754	0,607	0,752
Não perdeu peso antes	0,068	0,057	0,086	0,807
Perdeu peso durante o estudo	0,018	0,528	0,203	0,418
Não perdeu peso durante o estudo	1,000	0,408	0,806	0,314
Reduziu massa magra durante o estudo	0,969	0,905	0,227	0,135
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,017	0,083	0,563	0,083

Figura S3: Comportamento de IL-10 no grupo controle considerando apenas os pacientes dos subgrupos indicados nos gráficos.

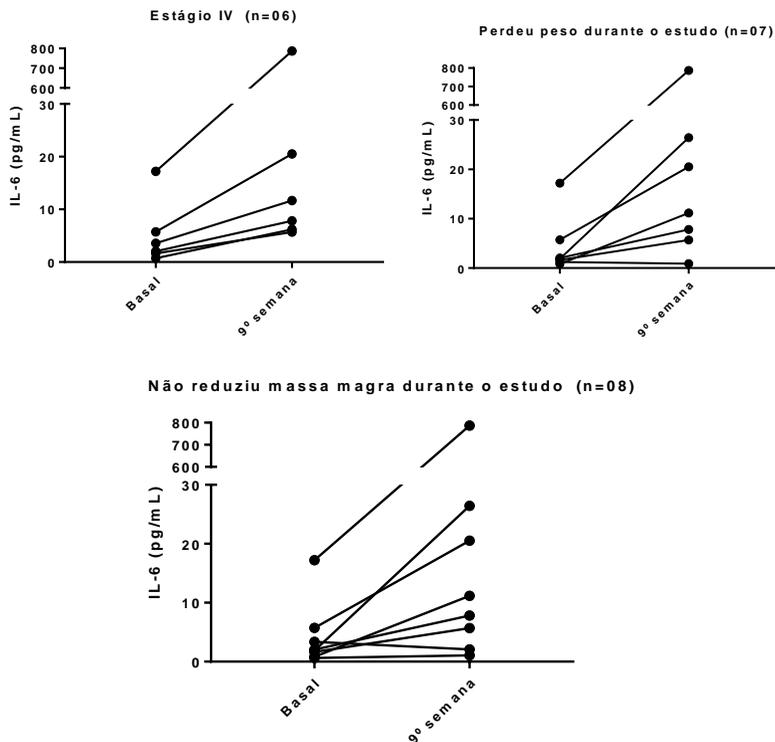


Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p “estágio III” = 0,036; valor p “perdeu peso durante o estudo” = 0,018; valor p “não reduziu massa magra durante o estudo” = 0,017.

Tabela S3: Valor p para as análises estratificadas para o marcador IL-6.

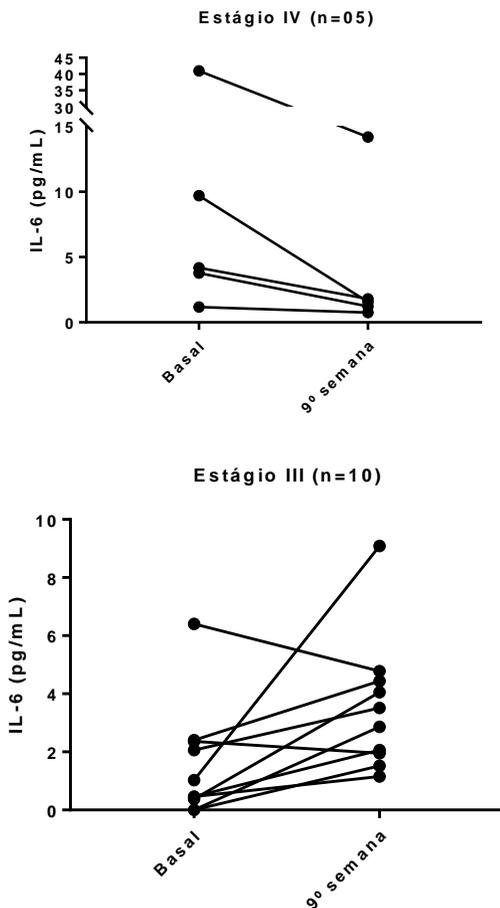
Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,529	1,000	0,622	0,543
Mulheres	0,063	0,953	0,138	0,560
Câncer colorretal	0,365	0,913	0,782	0,743
Estágio III	0,563	0,037	0,573	0,159
Estágio IV	0,028	0,043	0,361	0,045
Protocolo XELOX	0,327	0,917	0,447	0,447
Protocolo 5FU-LV	0,225	0,686	0,530	0,347
QT intervalo 7-7 dias	0,623	0,893	0,510	0,660
QT intervalo 21-21 dias	0,203	0,917	0,598	0,476
Perdeu peso antes	0,326	0,955	0,540	0,540
Não perdeu peso antes	0,095	0,686	0,389	0,807
Perdeu peso durante o estudo	0,028	1,000	0,643	0,083
Não perdeu peso durante o estudo	0,780	0,875	0,892	0,957
Reduziu massa magra durante o estudo	0,724	0,314	0,286	0,569
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,025	0,286	0,160	0,019

Figura S4: Comportamento de IL-6 no grupo controle considerando apenas os pacientes dos subgrupos indicados nos gráficos.



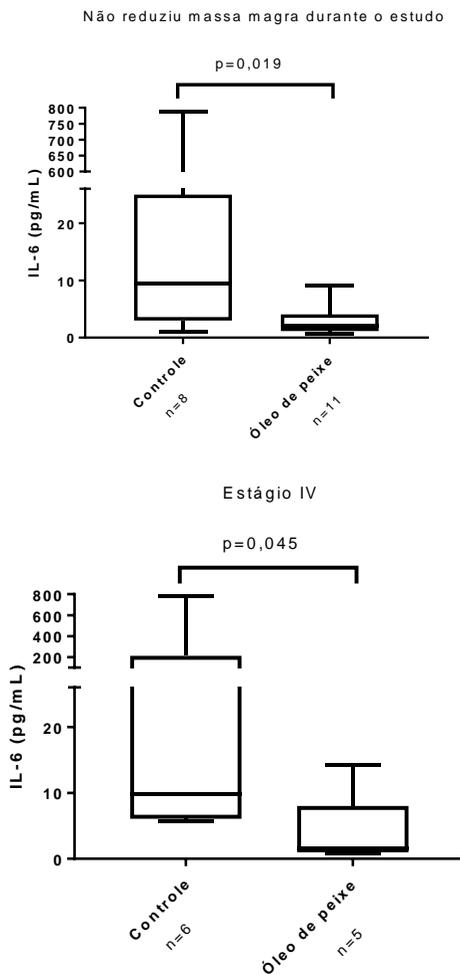
Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p “estágio IV” = 0,028; valor p “perdeu peso durante o estudo” = 0,028; valor p “não reduziu massa magra durante o estudo” = 0,025.

Figura S5: Comportamento de IL-6 no grupo óleo de peixe considerando apenas os pacientes dos subgrupos indicados nos gráficos.



Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p “estágio IV” = 0,043; valor p “estágio III” = 0,037.

Figura S6: Comparação dos valores de IL-6 no momento final (9^o semana) entre os grupos, considerando os subgrupos indicados nos gráficos.



Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana.

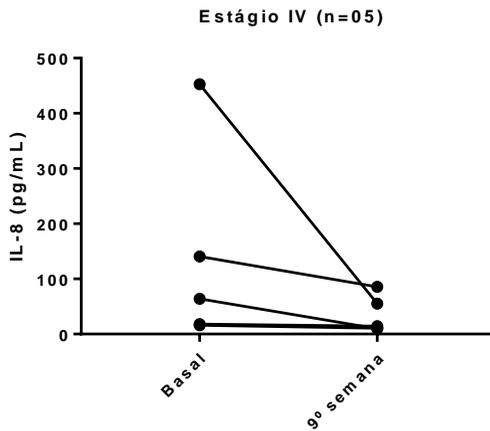
Tabela S4: Valor p para as análises estratificadas para o marcador IL-1.

Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,778	0,589	0,679	0,639
Mulheres	0,212	0,573	0,861	0,221
Câncer colorretal	0,752	0,815	0,872	0,156
Estágio III	0,084	0,582	0,791	0,224
Estágio IV	0,388	0,160	0,290	0,765
Protocolo XELOX	1,000	0,657	0,440	0,785
Protocolo 5FU-LV	0,160	1,000	0,578	0,095
QT intervalo 7-7 dias	0,566	0,777	0,152	0,095
QT intervalo 21-21 dias	0,660	0,657	0,381	0,574
Perdeu peso antes	0,239	1,000	0,872	0,116
Não perdeu peso antes	0,842	0,876	0,788	0,788
Perdeu peso durante o estudo	0,567	0,762	0,408	0,945
Não perdeu peso durante o estudo	0,377	0,899	0,499	0,145
Reduziu massa magra durante o estudo	0,374	0,754	0,555	0,122
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,566	0,731	0,548	0,841

Tabela S5: Valor p para as análises estratificadas para o marcador IL-8.

Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,650	0,477	0,339	0,434
Mulheres	0,237	0,441	0,368	0,368
Câncer colorretal	0,836	0,500	0,918	0,704
Estágio III	0,790	0,333	0,181	0,833
Estágio IV	0,600	0,043	0,201	1,000
Protocolo XELOX	0,779	0,249	0,664	0,772
Protocolo 5FU-LV	0,345	0,893	0,047	0,347
QT intervalo 7-7 dias	0,484	0,893	0,661	0,661
QT intervalo 21-21 dias	0,799	0,249	0,852	0,852
Perdeu peso antes	0,642	0,394	0,874	0,693
Não perdeu peso antes	0,273	0,500	0,624	0,807
Perdeu peso durante o estudo	0,499	0,161	1,000	0,247
Não perdeu peso durante o estudo	0,553	0,934	0,913	0,328
Reduziu massa magra durante o estudo	0,480	0,515	0,943	0,256
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,575	0,328	0,741	0,160

Figura S7: Comportamento de IL-8 no grupo óleo de peixe considerando apenas os pacientes estágio IV.

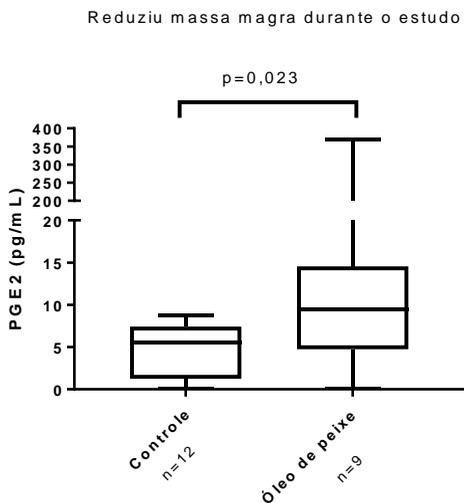
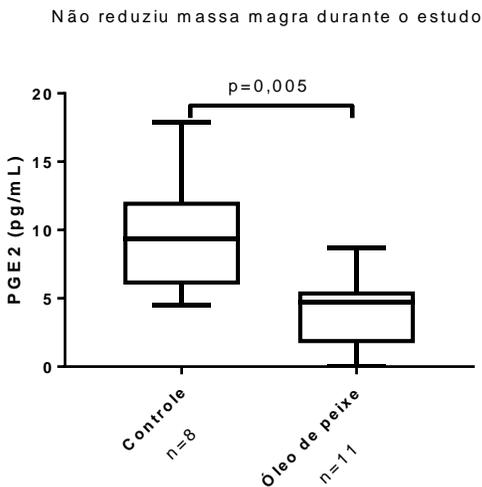


Teste aplicado: Wilcoxon. Valor $p=0,043$

Tabela S6: Valor p para as análises estratificadas para o marcador PGE2.

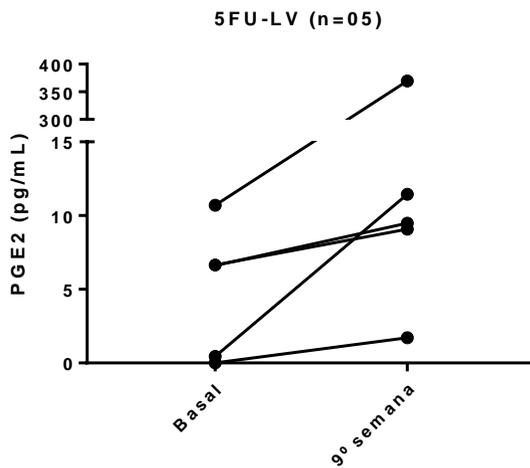
Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,861	0,534	0,401	0,622
Mulheres	0,176	0,173	0,711	0,315
Câncer colorretal	0,642	0,102	0,704	0,836
Estágio III	0,374	0,721	0,833	0,360
Estágio IV	0,463	0,225	0,855	0,715
Protocolo XELOX	0,779	0,917	0,828	0,562
Protocolo 5FU-LV	0,893	0,043	0,754	0,602
QT intervalo 7-7 dias	0,575	0,080	1,000	0,661
QT intervalo 21-21 dias	0,799	0,917	0,901	0,420
Perdeu peso antes	0,535	0,112	0,813	0,580
Não perdeu peso antes	0,465	0,686	0,327	0,624
Perdeu peso durante o estudo	0,735	0,779	0,487	0,105
Não perdeu peso durante o estudo	0,382	0,084	0,355	0,231
Reduziu massa magra durante o estudo	0,530	0,110	0,227	0,023
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,484	0,929	0,364	0,005

Figura S8: Comparação dos valores de PGE2 no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando os subgrupos indicados nos gráficos.



Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana.

Figura S9: Comportamento de PGE2 no grupo óleo de peixe considerando apenas os pacientes que receberam quimioterapia protocolo 5FU-LV.

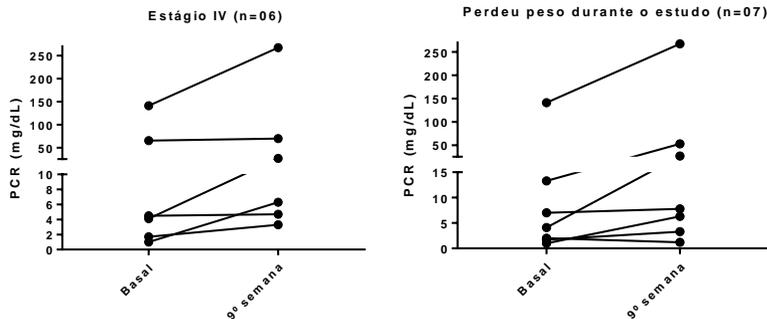


Teste aplicado: Wilcoxon. Valor $p=0,043$.

Tabela S7: Valor p para as análises estratificadas para o marcador PCR.

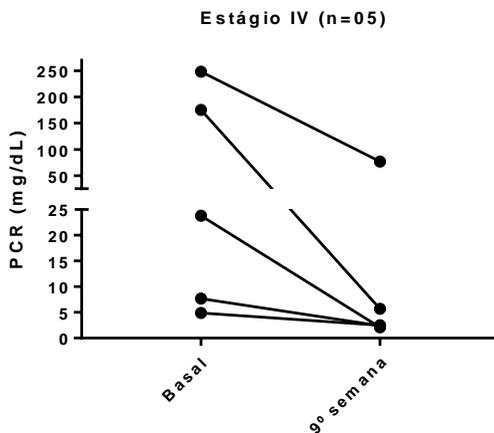
Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,917	0,965	0,125	0,353
Mulheres	0,237	0,515	0,711	0,290
Câncer colorretal	0,918	0,433	0,062	0,125
Estágio III	0,859	0,053	0,067	0,438
Estágio IV	0,028	0,043	0,100	0,144
Protocolo XELOX	0,779	0,294	0,169	0,060
Protocolo 5FU-LV	0,345	0,225	0,753	0,675
QT intervalo 7-7 dias	0,889	0,893	0,187	0,092
QT intervalo 21-21 dias	0,879	0,294	0,321	0,153
Perdeu peso antes	0,570	0,589	0,155	0,133
Não perdeu peso antes	0,068	0,893	0,624	0,327
Perdeu peso durante o estudo	0,028	0,575	0,643	0,133
Não perdeu peso durante o estudo	0,152	0,906	0,057	0,289
Reduziu massa magra durante o estudo	0,308	0,553	0,722	0,887
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,208	0,790	0,322	0,017

Figura S10: Comportamento de PCR no grupo controle considerando os subgrupos indicados nos gráficos.



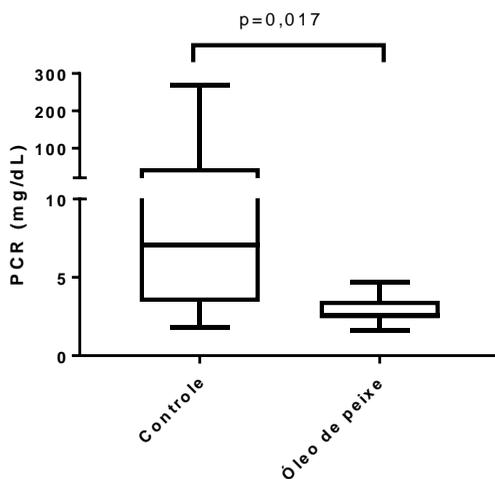
Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p “estágio IV” = 0,028; valor p “perdeu peso durante o estudo” = 0,028.

Figura S11: Comportamento de PCR no grupo óleo de peixe considerando apenas os pacientes com câncer estágio IV.



Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p=0,043.

Figura S12: Comparação dos valores de PCR no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando apenas os pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo.

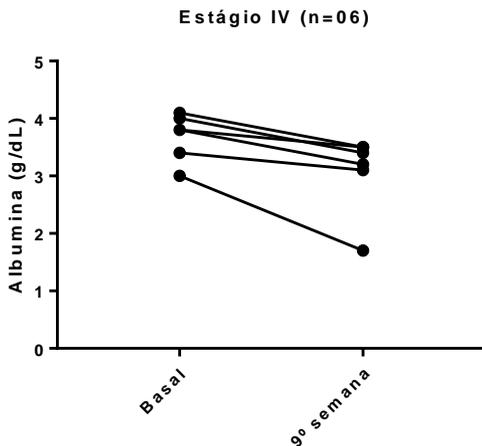


Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana. N controle = 08; N óleo de peixe = 11.

Tabela S8: Valor p para as análises estratificadas para o marcador ALBUMINA.

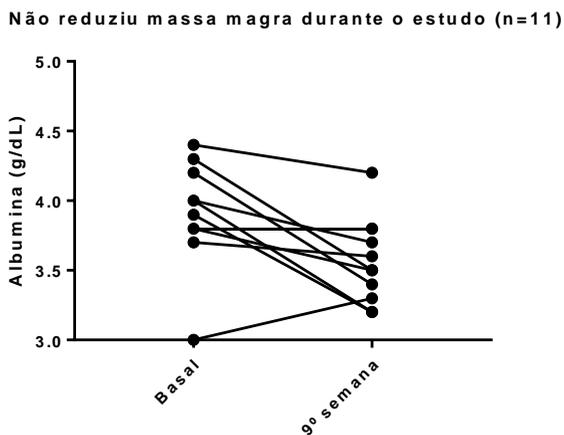
Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,922	0,306	0,200	0,642
Mulheres	0,397	0,373	1,000	0,630
Câncer colorretal	0,836	0,138	0,113	0,477
Estágio III	0,285	0,102	0,186	0,135
Estágio IV	0,026	0,586	0,249	0,310
Protocolo XELOX	0,400	0,172	0,378	0,636
Protocolo 5FU-LV	0,500	0,787	0,396	0,522
QT intervalo 7-7 dias	0,326	0,786	0,210	0,550
QT intervalo 21-21 dias	0,139	0,172	0,616	0,640
Perdeu peso antes	0,351	0,181	0,590	0,258
Não perdeu peso antes	0,465	0,786	0,176	0,803
Perdeu peso durante o estudo	0,270	0,068	0,727	0,771
Não perdeu peso durante o estudo	0,552	0,814	0,237	0,584
Reduziu massa magra durante o estudo	0,271	0,440	0,641	0,493
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,160	0,022	0,478	0,739

Figura S13: Comportamento de albumina no grupo controle considerando apenas os pacientes com câncer estágio IV.



Teste aplicado: Wilcoxon. Valor $p=0,026$.

Figura S14: Comportamento de albumina no grupo óleo de peixe considerando apenas os pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo.

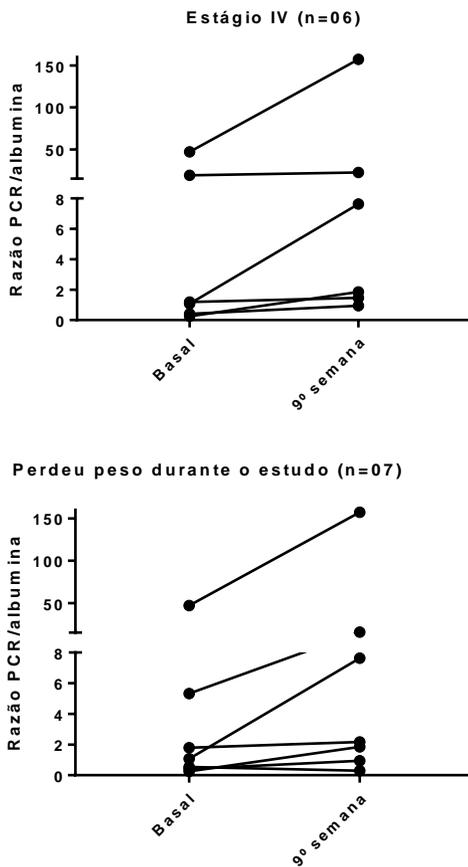


Teste aplicado: Wilcoxon. Valor $p=0,022$.

Tabela S9: Valor p para as análises estratificadas para a relação PCR/Albumina.

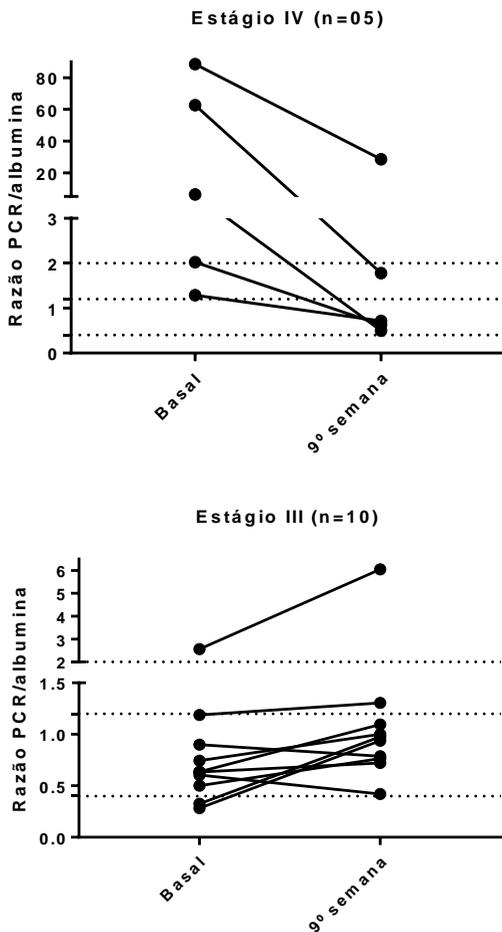
Marcador subgrupo	Valor p (basal vs. 9º sem.) controle	Valor p (basal vs. 9º sem.) intervenção	Valor p (intervenção vs. Controle) basal	Valor p (intervenção vs. Controle) 9º semana
Homens	0,972	0,859	0,111	0,325
Mulheres	0,237	0,515	0,560	0,315
Câncer colorretal	1,000	0,557	0,079	0,162
Estágio III	0,790	0,028	0,067	0,622
Estágio IV	0,028	0,043	0,100	0,144
Protocolo XELOX	0,779	0,382	0,218	0,128
Protocolo 5FU-LV	0,345	0,225	0,754	0,917
QT intervalo 7-7 dias	0,889	0,893	0,188	0,188
QT intervalo 21-21 dias	0,879	0,382	0,385	0,251
Perdeu peso antes	0,642	0,820	0,192	0,185
Não perdeu peso antes	0,068	0,893	0,462	0,327
Perdeu peso durante o estudo	0,028	0,575	0,729	0,133
Não perdeu peso durante o estudo	0,173	1,000	0,082	0,341
Reduziu massa magra durante o estudo	0,433	0,594	0,831	1,000
Não reduziu massa magra durante o estudo	0,124	1,000	0,283	0,021

Figura S15: Comportamento da relação PCR/albumina no grupo controle considerando os subgrupos indicados nos gráficos.



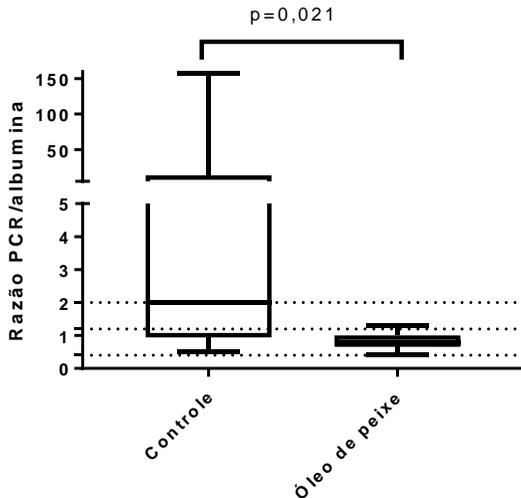
Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p “estágio IV” = 0,028; valor p “perdeu peso durante o estudo” = 0,028.

Figura S16: Comportamento da relação PCR/albumina no grupo óleo de peixe considerando os subgrupos indicados nos gráficos.



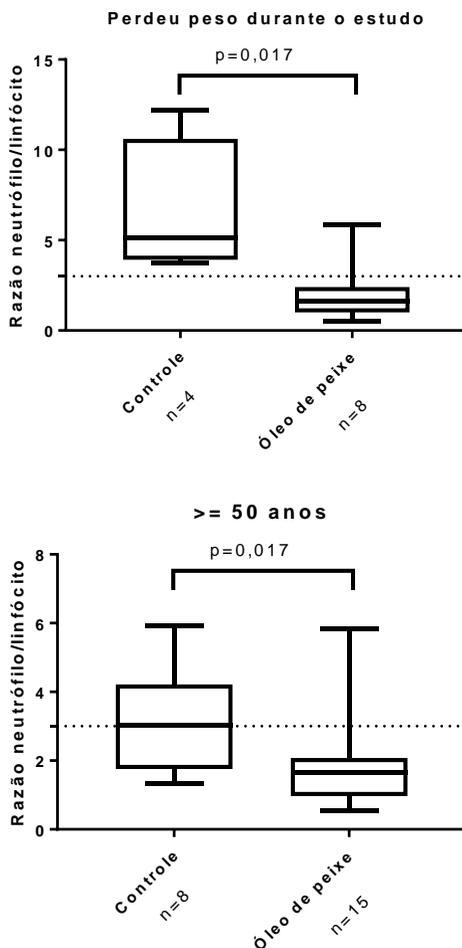
Teste aplicado: Wilcoxon. Valor p “estágio IV” = 0,043; valor p “estágio III” = 0,028. As linhas horizontais tracejadas indicam as categorias de risco: de 0-0,4: sem risco; 0,4-1,2: baixo risco; 1,2-2,0: médio risco; acima de 2,0: alto risco.

Figura S17: Comparação dos valores de relação PCR/albumina no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando apenas os pacientes que não reduziram massa magra durante o estudo.



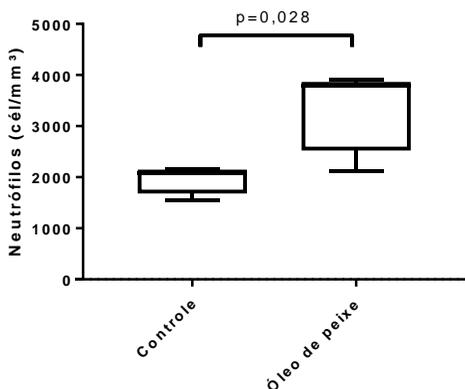
Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana. N controle = 08; N óleo de peixe = 11. As linhas horizontais tracejadas indicam as categorias de risco: de 0-0,4: sem risco; 0,4-1,2: baixo risco; 1,2-2,0: médio risco; acima de 2,0: alto risco.

Figura S18: Comparação da RNL no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando os subgrupos indicados nos gráficos.



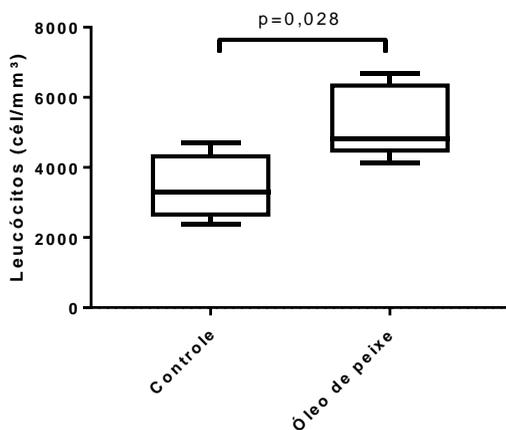
Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana. A linha tracejada representa o ponto de corte indicativo de risco do índice: valores iguais ou acima de 3 indica risco.

Figura S19: Comparação da contagem total de neutrófilos no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando apenas os indivíduos que receberam quimioterapia intravenosa com 5FU-LV.



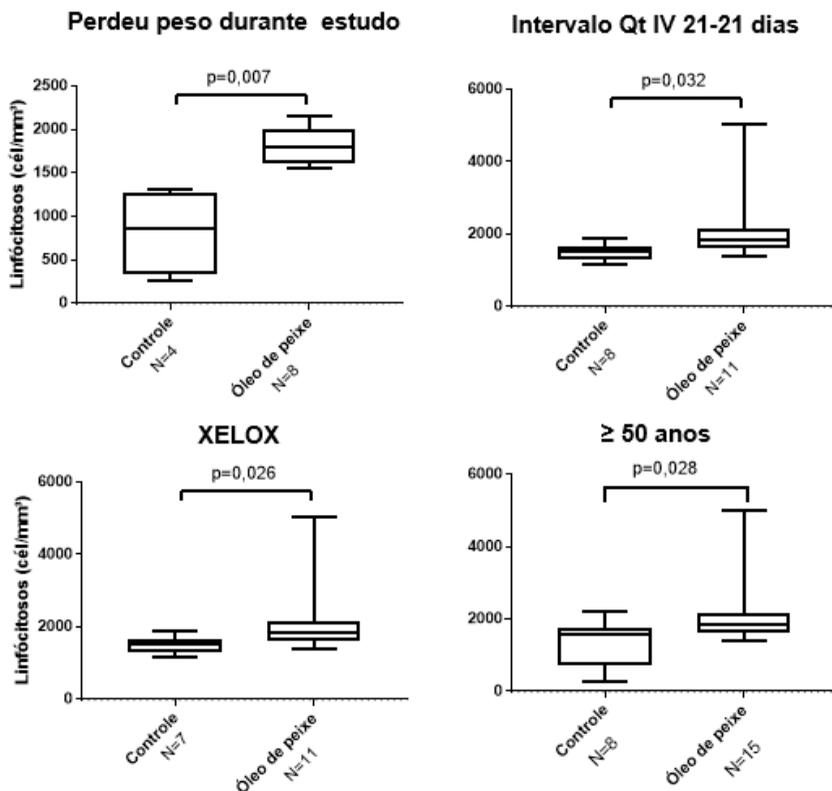
Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana. (n controle=4; n óleo de peixe=5).

Figura S20: Comparação da contagem de leucócitos totais no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando apenas os indivíduos que receberam quimioterapia intravenosa com 5FU-LV.



Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana. (n controle=4; n óleo de peixe=5).

Figura S21: Comparação da contagem total de linfócitos no momento final (9ª semana) entre os grupos, considerando apenas os indivíduos dos subgrupos indicados nos gráficos.



Teste aplicado: Mann-Whitney. As linhas horizontais das extremidades da caixa representam o intervalo interquartil (percentis 75 e 25) enquanto que a linha interna, representa a mediana.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta seção iremos discutir sobre algumas considerações adicionais dos estudos executados, e, levantar perspectivas teóricas para o melhor entendimento dos achados, bem como, sugerir suplementos complementares aos AGPI n-3 visando melhoria nos desfechos tema de nossa pesquisa.

a) considerações adicionais sobre os estudos de revisão sistemática e meta-análises:

- Elaboramos estes estudos com rigor metodológico preconizado.
- Salientamos que uma grande parte dos estudos incluídos usaram uma fórmula completa enriquecida com AGPI n-3 e outros agentes imunomoduladores, o que confundem a conclusão sobre os reais efeitos destes ácidos graxos sobre a inflamação nestes tipos de cânceres. Todavia, realizamos análises por subgrupos (quando possíveis), em que consideramos apenas os estudos que ofertaram AGPI n-3, e os resultados se mostraram tanto quanto promissores, ou até mesmo, melhores que a sua adição em uma fórmula completa e imunomoduladora.
- Também destacamos a necessidade de se conduzir mais estudos que avaliem os efeitos dos AGPI n-3 sobre a inflamação e o prognóstico clínico de pacientes em tratamento quimioterápico, uma vez que a grande maioria dos estudos publicados foi realizada com pacientes cirúrgicos.
- Devido à heterogeneidade metodológica dos estudos incluídos em cada revisão sistemática e meta-análise, não foi possível estabelecer recomendações específicas de dose e tempo de suplementação dos AGPI n-3 para exercer ação pró-resolução da inflamação nos cânceres colorretal ou gástrico.

b) considerações adicionais sobre o Ensaio Clínico Randomizado:

- Entendendo que as múltiplas análises de subgrupos, devido ao pequeno número de observações introduzido em algumas análises, implicam em uma perda importante do poder estatístico. Entretanto, optamos por apresentá-las, uma vez que mesmo adotando uma técnica de randomização que garante a macro-homogeneidade na amostra, ainda assim, algumas características clínicas e demográficas poderiam exercer alguma influência sobre os desfechos investigados (de fato observamos essa influência). Por fim, os gráficos construídos, especialmente no artigo de

número 4, em que são apresentados os resultados com significância estatística permite com que o leitor faça sua própria análise inferencial à medida que são demonstradas a dispersão dos dados (análises entre-grupos) e o comportamento dos desfechos apresentado por cada indivíduo introduzido nas análises (análises intra-grupo). Mesmo o tamanho amostral global não sendo suficiente para garantir um poder de estudo de 80%, não podemos desmerecer a importância dos achados clínicos demonstrados neste ensaio clínico.

- Apesar de planejamento incluir os cânceres de canal anal e de intestino delgado como composição da amostra a ser estudada, nenhum dos indivíduos que apresentavam estes tipos de cânceres preencheram os critérios de inclusão durante o período de recrutamento. Portanto, o grupo gastrointestinal em nosso estudo foi composto predominantemente por câncer colorretal (85%), e, minoritariamente, por câncer gástrico (15%), limitando as inferências para este último grupo de câncer.
- Além do tamanho amostral pouco representativo do câncer gástrico, há de se salientar que o curso da doença e o tratamento deste câncer é diferente do câncer colorretal. No entanto, o número de indivíduos com câncer gástrico incluído em cada grupo de estudo foi equilibrado, permitindo que essa subpopulação recrutada seja introduzida nas análises globais. Ainda, para assegurar essa possibilidade de junção dos tipos de cânceres, foram realizadas análises apenas com câncer colorretal (excluindo os pacientes com CG) sendo observado que os resultados não sofriam alterações significativas.
- Utilizar azeite de oliva como placebo foi uma decisão baseada em diversas leituras e discussão entre os pesquisadores. Ao nosso entendimento, um placebo deveria ser semelhante em se tratando de características sensoriais do suplemento utilizado como intervenção, bem como, diferir na composição apenas pela ausência da substância/componente que está sendo testada. Ter características sensoriais similares entre os suplementos utilizados era essencial para garantir o cegamento dos envolvidos. Todavia, sabemos que o óleo de peixe apresenta gosto residual, cheiro, cor e textura marcante o que dificulta a seleção de um placebo ideal. Foram levantados como sugestões na época para representar o placebo: a) óleo mineral: descartado pela coloração diferente e por poder influenciar o trânsito gastrointestinal, haja vista que alguns sintomas gastrointestinais faziam parte do desfecho qualidade de

vida que pretendíamos avaliar; b) óleos vegetais: o de soja era um dos fortes candidatos, uma vez que diversos estudos usavam fórmulas controles em que o óleo de peixe era substituído por óleo de soja. Foi desconsiderado por: 1) apresentar uma grande concentração dos AGPI n-6, que podem ser utilizados para a produção de PGE₂ (um dos desfechos avaliados); 2) apresentar, também, uma quantidade expressiva dos AGPI n-3 na sua composição; 3) estudos mostraram que eles apresentam características pró-inflamatórias, e por isso, os AGPI n-6 poderiam distorcer o real efeito dos AGPI n-3, levando a resultados falso-positivos quando comparados. Os demais óleos vegetais (canola, milho, girassol, linhaça e borragem) também foram descartados por conterem quantidades significativas dos AGPI n-3 ou n-6. Apenas o azeite de oliva continha baixa quantidade dos AGPI na composição, apesar de alto concentração de um monoinsaturado (ácido oleico). À de se considerar que a dieta mediterrânea (onde o consumo de azeite de oliva é grande) está associada a diversos desfechos benéficos a saúde que incluem efeitos sobre o metabolismo e a inflamação. Todavia, os estudos que sugerem essa associação positiva entre o consumo deste óleo com a saúde, demonstram a necessidade de consumir uma quantidade muito maior (10 a 50 ml/dia) do que a ofertada como placebo neste estudo (3 g/dia). O óleo de coco também foi cogitado por ser pobre nos AGPI, entretanto apresenta textura e cor diferentes do óleo de peixe, o que inviabilizou sua cotação como placebo. Muitas vezes pensamos que talvez não exista um placebo ideal para o óleo de peixe, de fontes naturais. Acreditamos que a opção pelo azeite de oliva tenha sido a melhor para representar o placebo em a nossa pesquisa, mas pode não ser para outras, dependendo do que está sendo avaliado. Sugerimos um estudo de criação, em laboratório, de um placebo que mais se assemelhe às características do óleo de peixe.

- Pela dificuldade que tínhamos no cegamento dos participantes em virtude das características sensoriais marcantes do óleo de peixe, especialmente do gosto residual que poderia existir após o consumo, resolvemos avaliar o real cegamento dos participantes questionando sobre o suplemento que eles achavam que estavam ingerindo. O resultado mostrou que uma parcela dos participantes que recebeu óleo de peixe sabia que estava o consumindo baseado no fato de sentir gosto residual de peixe após o consumo das cápsulas do suplemento. Entretanto, outra parcela, não. Isto sugere

que o cegamento foi parcialmente válido (aproximadamente 60% dos participantes foram cegados completamente).

- A adesão ao protocolo de suplementação é sempre uma questão importante de ser avaliada em ensaios com participantes que permanecem exercendo as atividades da vida real (não estão em um ambiente controlado). Em nosso estudo baseamos esta análise no relato do consumo feito pelo paciente, onde nenhum alegou ter ingerido menos de 80% das cápsulas. Ainda, mesmo que esta afirmação feita por eles seja falsa, é interessante destacar que existia um possível efeito clínico advindo da intenção de tratar. A análise de perfil de ácidos graxos de fosfolipídios plasmáticos, de triglicerídeos e ácidos graxos livres circulantes, e, de quilomícrons, muito utilizado em estudos para avaliar a *compliance* no consumo dos AGPI n-3, fornece evidências do consumo de ácidos graxos de curto prazo (poucos dias, horas ou refeição). Logo, este parâmetro seria válido para identificar o consumo de AGPI- n-3 em protocolos de suplementação com curto período de tempo (no máximo 7 dias), diferente do nosso. Pelo longo período de suplementação que adotamos, o ideal seria avaliar o perfil de ácidos graxos da membrana de eritrócitos, processo este iniciado por nós, mas que por motivos de força maior ainda não foi finalizado. Futuramente iremos apresentar os resultados destes parâmetros. No entanto, mesmo que não mostre diferenças de incorporação significativas para os níveis de EPA e DHA, é importante lembrar, como mencionado anteriormente, que existiu uma intenção de tratar que pode ter exercido algum efeito biológico.
- Tendo em vista que a suplementação de óleo de peixe esteve associada a constipação nos pacientes, sugere-se a realização de estudos avaliando o impacto dos suplementos utilizados na composição da microbiota intestinal na mesma configuração clínica utilizada neste estudo. Ao mesmo tempo, sugere-se que a suplementação de simbiótico ou de determinadas cepas de bactérias probióticas isoladas + óleo de peixe poderia prevenir o desenvolvimento de constipação e, mais importante, contribuir com a redução dos sintomas gastrointestinais que são efeitos colaterais de alguns fármacos quimioterápicos administrados para estes tipos de cânceres, como a diarreia e distensão abdominal. Adicionalmente, evidências sugerem um impacto dos moduladores da microbiota intestinal sobre a inflamação. Sendo assim, levantamos a hipótese de que o efeito sobre a qualidade de vida e

a inflamação da associação destes suplementos com o óleo de peixe poderia ser potencializado.

- Destacamos o baixo número de perdas de seguimento, o que demonstrou uma credibilidade dos pacientes para com pesquisa, representada piamente pelo anseio de obter benefícios com a suplementação ofertada.
- Para destacar a força das evidências deste trabalho, executamos um ensaio clínico randomizado e triplo-cego, minuciosamente planejado. Além disso, realizamos análises de subgrupos considerando diferenças clínicas e demográficas existentes entre os participantes, as quais tornaram possível inferir que os efeitos da suplementação dos AGPI n-3 podem estar atrelados a uma determinada característica clínica, não sendo comum a todos os pacientes com câncer gastrointestinal.

c) conclusões dos achados em consonância com os objetivos propostos:

- As evidências geradas de estudo clínicos e reunidos nas revisões sistemáticas com metanálise demonstraram que a suplementação com AGPI n-3 exerce um papel modulador da inflamação, reduzindo as concentrações de IL-6 (análise global) e PCR (subgrupo de estudos realizados com pacientes recebendo quimioterapia), e aumentando albumina (subgrupo de estudos com pacientes cirúrgicos) no câncer colorretal. Também houve redução na concentração de IL-6 e TNF (análise global) no câncer gástrico, bem como aumento de albumina e pré-albumina (análise global). Ainda, no câncer gástrico, as variáveis tamanho amostral, via de administração, cegamento e tipo de dieta veículo dos AGPI n-3 exerceram influências sobre o desfechos testados, sendo portanto, fonte de heterogeneidade entre os estudos. Destacamos que uma minoria de estudos incluídos em ambas as metanálises teve baixo risco de viés julgado, e que somado com as diferenças metodológicas causadoras de heterogeneidade presentes nestes estudos, orientam a recomendação de elaboração de estudos clínicos bem delineados para assegurar os nossos achados. Por fim, apenas 4 estudos (22%) foram conduzidos com pacientes em quimioterapia (três no câncer colorretal e um no câncer gástrico), o que resulta uma baixa força de evidência de nossos achados para esta situação clínica, especialmente para o câncer gástrico.
- Os achados globais do ensaio clínico randomizado não demonstraram diferenças significativas do consumo de óleo de peixe fonte de AGPI n-3 concomitante a quimioterapia sobre o

peso corporal, a massa magra, marcadores de inflamação, a qualidade de vida global e o risco indicado pelos índices prognósticos calculados (relação PCR/albumina e RNL) em comparação com o controle. Todavia, os sintomas de náusea e vômito, assim como a perda de apetite, foram atenuados pelo óleo de peixe, ao passo que a constipação parece ter tido um incremento. Considerando uma avaliação clínica sobre a mudança de peso e de massa magra durante o ensaio clínico, observamos que o grupo que recebeu óleo de peixe apresentou menor ou nenhuma perda de peso e de massa magra corporal quando comparado com o controle na maioria dos subgrupos avaliados, sendo esta diferença mais pronunciada no subgrupo que perdeu peso durante as 9 semanas de acompanhamento. Alguns subgrupos também apresentaram melhora do sintoma de dor (estágio IV) e de flatulência (pacientes que receberam Qt intravenosa de 7-7dias) com a suplementação de óleo de peixe. Os pacientes que receberam o protocolo quimioterápico 5-FU-LV + óleo de peixe apresentaram um melhor estado de saúde autorrelatado do que o controle deste mesmo subgrupo. De maneira geral, vários subgrupos (que mantiveram massa magra durante o estudo, estágio IV e aqueles perdedores de peso durante o estudo) apresentaram ao final de 9 semanas de suplementação com óleo de peixe menores concentrações (comparação com o controle ou com ele mesmo em análises do tipo antes/depois) de diversos marcadores inflamatórios (PCR, PGE2, IL-8, IL-6, TNF), bem como, menor risco de complicações de origem nutricional e/ou inflamatórias indicados pela relação PCR/albumina e RNL. Diante disto não parece ser todo paciente com câncer gástrico ou colorretal que se beneficia com a suplementação de óleo de peixe durante as primeiras nove semanas de quimioterapia no que tange os desfechos avaliados por nós.

Por fim, baseado neste e nos estudos prévios realizados pelo grupo, acreditamos que a suplementação de óleo de peixe ou dos AGPI n-3 concomitante com a quimioterapia para tratamento do câncer gastrointestinal provém diversos benefícios clínicos ao paciente, e por isto, deveria ser recomendada como terapia adjuvante.

REFERÊNCIAS

AARONSON, N. K. et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. **J Natl Cancer Inst**, v. 85, n. 5, p. 365-76, Mar. 1993.

ABE VICENTE, M. et al. The influence of nutritional status and disease on adiponectin and TNF-alpha; levels in colorectal cancer patients. **Nutr Hosp**, v. 30, n. 1, p. 140-6, 2014.

ABERNETHY, A. P.; WHEELER, J. L.; ZAFAR, S. Y. Management of gastrointestinal symptoms in advanced cancer patients: the rapid learning cancer clinic model. **Curr Opin Support Palliat Care**, v. 4, n. 1, p. 36-45, Mar. 2010.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Anal Cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/anal-cancer.html>>. Acesso em: 26 jul. 2017a.

_____. **Chemotherapy: How Chemotherapy Drugs Work**. Atlanta. Última atualização: 15 fev. 2016. Disponível em: <<https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-chemotherapy-drugs-work.html>>. Acesso em: 26 jul. 2017.

_____. **Colorectal Cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer.html>>. Acesso em: 26 jul. 2017b.

_____. **Global Cancer Facts & Figures**. 3. ed. Atlanta: American Cancer Society, 2015.

_____. **Stomach Cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer.html>>. Acesso em: 26 jul. 2017c.

_____. **Small intestine cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/small-intestine-cancer.html>>. Acesso em: 26 jul. 2017d.

AGGARWAL, B. B.; GEHLOT, P. Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for cancer patients? **Curr Opin Pharmacol**, v. 9, n. 4, p. 351-69, Ago. 2009.

AGGARWAL, B. B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. **Nat Rev Immunol**, v. 3, n. 9, p. 745-56, Set. 2003.

AL-SALIHI, M. A. et al. Transgenic expression of cyclooxygenase-2 in mouse intestine epithelium is insufficient to initiate tumorigenesis but promotes tumor progression. **Cancer Lett**, v. 273, n. 2, p. 225-32, Jan. 2009.

ARAB, L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. **J Nutr**, v. 133, Supl. 3, p. 925S-32S, Mar. 2003.

ARENDS, J. Metabolism in cancer patients. **Anticancer Res**, v. 30, n. 5, p. 1863-8, Mai. 2010.

ARGILES, J. M. Cancer-associated malnutrition. **Eur J Oncol Nurs**, v. 9, Supl. 2, p. S39-50, 2005.

ARTERBURN, L. M.; HALL, E. B.; OKEN, H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 83, Supl. 6, p. 1467S-76S, Jun. 2006.

ASHIZAWA, T. et al. Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) in the spread of gastric cancer: role of IL-6 as a prognostic factor. **Gastric Cancer**, v. 8, n. 2, p. 124-31, 2005.

ATREYA, I.; NEURATH, M. F. Immune cells in colorectal cancer: prognostic relevance and therapeutic strategies. **Expert Rev Anticancer Ther**, v. 8, n. 4, p. 561-72, Abr. 2008.

BALASOIU, M. et al. Serum and tumor microenvironment IL-8 values in different stages of colorectal cancer. **Rom J Morphol Embryol**, v. 55, Supl. 2, p. 575-8, 2014.

BALKWILL, F. Cancer and the chemokine network. **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 7, p. 540-50, Jul. 2004.

_____. Tumour necrosis factor and cancer. **Nat Rev Cancer**, v. 9, n. 5, p. 361-71, Mai. 2009.

BALKWILL, F.; CHARLES, K. A.; MANTOVANI, A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. **Cancer Cell**, v. 7, n. 3, p. 211-7, Mar. 2005.

BALKWILL, F.; JOFFROY, C. TNF: a tumor-suppressing factor or a tumor-promoting factor? **Future Oncol**, v. 6, n. 12, p. 1833-6, Dez. 2010.

BALKWILL, F.; MANTOVANI, A. Inflammation and cancer: back to Virchow? **Lancet**, v. 357, n. 9255, p. 539-45, Fev. 2001.

BARSOUM, I. B. et al. Hypoxia induces escape from innate immunity in cancer cells via increased expression of ADAM10: role of nitric oxide. **Cancer Res**, v. 71, n. 24, p. 7433-41, Dez. 2011.

BEACHY, P. A.; KARHADKAR, S. S.; BERMAN, D. M. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. **Nature**, v. 432, n. 7015, p. 324-31, Nov. 2004.

BEN-NERIAH, Y.; KARIN, M. Inflammation meets cancer, with NF-kappaB as the matchmaker. **Nat Immunol**, v. 12, n. 8, p. 715-23, Ago. 2011.

BERGER, A. Th1 and Th2 responses: what are they?. **BMJ : British Medical Journal**, v. 321, p. 424, ago. 2000.

BISHOP, C. W.; BOWEN, P. E.; RITCHEY, S. J. Norms for nutritional assessment of American adults by upper arm anthropometry. **Am J Clin Nutr**, v. 34, n. 11, p. 2530–2539, 1981.

BLANCHARD, C. M. et al. Do adults change their lifestyle behaviors after a cancer diagnosis? **Am J Health Behav**, v. 27, n. 3, p. 246-56, Ma./Jun. 2003.

BLUM, D. et al. Cancer cachexia: a systematic literature review of items and domains associated with involuntary weight loss in cancer. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 80, n. 1, p. 114-44, Out. 2011.

BONATTO, S. J. et al. Fish oil supplementation improves neutrophil function during cancer chemotherapy. **Lipids**, v. 47, n. 4, p. 383-9, Abr. 2012.

BORTUZZO, C. et al. The effect of leukotrienes B and selected HETEs on the proliferation of colon cancer cells. **Biochim Biophys Acta**, v. 1300, n. 3, p. 240-6, Mai. 1996.

BOWEN, R. C. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as prognostic indicator in gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 19, p. 32171–32189, 2017.

BRAGA, M. et al. Gut function and immune and inflammatory responses in patients perioperatively fed with supplemented enteral formulas. **Arch Surg**, v. 131, n. 12, p. 1257-64, Dez. 1996.

BRAGA, M. et al. Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. **Surgery**, v. 132, n. 5, p. 805-14, Nov. 2002.

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2014. 124 p.

_____. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2015. 122 p.

_____. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Inquérito brasileiro de nutrição oncológica**. Rio de Janeiro: INCA, 2013a. 136 p.

_____. Resolução Nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. SAÚDE, C. N. D. Brasília: **Diário Oficial [da] União**. 2013b.

BROWN, J. K. A systematic review of the evidence on symptom management of cancer-related anorexia and cachexia. **Oncol Nurs Forum**, v. 29, n. 3, p. 517-32, Abr. 2002.

BURDGE, G. C.; CALDER, P. C. Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. **Reprod Nutr Dev**, v. 45, n. 5, p. 581-97, Set./Out. 2005.

BURNS, C. P. et al. Phase I clinical study of fish oil fatty acid capsules for patients with cancer cachexia: cancer and leukemia group B study 9473. **Clin Cancer Res**, v. 5, n. 12, p. 3942-7, Dez. 1999.

CALDER, P. C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, n. 4, p. 469-84, Abr. 2015.

_____. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. **J Nutr**, v. 142, n. 3, p. 592s-99s, Mar. 2012.

_____. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. **Biochimie**, v. 91, n. 6, p. 791-5, Jun. 2009.

_____. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 79, n. 3-5, p. 101-8, Set./Nov. 2008.

CALDER, P. C.; DECKELBAUM, R. J. Omega-3 fatty acids: time to get the messages right! **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 11, n. 2, p. 91-3, Mar. 2008.

CALIXTO-LIMA, L. et al. Dietetic management in gastrointestinal complications from antineoplastic chemotherapy. **Nutr Hosp**, v. 27, n. 1, p. 65-75, Jan./Fev. 2012.

CAMARGO, C. et al. Fish oil supplementation during chemotherapy increases posterior time to tumor progression in colorectal cancer Fish oil supplementation during chemotherapy increases posterior time to tumor progression in colorectal cancer. **Nutrition and cancer**, v. 68, n. 1, p. 70-76, 2016.

CANTWELL, M. M. Assessment of individual fatty acid intake. **Proc Nutr Soc**, v. 59, n. 2, p. 187-91, Mai. 2000.

CARVALHO, G.; CAMILO, M. E.; RAVASCO, P. Qual a relevância da nutrição em oncologia? **Acta Med Port**, v. 24, Supl. 4, p. 1041-50, 2011.

CASTELLONE, M. D.; TERAMOTO, H.; GUTKIND, J. S. Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer chemoprevention: the beta-catenin connection. **Cancer Res**, v. 66, n. 23, p. 11085-8, Dez. 2006.

CATHCART, M. C.; LYSAGHT, J.; PIDGEON, G. P. Eicosanoid signalling pathways in the development and progression of colorectal cancer: novel approaches for prevention/intervention. **Cancer Metastasis Rev**, v. 30, n. 3-4, p. 363-85, Dez. 2011.

CAVICCHIA, P. P. et al. A new dietary inflammatory index predicts interval changes in serum high-sensitivity C-reactive protein. **J Nutr**, v. 139, n. 12, p. 2365-72, Dez. 2009.

CERUTTI, P. A. Prooxidant states and tumor promotion. **Science**, v. 227, n. 4685, p. 375-81, Jan. 1985.

CHAPKIN, R. S.; MCMURRAY, D. N.; LUPTON, J. R. C6lon cancer, fatty acids and anti-inflammatory compounds. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 23, n. 1, p. 48-54, Jan. 2007.

CHEN, D. W. et al. Role of enteral immunonutrition in patients with gastric carcinoma undergoing major surgery. **Asian J Surg**, v. 28, n. 2, p. 121-4, Abr. 2005.

CHEN, J. et al. Meta-analysis of associations between neutrophil-to-lymphocyte ratio and prognosis of gastric cancer. **World journal of surgical oncology**, v. 13, p. 122, 2015.

CHIN, A. C.; PARKOS, C. A. Pathobiology of neutrophil transepithelial migration: implications in mediating epithelial injury. **Annu Rev Pathol**, v. 2, p. 111-43, 2007.

CHIU, C. C. et al. The effects of omega-3 fatty acids monotherapy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a preliminary randomized double-blind placebo-controlled study. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 32, n. 6, p. 1538-44, Ago. 2008.

CHROUSOS, G. P. Stress and sex versus immunity and inflammation. **Sci Signal**, v. 3, n. 143, p. 36, 2010.

CHU, E.; DEVITA JR., V. T. **Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual 2015**. [s.l.] Jones & Bartlett Learning, 2014.

CHULADA, P. C. et al. Genetic disruption of Ptg_s-1, as well as Ptg_s-2, reduces intestinal tumorigenesis in Min mice. **Cancer Res**, v. 60, n. 17, p. 4705-8, Set. 2000.

COCKBAIN, A. J.; TOOGOOD, G. J.; HULL, M. A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. **Gut**, v. 61, n. 1, p. 135-49, Jan. 2012.

COLOMER, R. et al. N-3 fatty acids, cancer and cachexia: a systematic review of the literature. **Br J Nutr**, v. 97, n. 5, p. 823-31, Mai. 2007.

COMPTON, C. C. et al. (EDS.). **AJCC Cancer Staging Atlas: A Companion to the Seventh Editions of the AJCC Cancer Staging Manual and Handbook**. 2. ed. [s.l.] Springer, 2012.

CONQUER, J. A.; HOLUB, B. J. Dietary docosahexaenoic acid as a source of eicosapentaenoic acid in vegetarians and omnivores. **Lipids**, v. 32, n. 3, p. 341-5, Mar. 1997.

CORONHA, A. L.; CAMILO, M. E.; RAVASCO, P. The relevance of body composition in cancer patients: what is the evidence?. **Acta Med Port**, v. 24, Supl. 4, p. 769-78, Dez. 2011.

CORRÊA, C. et al. Comparison of PCR/albumin ratio with prognostic inflammatory nutritional index (PINI). **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 38, n. 3, p. 183-90, 2002.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 860-7, Dez. 2002.

CRUSZ, S. M.; BALKWILL, F. R. Inflammation and cancer: advances and new agents. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 12, n. 10, p. 1-13, 2015.

DA COSTA SANTOS, C. M.; DE MATTOS PIMENTA, C. A.; NOBRE, M. R. The PICO strategy for the research question construction and

evidence search. **Rev Lat Am Enfermagem**, v. 15, n. 3, p. 508-11, Mar./Jun. 2007.

DANG, E. V. et al. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. **Cell**, v. 146, n. 5, p. 772-84, Sep. 2011.

DE MIRANDA TORRINHAS, R. S. et al. Parenteral fish oil as a pharmacological agent to modulate post-operative immune response: a randomized, double-blind, and controlled clinical trial in patients with gastrointestinal cancer. **Clin Nutr**, v. 32, n. 4, p. 503-10, Ago. 2013.

DECKELBAUM, R. J.; TORREJON, C. The omega-3 fatty acid nutritional landscape: health benefits and sources. **J Nutr**, v. 142, n. 3, p. 587S-91S, Mar. 2012.

DEGRAFFENRIED, L. A. et al. Eicosapentaenoic acid restores tamoxifen sensitivity in breast cancer cells with high Akt activity. **Ann Oncol**, v. 14, n. 7, p. 1051-6, Jul. 2003.

DETSKY, A. S. et al. What is subjective global assessment of nutritional status? **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 11, n. 1, p. 8-13, Jan./Fev. 1987.

DI GIROLAMO, F. G. et al. Omega-3 fatty acids and protein metabolism: enhancement of anabolic interventions for sarcopenia. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 17, n. 2, p. 145-50, Mar. 2014.

DING, X. Z. et al. Lipoxygenase inhibitors abolish proliferation of human pancreatic cancer cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 261, n. 1, p. 218-23, Jul. 1999.

DING, X. Z.; TONG, W. G.; ADRIAN, T. E. Multiple signal pathways are involved in the mitogenic effect of 5(S)-HETE in human pancreatic cancer. **Oncology**, v. 65, n. 4, p. 285-94, 2003.

DUNN, G. P.; OLD, L. J.; SCHREIBER, R. D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. **Immunity**, v. 21, n. 2, p. 137-48, Ago. 2004.

DUPERTUIS, Y. M.; MEGUID, M. M.; PICHARD, C. C6lon cancer therapy: new perspectives of nutritional manipulations using

polyunsaturated fatty acids. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 10, n. 4, p. 427-32, Jul. 2007.

EICKMEYER, S. M. et al. The role and efficacy of exercise in persons with cancer. **PM R**, v. 4, n. 11, p. 874-81, Nov. 2012.

EL-OMAR, E. M. The importance of interleukin 1beta in Helicobacter pylori associated disease. **Gut**, v. 48, n. 6, p. 743-7, Jun. 2001.

ELIA, M. et al. Enteral (oral or tube administration) nutritional support and eicosapentaenoic acid in patients with cancer: a systematic review. **Int J Oncol**, v. 28, n. 1, p. 5-23, Jan. 2006.

ELTWERI, A. M. et al. Potential applications of fish oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in the management of gastrointestinal cancer. **Clinical Nutrition**, v. 36, n. 1, p. 65-78, 2017.

EMKEN, E. A.; ADLOF, R. O.; GULLEY, R. M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochim Biophys Acta**, v. 1213, n. 3, p. 277-88, Ago. 1994.

ERDMAN, S. E. et al. CD4+CD25+ regulatory lymphocytes induce regression of intestinal tumors in ApcMin/+ mice. **Cancer Res**, v. 65, n. 10, p. 3998-4004, Mai. 2005.

FARRERAS, N. et al. Effect of early postoperative enteral immunonutrition on wound healing in patients undergoing surgery for gastric cancer. **Clin Nutr**, v. 24, n. 1, p. 55-65, Fev. 2005.

FAYERS PM et al. **The EORTC QLQ-C30 Scoring Manual (3rd Edition)**. Brussels: European Organisation for Research and Treatment of Cancer, 2001.

FEARON, K.; ARENDS, J.; BARACOS, V. Understanding the mechanisms and treatment options in cancer cachexia. **Nat Rev Clin Oncol**, v. 10, n. 2, p. 90-9, Fev. 2013.

FEARON, K. et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. **Lancet Oncol**, v. 12, n. 5, p. 489-95, Mai. 2011.

FEDERICO, A. et al. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. **Int J Cancer**, v. 121, n. 11, p. 2381-6, Dez. 2007.

FENTON, J. I. et al. Immunomodulation by dietary long chain omega-3 fatty acids and the potential for adverse health outcomes. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 89, n. 6, p. 379-90, Nov./Dez. 2013.

FERLAY, J. et al. **GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2013.

FINGER, E. C.; GIACCIA, A. J. Hypoxia, inflammation, and the tumor microenvironment in metastatic disease. **Cancer Metastasis Rev**, v. 29, n. 2, p. 285-93, Jun. 2010.

FONSECA, D.C. et al. Análise da caracterização do tabagismo em indivíduos participantes de estudos em periodontia – uma revisão crítica da literatura. **Braz J Periondontol**, v. 23, n 2, p. 45-51, jun. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. General conclusions and recommendations of the consultation. In: _____. **Fats and Oils in Human Nutrition**, Rome: FAO, 1994. p. 3-7.

FOX, J. G.; WANG, T. C. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. **J Clin Invest**, v. 117, n. 1, p. 60-9, Jan. 2007.

FUJITANI, K. et al. Prospective randomized trial of preoperative enteral immunonutrition followed by elective total gastrectomy for gastric cancer. **British Journal of Surgery**, v. 99, n. 5, p. 621–629, 2012.

FURUKAWA, K. et al. Effects of soybean oil emulsion and eicosapentaenoic acid on stress response and immune function after a severely stressful operation. **Ann Surg**, v. 229, n. 2, p. 255-61, Fev. 1999.

FURUYA, Y. et al. Relationship between interleukin-1-alpha concentration in tumors and cell growth in gastric cancer, determined using flow cytometry. **Gastric Cancer**, v. 3, n. 2, p. 86-90, Set. 2000.

GIANOTTI, L. et al. A prospective, randomized clinical trial on perioperative feeding with an arginine-, omega-3 fatty acid-, and RNA-

enriched enteral diet: effect on host response and nutritional status. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 23, n. 6, p. 314-20, Nov./Dez. 1999.

GIBNEY, M. J.; HUNTER, B. The effects of short- and long-term supplementation with fish oil on the incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into cells of the immune system in healthy volunteers. **Eur J Clin Nutr**, v. 47, n. 4, p. 255-9, Abr. 1993.

GIESINGER, J. M. et al. Replication and validation of higher order models demonstrated that a summary score for the EORTC QLQ-C30 is robust. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 69, p. 79–88, jan. 2016

GIRAUD, A. S.; MENHENIOTT, T. R.; JUDD, L. M. Targeting STAT3 in gastric cancer. **Expert Opin Ther Targets**, v. 16, n. 9, p. 889-901, Set. 2012.

GLOBAL ORGANIZATION FOR EPA AND DHA OMEGA-3S. **Global Recommendations for EPA and DHA Intake**. Última atualização: 16 abril 2014. Disponível em: <<http://www.goedomega3.com/>>. Acesso em: 22 janeiro 2015.

GOLDSTEIN, B. D.; WITZ, G. Free radicals and carcinogenesis. **Free Radic Res Commun**, v. 11, n. 1-3, p. 3-10, 1990.

GOYENS, P. L. et al. Compartmental modeling to quantify alpha-linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses. **J Lipid Res**, v. 46, n. 7, p. 1474-83, Jul. 2005.

GRIVENNIKOV, S. I.; KARIN, M. Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. **Ann Rheum Dis**, v. 70, Supl. 1, p. i104-8, Mar. 2011.

GUO, Y.-H. et al. The clinical use of the platelet/lymphocyte ratio and lymphocyte/monocyte ratio as prognostic predictors in colorectal cancer: a meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 12, p. 20011–20024, 2017.

HAGEMANN, T.; BALKWILL, F.; LAWRENCE, T. Inflammation and cancer: a double-edged sword. **Cancer Cell**, v. 12, n. 4, p. 300-1, Out. 2007.

HAKLAR, G. et al. Different kinds of reactive oxygen and nitrogen species were detected in colon and breast tumors. **Cancer Lett**, v. 165, n. 2, p. 219-24, Abr.2001.

HAMASHIMA, C. Current issues and future perspectives of gastric cancer screening. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 38, p. 13767-74, Out. 2014.

HAMMAD, H. et al. Prostaglandin D2 inhibits airway dendritic cell migration and function in steady state conditions by selective activation of the D prostanoid receptor 1. **J Immunol**, v. 171, n. 8, p. 3936-40, Out. 2003.

HARAM, A. et al. The prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer: A systematic review. **Journal of Surgical Oncology**, v. 115, n. 4, p. 470-479, 2017.

HARDMAN, W. E. (n-3) fatty acids and cancer therapy. **J Nutr**, v. 134, Supl. 12, p. 3427S-30S, Dez. 2004.

HARRELL, F. E. H.; LEE, K. L.; MARK, D. B. Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors. **Statistics in Medicine**, v. 15, p. 361-387, 1996.

HIGGINS, J.P.T.; GREEN, S. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0**. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: <www.cochrane-handbook.org>. Acesso em: 02 fevereiro 2015.

HILLIER, K. et al. Incorporation of fatty acids from fish oil and olive oil into colonic mucosal lipids and effects upon eicosanoid synthesis in inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 32, n. 10, p. 1151-5, Out. 1991.

HOCHMAN, B. et al. Research designs. **Acta Cir Bras**, v. 20, Supl. 2, p. 2-9, 2005.

HONG, S. H. et al. Relationship of arachidonic acid metabolizing enzyme expression in epithelial cancer cell lines to the growth effect of selective biochemical inhibitors. **Cancer Res**, v. 59, n. 9, p. 2223-8, Mai. 1999.

HORIE, H. et al. Favorable effects of preoperative enteral immunonutrition on a surgical site infection in patients with colorectal cancer without malnutrition. **Surg Today**, v. 36, n. 12, p. 1063-8, 2006.

HU, Z.-D. et al. Prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio for gastric cancer. **Annals of translational medicine**, v. 3, n. 4, p. 50, 2015.
HUANG, S. P. et al. Interleukin-6 increases vascular endothelial growth factor and angiogenesis in gastric carcinoma. **J Biomed Sci**, v. 11, n. 4, p. 517-27, Jul./Ago. 2004.

HUSSEIN, N. et al. Long-chain conversion of [¹³C]linoleic acid and alpha-linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. **J Lipid Res**, v. 46, n. 2, p. 269-80, Fev. 2005.

IDA, S. et al. Randomized clinical trial comparing standard diet with perioperative oral immunonutrition in total gastrectomy for gastric cancer. **British Journal of Surgery**, v. 104, n. 4, p. 377-383, mar. 2017.

INGENBLEEK, Y.; CARPENTIER, Y. A. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 55, n. 1, p. 91-101, 1985.

INSTITUTE OF MEDICINE. Food and Nutrition Board. **Dietary Reference Intakes: for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids**. IOM, 2005.1331p.

ITO, R. et al. Expression of interleukin-6 and its effect on the cell growth of gastric carcinoma cell lines. **Jpn J Cancer Res**, v. 88, n. 10, p. 953-8, Out. 1997.

JAISWAL, M. et al. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. **Cancer Res**, v. 60, n. 1, p. 184-90, Jan. 2000.

JANAKIRAM, N. B.; MOHAMMED, A.; RAO, C. V. Role of lipoxins, resolvins, and other bioactive lipids in colon and pancreatic cancer. **Cancer Metastasis Rev**, v. 30, n. 3-4, p. 507-23, Dez. 2011.

JANAKIRAM, N. B.; RAO, C. V. The role of inflammation in colon cancer. **Adv Exp Med Biol**, v. 816, p. 25-52, 2014.

JEEJEEBHOY, K. N.; DETSKY, A. S.; BAKER, J. P. Assessment of nutritional status. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 14, Supl. 5, p. 193S-6S, Set./Out. 1990.

JHO, D. H. et al. Role of omega-3 fatty acid supplementation in inflammation and malignancy. **Integr Cancer Ther**, v. 3, n. 2, p. 98-111, Jun. 2004.

KAI, H. et al. Involvement of proinflammatory cytokines IL-1beta and IL-6 in progression of human gastric carcinoma. **Anticancer Res**, v. 25, n. 2A, p. 709-13, Mar./Abr. 2005.

KARIN, M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. **Nature**, v. 441, n. 7092, p. 431-6, Mai. 2006.

KLEK, S. et al. The clinical value of parenteral immunonutrition in surgical patients. **Acta Chir Belg**, v. 105, n. 2, p. 175-9, Abr. 2005.

KNUPFER, H.; PREISS, R. Serum interleukin-6 levels in colorectal cancer patients--a summary of published results. **Int J Colorectal Dis**, v. 25, n. 2, p. 135-40, Fev. 2010.

KONTUREK, P. C. et al. H. pylori infection, atrophic gastritis, cytokines, gastrin, COX-2, PPAR gamma and impaired apoptosis in gastric carcinogenesis. **Med Sci Monit**, v. 9, n. 7, p. 53-66, Jul. 2003.

KUMARI, N. et al. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. **Tumor Biology**, v. 37, n. 9, p. 11553-11572, 2016.

KURAI SHY, A.; KARIN, M.; GRIVENNIKOV, S. I. Tumor promotion via injury- and death-induced inflammation. **Immunity**, v. 35, n. 4, p. 467-77, Out. 2011.

LAMBERT, R. Endoscopy in screening for digestive cancer. **World J Gastrointest Endosc**, v. 4, n. 12, p. 518-25, Dez. 2012.

LEWIS, A. M. et al. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. **J Transl Med**, v. 4, n. 48, p. 1-16, 2006.

LEWIS, C.; MURDOCH, C. Macrophage responses to hypoxia: implications for tumor progression and anti-cancer therapies. **Am J Pathol**, v. 167, n. 3, p. 627-35, Set. 2005.

LI, N. et al. Prognostic Role of the Pretreatment C-Reactive Protein/Albumin Ratio in Solid Cancers: A Meta-Analysis. **Scientific reports**, v. 7, p. 41298, 27 jan. 2017.

LIANG, B. et al. Impact of postoperative omega-3 fatty acid-supplemented parenteral nutrition on clinical outcomes and immunomodulations in colorectal cancer patients. **World J Gastroenterol**, v. 14, n. 15, p. 2434-9, Abr. 2008.

LIBERATI, A. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. **BMJ**, v. 339, 2009.

LICKERT, H. et al. Expression patterns of Wnt genes in mouse gut development. **Mech Dev**, v. 105, n. 1-2, p. 181-4, Jul. 2001.

LISZEWSKI, W. et al. Anal Pap smears and anal cancer: what dermatologists should know. **J Am Acad Dermatol**, v. 71, n. 5, p. 985-92, Nov. 2014.

LIU, Y. et al. Prognostic role of Glasgow prognostic score in patients with colorectal cancer: Evidence from population studies. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

LOCKSLEY, R. M.; KILLEEN, N.; LENARDO, M. J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. **Cell**, v. 104, n. 4, p. 487-501, Fev. 2001.

MA, C.-J. et al. Prospective double-blind randomized study on the efficacy and safety of an n-3 fatty acid enriched intravenous fat emulsion in postsurgical gastric and colorectal cancer patients. **Nutrition Journal**, v. 14, n. 1, p. 9, 2015.

MA, J. et al. Interleukin-1alpha enhances angiogenesis and is associated with liver metastatic potential in human gastric cancer cell lines. **J Surg Res**, v. 148, n. 2, p. 197-204, Ago. 2008.

MACCALLI, C. et al. Immunology of cancer stem cells in solid tumours. A review. **Eur J Cancer**, v. 50, n. 3, p. 649-55, Fev. 2014.

MAKAY, O. et al. omega-3 Fatty acids have no impact on serum lactate levels after major gastric cancer surgery. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 35, n. 4, p. 488-92, Jul. 2011.

MAMLOUK, S.; WIELOCKX, B. Hypoxia-inducible factors as key regulators of tumor inflammation. **Int J Cancer**, v. 132, n. 12, p. 2721-9, Jun. 2013.

MANTOVANI, A. et al. Cancer-related inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 436-44, Jul. 2008.

MARANO, L. et al. Clinical and immunological impact of early postoperative enteral immunonutrition after total gastrectomy in gastric cancer patients: a prospective randomized study. **Ann Surg Oncol**, v. 20, n. 12, p. 3912-8, Nov. 2013.

MARIN CARO, M. M.; LAVIANO, A.; PICHARD, C. Nutritional intervention and quality of life in adult oncology patients. **Clin Nutr**, v. 26, n. 3, p. 289-301, Jun. 2007.

MARTIN, C.A. et al. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761-70, Nov./Dez. 2006.

MIKI, C. et al. C-reactive protein as a prognostic variable that reflects uncontrolled up-regulation of the IL-1-IL-6 network system in colorectal carcinoma. **Dig Dis Sci**, v. 49, n. 6, p. 970-6, Jun. 2004.

MOCELLIN, M. C. et al. Fish oil decreases C-reactive protein/albumin ratio improving nutritional prognosis and plasma fatty acid profile in colorectal cancer patients. **Lipids**, v. 48, n. 9, p. 879-88, Set. 2013.

MOCELLIN, M. C. et al. A systematic review and meta-analysis of the n-3 polyunsaturated fatty acids effects on inflammatory markers in colorectal cancer. **Clinical Nutrition**, v. 35, n. 2, p. 359-369, 2016.

MOCELLIN, M. C. et al. Fish oil effects on quality of life, body weight

and free fat mass change in gastrointestinal cancer patients undergoing chemotherapy: A triple blind, randomized clinical trial. **Journal of Functional Foods**, v. 31, p. 113–122, 2017a.

MOCELLIN, M. C. et al. A meta-analysis of n-3 polyunsaturated fatty acids effects on circulating acute-phase protein and cytokines in gastric cancer. **Clinical Nutrition**, 13 maio 2017b.

MOHER, D. et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. **BMJ**, v. 340, 2010.

MORLEY, J.J.; KUSHNER, I. Serum C-reactive protein levels in disease. **Ann N Y Acad Sci**, v. 389, p. 406-18, 1982.

MOSES, A.W. et al. Reduced total energy expenditure and physical activity in cachectic patients with pancreatic cancer can be modulated by an energy and protein dense oral supplement enriched with n-3 fatty acids. **Br. J. Cancer**, v. 90, n. 5, p. 996-1002, 2004.

MURATA, T. et al. Role of prostaglandin D2 receptor DP as a suppressor of tumor hyperpermeability and angiogenesis in vivo. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 50, p. 20009-14, Dez. 2008.

NAKANISHI, M.; ROSENBERG, D. W. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer. **Seminars in immunopathology**, v. 35, n. 2, p. 123–37, mar. 2013

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Dictionary of Cancer Terms**. 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms>>. Acesso em: 25 jul. 2017.

_____. **Nutrition in Cancer Care. Health professional Version**. Última atualização: 07 jul. 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/side-effects/appetite-loss/nutrition-hp-pdq/>> Acesso em: 26 jul. 2017.

NEMATI, A. et al. Effect of omega-3 fatty acid supplementation on nutritional status in patients with gastric cancer during chemotherapy. **JNSD**, v. 1, n. 1, p. 2–8, 2015.

NICOLINI, A. et al. Malnutrition, anorexia and cachexia in cancer patients: A mini-review on pathogenesis and treatment. **Biomed Pharmacother**, v. 67, n. 8, p. 807-17, Out. 2013.

NOVAK, T. E. et al. NF-kappa B inhibition by omega -3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF-alpha transcription. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 284, n. 1, p. L84-9, Jan. 2003.

OGUMA, K. et al. Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor-alpha in gastric tumour cells. **EMBO J**, v. 27, n. 12, p. 1671-81, Jun. 2008.

OHD, J. F. et al. Expression of the leukotriene D4 receptor CysLT1, COX-2, and other cell survival factors in colorectal adenocarcinomas. **Gastroenterology**, v. 124, n. 1, p. 57-70, Jan. 2003.

OKAMOTO, Y. et al. Attenuation of the systemic inflammatory response and infectious complications after gastrectomy with preoperative oral arginine and omega-3 fatty acids supplemented immunonutrition. **World J Surg**, v. 33, n. 9, p. 1815-21, Set. 2009.

OKEN, M. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. **American Journal of Clinical Oncology**, v. 5, n. 6, p. 649-656, 1982.

ONUCHIC, A.C.; CHAMMAS, R. Câncer e microambiente tumoral. **Revista de Medicina**, São Paulo, v. 89, n. 1, p. 21-31, Jan./Mar. 2010.

OOI, C. H. et al. Oncogenic pathway combinations predict clinical prognosis in gastric cancer. **PLoS Genet**, v. 5, n. 10, Out. 2009.

OSHIMA, H. et al. Carcinogenesis in mouse stomach by simultaneous activation of the Wnt signaling and prostaglandin E2 pathway. **Gastroenterology**, v. 131, n. 4, p. 1086-95, Out. 2006.

OSHIMA, M. et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). **Cell**, v. 87, n. 5, p. 803-9, Nov. 1996.

OSOBA, D. et al. Interpreting the significance of changes in health-related quality-of-life scores. **J Clin Oncol**, v. 16, n. 1, p. 139-44, Jan. 1998.

PAN, S. Y.; MORRISON, H. Epidemiology of cancer of the small intestine. **World J Gastrointest Oncol**, v. 3, n. 3, p. 33-42, Mar. 2011.

PARDANAUD, L.; YASSINE, F.; DIETERLEN-LIEVRE, F. Relationship between vasculogenesis, angiogenesis and haemopoiesis during avian ontogeny. **Development**, v. 105, p. 473-485, 1989.

PARKIN, D. M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. **Int J Cancer**, v. 118, n. 12, p. 3030-44, Jun. 2006.

PASECHNIKOV, V. et al. Gastric cancer: prevention, screening and early diagnosis. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 38, p. 13842-62, Oct. 2014.

PATTERSON, W. L., 3RD; GEORGEL, P. T. Breaking the cycle: the role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in inflammation-driven cancers. **Biochem Cell Biol**, v. 92, n. 5, p. 321-8, Oct. 2014.

PERINI, T. A. et al. Cálculo do erro técnico de medição em antropometria. **Rev Bras Med Esporte**, v. 11, n. 1, p. 81-85, Jan./Fev. 2005.

POLLARD, J. W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 1, p. 71-8, Jan. 2004.

POPOVIC, T. et al. Effects of n-3 Fatty Acids Supplementation on Plasma Phospholipids Fatty Acid Composition in Patients with Obstructive Jaundice- a Pilot Study. **J Clin Biochem Nutr**, v. 45, n. 3, p. 370-5, Nov. 2009.

PURASIRI, P. et al. Modulation of cytokine production in vivo by dietary essential fatty acids in patients with colorectal cancer. **Clin Sci (Lond)**, v. 87, n. 6, p. 711-7, Dez. 1994.

RAAF, P.J. et al. Systematic monitoring and treatment of physical symptoms to alleviate fatigue in patients with advanced cancer: a randomized controlled trial. **J. Clin. Oncol.**, v. 31, n.6, p.716-723, 2013.

READ, J. A. et al. Nutrition intervention using an eicosapentaenoic acid (EPA)-containing supplement in patients with advanced colorectal cancer. Effects on nutritional and inflammatory status: a phase II trial. **Support Care Cancer**, v. 15, n. 3, p. 301-7, Mar. 2007.

RICKHAM, P. P. Human Experimentation. Code of Ethics of the World Medical Association. Declaration of Helsinki. **Br Med J**, v. 2, n. 5402, p. 177, Jul. 1964.

RIUS, J. et al. NF-kappaB links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1alpha. **Nature**, v. 453, n. 7196, p. 807-11, Jun. 2008.

ROBBINS, S. L.; KUMAR, V.; COTRAN, R. S. **Pathologic basis of disease [of] Robbins and Cotran**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2010. 1450 p.

ROYNETTE, C. E. et al. n-3 polyunsaturated fatty acids and colon cancer prevention. **Clin Nutr**, v. 23, n. 2, p. 139-51, Abr. 2004.

SAITO, H. et al. The expression of transforming growth factor-beta1 is significantly correlated with the expression of vascular endothelial growth factor and poor prognosis of patients with advanced gastric carcinoma. **Cancer**, v. 86, n. 8, p. 1455-62, Out. 1999.

SALATI, S. A.; AL KADI, A. Anal cancer - a review. **Int J Health Sci (Qassim)**, v. 6, n. 2, p. 206-30, Jun. 2012.

SATO, H. et al. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma in gastric cancer and inhibitory effects of PPARgamma agonists. **Br J Cancer**, v. 83, n. 10, p. 1394-400, Nov. 2000.

SCHWENK, W. et al. Inflammatory response after laparoscopic and conventional colorectal resections - results of a prospective randomized trial. **Langenbecks Arch Surg**, v. 385, n. 1, p. 2-9, Jan. 2000.

SCOTT, N. W. et al. **EORTC QLQ-C30 Reference Values**. Brussels: EORTC Quality of Life Group, 2008.

SEKI, H.; TANI, Y.; ARITA, M. Omega-3 PUFA derived anti-inflammatory lipid mediator resolvin E1. **Prostaglandins Other Lipid Mediat**, v. 89, n. 3-4, p. 126-30, Set. 2009.

SENOL, K. et al. The role of inflammation in gastric cancer. **Adv Exp Med Biol**, v. 816, p. 235-57, 2014.

SERHAN, C. N. Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. **J Thromb Haemost**, v. 7, Supl. 1, p. 44-8, Jul. 2009.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N.; VAN DYKE, T. E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. **Nat Rev Immunol**, v. 8, n. 5, p. 349-61, Mai. 2008.

SERUGA, B. et al. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. **Nat Rev Cancer**, v. 8, n. 11, p. 887-99, Nov. 2008.

SHADAD, A. K. et al. Gastrointestinal radiation injury: prevention and treatment. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 2, p. 199-208, Jan. 2013.

SILVA, J. A. et al. Fish oil supplement alters markers of inflammatory and nutritional status in colorectal cancer patients. **Nutr Cancer**, v. 64, n. 2, p. 267-73, 2012.

SIMOPOULOS, A. P. Human requirement for N-3 polyunsaturated fatty acids. **Poult Sci**, v. 79, n. 7, p. 961-70, Jul. 2000.

_____. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **J Am Coll Nutr**, v. 21, n. 6, p. 495-505, Dez. 2002.

SMITH, G. I. et al. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial. **Am J Clin Nutr**, v. 93, n. 2, p. 402-12, Fev. 2011.

SMITH, R. A. et al. Cancer screening in the United States, 2014: a review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. **CA Cancer J Clin**, v. 64, n. 1, p. 30-51, Jan./Fev. 2014.

SONG, M.; GARRETT, W. S.; CHAN, A. T. Nutrients, Foods, and Colorectal Cancer Prevention. **Gastroenterology**, Jan. 2015. Acesso

online. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25575572>>. Acesso em 22 janeiro 2015.

SONG, W. et al. Prognostic value of the lymphocyte monocyte ratio in patients with colorectal cancer: A meta-analysis. **Medicine**, v. 95, n. 49, p. e5540, 2016.

SORENSEN, L. S. et al. Randomized clinical trial of perioperative omega-3 fatty acid supplements in elective colorectal cancer surgery. **Br J Surg**, v. 101, n. 2, p. 33-42, Jan. 2014.

SPOSITO, A. C. et al. IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology. **Arq Bras Cardiol**, v. 88, Supl. 1, p. 2-19, Abr. 2007.

STARK, K. D.; HOLUB, B. J. Differential eicosapentaenoic acid elevations and altered cardiovascular disease risk factor responses after supplementation with docosahexaenoic acid in postmenopausal women receiving and not receiving hormone replacement therapy. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. 5, p. 765-73, Mai. 2004.

SUN, K. et al. The prognostic significance of the prognostic nutritional index in cancer: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 140, n. 9, p. 1537-1549, set. 2014.

SURESH, K. An overview of randomization techniques: An unbiased assessment of outcome in clinical research. **J Hum Reprod Sci**, v. 4, n. 1, p. 8-11, Jan. 2011.

TAKEDA, N. et al. Differential activation and antagonistic function of HIF- α isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis. **Genes Dev**, v. 24, n. 5, p. 491-501, Mar. 2010.

TANG, H. et al. Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal liver metastasis: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 11, n. 17, 2016.

THE WORLD HEALTH ORGANIZATION QUALITY OF LIFE ASSESSMENT. Development and general psychometric properties. **Social Science & Medicine**, v. 46, n. 12, p. 1569-85, Jun. 1998.

_____. Position paper from the World Health Organization. **Soc Sci Med**, v. 41, n. 10, p. 1403-9, Nov. 1995.

TILLEY, S. L.; COFFMAN, T. M.; KOLLER, B. H. Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. **J Clin Invest**, v. 108, n. 1, p. 15-23, Jul. 2001.

TISDALE, M. J. Mechanisms of cancer cachexia. **Physiol Rev**, v. 89, n. 2, p. 381-410, Abr. 2009.

TONG, W. G. et al. LTB4 stimulates growth of human pancreatic cancer cells via MAPK and PI-3 kinase pathways. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 335, n. 3, p. 949-56, Set. 2005.

TONON, L.M.; SECOLLI, S.R.; CAPONERO, R. Câncer colorretal: uma revisão da abordagem terapêutica com bevacizumabe. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 2, p.173-82, 2007.

TRABAL, J. et al. Potential usefulness of an EPA-enriched nutritional supplement on chemotherapy tolerability in cancer patients without overt malnutrition. **Nutr Hosp**, v. 25, n. 5, p. 736-40, Set./Out. 2010.

TSAI, P.-L. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio and CEA level as prognostic and predictive factors in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. **Journal of cancer research and therapeutics**, v. 12, n. 2, p. 582-589, 2016.

TSUJIMOTO, H. et al. Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes? **Gastric Cancer**, v. 13, n. 4, p. 212-21, Nov. 2010.

TUGUES, S. et al. New insights into IL-12-mediated tumor suppression. **Cell death and differentiation**, v. 22, n. 2, p. 237-46, fev. 2015.

UEFUJI, K.; ICHIKURA, T.; MOCHIZUKI, H. Increased expression of interleukin-1alpha and cyclooxygenase-2 in human gastric cancer: a

possible role in tumor progression. **Anticancer Res**, v. 25, n. 5, p. 3225-30, Set./Out. 2005.

UNICAMP, **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4 ed. Campinas, São Paulo: NEPA - UNICAMP, 2011.

VANDEN BERGHE, W. et al. A paradigm for gene regulation: inflammation, NF-kappaB and PPAR. **Adv Exp Med Biol**, v. 544, p. 181-96, 2003.

VAN DER MEIJ, et al. The effects of supplementation of n-3 polyunsaturated fatty acids on clinical outcome parameters in patients with cancer: a systematic review. **OA Epidemiology**, v. 1, n. 1, Abr. 2013.

VIGANO, A. et al. Clinical survival predictors in patients with advanced cancer. **Arch Intern Med**, v. 160, n. 6, p. 861-8, Mar. 2000.

VON MEYENFELDT, M. Cancer-associated malnutrition: an introduction. **Eur J Oncol Nurs**, v. 9, Supl. 2, p. S35-8, 2005.

WANG, D.; DUBOIS, R. N. Prostaglandins and cancer. **Gut**, v. 55, n. 1, p. 115-22, Jan. 2006.

WANG, D.; DUBOIS, R. N. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer. **Oncogene**, v. 29, n. 6, p. 781-8, 11 fev. 2010.

WANG, Z.; CHEN, J.-Q.; LIU, J.-L. COX-2 Inhibitors and Gastric Cancer. **Gastroenterology research and practice**, v. 2014, p. 132320, 2014.

WANG, Z. M.; PIERSON, R. N., JR.; HEYMSFIELD, S. B. The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. **Am J Clin Nutr**, v. 56, n. 1, p. 19-28, Jul. 1992.

WAUGH, D. J. J.; WILSON, C. The interleukin-8 pathway in cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 14, n. 21, p. 6735-6741, 1 nov. 2008.

WEI, Z. et al. A prospective, randomized, controlled study of omega-3 fish oil fat emulsion-based parenteral nutrition for patients following

surgical resection of gastric tumors. **Nutrition Journal**, v. 13, n. 1, p. 1–6, 2014.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. **Lancet**, v. 363, n. 9403, p. 157-63, Jan. 2004.

_____. 10 facts about cancer. Última atualização: fevereiro de 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/cancer/en/>>. Acesso em: 25 de julho de 2017.

_____. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva:WHO, 2000.

_____. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Geneva: WHO, 1995. 452 p.

_____. Technical Report, nº. 916. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Disease**. Geneva: WHO, 2003.

WILLIS, R. A. **The spread of tumors in the human body**. London: Butterwoth & Co, 1952. 447 p.

WOO, H. D.; KIM, K.; KIM, J. Association between preoperative C-reactive protein level and colorectal cancer survival: a meta-analysis. **Cancer Causes and Control**, v. 26, n. 11, p. 1661–1670, 2015.

XIN-JI, Z. et al. The prognostic role of neutrophils to lymphocytes ratio and platelet count in gastric cancer: A meta-analysis. **International journal of surgery (London, England)**, v. 21, p. 84–91, 2015.

XU, H.-J. et al. The prognostic value of C-reactive protein/albumin ratio in human malignancies: an updated meta-analysis. **OncoTargets and therapy**, v. 10, p. 3059–3070, 2017.

XU, J. et al. Preoperative enteral immunonutrition improves postoperative outcome in patients with gastrointestinal cancer. **World Journal of Surgery**, v. 30, n. 7, p. 1284–1289, 2006.

YANG, X. F. Immunology of stem cells and cancer stem cells. **Cell Mol Immunol**, v. 4, n. 3, p. 161-71, Jun. 2007.

YANG, Y. et al. HIFs, angiogenesis, and cancer. **J Cell Biochem**, v. 114, n. 5, p. 967-74, Mai. 2013.

YANG, Y. et al. The prognostic nutritional index is a predictive indicator of prognosis and postoperative complications in gastric cancer: A meta-analysis. **European Journal of Surgical Oncology**, v. 42, n. 8, p. 1176–1182, 2016.

YAQOOB, P. et al. Encapsulated fish oil enriched in alpha-tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. **Eur J Clin Invest**, v. 30, n. 3, p. 260-74, Mar. 2000.

YIN, Y. et al. The nuclear factor-kappaB correlates with increased expression of interleukin-6 and promotes progression of gastric carcinoma. **Oncol Rep**, v. 29, n. 1, p. 34-8, Jan. 2013.

YOON, H.; KIM, N. Diagnosis and management of high risk group for gastric cancer. **Gut Liver**, v. 9, n. 1, p. 5-17, Jan. 2015.

ZHANG, J.-M.; AN, J. Cytokines, Inflammation and Pain. **International anesthesiology clinics**, v. 45, n. 2, p. 27-37, Spring 2007.

ZHOU, X. et al. Prognostic value of PLR in various cancers: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, 2014.

ZHU, M. W. et al. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on elderly patients after colorectal cancer surgery. **Chin Med J (Engl)**, v. 125, n. 2, p. 178-81, Jan. 2012.

APÊNDICES

Apêndice A – Formulário de coleta e registro de dados

I – IDENTIFICAÇÃO

Nº prontuário: _____ _ Nº inclusão na pesquisa: _____

Código randomização: _____

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

Diagnóstico/Localização: _____

Estadiamento: _____

Cx ressecção: _____ Data: _____

Comorbidades: _____

Fármaco QTx: _____

Outros fármacos utilizados: _____

Tabagista: Sim ___ (Nº cigarros/dia: _____) Nunca ___ Ex-fumante ___

Data da última menstruação: _____

II – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA:

Altura (m):	P. Atual (kg):
P. Usual (kg):	Tempo PP:
CB (cm):	DCT (mm):
<i>Bioimpedância elétrica</i>	
% Gordura corporal:	% Massa magra corporal:

Altura (m):	P. Atual (kg):
P. Usual (kg):	Tempo PP:
CB (cm):	DCT (mm):
<i>Bioimpedância elétrica</i>	
% Gordura corporal:	% Massa magra corporal:

Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

CÂNCER GASTROINTESTINAL E PULMONAR, REPERCUSSÕES DA INGESTÃO DE ÓLEO DE PEIXE DURANTE O TRATAMENTO: EFEITOS SOBRE A QUALIDADE DE VIDA, ESTADO NUTRICIONAL E PARÂMETROS IMUNOMETABÓLICOS

O(a) Senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Por favor, leia com atenção as informações a seguir e se desejar, discuta com sua família e com seu médico, para fazer uma decisão bem informada. O pesquisador principal é professor doutor do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O objetivo do estudo é: Avaliar a efetividade da terapia nutricional de suplementação de 3,6 g/dia de óleo de peixe em modular a inflamação, o estado nutricional, a resposta oxidativa associada ao câncer e influenciar a qualidade de vida durante o tratamento de indivíduos portadores de câncer gastrointestinal e pulmonar. Cabe ao senhor(a) decidir se irá ou não participar. Caso não queira, não terá nenhuma desvantagem, inclusive em relação ao tratamento médico e aos cuidados que tenha direito a receber. Se decidir participar, o(a) senhor(a) irá assinar este termo de consentimento, mas mesmo depois de assinado estará livre para sair do estudo a qualquer momento, basta para isso informar a sua desistência. Isso não atrapalhará de maneira nenhuma os cuidados que receberá.

Caso aceite participar, no início, após 5 semanas e após 9 semanas, o(a) senhor (a) será pesado e será medida a sua altura; no Laboratório de Análises Clínicas será retirado uma amostra de sangue para avaliação bioquímica laboratorial. No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor decorrente da punção da pele. Complicações de coleta de sangue rotineira são raras e geralmente de pequeno porte. Se houver pequena perda de sangue no local da punção geralmente há um pequeno desconforto que desaparece em poucos dias.

Alguns indivíduos irão consumir duas cápsulas de óleo de peixe (suplemento alimentar) durante nove semanas – 63 dias, ingerindo-as longe dos horários das refeições principais (café-da-manhã, almoço ou jantar), enquanto que, outros, irão consumir duas cápsulas de azeite de oliva. Poderá sentir-se cansado com as perguntas e avaliações, porém se necessitar de uma pausa ou interrupção tem toda a liberdade para fazê-la. A ingestão das cápsulas pode gerar algum desconforto relacionado à digestão do alimento, porém o pesquisador e a equipe estarão aptos a lhe dar assistência. O(a) senhor(a) não terá nenhum gasto com a pesquisa e não receberá nada financeiramente por sua participação. As cápsulas serão doadas pelo pesquisador, ele também pagará os exames.

Os potenciais benefícios que serão avaliados incluem: redução da inflamação, manutenção ou melhora do estado nutricional, melhora da qualidade de vida durante o tratamento, incremento do efeito citotóxico do tratamento por meio do possível estresse oxidativo gerado pelo suplemento. Contudo, não podemos assegurar que os mesmos irão ocorrer.

Algumas informações clínicas e de exames laboratoriais serão coletados de seu prontuário. As amostras de sangue coletadas serão armazenadas até o final da vigência do presente projeto em biorrepositório (biofreezer) localizado em

Laboratório no Departamento de Nutrição – UFSC, para as avaliações propostas neste estudo e outras avaliações importantes que possam complementar os resultados desta pesquisa. Uma vez vencido esse prazo as amostras serão descartadas em lixo hospitalar.

Garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais, apenas o pesquisador e colaboradores terão acesso aos dados. Não serão tiradas fotos, nem realizadas filmagens ou qualquer tipo de gravação das avaliações. Caso seja do seu interesse, todos os resultados das avaliações e acesso às suas amostras coletadas estarão disponíveis, ao final da pesquisa. Para tanto, basta contatar o pesquisador responsável, cujo número telefônico está descrito a seguir, identificar-se e declarar seu interesse nos resultados obtidos de suas avaliações.

Esta pesquisa está pautada nas orientações e recomendações da Resolução CNS 466/2012 e suas complementares.

O pesquisador entrará em contato uma vez por semana via telefone. Mas em caso de alguma dúvida ou dificuldade em relação ao estudo, o(a) senhor(a) pode entrar em contato com o pesquisador responsável: Everson Araujo Nunes pelo telefone: (48) 3721-2289 ou e-mail: everson.nunes@ufsc.br

Se tiver dúvidas sobre seus direitos, o(a) senhor(a) pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, coordenador Washington Portela de Souza pelo telefone (48)3721-9206.

Eu, portador do RG: Fone(s) para contato:() ()..... fui esclarecido sobre a pesquisa: Suplementação de óleo de peixe em câncer gastrointestinal e pulmonar: efeitos sobre a resposta inflamatória, o estado nutricional, o perfil de ácidos graxos plasmático e celular, a qualidade vida e a resposta oxidativa, além de ter lido e entendido todas as informações fornecidas sobre minha participação na pesquisa, tive oportunidade de discuti-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente. Eu, voluntariamente, concordo em participar deste estudo e autorizo a coleta de informações do meu prontuário, além de autorizar a coleta, o armazenamento e a utilização de minhas amostras sanguíneas pelo pesquisador para as avaliações pretendidas nesta pesquisa. Ao assinar este termo de consentimento, estou de pleno acordo com os dados a serem coletados, podendo os mesmos ser utilizados conforme descrito neste termo de consentimento. Entendo que receberei uma cópia assinada deste termo de consentimento.

Assinatura do indivíduo

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do profissional que apresentou o termo

Florianópolis ___/___/___

ANEXOS

ANEXO A – Protocolos quimioterápicos instituídos no Centro de Pesquisas Oncológicas, Florianópolis, SC, no período de recrutamento dos pacientes.

Localização: Estômago

Qtz neoadjuvante – estadio II a IV sem metástase (M0) 3 ciclos pré + 3 ciclos pós-operatório (PROTOCOLO MAGIC)		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Epirrubicina (EPI)	50	D1
Cisplatina (CDDP)	60	D1
*5-Fluorouracil (5-FU)	200	D1 – D21

* Xeloda 1250 mg/m² pode substituir 5-FU

Qtz pós-operatória – estadio IB a IV sem metástase (M0) Protocolo 1		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Ácido Folínico (Leucovorin)	20	D1 – D5
5-Fluorouracil (5-FU)	425	D1 – D5

Qtx pós-operatória – estadio IB a IV sem metástase (M0) Protocolo 2		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Ácido Folinico (Leucovorin)	20	D1 – D4 na semana 1 e D1- D3 na semana 5
5-Fluorouracil (5-FU)	400	D1 – D4 na semana 1 e D1- D3 na semana 5

Radioterapia 45Gy em cinco semanas iniciadas no D28

Após o final da radioterapia repete-se o esquema inicial por 2 ciclos adicionais a cada 28 dias.

Qtx paliativa (doença avançada ou recidivada) Protocolo 1		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Epirrubicina (EPI)	50	D1
Cisplatina (CDDP)	60	D1
*5-Fluorouracil (5-FU)	200	D1 – D21

* Xeloda 1250 mg/m² pode substituir 5-FU infusional

Qtx paliativa (doença avançada ou recidivada) Protocolo 5-FU + CDDP		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Cisplatina (CDDP)	100	D1 a cada 28 dias
*5-Fluorouracil (5-FU)	750	D1 – D5 a cada 28 dias

* Xeloda 1250 mg/m² pode substituir 5-FU infusional

Qtx paliativa (doença avançada ou recidivada) Protocolo ELF		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Ácido Folínico (Leucovorin)	300	D1 – D3
Etoposideo (VP-16)	120	D1 – D3
*5-Fluorouracil (5-FU)	500	D1 – D3

* Xeloda 1250 mg/m² pode substituir 5-FU infusional

Localização: CANAL ANAL

QTx prévia Protocolo de NIGRO		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Mitomicina	10	D1 e D29
5-Fluorouracil	1.000	D1-4 e D29-32
<i>Concomitante à RTx 45-50 dias, 4Gy</i>		

Localização: Cólon e Reto

QTX Adjuvante – Estadio II Protocolo ROSWELL-PARK		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	500	Semanal x 6 – 3 ciclos
Leucovorin (Ácido Folínico)	500	Semanal x 6 – 3 ciclos

QTX Adjuvante – Estádios III e IV Protocolo ROSWELL-PARK		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	500	Semanal x 6 – a cada 8 semanas
Leucovorin (Ácido Folínico)	500	Semanal x 6 – a cada 8 semanas

QTX Adjuvante – Estádios II e III Protocolo QUASAR		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	370	Semanal x 30 ou 6 ciclos de 5 dias a cada semana
Leucovorin (Ácido Folínico)	50	Semanal x 30

QTX Adjuvante de reto, concomitante a RTx – Estádios II e III Protocolo 5-FU+ LV + RTx		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	350	D1-5 na semana 1 e 5 da RTx
Leucovorin (Ácido Folínico)	20	D1-5 na semana 1 e 5 da RTx

QTX Adjuvante – Estadios II, III e IV Protocolo XELODA		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Capecitabina	2.500	14 dias – 3/3 semanas

QTX Adjuvante, concomitante a RTx – Estadios II e III Protocolo CAPACITABINA + RTx (reto)		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Capecitabina	1.650	Concomitante nos dias da RTx

QTX Adjuvante – Estadios III e IV Protocolo FLOX – 3 ciclos (6 meses)		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	500	Semanal x 6 – a cada 8 semanas
Leucovorin (Ácido Folínico)	500	Semanal x 6 – a cada 8 semanas
Oxaliplatino	85	Semanas 1-3-5 a cada 8 semanas

QTX Adjuvante – Estadio IV Protocolo NORDIC - FLOX		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	500	D1 + D2 – 2/2 semanas
Leucovorin (Ácido Folínico)	60	D1 + D2 – 2/2 semanas
Oxaliplatino	85	D1 – 2/2 semanas

QTX Adjuvante – Estadio IV Protocolo FOLFIRI		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	400	D1 – 2/2 semanas
5-FU	2.400	D1 – BIC 46 hs - 2/2 semanas
Leucovorin (Ácido Folínico)	400	D1 – 2/2 semanas
Irinotecano	180	D1 – 2/2 semanas

QTX Adjuvante – Estadio IV Protocolo XELOX		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
Capecitabina	2.000	14 días - 3/3 semanas
Oxaliplatino	130	D1 – 3/3 semanas

QTX Adjuvante – Estadio IV Protocolo MAYO		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose (mg/m²)</i>	<i>Dias</i>
5-FU	425	D1, D5 - 4/4 semanas
Leucovorin (Ácido Folínico)	20	D1, D5 - 4/4 semanas

QTX Adjuvante – Estadio IV Protocolo mIFL		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose</i> (<i>mg/m²</i>)	<i>Dias</i>
5-FU	500	D1, D8 - 3/3 semanas
Leucovorin (Ácido Folínico)	20	D1, D8 - 3/3 semanas
Irinotecano	125	D1, D8 - 3/3 semanas

QTX Adjuvante – Estadio IV Protocolo IRINOTECANO MONOTERAPIA		
<i>Fármaco</i>	<i>Dose</i> (<i>mg/m²</i>)	<i>Dias</i>
Irinotecano	125	D1, D8, D15, D22 - 6/6 semanas

ANEXO B – Laudo laboratorial da análise da composição dos suplementos dietéticos utilizados neste estudo.

TIARAJU[®] CERTIFICADO DE ANÁLISE
A Qualidade da Natureza

Nome do Produto: **Ômega 3 Concentrate 1,250 G** Lote: 0004
Fabricação: 12/11/2013 Validade: 12/11/2015
Laudo de Análise N°: OLPI-0304 OP: 0322

ANÁLISES	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO	MÉTODO
Descrição	De acordo	Cápsula mole de cor natural e forma oblonga. Contém líquido oleoso de coloração amarelo transparente.	Visual
Peso Bruto	1793,5 mg	Informativo	MGA-CQ AS 015
Peso Médio de Conteúdo	1236,11 mg	1156,25 mg a 1343,75 mg	MGA-CQ AS 015
Desvio Padrão Relativo	2,91%	RSD <6,0%	MGA-CQ AS 026
Tempo de Desintegração	05'46"	Máximo 45 minutos	MGA-CQ AS 023
Umidade do Involúcro	1,76%	Máximo 6%	MGA-CQ AS 001
*Teor de Ácido Eicosapentanoico (EPA)	532,5 mg/cápsula	Mínimo 500 mg/cápsula	Fornecedor
*Teor de Ácido Docosahexanoico (DHA)	280 mg/cápsula	Mínimo 275 mg/cápsula	Fornecedor
*Metais pesados	<10 ppm	<10 ppm	Fornecedor
TESTES MICROBIOLÓGICOS		ESPECIFICAÇÃO	MÉTODO
Bactérias Totais	<10 UFC/g	< 1000 UFC/g	MGA-CQ AS 014
Fungos e Leveduras	<10 UFC/g	< 100 UFC/g	MGA-CQ AS 014
<i>E. coli</i>	Ausente em 1 g	Ausente em 1g	MGA-CQ AS 013
<i>S. aureus</i>	Ausente em 1 g	Ausente em 1g	MGA-CQ AS 013
<i>Salmonella sp</i>	Ausente em 10 g	Ausente em 10 g	MGA-CQ AS 013
<i>P. aeruginosa</i>	Ausente em 1 g	Ausente em 1 g	MGA-CQ AS 013

* Resultados de acordo com o laudo do fornecedor.

CONTROLE DE QUALIDADE

Resultado: (X) APROVADO () REPROVADO
Data da Aprovação: 05/12/2013
Aprovado por:

Fernando Pillon Engroff – CRF/RS 13939
Gerente Controle de Qualidade

LABORATÓRIO TIARAJU LTDA
Avenida Sagrada Família, 2924 CEP 98.805-000 Santo Ângelo/RS
(55) 3314-7078 (55) 3314-7103 tiaraju@tiaraju.com.br

www.tiaraju.com.br facebook.com/labtiaraju twitter.com/labtiaraju



CERTIFICADO DE ANÁLISE

Nome do Produto: **Óleo de Oliva**
 Fabricação: **14/072014**
 Laudo de Análise N°: **OLPI-0449**

Lote: **0013**
 Validade: **14/07/2016**
 OP: **0467**

ANÁLISES	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO	MÉTODO
Descrição	De acordo	Cápsula mole de cor natural e forma oblonga. Contém líquido oleoso de coloração verde escuro.	Visual
Peso Bruto	1471,4 mg	Informativo	MGA-CQ AS 015
Peso Médio de Conteúdo	982,6 mg	925,00 mg a 1075,00 mg	MGA-CQ AS 015
Desvio Padrão Relativo	6%	RSD <6,0%	MGA-CQ AS 026
Tempo de Desintegração	09'19"	Máximo 45 minutos	MGA-CQ AS 023
Umidade do Involúcro	5,61%	Máximo 6%	MGA-CQ AS 001
*C16:0 (Palmítico)	16,5%	7,5 – 20,0 %	Fornecedor
*C18:0 (Estéárico)	3,0%	0,5 – 5,0 %	Fornecedor
*C18:1 (Oléico)	73,0%	55,0 – 83,0 %	Fornecedor
*C18:2 (Linoléico)	8,1%	3,5 – 21,0 %	Fornecedor
TESTES		ESPECIFICAÇÃO	MÉTODO
MICROBIOLÓGICOS			
Bactérias Totais	20 UFC/g	< 1000 UFC/g	MGA-CQ AS 014
Fungos e Leveduras	<10 UFC/g	< 100 UFC/g	MGA-CQ AS 014
<i>E. coli</i>	Ausente em 1 g	Ausente em 1g	MGA-CQ AS 013
<i>S. aureus</i>	Ausente em 1 g	Ausente em 1g	MGA-CQ AS 013
<i>Salmonella sp</i>	Ausente em 10 g	Ausente em 10 g	MGA-CQ AS 013
<i>P. aeruginosa</i>	Ausente em 1 g	Ausente em 1 g	MGA-CQ AS 013

*Resultados de acordo com o laudo do fornecedor.

CONTROLE DE QUALIDADE

Resultado: (X) APROVADO () REPROVADO

Data da Aprovação: **21/07/2014**

Responsável:

Fernando Pflon Engroff – CRF/RS 13939

LABORATÓRIO TIARAJU LTDA

Avenida Sagrada Família, 2924 CEP 98.805-000 Santo Ângelo/RS
 (55) 3314-7078 (55) 3314-7103 tiaraju@tiaraju.com.br

www.tiaraju.com.br



facebook.com/labtiaraju



twitter.com/labtiaraju

ANEXO C – Questionários para avaliação da qualidade de vida.



EORTC QLQ-C30 (versão 3.0.)

Nós estamos interessados em alguns dados sobre você e sua saúde. Responda, por favor, a todas as perguntas fazendo um círculo no número que melhor se aplica a você. Não há respostas certas ou erradas. A informação que você fornecer permanecerá estritamente confidencial.

Por favor, preencha suas iniciais: _____

Sua data de nascimento (dia, mês, ano): _____

Data de hoje (dia, mês, ano): _____

		Não	Pouco	Moderadamente	Muito
1.	Você tem qualquer dificuldade quando faz grandes esforços, por exemplo carregar uma bolsa de compras pesada ou uma mala?	1	2	3	4
2.	Você tem qualquer dificuldade quando faz uma longa caminhada?	1	2	3	4
3.	Você tem qualquer dificuldade quando faz uma curta caminhada fora de casa?	1	2	3	4
4.	Você tem que ficar numa cama ou na cadeira durante o dia?	1	2	3	4
5.	Você precisa de ajuda para se alimentar, se vestir, se lavar ou usar o banheiro?	1	2	3	4
Durante a última semana:					
6.	Tem sido difícil fazer suas atividades diárias?	1	2	3	4
7.	Tem sido difícil ter atividades de divertimento ou lazer?	1	2	3	4
8.	Você teve falta de ar?	1	2	3	4
9.	Você tem tido dor?	1	2	3	4

10.	Você precisou repousar?	1	2	3	4
11.	Você tem tido problemas para dormir?	1	2	3	4
12.	Você tem se sentido fraco/a?	1	2	3	4
13.	Você tem tido falta de apetite?	1	2	3	4
14.	Você tem se sentido enjoado/a?	1	2	3	4
15.	Você tem vomitado?	1	2	3	4
	Durante a última semana:	Não	Pouco	Moderadamente	Muito
16.	Você tem tido prisão de ventre?	1	2	3	4
17.	Você tem tido diarreia?	1	2	3	4
18.	Você esteve cansado/a?	1	2	3	4
19.	A dor interferiu em suas atividades diárias?	1	2	3	4
20.	Você tem tido dificuldade para se concentrar em coisas, como ler jornal ou ver televisão?	1	2	3	4
21.	Você se sentiu nervoso/a?				
22.	Você esteve preocupado/a?	1	2	3	4
23.	Você se sentiu irritado/a facilmente?	1	2	3	4
24.	Você se sentiu deprimido/a?	1	2	3	4
25.	Você tem tido dificuldade de se lembrar das coisas?	1	2	3	4
26.	A sua condição física ou o tratamento médico tem interferido em sua vida <u>familiar</u> ?	1	2	3	4

- | | | | | | |
|-----|--|---|---|---|---|
| 27. | A sua condição física ou o tratamento médico tem interferido em suas atividades <u>sociais</u> ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 28. | A sua condição física ou o tratamento médico tem lhe trazido dificuldades financeiras? | 1 | 2 | 3 | 4 |

Para as seguintes perguntas, por favor, faça um círculo em volta do número entre 1 e 7 que melhor se aplica a você.

29. Como você classificaria a sua saúde em geral, durante a última semana?
- | | | | | | | |
|---------|---|---|---|---|---|-------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Péssima | | | | | | Ótima |
30. Como você classificaria a sua qualidade de vida geral, durante a última semana?
- | | | | | | | |
|---------|---|---|---|---|---|-------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Péssima | | | | | | Ótima |


EORTC QLQ-STO22

Às vezes os doentes relatam que têm os seguintes sintomas ou problemas. Por favor, indique em que medida sentiu estes sintomas ou problemas durante a semana passada. Por favor, envolva com um círculo a situação mais adequada ao seu caso.

	Durante a última semana:	Não	Pouco	Moderadamente	Muito
31.	Tem tido problemas ao comer alimentos sólidos?	1	2	3	4
32.	Tem tido problemas ao comer alimentos pastosos ou moles?	1	2	3	4
33.	Tem tido problemas ao beber líquidos?	1	2	3	4
34.	Tem sentido mal-estar ao comer?	1	2	3	4
35.	Tem tido dores na região do estômago?	1	2	3	4
36.	Tem sentido mal-estar na região do estômago?	1	2	3	4
37.	Teve a sensação de barriga inchada?	1	2	3	4
38.	Tem sentido gosto amargo (ácido) ou de bile vindo na boca?	1	2	3	4
39.	Tem tido acidez ou queimação?	1	2	3	4
40.	Tem tido problemas com arrotos?	1	2	3	4
41.	Sentiu-se de estômago cheio rápido demais logo após começar a comer?	1	2	3	4
42.	Teve dificuldade em sentir prazer nas refeições?	1	2	3	4
43.	Leva muito tempo para terminar as refeições?	1	2	3	4
44.	Sentiu a boca seca?	1	2	3	4
45.	Os alimentos e as bebidas têm tido um sabor diferente?	1	2	3	4
46.	Tem tido problemas para comer na presença de outras pessoas?	1	2	3	4

47.	Tem pensado na sua doença?	1	2	3	4
48.	Tem se preocupado com seu peso muito baixo?	1	2	3	4
49.	Sentiu-se menos atraente fisicamente devido à doença e ao tratamento?	1	2	3	4
50.	Tem se preocupado com a sua saúde no futuro?	1	2	3	4
51.	Teve queda de cabelo?	1	2	3	4
52.	Só responda a esta pergunta se teve queda de cabelo: Ficou preocupado(a) com as queda de cabelo?	1	2	3	4

© QLQ-STO22 Direito de Cópia 1999 EORTC Grupo de estudo sobre qualidade de vida. Todos os direitos reservados


EORTC QLQ-CR29

Às vezes os indivíduos relatam que têm os seguintes sintomas ou problemas. Por favor, indique em que medida sentiu estes sintomas ou problemas durante a última semana. Por favor faça um círculo no número que melhor se aplica ao seu caso.

	Durante a última semana:	Não	Pouco	Moderadamente	Muito
31.	Você urinou muitas vezes durante o dia?	1	2	3	4
32.	Você urinou muitas vezes durante a noite?	1	2	3	4
33.	Já teve vazamentos involuntários de urina?	1	2	3	4
34.	Você teve dores ao urinar?	1	2	3	4
35.	Você teve dor na barriga?	1	2	3	4
36.	Você teve dor em suas nádegas/região anal/reto?	1	2	3	4
37.	Você teve a sensação de barriga inchada?	1	2	3	4
38.	Você teve sangue nas fezes?	1	2	3	4
39.	Você teve muco em suas fezes?	1	2	3	4
40.	Você Sentiu a boca seca?	1	2	3	4
41.	Você perdeu o cabelo como resultado do seu tratamento?	1	2	3	4
42.	Você teve dificuldades em sentir o sabor dos alimentos?	1	2	3	4
43.	Você se sentiu preocupado(a) com sua saúde no futuro?	1	2	3	4
44.	Você se preocupou com seu peso?	1	2	3	4
45.	Você se sentiu menos atraente fisicamente como resultado da doença ou tratamento?	1	2	3	4

46. Você tem se sentido menos feminina (mulher)/masculino (homem), como resultado da sua doença ou tratamento? 1 2 3 4
47. Você se sentiu insatisfeito(a) com seu corpo? 1 2 3 4
48. Você tem uma bolsa de colostomia/ileostomia? Sim Não
- Por favor circule a resposta correta

Durante a última semana: Não Pouco Moderadamente Muito

Responda a estas questões APENAS SE VOCÊ TEM UMA BOLSA DE OLOSTOMIA/ ILEOSTOMIA, se não tem, continue abaixo:

49. Você teve perda sem querer de gases (flatos) pela bolsa de colostomia/ileostomia? 1 2 3 4
50. Você teve vazamento de fezes na sua bolsa de colostomia/ileostomia? 1 2 3 4
51. Você teve a pele ferida em torno da sua colostomia/ileostomia? 1 2 3 4
52. Você teve que trocar a bolsa de colostomia várias vezes durante o dia? 1 2 3 4
53. Você teve que trocar a bolsa de colostomia várias vezes durante a noite? 1 2 3 4
54. Você se sentiu envergonhado/a por causa da sua colostomia/ileostomia? 1 2 3 4
55. Você teve problemas para cuidar da sua colostomia/ileostomia? 1 2 3 4

Responda estas questões APENAS SE VOCÊ NÃO TEM UMA BOLSA DE COLOSTOMIA/ ILEOSTOMIA:

49. Você teve perda sem querer de gases/flatos do seu ânus? 1 2 3 4
50. Você teve vazamento de fezes pelo ânus? 1 2 3 4

51.	Você teve a pele ferida em volta da região anal?	1	2	3	4
52.	Ocorreram movimentos intestinais frequentes durante o dia?	1	2	3	4
53.	Ocorreram movimentos intestinais frequentes durante a noite?	1	2	3	4
54.	Você se sentiu envergonhado/a por causa de seu movimento intestinal?	1	2	3	4

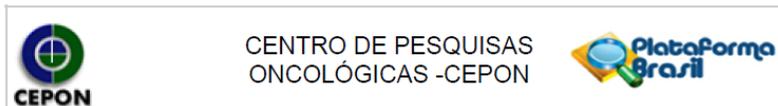
Durante as últimas quatro semanas: Não Pouco **Moderadamente** Muito

Só para homens:

56.	Até que ponto esteve interessado/a em sexo?	1	2	3	4
57.	Você teve alguma dificuldade em ter ou manter uma ereção?	1	2	3	4

Só para mulheres:

58.	Até que ponto esteve interessado/a em sexo?	1	2	3	4
59.	Você teve dor ou desconforto durante a relação sexual?	1	2	3	4

ANEXO D – Parecer de aprovação da pesquisa emitido pelo CEP-CEPON – 2014.**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Câncer gastrointestinal e pulmonar, repercussões da ingestão de óleo de peixe durante o tratamento: efeitos sobre a qualidade vida, estado nutricional e parâmetros imunometabólicos

Pesquisador: Everson Araujo Nunes

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 24096013.7.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 580.649

Data da Relatoria: 04/04/2014

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rodovia Admar Gonzaga,655 - SC 404
Bairro: Itacorubi CEP: 88.034-000
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3331-1502 Fax: (48)3331-1502 E-mail: cep@cepon.org.br