

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-
INSATURADOS ÔMEGA-3 NOS MARCADORES DE
INFLAMAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM CÂNCER GÁSTRICO E
COLORRETAL EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO: UM
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E
TRIPLO CEGO

Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Nutrição da Universidade Federal de
Santa Catarina como requisito para
obtenção do título de Mestre em
nutrição, sob orientação do Professor
Doutor Erasmo Benício Santos de
Moraes Trindade.

Florianópolis
2017

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof^a. Dr^a. Patricia Faria di Pietro
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação
em Nutrição

Banca examinadora:

Prof. Dr. Erasmo Benício Santos de Moraes
Trindade (Orientador)

Prof. Dr. Felipe Modolo
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Fernanda Hansen
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Julia Moreira Dubois
Universidade Federal de Santa Catarina

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

Barbosa, Ingritty Daysiane Torres

Efeito da suplementação de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 nos marcadores de inflamação em indivíduos com câncer gástrico e colorretal em tratamento quimioterápico: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego / Ingritty Daysiane Torres Barbosa ; orientador, Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, 2017.

93 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Nutrição. 2. Óleo de peixe. 3. Ácidos graxos poli-insaturados n-3. 4. Câncer. 5. Inflamação. I. Trindade, Erasmo Benício Santos de Moraes. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

AGRADECIMENTOS

À Deus, ou força maior e bondosa que rege todas as leis do universo, por ter permitido e me proporcionado viver essa experiência, ora tão dolorosa, porém, de enorme evolução, numa nova cidade, com novos começos.

Aos meus pais, por terem sido eles desde sempre, com erros e acertos, com exemplos de vida, com palavras, presenças e ausências necessárias, por ser quem são.

Aos meus irmãos, amigos e companheiros, em especial Ítalo Barbosa pelo exemplo de vida.

Aos novos amigos de Florianópolis, pelo companheirismo e por tornarem essa experiência inenarrável e aos eternos amigos de Pernambuco, minha gratidão por continuarem presentes mesmo na distância física.

Ao Grupo de pesquisa em imunonutrição e metabolismo (GpIM), pelo conhecimento compartilhado, cada um à sua maneira, em especial àqueles que contribuíram diretamente na construção desse trabalho.

Por fim, a todos aqueles ‘loucos’ que conheci e me levaram a viver uma loucura de vida voltada a valores internos e espirituais, que eu nunca me distancie desse aprendizado fundamental na construção da pessoa que me tornei hoje.

“Se avexe não, toda caminhada começa no primeiro passo, a natureza não tem pressa segue seu compasso, inexoravelmente chega lá.”

[Flavio José]

Resumo

Os ácidos graxos insaturados possuem efeitos na prevenção do câncer, devido a sua capacidade de modular uma série de respostas genéticas e imunes. Este ensaio clínico randomizado, prospectivo e controlado foi conduzido com o objetivo de verificar se a suplementação de 2g/dia de óleo de peixe altera o perfil de marcadores inflamatórios sanguíneos de indivíduos portadores de câncer gástrico e colorretal em tratamento quimioterápico. Trinta e sete indivíduos foram randomizados em dois grupos: (a) grupo controle (GC) (n = 18) ingerindo diariamente 2 cápsulas de azeite de oliva, ou (b) grupo ômega-3 (GO) (n = 19) suplementado diariamente com 2 cápsulas de óleo de peixe (fornecendo 1,5 g/dia de EPA + DHA) durante cinco semanas. Os desfechos (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , PGE2, IL-10, PCR e Albumina) foram avaliados no momento basal (primeiro dia da quimioterapia) e após cinco semanas. Houve alteração significativa entre os grupos de estudo na quinta semana de suplementação com redução da IL-6 (p 0,033) no GO quando comparado ao GC no estadiamento IV do tumor. O GO apresentou ainda redução média dos demais marcadores pró-inflamatórios e elevação da citocina anti-inflamatória (IL-10) no estadiamento IV, enquanto no estadiamento III o GC apresentou redução da IL-6 (p 0,021) e PCR (p 0,027). Na análise global observou-se redução da IL-8 (p 0,038) e IL-12 (p 0,027) no GC comparado ao GO. A Relação PCR/albumina indicou redução no número de pacientes com risco de complicações nutricionais e inflamatórias em ambos os grupos (reclassificação de alto para baixo e sem risco), porém sem redução significativa das médias ($p > 0,05$). Estes resultados demonstram que 2 g/dia de óleo de peixe durante cinco semanas de quimioterapia auxiliam na modulação inflamatória no estágio mais agravado do câncer gastrointestinal.

Palavras-chave: Óleo de peixe, Ácidos graxos poli-insaturados n-3, Câncer gástrico, Câncer colorretal, inflamação.

Abstract

The unsaturated fatty acids have cancer prevention effects because of their ability to modulate a range of genetic and immune responses. This randomized, prospective and controlled clinical trial was conducted with the objective of verifying that supplementation of 2g/day of fish oil changes the profile of blood inflammatory markers of individuals with gastric and colorectal cancer under chemotherapeutic treatment. Thirty-seven subjects were randomized into two groups: (a) control group (CG) (n = 18) daily intake of 2 capsules of olive oil, or (b) omega-3 (GO) group (n = 19) supplemented daily with 2 capsules of fish oil (providing 1.5 g/day of EPA + DHA) for five weeks. The endpoints (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , PGE2, IL-10, PCR and Albumin) were evaluated at baseline (first day of chemotherapy) and after five weeks. There was a significant change between study groups in the fifth week of supplementation with reduction of IL-6 (p 0.033) in GO when compared to GC in tumor stage IV. The GO also presented a mean reduction of the other pro-inflammatory markers and elevation of the anti-inflammatory cytokine (IL-10) in stage IV, whereas in stage III the GC had a reduction of IL-6 (p0.01) . The overall analysis showed a reduction of IL-8 (p 0.038) and IL-12 (p027) in the CG compared to GO. The PCR / albumin ratio indicated a reduction in the number of patients at risk of nutritional and inflammatory complications in both groups (high to low and no risk reclassification), but without significant reduction of means (p> 0.05). These results demonstrate that 2 g / day of fish oil during five weeks of chemotherapy aid in inflammatory modulation at the most aggravated stage of gastrointestinal cancer.

Key words: Fish oil, Polyunsaturated fatty acids n-3, Gastric cancer, Colorectal cancer, inflammation.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Fluxograma do Ensaio Clínico Randomizado.....	31
Tabela 1 - Lista de randomização estratificada pela localização tumoral e adaptada à co-variável sexo.....	41
Tabela 2 - Informação nutricional dos suplementos dietéticos da intervenção e placebo.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AA – Ácido Araquidônico
AG – Ácidos graxos
AO – Ácido Oleico
AGMO - Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI – Ácidos graxos poli-insaturados
AI – *Adequate Intake* (Ingestão adequada)
AINEs – anti-inflamatórios não esteroidais
ALA – *Alfa-Linoleic acid* (Ácido alfa-linolênico)
ALB – albumina
CCB – Centro de Ciência Biológicas
CCR – Câncer Colorretal
CD(s) – Células dendrítica(s)
CEPON – Centro de Pesquisas Oncológicas
CG – Câncer gástrico
COX – Ciclo-oxigenase
DCT – Dobra Cutânea Tricipital
DHA – *Docosahexaenoic Acid* (Ácido Docosahexaenoico)
DRI's – *Dietary Reference Intake* (Ingestão dietética recomendada)
EPA – *Eicosapentaenoic Acid* (Ácido Eicosapentaenoico)
GA – grupo azeite de oliva
GO – grupo ômega-3
HIF– *Hypoxia-Inducible Factor* (Fator induzido por hipóxia)
H. pylori – *Helicobacter pylori*
IκB – proteína I-kappa B
IL – *Interleukin* (Interleucina)
IMC – Índice de Massa Corpórea
INCA – Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
LOX – lipoxigenase
NF-κB – *Nuclear Factor - Kappa B* (Fator de Transcrição nuclear kappa B)
NK – célula natural *Killer*
NOS - *Nitric Oxide Synthase* (Óxido Nítrico Sintase)
NR – Não reportado
PA – Peso atual
PCR – Proteína C-reativa
PG - Prostaglandina
TAM - Macrófagos Associados a Tumores
TLR – *Toll Like Receptor* (Receptores do tipo Toll like)
TNF – *Tumor Necrosis Factor* (Fator de Necrose Tumoral)

UL – *Tolerable Upper Intake Level* (Limite máximo de ingestão segura)
VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor* (Fator de Crescimento Vascular Endotelial)
WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

Sumário

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL.....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REFERENCIAL TEÓRICO (ESTADO DA ARTE).....	22
3.1 CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL.....	22
3.2 INFLAMAÇÃO E PROCESSO DE CARCINOGENESE	25
3.3. INFLAMAÇÃO NO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL	29
3.4. TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO NO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL.....	31
3.5. ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA -3 (EPA E DHA).....	32
3.5.1 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA-3 NO CARCINOMA E INFLAMAÇÃO	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	37
4.2. LOCAL DO ESTUDO.....	37
4.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	37
4.4. CÁLCULO AMOSTRAL	38
4.5. DESENHO DO ESTUDO.....	38
4.6. RANDOMIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES	40
4.7. SUPLEMENTOS DIETÉTICOS	41
4.8. PLACEBO: AZEITE DE OLIVA.....	43
4.9 CRITÉRIOS DO MASCARAMENTO	44
4.10. MOMENTOS E DADOS DA COLETA	45
4.10.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS.....	45
4.10.2. COLETA E PREPARO DO MATERIAL BIOLÓGICO .	45

4.10.3. DETERMINAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS.....	46
4.10.3.1 CÁLCULO DA RELAÇÃO PROTEÍNA C-REATIVA/ALBUMINA	46
4.10.4. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL	47
4.11. PROCEDIMENTOS ÉTICOS	48
5 RESULTADOS	50
5.1 MANUSCRITO	50
DISCUSSÃO	68
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
REFERÊNCIAS.....	81
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.	95

1. INTRODUÇÃO

A inflamação no câncer gástrico e colorretal apresentam-se como um processo mais propenso a contribuir com o desenvolvimento do tumor do que montar uma resposta antitumoral eficaz (BALKWILL; MANTOVANI, 2001), colaborando com o crescimento, progressão e metástase das células tumorais (NAVEENA, ALTA; CHINTHALAPALLY, 2011; ALGÜL et al., 2007).

O câncer gástrico possui classificação em subtipos histológicos que varia de acordo com as características estruturais e os aspectos histológicos das células (NCI, 2016). Quanto à etiologia, destacam-se fatores de risco associados a agentes infecciosos como a bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), a idade e hábitos alimentares (UEMURA et al., 2001). Igualmente, o câncer colorretal é de grande preocupação e tem a síndrome de *Lynch* ou polipose adenomatosa familiar como responsável por 1% a 3% de todos os casos desse tipo de câncer (LYNCH & CHAPELLE, 2003; HAMPEL et al., 2008). Ambos, câncer gástrico e colorretal, uma vez diagnosticados, apresentarão métodos de tratamento distintos dependendo de fatores como o estadiamento do tumor incluindo procedimentos cirúrgicos, quimioterapia e radioterapia (WERNER et al., 2001).

Como opção aos métodos de tratamento supracitados têm se estimulado mudanças nas opções terapêuticas, especialmente se foram capazes de modificar reações autoimunes e inflamatórias suprimindo a transformação neoplásica, a angiogênese e o crescimento de células tumorais (DEGRAFFENRIED et al., 2003; HARDMAN, 2004; Van Der MEIJ, et al., 2013). Atenção tem sido dada à dieta e suplementos dietéticos como uma estratégia terapêutica, em particular, quando atuam nas cascatas lipídicas de sinalização intracelular (SIMOPOULOS, 2002). Nesse contexto, O ácido graxo poli-insaturado (AGPI) desempenham um papel promissor, prevenindo as complicações oriundas da inflamação exacerbada relacionada ao câncer (TAVANI et al., 2003), além de diminuir a toxicidade de alguns fármacos antineoplásico (JORDAN; STEIN, 2003), e promover o ganho de peso em pacientes com caquexia (MOSES et al., 2004).

Os AGPI são referidos como "quimiopreventivos" termo que se refere ao uso de agentes farmacológicos, nutracêuticos ou produtos naturais bioativos que previnem ou atrasam o desenvolvimento do câncer (NEERGHEEN et al. 2010), dentre eles, o ácido graxo poli-insaturado ômega-3 (AGPI n-3) compõe estrutura de células e influencia

respostas funcionais envolvidas na inflamação e na produção de uma gama de mediadores químicos (ARAB, 2003, CALDER, 2006; CALDER, 2011). O AGPI n-3 é utilizado ainda como agente anticancerígeno na prevenção e retardo do desenvolvimento de células tumorais (SURH, 2003; MANACH et al., 2009; BISHAYEE, 2012; BISHAYEE & SETHI, 2016), todavia, as pesquisas ainda não elucidaram completamente sua atuação no processo inflamatório intrínseco ao câncer, em especial em indivíduos em tratamento quimioterápico.

Deste modo, a pergunta de partida que norteia o estudo é: Quais os efeitos da suplementação diária de 1,55 g de EPA e DHA durante cinco semanas sobre marcadores de inflamação em indivíduos portadores de câncer gastrointestinal em tratamento quimioterápico?

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da suplementação de 1,55 g/dia de ácidos graxos poli-insaturados n-3 (EPA e DHA) durante cinco semanas sobre as citocinas plasmáticas, eicosanoide plasmático e proteínas de fase aguda séricas em indivíduos portadores de câncer gástrico e colorretal durante o tratamento quimioterápico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar após a suplementação nos indivíduos participantes do estudo o comportamento dos marcadores sanguíneos de inflamação:

- Citocinas: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α ,
- Eicosanoide plasmático: PGE2 e,
- Proteínas de fase aguda (PCR e Albumina)

Caracterizar os participantes do estudo quanto ao estado nutricional:

- Índice de massa corporal (IMC);
- Dobra cutânea tricipital (DCT) e,
- Circunferência muscular do braço (CMB).

3. REFERENCIAL TEÓRICO (ESTADO DA ARTE)

3.1 CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL

O estômago, intestino e reto estão anatomicamente associados e fazem parte do sistema gastrointestinal humano (BONTRAGER, 1937). O crescimento desordenado de células nesses órgãos pode promover a formação de tumores malignos, que são classificados conforme a localização. Denomina-se câncer gástrico, os tumores do estômago e câncer colorretal aqueles que acometem um segmento do intestino grosso (o cólon) e o reto. Designa-se, ainda, câncer gastrointestinal o grupo de tumores que se desenvolvem desde o estômago até o intestino grosso, incluindo o intestino delgado (NCI, 2016).

O câncer gástrico se apresenta, predominantemente, na forma de três tipos histológicos. A maioria do tipo adenocarcinoma, responsável por 95% dos tumores; linfoma, diagnosticado em cerca de 3% dos casos, e leiomiossarcoma, iniciado em outros tecidos (NCI, 2016). A Organização Mundial de Saúde propõe um sistema alternativo que divide o câncer gástrico em papilar, tubular, mucinoso (colóide) e carcinomas pouco coesos (WHO, 2010).

O câncer gástrico é uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo, resultando em um número estimado de 723.000 mortes anualmente (NCI, 2016). No Brasil, o tumor gástrico aparece em terceiro lugar na incidência entre homens e em quinto, entre as mulheres e as estimativas para o biênio 2016-2017 apresentadas pelo National Cancer Institute (NCI) são de 3.720 novos casos de câncer de estômago na região Sul do Brasil, sendo 850 novos casos só no estado de Santa Catarina (NCI, 2016).

O câncer gástrico foi a terceira principal causa mundial de mortalidade por câncer em 2012 (FERLAY et al., 2013), contudo, dados estatísticos revelam declínio da sua incidência, especificamente nos Estados Unidos, Inglaterra e outros países mais desenvolvidos (NCI, 2016).

Embora a etiologia precisa seja desconhecida, reconhecem-se fatores de risco para o câncer gástrico associados a agentes infecciosos como a bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) e o vírus de Epstein-Barr (EBV) (UEMURA et al., 2001), a idade avançada, dietas pobre em frutas e legumes e ricas em alimentos salgados, defumados ou em conserva, gastrite atrófica crônica, metaplasia intestinal, anemia perniciososa, pólipos adenomatosos gástrico, histórico familiar de câncer gástrico e tabagismo (FENOGLIO-PREISER et al., 1996).

Estima-se que mais da metade dos casos de câncer gástrico esteja relacionado à infecção pela bactéria *H. pylori*, que pode ser transmitida de pessoa a pessoa através de rotas fecal-oral, oral-oral, ou por transmissão ambiental que inclui água contaminada com dejetos humanos (PARKIN, 2006; YOON; KIM, 2015). O *H. pylori* promove câncer gástrico estimulando receptores *Toll-like* (TLR) acarretando na ativação da imunidade inata, induzindo a inflamação associada à infecção e gerando um microambiente inflamatório (WANG & KARIN, 2015). Meta-análise de estudos randomizados realizados em áreas de alto risco de câncer gástrico sugeriu que o tratamento da *H. pylori* pode reduzir significativamente o risco de câncer gástrico (FUCCIO et al., 2009). Já a infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV) é observada em cerca de 9% dos casos de câncer gástrico (MURPHY et al., 2009).

O uso de tabaco também constitui risco especialmente para o desenvolvimento de tumores na porção superior do estômago, mais próximo do esôfago (ACS, 2016; YOON; KIM, 2015). Análises sobre fatores de risco para o câncer gástrico mostrou um aumento de 60% e 20% desse tipo de câncer em fumantes do sexo masculino e feminino respectivamente, em comparação com os não fumantes (LADEIRAS-LOPES et al., 2008). Cerca de 65% dos pacientes diagnosticados com câncer de estômago têm mais de 50 anos e o pico de incidência se dá, em sua maioria, em homens por volta dos 70 anos (NCI, 2016).

Da mesma forma, o câncer colorretal é mais frequentemente diagnosticado entre pessoas com idades mais avançadas (entre 65 a 74 anos) e a idade mediana dos óbitos devido a esse câncer é de 68 anos (HOWLADER et al., 2016). Porém, uma análise recente do *Program National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results*, 2016 sugeriu que a incidência de câncer colorretal pode estar aumentando entre os adultos com menos de 50 anos.

O câncer colorretal é a segunda principal causa de morte por câncer nos Estados Unidos. No Brasil, o número de mortes em 2013 foi de 15.415 e foram estimados 34.280 novos casos no ano de 2016, sendo 16.660 homens e 17.620 mulheres. Na região sul, estima-se 6.610 novos casos entre 2016 e 2017, destes, 1.090 novos casos no estado de Santa Catarina (NCI, 2016). Em esfera global, ao final de 2016, foram 134.000 pessoas diagnosticadas com a doença e cerca de 49.000 mortes devido a esta doença (HOWLADER et al., 2016).

Os fatores de risco para o câncer colorretal incluem o histórico familiar de doenças genéticas que predispõem a um risco elevado de câncer colorretal (como síndrome de Lynch ou polipose adenomatosa familiar), história pessoal de doença inflamatória do intestino, pólipos

adenomatosos anteriores, ou câncer colorretal anterior (US PREVENTIVE SERVICES TASK FORCE, 2016). Outros fatores tais como dieta, o uso de medicamentos anti-inflamatórios não-esteróides, tabagismo, consumo de álcool e sedentarismo podem influenciar o desenvolvimento do câncer colorretal (NCI, 2016). Os pólipos adenomatosos, responsáveis por grande parte desses tumores, são lesões que crescem normalmente na parede interna do intestino grosso, assim, uma maneira de prevenir o aparecimento dos tumores seria a detecção e a remoção dos pólipos antes de eles se tornarem malignos. Na maioria dos casos, o câncer colorretal é tratável e curável se detectado precocemente (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2016).

O rastreamento do câncer colorretal pode reduzir substancialmente sua morbidade e mortalidade. O tempo abreviado entre a detecção e realização de um tratamento pode ser benéfico na redução da mortalidade subsequente (LIN et al., 2016). A *Task Force US Preventive Services* (USPSTF) recomenda o rastreamento para o câncer colorretal a partir de 50 anos de idade e continuando até a idade de 75 anos, a decisão do rastreamento em idades entre 76 e 85 anos deve ser individual, levando em conta a saúde geral do paciente e o histórico da triagem prévia. Tendo em vista que o histórico familiar positivo é ligado a cerca de 20% dos casos de câncer colorretal (LIN et al., 2016) organizações profissionais recomendam que os pacientes com história familiar de câncer colorretal (parente de primeiro grau com câncer colorretal ou vários parentes com a doença) sejam rastreados com mais frequência a partir de uma idade mais jovem (LEVIN et al., 2008). Alguns exemplos de métodos de rastreamento incluem a colonoscopia, a sigmoidoscopia, o teste *guaiac-based fecal occult blood* (gFOBT) e exame de fezes.

Os indivíduos do sexo masculino e raça negra estão associados a maior incidência do câncer colorretal. Adultos negros têm as maiores taxas de incidência e mortalidade em comparação com outros grupos étnicos (HOWLADER et al., 2016). As razões para estas disparidades não são totalmente claras. Estudos têm documentado as desigualdades no rastreamento, diagnóstico e tratamento; eles também sugerem que a igualdade de tratamento em geral parece produzir resultados semelhantes (BRAWLEY, 2014; COOPER; KOROUKIAN, 2004).

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 processo de carcinogênese se assemelha ao do câncer colorretal, e pode surgir como consequência de pólipos

adenomatosos. Doença de Crohn, Síndromes de Lynch e de Peutz-Jeghers, fibrose cística, ingestão excessiva de álcool e uso de tabaco são fatores de risco para o desenvolvimento deste tipo de câncer (PAN; MORRISON, 2011; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015c).

3.2 INFLAMAÇÃO E PROCESSO DE CARCINOGENESE

A identificação de células imunes em tumores foi feita pela primeira vez em 1863 por Rudolf Virchow que notou leucócitos em tecidos neoplásicos e fez uma conexão entre inflamação e câncer. A resposta inflamatória crônica pode causar uma condição pró-oxidante que desencadeia danos ao DNA, assim, o tecido danificado não progride através do padrão normal de reparação e permanece num estado de inflamação crônica dominada pela infiltração de neutrófilos e macrófagos (NAVEENA, ALTAF, CHINTHALAPALLY, 2011). Esta associação não está envolvida apenas no surgimento do tumor, a inflamação crônica é, sobretudo, um dos principais componentes da manutenção do câncer (CALDER, 2014). O processo inflamatório estende-se além da proteção do tecido agredido por agentes infecciosos e remoção de células danificadas, ele contribui com a carcinogênese (KURAI SHY; KARIN; GRIVENNIKOV, 2011). Estima-se que doenças inflamatórias sejam responsáveis por 15 a 20% de todos os cânceres (GRIVENNIKOV; KARIN, 2011).

A inflamação desencadeia a proliferação e infiltração de neutrófilos, primeiras células imunitárias a intervir (NAVEENA, ALTAF & CHINTHALAPALLY, 2011). A via ciclo-oxigenase (COX) contribui para aumento do acúmulo de neutrófilos, assim como as outras vias pró-inflamatórias alternativas tais como a via lipoxigenase (LOX) e o fator nuclear kappa B (NF-kB) induzidas por agentes inflamatórios. O recrutamento de neutrófilos para o tecido danificado tem como objetivo inicial a remissão do processo inflamatório, contudo, pode se tratar do início da inflamação crônica. A persistência de fatores iniciadores ou a falência dos mecanismos necessários para resolver a resposta inflamatória conduzirão à condições propícias a cronicidade da inflamação (NAVEENA, ALTAF & CHINTHALAPALLY, 2011). Em seguida, os macrófagos seguem para o local da lesão, sinalizados por várias moléculas presentes no tecido danificado. Os macrófagos associados a tumores (TAMs) são um componente da maioria, senão de todos, os tumores e são dirigidos para dentro do tumor pelas quimiocinas. Muitas células tumorais também produzem citocinas que prolongam a sobrevivência dos TAMs. Quando ativado, os TAMs

podem destruir células tumorais, porém, também desempenham um papel vital na progressão do câncer, produzindo fatores de crescimento e angiogênicos bem como enzimas proteolíticas (proteases) que degradam a matriz extracelular, estimulando assim a proliferação de células tumorais, promovendo a angiogênese e favorecendo a invasão e a metástase (MANTOVANI, BUSSOLINO & DEJANA, 1992).

Os TAM's segregam um número de moléculas, incluindo a Interleucina-1 (IL-1) e o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) que contribuem no suporte dos passos de invasão e metástase (NAVEENA, ALTAF & CHINTHALAPALLY, 2011; BISWAS & ALLAVENA, 2013). Os tumores compõem-se, assim, de uma rede rica em citocinas inflamatórias, fatores de crescimento e quimiocinas, que culminam por contribuir diretamente na sustentação do tumor (KOONG et al., 2000). Essa rede de citocinas inflamatórias pode influenciar a sobrevivência, crescimento, mutação, proliferação, diferenciação e movimentação de células tumorais, além disso, podem regular a comunicação entre as células tumorais e estromais e as interações tumorais com a matriz extracelular (NAVEENA, ALTAF, CHINTHALAPALLY, 2011).

A IL-1 e IL-6 são citocinas que também ajudam no desenvolvimento de metástases (VIDAL-VANACLOCHA et al., 2000), além de promover a resistência à terapia anticâncer (TRICOT, 2000). Estudos mostram que células cancerígenas expostas a IL-6 possuem propriedades como aumento da capacidade de invasão e aumento da resistência a drogas (BISWAS, ALLAVENA & MANTOVANI, 2013; DETHLEFSEN, HOJFELDT; HOJMAN, 2013). A IL-1 tem atividade estimulante para o crescimento de carcinoma gástrico, que pode ser relacionada com a predisposição genética (HUDSON et al., 1999). Além disso, TNF- α , IL-1 e IL-6 podem estimular a produção de fatores angiogênicos como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).

O TNF- α , mediador relevante da inflamação, ao mesmo tempo em que induz a morte de células doentes e destrói seletivamente os vasos sanguíneos do tumor (LEJEUNE, RUEGG, LIENARD, 1998), também induz fatores angiogênicos, atuando como um promotor endógeno do tumor, contribuindo para o desenvolvimento e remodelação do tecido estromal necessário para o crescimento e propagação do tumor (KOLLIAS et al., 1999). O TNF- α estimula o crescimento do fibroblasto com propósito inicial de reparação de tecidos, esse, por conseguinte, secreta suas próprias citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-8, além da prostaglandina E 2 (PGE2) e induz o aumento da resposta dos neutrófilos.

Estas células inflamatórias persistentes desempenham um papel importante na geração de mediadores lipídicos pró-inflamatórios e um microambiente pró-oxidante que, eventualmente, conduz à proliferação e crescimento das células tumorais. As citocinas inflamatórias são também as principais indutoras das quimiocinas que desempenham um papel central no recrutamento de leucócitos para locais de inflamação. A maioria dos tumores produz quimiocinas de dois grupos principais, grupo α e grupo β (MANTOVANI et al., 1992; LUBOSHITS et al., 1999). Normalmente quimiocinas α são ativas em neutrófilos e linfócitos, enquanto quimiocinas β agem em vários subconjuntos de leucócitos incluindo monócitos, eosinófilos, células dendríticas, linfócitos e células *natural killer* (células NK). O BCA-1 é um tipo de quimiocina induzida pelo *H. pylori* o qual atrai as células- β para a mucosa, onde eles se tornam alvos para o processo carcinogênico que ocorre durante a inflamação (SICA et al., 2000).

Muitas citocinas e quimiocinas, a exemplo do TNF- α , IL-1 e IL-6, são induzíveis pela hipoxia, que é uma grande diferença fisiológica entre o tumor e o tecido normal (KOONG et al., 2000). Outra defesa própria do tumor está em secretar fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que pode levar ao extravasamento persistente de fibrina e fibronectina e geração contínua de matriz extracelular, semelhante a uma “ferida que não cicatriza” (DVORAK, 1986). As plaquetas nas feridas são uma fonte crítica de citocinas, especialmente do fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e VEGF. A libertação de plaquetas pode também ser importante na angiogênese tumoral (PINEDO et al., 1998). Os macrófagos desprendem, ainda, TGF- β que é ele próprio angiogênico e induz a maior produção de VEGF.

O TGF- β tem a capacidade de suprimir a atividade de células T, células NK, neutrófilos, monócitos e macrófagos envolvidos na repressão da formação e progressão do tumor, ele também recruta diversas células imunes para o microambiente do tumor em que a inflamação resultante conduz à secreção de fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas, proteases e enzimas modificadoras de matriz extracelular (BIERIE, MOSES, 2010). Não obstante, as células malignas por si secretam citocinas pró-inflamatórias (BURKE et al., 1996; TANNO, MATSUI, 2011), como a IL-6 e IL-8 que medeia a inflamação crônica (KORKAYA, LIU & WICHA, 2011).

Assim, o microambiente tumoral é modificado pelas moléculas inflamatórias (JARNICKI, PUTOCZKI, ERNST, 2010), que interagindo com as células estromais do tumor (GRIVENNIKOV, GRETEN,

KARIN, 2010) permitem a progressão da sinalização celular, metástase e resistência à apoptose (HANAHAN, COUSSENS 2012)

A Proteína C reativa (PCR) é uma proteína hepática de fase aguda positiva, que tem síntese aumentada em um processo inflamatório, estimulado por citocinas pró-inflamatórias, em especial IL-1, IL-6 e TNF- α . A concentração de PCR muda em resposta à infecção, lesão celular e neoplasia, elevando-se à medida que o processo inflamatório se intensifica, e é responsável por amplificar a resposta imune (MARNELL, MOLD, CLOS, 2005). O aumento de PCR associa-se, também, com maior frequência de invasão tumoral e à baixa sobrevida (NOZOE et al., 1998). Do mesmo modo, a albumina é uma proteína de fase aguda, porém negativa, que tende a diminuir suas concentrações séricas diante de um processo inflamatório. Isto ocorre devido à inibição da sua síntese pelas citocinas pró-inflamatórias e ao aumento da permeabilidade vascular, com consequente saída para os espaços extravasculares, relacionando-se também com a depleção das reservas corpóreas proteicas (CORRÊA, BURINI, 2000).

Desta forma, não apenas o surgimento do câncer é atribuível a agentes inflamatórios, mas a inflamação é um dos principais componentes da manutenção do tumor. Ademais, os muitos tipos de células e a produção de mediadores químicos, que embora sintetizados para deter o tumor, contribuem com o seu desenvolvimento e progressão, aumentam o risco de malignidade da doença (CALDER, 2014). Balkwill e Mantovani em 2001 sugeriram que as células inflamatórias e as citocinas encontradas nos tumores são mais propensas a contribuir para o crescimento, progressão e imunossupressão do tumor do que para montar uma resposta antitumoral eficaz ao hospedeiro.

Igualmente, para que as células cancerígenas sobrevivam necessitam de uma rede vascular de modo a receberem nutrientes e oxigênio (LEVINA et al., 2008). Contudo, as células tumorais se multiplicam em velocidade maior que a taxa de formação dos novos vasos, coligindo em um baixo suprimento de oxigênio a essas células, caracterizando a hipóxia, regulada pelo fator induzido por hipóxia (HIF) (POLYAK & WEINBERG, 2009). Se por um lado, a deficiência no aporte de oxigênio pode limitar a divisão celular, por outro, células com maior potencial maligno são selecionadas e sobrevivem, induzindo a adaptações celulares, tais como metabolismo anaeróbico e instabilidade genética, direcionando para um maior comportamento invasivo (FINGER; GIACCIA, 2010).

3.3. INFLAMAÇÃO NO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL

A inflamação gástrica é desencadeada quando células imunes inatas detectam infecção ou lesão tecidual através de receptores *Toll-like* (TLR) (NEWTON, DIXIT, 2012). O *H. pylori* é um exemplo importante de ativador de TLR, assim como o TNF- α e a rede de citocinas (KIM et al., 2009; ABE et al., 2014),

A sinalização de TLR desempenha um papel particular na formação tumoral a partir da inflamação (PRADERE, DAPITO, SCHWABE, 2014); a interrupção desses receptores converge na supressão significativa da formação de tumor (TYE et al., 2012). Do mesmo modo, o uso regular de anti-inflamatórios não esteroides foi associado a um risco reduzido de câncer gastrointestinal, apoiando que a inflamação é decisiva no desenvolvimento desse câncer (THUN, NAMBOODIRI & HEATH, 1991; THUN, JACOBS, PATRONO, 2012).

A sinalização de TLR promove a carcinogênese através da indução da via COX-2 que é requerida para a geração do microambiente inflamatório. Estudos genéticos indicaram que a COX-2 e os seus produtos como a PGE2 desempenham um papel fundamental na origem do câncer gastrointestinal (CHULADA et al., 2000; OSHIMA et al., 2006). COX-2 é a forma induzida da COX que medeia à síntese de prostaglandinas e apresenta ação pró-inflamatória. A indução da expressão de COX-2 está presente em mais de 90% dos casos de câncer gástricos (SAUKKONEN et al., 2003), em sua maioria 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).

Estudos em indivíduos com polipose adenomatosa familiar tem mostrado que a via de sinalização COX-2 é necessária para a formação do tumor e que o tratamento com um inibidor de COX-2 suprimiu significativamente a tumorigênese intestinal (OSHIMA et al., 2006).

Os efeitos pró-inflamatórios e pró-tumorigênicos da COX-2 são mediados pelo seu principal produto, a PGE2, que ativa diversas vias de sinalização oncogênicas, incluindo β -catenina, fatores de transcrição e o fosfatidilinositol 3-quinase (CASTELLONE; TERAMOTO; GUTKIND, 2006; WANG; DUBOIS, 2006). A infecção por *H. pylori* é conhecida por ser uma das principais causas da indução da COX-2 / PGE2 (OSHIMA et al., 2004).

Além disso, a sinalização do fator nuclear kappa B (NF- κ B) em células epiteliais promove inflamação associada à carcinogênese gástrica de modo que foi estabelecido que a inflamação promove o desenvolvimento do câncer através da indução da via COX-2 e da ativação de NF- κ B (WANG, DUBOIS, 2010; GRIVENNIKOV, GRETEN, KARIN, 2010). A via NF- κ B é uma das principais reguladoras da liberação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores dos processos de proliferação de células tumorais e de persistência da inflamação crônica (YANG, 2007; RIUS et al., 2008; MACCALLI et al., 2014).

Existe uma intrínseca associação entre a carcinogênese gástrica e a expressão elevada de moléculas que promovem a ativação celular e a liberação de citocinas, especialmente IL-1, IL-6 e TNF- α , que também são reguladas pelo NF- κ B (YIN et al., 2013). Com a indução dessas vias há consequentemente recrutamento adicional dessas e outras citocinas como a IL-8 e IL-11 que são predominantemente encontradas no câncer gástrico (POLLARD, 2004; KITAMURA, QIAN & POLLARD, 2015). Deste modo, as células tumorais passam a coexistir com células do sistema imunológico (OSHIMA et al., 2014). A inibição do TNF- α pode promover alteração da rede de citocinas no microambiente tumoral ocasionando supressão significativa da carcinogênese gástrica (BLOCK, GORIN, 2012).

Além da via COX, outra via importante envolvida na geração de respostas pró-inflamatórias que propicia um microambiente favorável para o crescimento, a proliferação tumoral e metástases, observada nos tumores intestinais é a lipoxigenase (LOX). (JANAKIRAM; RAO, 2014). Entre as vias da LOX, a 5-LOX e a 12-LOX estão intimamente relacionadas com a inflamação e a carcinogênese. Uma série de estudos tem mostrado o envolvimento de 5-LOX em estágios iniciais de câncer colorretal (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 câncer colorretal denotando pior prognóstico (OHD et al., 2003). Em contrapartida, os metabólitos da 15-LOX estão positivamente relacionados à inibição da inflamação (JANAKIRAM; RAO, 2014).

Vias da COX e LOX estão associadas de tal maneira que a perturbação em uma via pode conduzir à expressão aumentada da outra via; assim, a inibição equilibrada destas duas vias é favorável para a inibição do câncer gástrico e colorretal (JANAKIRAM; RAO, 2014).

3.4. TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO NO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL

Quimioterapia trata-se do uso de fármacos anticâncer que são injetados ou administrados por via oral na forma de comprimidos. Estes fármacos entram na corrente sanguínea e atingem todas as partes do corpo não havendo uma ação seletiva, ou seja, interfere na função e replicação de células normais ao mesmo tempo em que exerce sua função antineoplásica, desencadeando assim a uma série de efeitos colaterais. No tratamento para o câncer gástrico e colorretal, a quimioterapia pode ser conduzida antes do procedimento cirúrgico, conhecido como tratamento neoadjuvante, que tem por finalidade reduzir o tamanho do tumor e, eventualmente, facilitar a cirurgia. Em alguns casos, a quimioterapia neoadjuvante é necessária após a cirurgia. Após a cirurgia, a quimioterapia pode ser necessária para remoção total do câncer, neste caso conhecida como terapia adjuvante. E ainda, a quimioterapia administrada como tratamento primário do câncer gástrico, utilizada na tentativa de barrar ou retardar o crescimento e aliviar os sintomas decorrentes da patologia, proporcionando melhores condições aos indivíduos (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016).

A quimioterapia é administrada em ciclos, cada período de tratamento é seguido de um período de descanso com o objetivo de recuperação do organismo. Os fármacos quimioterápicos geralmente incluídos no tratamento do câncer gástrico são: 5-FU (Fluorouracilo), geralmente administrada com leucovorina (ácido folínico); Capecitabina (Xeloda®); carboplatina; cisplatina; O docetaxel (Taxotere®); Epirubicina (Ellence®); O irinotecano (Camptosar®); Oxaliplatina (Eloxatin®); O paclitaxel (Taxol®). E os seguintes fármacos para o câncer colorretal: 5-fluorouracilo (5-FU), frequentemente administrada com leucovorina; Capecitabina (Xeloda®) no organismo é alterado para 5-FU quando atinge o tumor; Irinotecano (Camptosar®); Oxaliplatina (Eloxatin®); Trifluridina e tipiracil (Lonsurf®) combinação de fármacos em forma de pílula. Estes fármacos podem ser utilizados isoladamente ou em combinação com outros; no tratamento do câncer gástrico ou colorretal avançado é preferível usar combinações de dois deles. Já, a combinação de três fármacos pode provocar alto grau de efeitos colaterais, requerendo cautela para a indicação (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016).

Há ainda um grupo dentre as células, denominadas *câncer stem cells* (CSCs), altamente tumorígenas que apresentam algumas propriedades tais como auto-renovação, diferenciação, múltiplas

potência e tem a capacidade de gerar uma linhagem heterogênea de todos os tipos de células cancerosas compreendidas em um tumor, essas são presentes em menor quantidade que as células cancerígenas “normais”, porém, são as que apresentam maior resistência aos medicamentos e toxinas, elas são estratégias próprias do tumor para escapar de desafios quimioterapêuticos, e, assim, proteger a continuidade do tumor (KVINLAUG, HUNTLY, 2007), bem como, propagar e sustentar a tumorigênese no câncer (VISVADER, LINDEMAN, 2008; MOITRA, LOU, DEAN, 2011).

A inflamação é novamente participativa nesse processo. A IL-6 é uma das citocinas que se revelou essencial para proteger células cancerígenas da quimioterapia (EBBEN et al., 2010; VISVADER, 2011; CLEVERS, 2011).

3.5. ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA -3 (EPA E DHA)

Ácidos graxos são cadeias orgânicas de carbono que possuem um grupo carboxila em uma de suas extremidades. Dependendo do número de duplas ligações são classificados como saturados, mono e poli-insaturados. A posição da dupla ligação que está mais próxima do terminal metil determina o termo da cadeia, assim, ômega-3 (n-3) significa todos os ácidos graxos poli-insaturados que têm esta ligação dupla no carbono 3, contando o carbono metílico como o carbono um (CALDER, 2013).

Conforme o número de átomos de carbono na cadeia, o número e a posição das ligações duplas os AGPI n-3 recebem nomes nomenclatura abreviada, como o Ácido alfa-linolênico (ALA) [18:3 n-3], ácido eicosapentaenoico (EPA) [20:5 n-3] e ácido docosaexaenoico (DHA) [22:6 n-3] (CALDER, 2013; HARDMAN, 2004).

Sintetizado a partir do ácido linoleico, o ALA é encontrado em plantas, folhas verdes e alguns óleos vegetais, nozes e sementes, não sendo produzido por animais. Já o EPA e DHA são encontrados em quantidades significativas em peixes e frutos do mar e constituem uma boa fonte de n-3 (BNF, 1999). A ingestão adequada de n-3 pode ser facilmente alcançada numa única refeição contendo peixe, a qual pode fornecer de 0,2g a 3,0 g de n-3 a depender da espécie do peixe (MEYER et al., 2003). Alternativas encontram-se nos suplementos a base de óleo de peixe que são preparados a partir da carne de peixe como, atum ou do fígado do peixe como do bacalhau. Num suplemento de óleo de peixe

típico, EPA e DHA devem compreender em conjunto no mínimo 30% dos ácidos graxos presentes. Existem ainda, "concentrados de óleo de peixe", cápsulas que contêm quantidades superiores de n-3 às encontradas em óleos de peixe padrão (CALDER, 2013).

Visto que EPA e DHA são ácidos graxos n-3 com maior bioatividade, a interconversão de ALA em EPA e DHA que ocorre no retículo endoplasmático das células hepáticas nos seres humanos representa uma benfeitoria ao indivíduo. Neste processo, ALA é convertido em ácido estearidônico (18:4 n-3) através da enzima delta-6 dessaturase, subsequentemente esse ácido é convertido em ácido eicosatetraenóico (20:4n-3) e então, por intervenção da enzima delta-5 dessaturase se produz o EPA. O caminho para a conversão de EPA em DHA ocorre com a adição e β -oxidação de carbonos ao EPA resultando em DHA (CALDER, 2013).

Contudo, análises mostraram que a conversão para EPA e DHA é geralmente pobre em seres humanos, com uma conversão muito limitada até o DHA, tornando assim a maneira mais eficaz de elevar os níveis de EPA e DHA nos fosfolipídios das membranas celulares a sua ingestão por via de alimentos ou por meio de suplementos dietéticos. Ressalta-se ainda que, a conversão do ALA em EPA ocorre em concorrência com a conversão do ALA em ácido araquidônico (AA), uma vez que as mesmas enzimas são utilizadas, e ainda, as atividades enzimáticas são afetadas pelo estado nutricional e hormônios dos indivíduos (BURDGE & CALDER, 2006; ARTEMBURN, HALL E OKEN, 2006).

O ácido araquidônico (AA) é um ácido graxo da classe ômega-6 e o principal ácido graxo de interesse quando se refere a razão com o ômega-3. Possui características pró-inflamatórias e, geralmente é consumido em quantidades 5 a 20 vezes superiores ao AGPI n-3 em dietas ocidentais (BNF, 1999). Para uma dieta adequada em ômega-3 recomenda-se de 1,6 e 1,1 g/dia para homens e mulheres saudáveis respectivamente, sendo deste total, aproximadamente 10% de EPA e DHA e o restante de ALA. Não existe limite máximo (UL) estabelecido (IM-DRI, 2005).

Após a absorção, o n-3 irá constituir componentes estruturais de triglicérides, fosfolipídios e ésteres de colesterol (ARAB, 2003), onde influenciam nas respostas funcionais das células e estão envolvidos ainda, na inflamação e na produção de uma gama de mediadores químicos (CALDER, 2006; CALDER, 2011).

Para a quantificação desses ácidos graxos no organismo pode-se medir os níveis séricos ou plasmáticos de ácidos graxos isolados ou

constituintes de triglicérides, ou ainda, de ésteres de colesterol ou fosfolipídios, membranas de eritrócitos e tecido adiposo (CANTWELL, 2000; ARAB, 2003).

3.5.1 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA-3 NO CARCINOMA E INFLAMAÇÃO

Os AGPI n-3 possuem capacidade de regular aspectos do processo inflamatório e de carcinogênese. Atuam de forma anti-inflamatória modificando a produção de eicosanoides que são mediadores lipídicos gerados a partir de fosfolipídios da membrana e atuam na regulação da resposta a um estímulo inflamatório (CALDER, 2014). Os eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) são moléculas sintetizadas a partir da liberação de ácidos graxos da bicamada lipídica, em resposta a inflamação. Eicosanoides derivados do AA, tais como a PGE 2 e LTB 4 possuem geralmente características mais pró-inflamatórias (LEE et al., 1985; CAUGHEY et al., 1996) do que quando derivadas do EPA e DHA, apresentando propriedades mais anti-inflamatórias (MARZZOCO, TORRES, 2007).

Os eicosanoides apresentam múltiplas atividades biológicas, como modular a resposta inflamatória e imunológica, agregação plaquetária e diferenciação celular. Devido à prevalência de AA nos fosfolipídios das membranas das células envolvidas nos processos inflamatórios, a regulação da resposta inflamatória no organismo se dá predominantemente através da síntese de eicosanoides pró-inflamatórios, ocasionado pelo substrato principal (TILLEI; COFFMAN; KOLLER, 2001). Uma vez que há aumento da ingestão de AGPI n-3, conseqüentemente, há diminuição da quantidade de AA levando a diminuição na produção de eicosanoides pró-inflamatórios (CHAPKIN, AKOH, MILLER, 1991; YAQOUB, CALDER, 1995; PETERSON et al., 1998).

Os fosfolipídios das células inflamatórias dos indivíduos com dietas típicas ocidentais apresentam normalmente quantidades menores de EPA e DHA (em torno de 0,5-1% e 2-4%, respectivamente) quando comparados à quantidade de AA (10-20%) (REES et al., 2006; LEE et al., 1985), porém, essa composição pode ser modificada com alteração dos hábitos alimentares e aumento da ingestão de AGPI n -3, o que pode ocasionar elevação de EPA e DHA nas membranas (REES et al., 2006; LEE et al., 1985). Essa alteração ocorre de modo dose dependente e ao longo de um período de dias a semanas (FABER et al., 2011; REES et

al., 2006; YAQOOB et al., 2000; HEALY et al., 2000), com uma nova composição do estado estacionário atingido dentro de algumas semanas (COCKBAIN; TOOGOOD; CASCO, 2012).

O aumento da ingestão dietética do AGPI n-3 modula a estrutura e a função celular alterando processos fisiopatológicos e interferindo na progressão da inflamação no câncer. A alteração da composição dos ácidos graxos das células envolvidas na inflamação age sobre as vias de sinalização celular, na modificação da expressão, na atividade ou avidéz de receptores de membrana e ainda modificando os mecanismos de transdução de sinal intracelulares que alteram a ativação de fatores de transcrição e expressão de genes, além de alterações no padrão dos mediadores lipídicos produzidos (CALDER 2011).

A natureza e a composição das membranas plasmáticas têm implicações importantes na sinalização dos processos inflamatórios e está suscetível à alteração conforme maior ou menor ingestão do n-3. Observou-se que as composições de lipídios de membranas de células cancerosas e não cancerosas são notavelmente diferentes (MENG et al., 2004). O aumento das proporções dos ácidos graxos saturados em células cancerosas levou a alteração da cascata lipídica e de sua composição proteica (RAKHEJA et al., 2005). Estudos *in vitro* utilizando membranas de células mostraram alteração das proteínas de sinalização (STULNIG et al., 2001) e por conseguinte, alteração no desenvolvimento e progressão de doenças quando há menor presença de EPA e DHA (AHMED, BROWN, LONDON, 1997). As sinalizações nessas células podem ser afetadas pela estrutura de lipídeos elevando a sobrevivência das células cancerígenas através da promoção de crescimento, escapando a vigilância imunitária, ou impedindo a apoptose (RAKHEJA et al., 2005).

O ácido graxo mais longo e insaturado comumente encontrado em membranas é o DHA, ele altera as propriedades básicas das membranas celulares (STILLWELL et al., 2005) e juntamente com o EPA (HOREJSI et al., 1999) pode deslocar várias proteínas de sinalização da membrana proporcionando benefícios clínicos no quadro de inflamação e câncer (CALDER, ZURIER, 2001; STULNIG, 2003, SIDDIQUI RA et al., 2004).

No envolvimento do AGPI n-3 na produção de citocinas pró-inflamatórias, estudos mostraram que EPA e DHA inibiram a estimulação da produção da IL-6 e IL-8 em células endoteliais (KHALFOUN et al., 1997), enquanto que o EPA isoladamente inibiu a produção de TNF- α induzido por monócitos (NOVAK et al., 2003). Também foi relatado que o AGPI n-3 leva ao aumento na concentração

da citocina anti-inflamatória IL-10 (SIERRA et al., 2008), de modo que a utilização de n-3 é descrita como atuante na diminuição da produção de citocinas que incluem o TNF- α , várias interleucinas, interferons, quimiocinas e linfocinas (MEYDANI et al., 1991, TREBBLE et al., 2003),

Mediadores lipídicos, como as resolvinas e as protectinas, são biossintetizados pelo EPA e DHA e atuam na promoção, absorção e eliminação de microorganismos e células apoptóticas no local da inflamação. Estes mediadores parecem ainda exercer potente ação anti-inflamatória em neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células T (CALDER, 2008; SEKI, TANI, ARITA, 2009). Além disso, uma ação do n-3 tem sido associada com a supressão de transformação neoplásica, angiogênese e crescimento de células tumorais (SIMOPOULOS, 2002). Estudos experimentais com cultura de células animais têm demonstrado, inclusive, que o n-3 diminui a citotoxicidade de alguns fármacos anticâncer (JORDAN; STEIN, 2003).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego (HOCHMAN et al., 2005), realizado em indivíduos com diagnóstico histopatológico de câncer do trato gastrointestinal (estômago, intestino, colón, reto e canal anal), com idade entre 18 a 70 anos, de ambos os sexos que, iniciaram tratamento antineoplásico quimioterápico, assistidos e recrutados entre março de 2015 e março de 2016 no Ambulatório do Centro de Pesquisas Oncológicas de Florianópolis – CEPON, Santa Catarina, Brasil, e que concordarem em participar deste estudo.

Este estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Suplementação de ácidos graxos poli-insaturados n-3 em indivíduos portadores de câncer gastrointestinal: efeitos sobre a inflamação, o estado nutricional, a composição corporal e a qualidade de vida durante o tratamento quimioterápico”, em que outros desfechos e diferente tempo de suplementação foram avaliados.

4.2. LOCAL DO ESTUDO

O Centro de Pesquisas Oncológicas – CEPON de Florianópolis é a instituição de referência na prevenção e tratamento do câncer no estado de Santa 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, com serviços terapêuticos de radioterapia e quimioterapia, médico, nutricional, psicológico, farmacêutico, assistência social e demais atendimento multiprofissional.

4.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Os critérios para elegibilidade são: ter idade maior que 18 anos e menor ou igual a 70 anos; diagnóstico histopatológico de carcinoma nas localizações citadas no delineamento do estudo; não ter realizado quimioterapia prévia e ter iniciado o tratamento quimioterápico.

Não foram incluídos aqueles: em tratamento paliativo; em uso diário de estatina ou fármacos anti-inflamatórios; com alergia a peixes e

derivados; sem condições de ingestão via oral; portadores de doenças autoimunes ou portadores de doença que envolva um processo inflamatório; que tenham feito uso de suplementos com óleo de peixe ou AGPI n-3 por um período prolongado (> 90 dias), seis meses precedente à sua inclusão no estudo; ou ainda, sem condições psicológicas adequadas de entender o protocolo do estudo e de assinar o consentimento livre e esclarecido, bem como, aqueles com distúrbios psicológicos previamente diagnosticados por profissional habilitado. A realização de radioterapia concomitante a quimioterapia não representou critério para a exclusão do indivíduo do estudo.

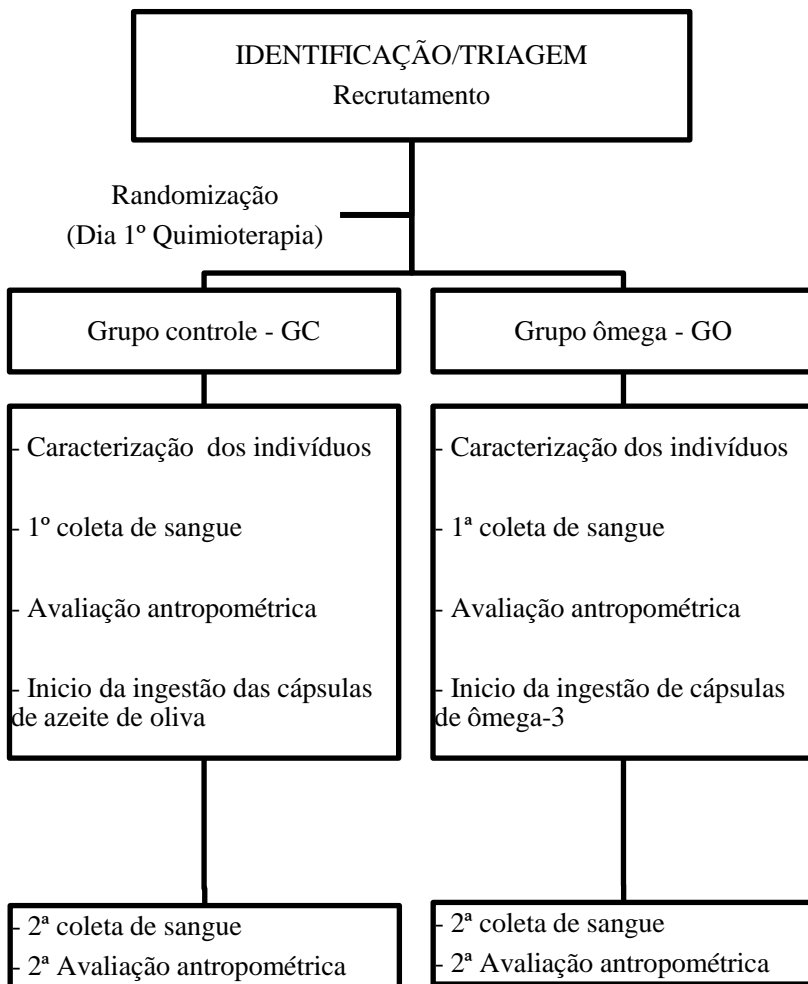
4.4. CÁLCULO AMOSTRAL

Para o cálculo do tamanho da amostra considerou-se: a) os resultados obtidos nos estudos realizados em 2008 (SILVA et al., 2012) e 2010 (MOCELLIN et al., 2013) no próprio CEPON/SC e com indivíduos portadores de câncer colorretal; 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) e máximo de 451 indivíduos. Porém, o tamanho amostral máximo obtido representa uma proporção absoluta maior que a prospecção de incidência anual para 2014 e 2015, segundo o INCA (2016). 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), totalizando 37 pacientes, sendo 30 com câncer colorretal e 7 cânceres gástrico.

4.5. DESENHO DO ESTUDO

Este ensaio clínico randomizado foi dividido em duas etapas principais: 1) identificação, triagem e recrutamento dos participantes; e 2) randomização e acompanhamento dos participantes, conforme apresentado na figura 1.

Figura 1 – Fluxograma do Ensaio Clínico Randomizado

Abreviaturas: GO – Grupo ômega-3; GC – grupo controle.

A identificação e triagem dos indivíduos potencialmente elegíveis foram realizadas pela equipe de profissionais do CEPON e pelo doutorando Michel Mocellin. Era conferida diariamente a “agenda de quimioterapia presencial ou domiciliar” para identificar possíveis participantes. Os indivíduos identificados foram encaminhados ao serviço de nutrição clínica da instituição, onde foi verificada a elegibilidade, e em caso positivo, tomaram conhecimento dos objetivos e do protocolo do estudo, e então, foram convidados a participar do mesmo. Aqueles identificados pela análise da agenda de quimioterapia foram contatados via telefone e receberam as mesmas explicações e o convite para participação no estudo.

No dia da primeira sessão de quimioterapia, designado como momento basal, os indivíduos foram randomizados para um dos dois grupos de estudo: Grupo ômega (GO) o qual foi suplementado com 2 cápsulas/dia do produto contendo AGPI n-3, ou, Grupo controle (GC), o qual foi suplementado com 2 cápsulas/dia de azeite de oliva. 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. O início da ingestão dos suplementos dietéticos aconteceu neste mesmo dia e foi continuado por 63 dias, porém para essa pesquisa foram considerado os 35 dias seguintes, caracterizando o momento final, designado de Semana 5. Os dados para essa análise aconteceram assim em 2 momentos (basal e semana 5).

4.6. RANDOMIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES

A técnica de randomização adotada é do tipo estratificada por blocos adaptada a co-variáveis (SURESH, 2011). Inicialmente foram criados três estratos de acordo com a localização do tumor: 1) gástrico, 2) colorretal (cólon e reto) e, 3) outros (intestino delgado e canal anal) caso houvesse, assim definidos de acordo com a incidência prevista. Blocos contendo dois códigos de alocação cada (um para o GA e outro para o GO) foram atribuídos a cada nível de um respectivo estrato. Por sua vez, cada código do bloco de cada nível foi subordinado ao sexo do indivíduo (co-variável), haja vista que a literatura tem mostrado que o sexo do indivíduo exerce influência sobre a concentração de marcadores inflamatórios circulantes (tabela 1).

Tabela 1 - Lista de randomização estratificada pela localização tumoral e adaptada à co-variável sexo, gerada pelo software estatístico STATA.

Estratos	Nível	Covariável	
		Masculino	Feminino
Gástrico	1	Ômega	Oliveira
Gástrico	2	Oliveira	Ômega
Gástrico	3	Ômega	Oliveira
Gástrico	4	Oliveira	Ômega
Gástrico	5	Oliveira	Ômega
Gástrico	...	Ômega	Oliveira
Colorretal	1	Ômega	Oliveira
Colorretal	2	Ômega	Oliveira
Colorretal	3	Oliveira	Ômega
Colorretal	4	Oliveira	Ômega
Colorretal	5	Ômega	Oliveira
Colorretal	...	Oliveira	Ômega
Outros	1	Oliveira	Ômega
Outros	2	Ômega	Oliveira
Outros	3	Ômega	Oliveira
Outros	4	Oliveira	Ômega
Outros	5	Oliveira	Ômega
Outros	...	Ômega	Oliveira

Grupos de tratamento: Ômega = GO; Oliveira = GC. Os grupos foram substituídos por códigos numéricos para mascaramento do pesquisador.

A aleatorização na distribuição dos grupos de tratamento dentro de cada bloco entre os níveis de estrato foi fornecida pelo Software estatístico Stata vs. 11.0 para Windows (StataCorp, Texas, EUA).

4.7. SUPLEMENTOS DIETÉTICOS

Os indivíduos do Grupo ômega-3 fizeram ingestão de 2 cápsulas/dia de suplemento dietético concentrado em AGPI n-3 (Ômega-3 Concentrate, Tiaraju®, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil), enquanto que os participantes alocados para o Grupo controle consumiram 2 cápsulas/dia de azeite de oliva (Cápsulas de Oliveira, Tiaraju®, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil) ambos por cinco semanas.

Os suplementos foram ofertados na forma de cápsulas, produzidas de gelatina (gelificante) e glicerina (umectante). Foram orientados a realizar a ingestão das cápsulas em dose única, em um horário precedente a uma refeição principal, preferencialmente o almoço ou o jantar.

A informação nutricional de ambos os suplementos se encontra na tabela 2.

Tabela 2 - Informação nutricional dos suplementos dietéticos

Composto	Ômega 3 Concentrate (Quantidade/2 cap.) 3,6g	Cápsula de oliveira (Quantidade/2 cap.) 3,1g
Valor energético (kcal/KJ)	26/106	20/87
Proteínas (g)	0,7	0,7
Gordura Total (g)	2,5	2,9
Gordura Saturada (g)	NS	0,2
Gordura Monoinsaturada (g)	-	1,5
Gordura Poli-insaturada	1,5	NS
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 enviada pelo fabricante.

Ambos os suplementos dietéticos foram doações da empresa Tiaraju®, sem conflito de interesse com os pesquisadores e 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).

De acordo com o fabricante, o óleo concentrado em AGPI n-3 é importado e apenas encapsulado pela Empresa Tiarajú. Este óleo é

extraído de sardinha, anchova e cavala, acrescida de um “mix” de tocoferóis, palmitato de ascorbila e extrato de alecrim. A forma bioquímica em que estes ácidos graxos se apresentam é etil éster. O segundo é azeite de oliva extra virgem encapsulado, oriundo de produção nacional, sem a adição de antioxidantes.

As cápsulas foram entregues aos participantes acondicionadas em frascos opacos e apenas identificados com o código do grupo de tratamento. A fim de garantir o cumprimento do protocolo de suplementação, foi realizado contato presencial ou telefônico com o participante, pelo menos uma vez por semana, para averiguar a aderência ao esquema de suplementação, tirar dúvidas e prestar assistência, sempre que foi requerida.

Os participantes foram orientados a registrar e informar ao pesquisador todo e qualquer efeito adverso da suplementação, ao mesmo tempo que, os contatos de correio eletrônico e de telefone do pesquisador e do coordenador do estudo foram disponibilizados para os participantes para que comunicasse qualquer intercorrência atrelada à suplementação.

4.8. PLACEBO: AZEITE DE OLIVA

A escolha por azeite de oliva como placebo se deve principalmente ao fato deste apresentar baixa concentração de AGPI (CAVICCHIA et al., 2009), em contrapartida, apresenta alta concentração em ácido graxo monoinsaturado (AGMO), em especial o ácido oleico (AO), numa proporção que varia de 50% a 85% do total de ácido graxo (SERVILI et al., 2013), além de conter pequenas quantidades de ácidos graxos livres, glicerol, fosfatados (lecitina), pigmentos e compostos responsáveis pelo aroma (SERVILI & MONTEDORO, 2002).

Obtido a partir de azeitonas e por extração mecânica, o azeite de oliva, é reconhecido como peça chave da dieta mediterrânea. Possui efeitos que incluem uma redução do risco de câncer, doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer, síndrome metabólica e eventos cardiovasculares (WILLETT et al., 1995; TURNER et al., 2005). Aproximadamente 36 compostos fenólicos estão contidos no azeite de oliva desempenhando um papel chave na promoção da saúde (CICERALE et al., 2009; CICERALE, LUCAS, KEAST, 2012; BERNARDINI, VISIOLI, 2016). Estudos que investigam os compostos fenólicos do azeite e seus benefícios para a saúde humana

tem se concentrado na inflamação, status antioxidante e atividade antimicrobiana (CICERALE, LUCAS, KEAST, 2012). Todavia, múltiplos fatores influenciam na concentração dos compostos fenólicos no azeite de oliva que incluem a região de crescimento, técnicas de cultivo da azeitona, maturidade na colheita, processamento, armazenamento e a idade da oliveira (CICERALE et al., 2009).

Quanto ao papel do ácido oleico presente no azeite de oliva pode-se citar a proteção aprimorada da mucosa gástrica por uma secreção reduzida de ácido clorídrico que ajuda a limitar o risco de úlceras e pólipos gástricos e/ou duodenais (BERMUDEZ et al., 2011). No entanto, a evidência mais convincente sobre a atividade de promoção da saúde deste AGMO foi obtida em ensaios de prevenção cardiovascular, levando a Food and Drug Administration (FDA), em 2004, publicar “os benefícios no risco de doença cardíaca coronária em ingerir cerca de duas colheres (23 g) de azeite de oliva diariamente, devido ao seu conteúdo de AGMO (ácido oleico)”. Recomendações da Organização Mundial de Saúde para uma dieta saudável incluem o azeite de oliva como uma fonte de gorduras insaturadas que devem ser preferidos às saturadas (WHO, 2015). A American Heart Association (1999) estabelece um limite de 20% de AGMO do consumo total de energia diária em sua diretriz.

Estudos experimentais suportam igualmente o fato de que os efeitos benéficos do azeite de oliva também são devidos aos seus componentes bioativos menores, entre eles, o ácido oleanólico (ZIBERNA et al., 2017) que juntamente ao ácido oleico são responsáveis por atividades biológicas atribuídas ao azeite de oliva, tais como anti-inflamatório, anticancerígenos e gastroprotetora (SANCHEZ-QUESADA et al., 2013; RODRIGUEZ-MORATO et al., 2015). Estima-se que na dieta mediterrânea a ingestão diária total de ácido oleanólico seja de cerca de 25 mg (JUAN & PLANAS, 2010).

4.9 CRITÉRIOS DO 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. As cápsulas correspondentes aos suplementos dietéticos apresentam aparência idêntica e são livres de odor, enquanto intactas. O sabor residual que poderá existir é fraco e a orientação de consumo próximo a uma refeição principal minimiza a possibilidade do

participante perceber o sabor. Ambos os suplementos estão acondicionados em frascos opacos idênticos, e codificados com um número aleatório correspondente à lista de randomização. A lista de randomização foi criada por um programa de computador, conforme já mencionado. Após, os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com 4 dígitos também gerados por um programa de computador, para que houvesse a ocultação da alocação. Estas etapas foram realizadas por um pesquisador não envolvido com a pesquisa. O desceçamento só ocorreu após as análises estatísticas terem sido efetuadas, caracterizando o estudo como triplo-cego.

4.10. MOMENTOS E DADOS DA COLETA

A coleta de dados foi dividida, para esse trabalho, em dois momentos: *Momento basal* - caracterizado como o dia da primeira quimioterapia do participante e pelo início da ingestão das cápsulas dos suplementos dietéticos: neste momento foram coletados dados de caracterização dos participantes (dados clínicos e sociodemográficos), além de amostras sanguíneas. *Momento Semana 5* - caracterizado como 36 dias após o basal em que uma segunda amostra sanguínea foi coletada neste momento.

4.10.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS

Os dados de caracterização dos pacientes utilizados nesta pesquisa no momento basal foram, dados pessoais: nome completo, sexo, data de nascimento, procedência, endereço residencial, telefone e número do prontuário; Dados clínicos: localização do tumor, estadiamento, fármacos utilizados, protocolo quimioterápico, comorbidades associadas, perda de peso nos últimos meses e cirurgia de ressecção tumoral pregressa.

As informações referentes a “dados pessoais” e “dados clínicos”, com exceção da proporção de perda de peso, foram coletadas dos prontuários dos indivíduos no CEPON.

4.10.2. COLETA E PREPARO DO MATERIAL BIOLÓGICO

Foram coletados aproximadamente 15 mL de sangue, por um enfermeiro voluntário, na região cubital do antebraço de cada

participante nos momentos basal e Semana 5, utilizando 3 tubos de ensaio do tipo *vacutainer* com capacidade para até 10 mL, contendo anticoagulante heparina sódica (2 tubos) e gel separador (1 tubo). A coleta foi realizada com o participante em jejum prévio de no mínimo 8 horas, no CEPON, previamente a realização do procedimento quimioterápico.

Os tubos de sangue foram devidamente acondicionados em caixa térmicos sob uma temperatura inferior a 15°C e transportadas até o Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas, Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, onde foram processadas. Todas as amostras foram centrifugadas no próprio tubo de coleta a 2.500 rpm por 5 minutos a uma temperatura aproximada de 4°C para separação do plasma e do soro.

4.10.3. DETERMINAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS

As análises bioquímicas das citocinas (Th1: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α) foram determinadas por citometria de fluxo com sistema comercial para mensuração de citocinas (ensaio citométrico de esferas ordenadas – CBA) de acordo com as instruções do fabricante, no Laboratório de Investigação em Doenças Crônicas, Centro de Ciência Biológicas (CCB/UFSC) utilizando a unidade de medida: pg/mL. O eicosanoide plasmático (PGE2) analisado no Laboratório de imunologia, Centro de Ciência da Saúde (CCS/UFSC) através do método de Sandwich Enzimamunoensaio (ELISA), utilizando para tanto, kits comerciais cujas técnicas são orientadas pelo fabricante. Unidade de medida: pg/mL. E as análises das proteínas de fase aguda (PCR e Albumina) foram avaliadas no Laboratório de Análise Clínicas do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago – UFSC. A PCR ultra sensível pelo método turbidimétrico (PELTOLA; VALMARI, 1985), e expresso em mg/L, enquanto que albumina foi determinada quantitativamente pelo método colorimétrico de verde de bromocresol (DOUMAS; WATSON; BIGGS, 1971) e expressa em g/dL, utilizando kits comerciais.

4.10.3.1 CÁLCULO DA RELAÇÃO PROTEÍNA C-REATIVA/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 pela razão dos valores de PCR (mg/l) pelos valores de albumina (g/dL). Os valores classificam quanto aos graus de risco de complicações em: sem risco: $<0,4$; baixo risco: $0,4-1,2$; médio risco: $1,2-2,0$; alto risco: $>2,0$.

4.10.4. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

Peso atual (kg), estatura (cm), dobra cutânea tricipital (mm) e circunferência muscular do braço (CMB) foram aferidas por um profissional padronizado, seguindo técnicas propostas pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1994).

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 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 juntos, e a cabeça posicionada de forma que a linha de visão esteja perpendicular ao corpo. Os braços 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 mantém 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, 1994). 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 se posicionou 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, sendo este valor registrado. O peso foi aferido antes da infusão da quimioterapia, no caso de quimioterapia infusional. O peso usual foi relatado pelo próprio indivíduo e registrado (WHO, 1994).

Com essas medidas foi realizado o cálculo do Índice de massa corporal – IMC: razão entre o peso do indivíduo e a sua altura ao quadrado. O resultado apresentado em kg/m^2 e confrontado com valores

de referência para a classificação do estado nutricional, propostos pela *World Health Organization* (1994).

A dobra cutânea tricipital (DCT) foi aferida usando um adipômetro (compasso Lange Skinfold Caliper®, Beta Technology Incorporated, Santa Cruz, Califórnia, EUA). A pele e o tecido subcutâneo do participante foi pinçado 1 cm acima do ponto médio entre o acrômio e o olecrano, do braço esquerdo. As pinças do adipômetro foram posicionadas perpendiculares à dobra, de modo que a dobra cutânea ficou na mesma direção que a posição do braço e a leitura foi realizada. Foram realizadas duas aferições consecutivas e calculada a média aritmética das leituras em caso de divergência (WHO, 1994).

A adequação da DCT foi calculada a partir do resultado da divisão entre as medidas obtidas e os valores de referência (percentil 50) de acordo com o sexo e a idade do indivíduo apresentado por Frisancho (1990). O resultado desta divisão foi multiplicado por 100 para ser apresentado em percentual.

A circunferência do braço (CB) foi aferida para posterior cálculo da circunferência muscular do braço (CMB). Para sua obtenção, localizou-se o ponto médio entre o acrômio e olecrano, com o braço flexionado em direção ao tórax. Após, solicitou-se que o paciente estendesse o braço ao longo do corpo, com a palma da mão voltada para a coxa e então se contornou o braço no ponto marcado com uma fita métrica flexível de forma ajustada, evitando compressão da pele ou folga. A CMB foi obtida a partir dos valores da CB e DCT, e o cálculo de adequação da CMB foi realizado por meio da fórmula: Adequação da CMB (%) = $CMB \text{ (cm)} \times 100 / CMB \text{ percentil } 50$ (FRISANCHO, 1990).

4.11. PROCEDIMENTOS ÉTICOS

Essa pesquisa tem apreciação do Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON) 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 580.649. Além disso, este estudo é registrado na plataforma de ensaios clínicos (Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC).

Todos os participantes foram previamente conscientizados dos objetivos, riscos e benefícios da pesquisa e só foram incluídos após concordarem em participar de maneira voluntária e aceitarem as condições do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

Nenhum indivíduo era obrigado a participar do estudo, eles poderiam se retirar do mesmo a qualquer momento, se assim entenderem. Todas as informações coletadas são sigilosas e estarão disponíveis para o participante, se houver o interesse. Os formulários preenchidos com as informações coletadas dos participantes estão em posse do coordenador deste estudo, Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, armazenados em arquivo pessoal, localizado na sala 214, Bloco A, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, por cinco anos após o término do estudo, após, serão incinerados.

O protocolo deste estudo segue os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinki (1964) (RICKHAM, 1964) e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013)

4 RESULTADOS

Os resultados estão apresentados em forma de artigo, conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Assim sendo, o presente artigo, que segue, foi escrito de acordo com as instruções do periódico *British Journal of Nutrition* disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/information/instructions-contributors#>.

4.1 MANUSCRITO

ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA-3 PROMOVEM REDUÇÃO DE IL-6 NO ESTADIAMENTO IV DO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL EM INDIVÍDUOS COM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO

Título Curto

Ácidos graxos n-3 no câncer gastrointestinal

Palavras-chave: Óleo de peixe, Ácidos graxos poli-insaturados n-3, Câncer gástrico, Câncer colorretal, inflamação.

Resumo

Os ácidos graxos insaturados possuem efeitos na prevenção do câncer, devido a sua capacidade de modular uma série de respostas genéticas e imunes. Este ensaio clínico randomizado, prospectivo e controlado foi conduzido com o objetivo de verificar se a suplementação de 2g/dia de óleo de peixe altera o perfil de marcadores inflamatórios sanguíneos de indivíduos portadores de câncer gástrico e colorretal em tratamento quimioterápico. Trinta e sete indivíduos foram randomizados em dois grupos: (a) grupo controle (GC) (n = 18) ingerindo diariamente 2 cápsulas de azeite de oliva, ou (b) grupo ômega-3 (GO) (n = 19) suplementado diariamente com 2 cápsulas de óleo de peixe (fornecendo 1,5 g/dia de EPA + DHA) durante cinco semanas. Os desfechos (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , PGE2, IL-10, PCR e Albumina) foram avaliados no momento basal (primeiro dia da quimioterapia) e após cinco semanas. Houve alteração significativa entre os grupos de estudo na quinta

semana de suplementação com redução da IL-6 (p 0,033) no GO quando comparado ao GC no estadiamento IV do tumor. O GO apresentou ainda redução média dos demais marcadores pró-inflamatórios e elevação da citocina anti-inflamatória (IL-10) no estadiamento IV, enquanto no estadiamento III o GC apresentou redução da IL-6 (p 0,021) e PCR (p 0,027). Na análise global observou-se redução da IL-8 (p 0,038) e IL-12 (p 0,027) no GC comparado ao GO. A Relação PCR/albumina indicou redução no número de pacientes com risco de complicações nutricionais e inflamatórias em ambos os grupos (reclassificação de alto para baixo e sem risco), porém sem redução significativa das médias ($p > 0,05$). Estes resultados demonstram que 2 g/dia de óleo de peixe durante cinco semanas de quimioterapia auxiliam na modulação inflamatória no estágio mais agravado do câncer gastrointestinal.

INTRODUÇÃO

Os tumores compõem-se de uma rede rica em citocinas inflamatórias que se estende além da proteção do tecido, desencadeando a proliferação e infiltração de mais moléculas inflamatórias que culmina por contribuir diretamente na sustentação do tumor (1-4). Atenção tem sido dada à dieta e suplementos dietéticos como uma estratégia terapêutica no processo inflamatório neoplásico (5). Os ácidos graxos poli-insaturados da família n-3 (AGPI n-3), especialmente os ácidos graxos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), desempenham um papel promissor nesse contexto. Após sua incorporação em constituintes lipídicos sanguíneos e em membranas de células imunes, tumorais e de tecidos, os AGPI n-3 competem com os AGPI n-6 ou a qualquer outro ácido graxo de menor número de insaturações, ocasionando uma variedade de funções biológicas relacionadas à membrana celular, tais como fluidez, expressão de receptores, transdução de sinal, interação celular, atividade enzimática associada à membrana e, em especial, a produção de eicosanóides com atividade antitumorigênica (6).

A composição lipídica das membranas de células cancerosas têm implicações importantes na sinalização dos processos inflamatórios (7), a correção do balanço n-6: n-3, feito por meio da ingestão de alimentos fontes de AGPI n-3 auxilia direcionando a um menor potencial inflamatório (14, 15). Desta forma, os AGPI n-3 são referidos como "quimiopreventivos" termo que se refere ao uso de agentes

farmacológicos, nutracêuticos ou produtos naturais bioativos que previnem ou atrasam o desenvolvimento do câncer (8).

Estratégias que possam reduzir o processo inflamatório, que se mantém exacerbado no câncer gástrico e colorretal, como a utilização de AGPI n-3, podem prover importantes benefícios para o paciente. Deste modo, nossa pesquisa busca elucidar os efeitos da suplementação de 1,55 g/dia de ácidos graxos poli-insaturados n-3 (EPA e DHA) durante cinco semanas sobre as citocinas plasmáticas da resposta Th1 (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α), eicosanoide plasmático (PGE2) e proteínas de fase aguda sérica (PCR e Albumina) em indivíduos portadores de câncer gástrico e colorretal durante o tratamento quimioterápico e ainda observar os efeitos no estado nutricional segundo o índice de massa corporal (IMC), dobra cutânea tricipital (DCT) e circunferência muscular do braço (CMB).

MÉTODOS EXPERIMENTAIS

DELINEAMENTO DO ESTUDO

Ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego (9), realizado em indivíduos com diagnóstico histopatológico de câncer do trato gastrointestinal (estômago, intestino, colón, reto e canal anal), com idade entre 18 a 70 anos, de ambos os sexos que iniciaram tratamento antineoplásico quimioterápico, assistidos e recrutados entre março de 2015 e março de 2016 no Ambulatório do Centro de Pesquisas Oncológicas de Florianópolis – CEPON, Santa Catarina, Brasil.

Os critérios de elegibilidade dos pacientes foram: idade igual o maior que 18 anos e menor ou igual a 70 anos; possuir diagnóstico histopatológico de carcinoma nas localizações supracitadas; não ter realizado quimioterapia prévia e ter iniciado o tratamento quimioterápico. Não foram incluídos aqueles: em tratamento paliativo; em uso diário de estatina ou fármacos anti-inflamatórios; com alergia a peixes e derivados; sem condições de ingestão via oral; submetidos anteriormente à quimioterapia; portadores de doenças autoimunes ou cuja patogenia envolva um processo inflamatório; que fizeram uso de suplementos contendo óleo de peixe ou AGPI n-3 por um período prolongado (>90 dias), nos seis meses precedentes à sua inclusão no estudo; ou ainda, sem condições psicológicas adequadas de entender o protocolo do estudo e de assinar o consentimento livre e esclarecido, bem como, aqueles com distúrbios psicológicos previamente diagnosticados por profissional habilitado. A prescrição de radioterapia

concomitante a quimioterapia não representou critério para a exclusão do indivíduo do estudo.

CÁLCULO AMOSTRAL

Para o cálculo do tamanho da amostra considerou-se: a) os resultados obtidos no estudo realizados em 2008 (10) no próprio CEPON/SC e com indivíduos portadores de câncer colorretal; 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) e máximo de 451 indivíduos. Porém, o tamanho amostral máximo obtido representa uma proporção absoluta maior que a prospecção de incidência anual para 2014 e 2015, segundo o INCA, 2016 (11). Por estes motivos, foram incluídos no estudo todos os indivíduos elegíveis que aceitarem participar e que foram assistidos no CEPON no período determinado para o recrutamento (março/2015 à março/2016), totalizando 37 pacientes, sendo 30 com câncer colorretal e 7 cânceres gástrico.

DESENHO DO ESTUDO

Os indivíduos elegíveis foram alocados randomicamente em dois grupos de tratamento: Grupo Controle (GC), o qual fez ingestão diária de 2 cápsulas/dia de azeite de oliva e Grupo ômega (GO), o qual realizou a ingestão diária de 2 cápsulas/dia do produto contendo AGPI n-3. Os participantes foram orientados a ingerir duas cápsulas/dia adicional a ingestão dietética habitual, durante cinco semanas. A suplementação iniciou no primeiro dia da quimioterapia e foi continuado por 35 dias, caracterizando o momento final, designado de Semana 5. Os dados para essa análise aconteceram assim em 2 momentos (basal e semana 5).

A técnica de randomização adotada é do tipo estratificada por blocos adaptada a co-variáveis (SURESH, 2011). Blocos contendo dois códigos de alocação cada (um para o GC e outro para o GO) foram atribuídos a cada nível de um respectivo estrato. Por sua vez, cada código do bloco de cada nível foi 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. A aleatorização na distribuição dos grupos de tratamento dentro de cada bloco entre os níveis de estrato foi fornecida pelo Software estatístico Stata vs. 11.0 para Windows (StataCorp, Texas, EUA). Os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com quatro dígitos também gerados por um programa de computador, para que houvesse a ocultação da alocação. Estas etapas foram realizadas por um pesquisador não envolvido com a pesquisa.

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. O desceçamento só ocorreu após as análises estatísticas terem sido efetuadas, caracterizando o estudo como triplo-cego.

SUPLEMENTOS DIÉTÉTICOS

Os indivíduos do Grupo ômega (GO) fizeram ingestão de 2 cápsulas/dia de suplemento dietético concentrado em AGPI n-3 (Omega 3 Concentrate, Tiaraju®, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil), enquanto que os participantes alocados para o Grupo controle (GC) consumiram 2 cápsulas/dia de azeite de oliva (Cápsulas de Oliveira, Tiaraju®, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil) ambos por cinco semanas. Os suplementos foram ofertados na forma de cápsulas, acrescidos de gelatina (gelificante) e glicerina (umectante). Foram orientados a realizar a ingestão das cápsulas em dose única, em um horário precedente a uma refeição principal, preferencialmente o almoço ou o jantar.

A informação nutricional de ambos os suplementos se encontra na tabela 2.

Tabela 2 - Informação nutricional dos suplementos dietéticos utilizados neste estudo.

Composto	Omega 3 Concentrate (quantidade/2 cáp) 3,6g	Cápsula de oliveira (quantidade/2 cáp) 3,1g
Valor energético (Kcal/KJ)	26/106	20/87
Proteínas (g)	0,7	0,7
Gordura Total (g)	2,5	2,9
Gordura	NS	0,2
Saturada (g)		
Gordura	-	1,5
Monoinsaturada (g)		
Gordura Poli- insaturada	1,5	NS
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 enviada pelo fabricante.

Ambos os suplementos dietéticos foram doações da empresa Tiaraju®, sem conflito de interesse com os pesquisadores e 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).

De acordo com o fabricante o óleo concentrado em AGPI n-3 é importado e apenas encapsulado pela Empresa Tiarajú. Este óleo é extraído de sardinha, anchova e cavala, acrescida de um “mix” de tocoferóis, palmitato de ascorbila e extrato de alecrim. A forma bioquímica em que estes ácidos graxos se apresentam é etil éster. O segundo é azeite de oliva extra virgem encapsulado, oriundo de produção nacional, sem a adição de antioxidantes.

As cápsulas foram entregues aos participantes acondicionadas em frascos opacos e apenas identificados com o código de randomização. Os participantes foram orientados a registrar e informar todo e qualquer efeito adverso da suplementação.

PROTOCOLO DE COLETA E PREPARO DO MATERIAL BIOLÓGICO

Amostras sanguíneas (15 mL), em jejum de aproximadamente 8 horas, foram coletadas em dois momentos: no dia da primeira quimioterapia (Basal); e 35 dias depois (5 Semanas). A punção venosa foi realizada na região cubital do antebraço por um profissional capacitado. O material foi coletado em tubos à vácuo contendo anticoagulante (heparina sódica) para a determinação de citocinas, e gel separador para a determinação sérica de PCR e albumina. Para a separação, a amostra contendo anticoagulante foi centrifugada a 2.500 rpm por 5 minutos a temperatura aproximada de 4° C, e alíquotas de plasma (500 µL) armazenadas a -80°C. A amostra em gel separador foi deixada a temperatura ambiente por cerca de 30 min para a completa coagulação, depois, centrifugada a 4700-5100 rpm durante 10 a 15 minutos para a extração do soro, o qual seguiu para a dosagem de PCR pelo método turbidimétrico e albumina seguindo o método colorimétrico de verde de bromocresol. Ao final do estudo as alíquotas de plasma foram descongeladas a temperatura ambiente, homogeneizadas e imediatamente submetidas à determinação de citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α) e do eicosanoide plasmático (PGE2) pelo teste solid phase sandwich ELISA (BD OptEIAM, BD Biosciences, San Jose, CA; ou eBioscience, San Diego, CA, EUA) conforme protocolos descritos pelos fabricantes.

RELAÇÃO PCR/ALBUMINA

O índice da relação PCR/Albumina (12) que classifica quanto ao prognóstico nutricional e inflamatório do paciente, foi calculado a partir da relação dos valores séricos de PCR e albumina. As faixas de classificação de risco adotadas foram: sem risco: < 0,4; baixo risco: 0,4; 1,2; médio risco: 1,2-2,0; alto risco: > 2,0.

AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

Peso atual (kg), estatura (cm), dobra cutânea tricipital (mm) e circunferência muscular do braço (cm) foram aferidas por um profissional padronizado, seguindo técnicas propostas por Lohman et al., 1988 (13). Peso e altura foram aferidos com o auxílio de balança eletrônica de plataforma com estadiômetro vertical acoplado, marca Toledo® (Empresa Toledo do Brasil, São Bernardo do Campo, SP,

Brasil). Com essas medidas foi realizado o Índice de massa corporal – IMC: razão entre o peso do indivíduo e a sua altura ao quadrado. O resultado apresentado em kg/m² e confrontado com valores de referência para a classificação do estado nutricional, propostos pela *World Health Organization* (1995; 2000; 2004; 2008). Todas as medidas antropométricas foram aferidas seguindo técnicas padrão (23). A circunferência do braço (CB) foi aferida para posterior cálculo da circunferência muscular do braço (CMB). A CMB foi obtida a partir dos valores da CB e da prega cutânea tricipital (PCT) e o cálculo de adequação da CMB foi realizado por meio da fórmula: Adequação da CMB (%) = CMB (cm) x 100 / CMB percentil 50 (14).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A simetria dos dados foi testada pela aplicação do teste de Shapiro Wilk considerando como independentes os grupos de exposição e os momentos do estudo. Os testes t de student ou Mann-Whitney foram utilizados para testar as diferenças entre os grupos nos momentos do estudo. Test t pareado ou de Wilcoxon para dados pareados, foram empregados para testar as diferenças entre os diferentes momentos nos grupos de tratamento. Teste Qui-Quadrado Exato de Fisher foi utilizado para testar diferenças de variáveis dicotômicas de caracterização. Para a apresentação, todos os dados foram sumarizados em duas medidas de dispersão: média e desvio padrão, se distribuição simétrica; ou, mediana e intervalo interquartil, se distribuição assimétrica. Todas as análises foram efetuadas no programa STATA 11.0, versão para Windows, licenciado para o Programa de Pós-Graduação em Nutrição – UFSC, considerando valor de $p < 0,05$ para significância estatística.

PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O protocolo deste estudo segue os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinki (1964) (RICKHAM, 1964) e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013).

Essa pesquisa tem apreciação do Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON) 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 580.649.

RESULTADOS

Foram identificados setenta e seis pacientes elegíveis com diagnóstico de câncer gástrico e colorretal no período da pesquisa, desse total quatorze indivíduos não foram identificados antes do início da quimioterapia e seis não concordaram em participar do estudo. Cinquenta e seis indivíduos (73,7% da população elegível) concordaram em participar e foram randomizados em dois grupos de tratamento, igualmente vinte e oito pacientes no primeiro e segundo grupo. Houve perdas de dez e nove indivíduos para cada grupo respectivamente, resultando assim em dezoito participantes no primeiro grupo (Grupo controle - GC) e dezenove no segundo grupo (Grupo ômega - GO), totalizando trinta e sete pacientes, conforme demonstrado na figura 1.

As características basais dos participantes (idade, sexo, fumo, localização e estágio do tumor e tratamento anti neoplásico) são demonstrados na tabela 1. Onde os grupos de estudo não eram comparáveis quanto à caracterização de idade, sendo o GC significativamente mais jovem que o GO ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística nas demais variáveis de caracterização.

Os protocolos quimioterápicos, utilizados de forma isolada ou combinada no tratamento dos participantes foram: Xelox ($n = 13$), Xelox + Avastin ($n = 3$), *FU-LV* ($n = 10$), *Folfox* ($n = 4$), *FU-Oxaliplatina* ($n = 2$) e outros ($n = 5$). As sessões de quimioterapia por infusão eram realizadas a cada 15 ou 21 dias. Já a quimioterapia domiciliar, caracterizada pela ingestão do fármaco quimioterápico sob a forma de drágeas/comprimidos, era realizada diariamente.

As análises de estado nutricional (Peso, IMC, adequação da DCT e CMB) são descritas na Tabela 2. Nenhuma diferença estatística foi observada entre os grupos para as variáveis antropométricas. Apenas um indivíduo foi classificado como desnutrido no momento basal do GC, sendo reclassificado para eutrófico após a suplementação. A adequação da DCT e CMB, apesar de não significativas, apresentaram elevação em maior proporção no valor absoluto no GO e menor no GC.

Valores das citocinas e proteínas da fase aguda no momento basal e após as cinco semanas de suplementação entre os grupos são apresentadas na tabela 3, expondo uma visão geral sobre o perfil inflamatório. Observou-se redução significativa da IL-12 no GC em comparação ao GO após a suplementação, essa redução, apesar de significativa, foi pequena na diferença de média.

Os valores da relação PCR/Albumina foram classificados e estão representados na figura 2 comparando o momento Basal e 5

semanas nos grupos de estudo. Observa-se que em número de indivíduos, ambos os grupos iniciaram as pesquisas com mais classificações de alto risco e foram reclassificados para sem e/ou baixo risco após a suplementação. No momento basal a classificação de alto risco era significativamente maior no GC.

As concentrações plasmáticas das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e TNF- α , assim como a PGE2 e as proteínas de fase aguda (PCR e Albumina) foram semelhantes nas localizações do tumor (colorretal e gástrico) nos grupos de estudo (Tabela 4). Igualmente, verificou-se as médias dos marcadores de inflamação entre o estadiamento do tumor (III e IV) nos grupos GC *vs* GO (tabela 5). Análise no estadiamento II não foi possível devido ao número reduzido de participantes. Ocorreram reduções significativas da IL-6 no GO no estadiamento IV comparado ao GC no estadiamento IV, enquanto a mesma citocina elevou-se significativamente no GO no estadiamento III. Houve, ainda, redução média nos marcadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , PGE2 e PCR) e aumento da citocina anti-inflamatória (IL-10) no GO no estadiamento IV. Observou-se elevação significativa da PCR no estadiamento III no GO comparado ao GC.

Não houve efeitos colaterais ou toxicidade influenciada pela suplementação relatada pelos indivíduos.



Figura 1 - Fluxograma do recrutamento dos pacientes no estudo.

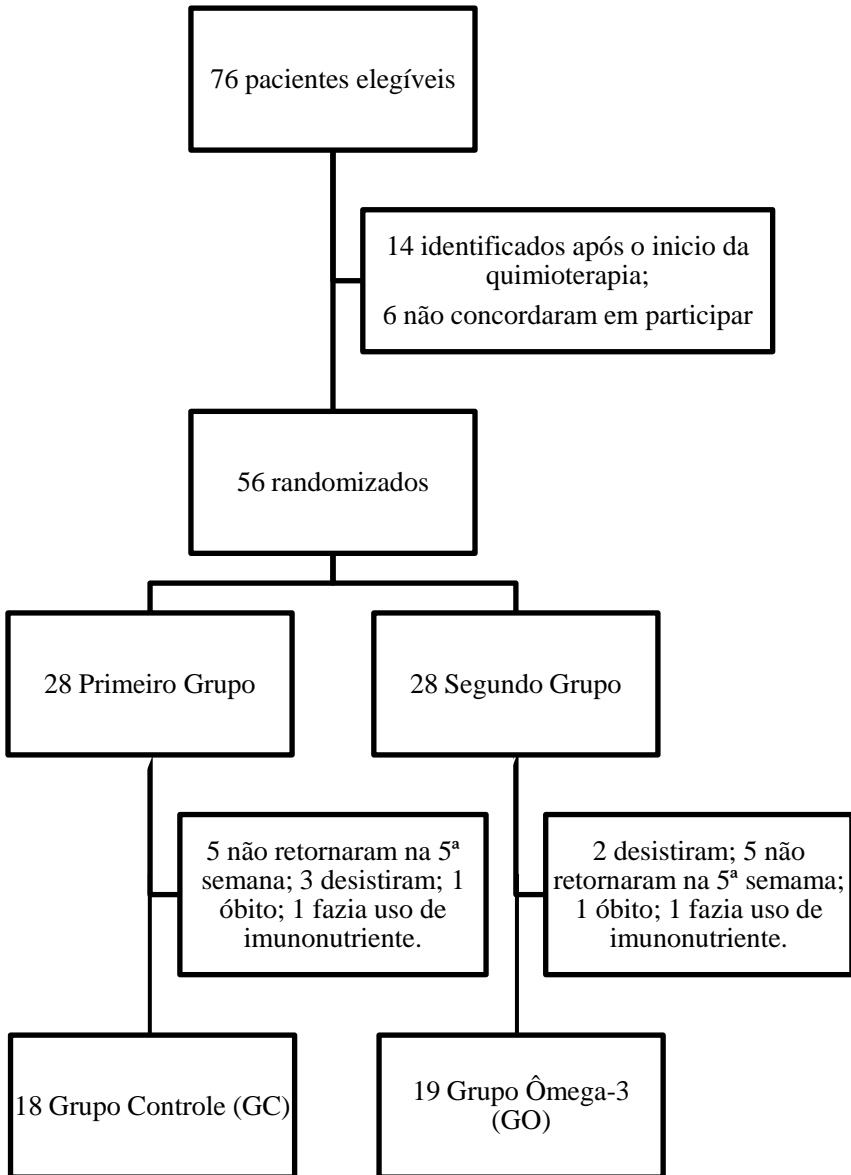


Tabela 1: Características dos indivíduos portadores de câncer gástrico e colorretal elegíveis para o estudo (n=37).

Características	Grupos		Valor <i>p</i>
	Grupo GC (n=18)	Grupo GO (n=19)	
Idade (anos)	44,94 (14,38)	53,84 (12,21)	0,049 ^a
Sexo			
<i>Masculino</i>	11 (61,1)	9 (47,4)	0,402 ^b
<i>Feminino</i>	7 (38,9)	10 (52,6)	
Fumo			
<i>Fumante atual</i>	4 (22,2)	3 (15,8)	0,213 ^c
<i>Ex-fumante</i>	9 (50,0)	5 (26,3)	
<i>Nunca fumou</i>	5 (27,8)	11 (57,9)	
<i>Fumante passivo</i>	3 (16,7)	1 (5,6)	0,603 ^c
Localização do tumor			
<i>Colo</i>	10 (55,6)	11 (57,9)	1,000 ^c
<i>Reto</i>	4 (22,2)	5 (26,3)	
<i>Estômago</i>	4 (22,2)	3 (15,8)	
Estágio			
2	2 (11,1)	5 (26,3)	0,467 ^c
3	11 (61,1)	8 (42,1)	
4	5 (2,8)	6 (31,6)	
Cirurgia			
<i>Sim</i>	16 (88,9)	15 (79,0)	0,660 ^c
<i>Não</i>	2 (11,1)	4 (21,0)	
Radioterapia			
<i>Sim</i>	4 (22,2)	2 (10,5)	0,405 ^c
<i>Não</i>	14 (77,8)	17 (89,5)	

Grupo GC = Grupo controle; Grupo GO = Grupo ômega-3. Valores de média (DP)

^a Teste T de Student não pareado^b Teste de Chi²^c Teste de Chi² exato de Fisher

Tabela 2 - Indicadores do estado nutricional nos momentos Basal e 5 Semanas de acordo com os grupos de estudo (n=37)

Indicadores	Período do estudo		Valor <i>p</i>
	Basal	5 semanas	
Peso (kg)			
Grupo GC (n=18)	72,5 (12,3)	72,9 (11,7)	0,564 ^a
Grupo GO (n=19)	71,9 (16,1)	72,2 (16,9)	0,547 ^a
IMC (kg/m ²)	0,893 ^b	0,888 ^b	
Grupo GC (n=18)	26,3 (4,3)	26,4 (4,0)	0,556 ^a
Grupo GO (n=19)	26,3 (4,7)	26,4 (4,8)	0,653 ^a
Valor <i>p</i>	0,996 ^b	0,978 ^b	
Adequação da DCT (%)			
Grupo GC (n=18)	109,7 [95,6; 150,0]	109,9 [91,7; 156,5]	0,219 ^d
Grupo GO (n=19)	95,6 [83,3; 125,5]	100 [87,0; 138,5]	0,091 ^d
Valor <i>p</i>	0,248 ^c	0,421 ^c	
Adequação da CMB (%)			
Grupo GC (n=18)	92,1 [87,1; 100,0]	92,2 [84,7; 99,8]	0,898 ^d
Grupo GO (n=19)	89,8 [81,6; 94,5]	93,5 [82,7; 97,7]	0,828 ^d
Valor <i>p</i>	0,557 ^c	0,729 ^c	

Grupo GC= Grupo controle; Grupo GO = Grupo ômega-3; IMC = Índice de massa corporal; DCT = Dobra cutânea tricipital; CMB = Circunferência Muscular do Braço.

^a Teste T pareado

^b Teste T não pareado

^c Teste Mann Whitney

^d Teste de Wilcoxon

Valores de média (DP) ou mediana [IQR].

Tabela 3 – Valores dos marcadores de inflamação nos momentos Basal e 5 Semanas de acordo com os grupos de estudo (n=37)

Marcadores Inflamatórios	Grupos de estudo		Valor <i>p</i>
	Grupo GC	Grupo GO	
IL-1β (pg/mL)	<i>n</i> =17	<i>n</i> =18	
Basal	0 [0,00 – 0,67]	0 [0,00 – 0,83]	0,576 ^a
5 semanas	0 [0,00 – 0,06]	0 [0,00 – 1,20]	0,304 ^a
Valor <i>p</i>	0,380 ^b	0,837 ^b	
IL-6 (pg/mL)	<i>n</i> =16	<i>n</i> =19	
Basal	1,20 [0,67-1,9]	2,06 [0,46-3,92]	0,371 ^a
5 semanas	1,42 [0,26-2,40] ^a	2,36 [1,45-4,18]	0,109 ^a
Valor <i>p</i>	0,589 ^b	0,533 ^b	
IL-8 (pg/mL)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	
Basal	22,44 [11,28-39,21]	14,95 [10,24-63,80]	0,950 ^a
5 semanas	11,67 [5,33-24,87]	22,82 [11,90-56,17]	0,038* ^a
Valor <i>p</i>	0,058 ^b	0,215 ^b	
IL-10 (pg/mL)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	
Basal	0,35[0,20-0,52]	0,47[0,31-0,84]	0,223 ^a
5 semanas	0,28[0,18-0,37]	0,54[0,22-0,79]	0,082 ^a
Valor <i>p</i>	0,586 ^b	0,663 ^b	
IL-12 (pg/mL)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	
Basal	0 [0,00-0,00]	0 [0,00-0,10]	0,261 ^a
5 semanas	0 [0,00 – 0,00]	0,01[0,00-0,07]	0,027* ^a
Valor <i>p</i>	0,200 ^b	0,786 ^b	
TNF-α	<i>n</i> =17	<i>n</i> =18	
Basal	0,28 [0,00-0,97]	0,54[0,00-0,90]	0,498 ^a
5 semanas	0,00 [0,00-0,40]	0,41[0,00-0,72]	0,147 ^a
Valor <i>p</i>	0,064 ^b	0,183 ^b	
PGE2 (pg/mL)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	
Basal	5,77[0,23-8,01]	5,96[0,35-8,00]	0,752 ^a
5 semanas	5,87[0,28-9,75]	5,72[1,30-8,35]	0,887 ^a
Valor <i>p</i>	0,223 ^b	0,266 ^b	
PCR (mg/L)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	
Basal	7,65[2,40-23,70]	3[2,20-7,90]	0,164 ^a
5 semanas	2,60[1,80-5,60]	2,95[1,70-3,90]	0,882 ^a
Valor <i>p</i>	0,076 ^b	0,407 ^b	
Albumina	<i>n</i> =17	<i>n</i> =18	
Basal	3,86(0,22) ^b	3,90(0,26)	0,657 ^c
5 semanas	3,87(0,38)	3,69(0,53)	0,285 ^c
Valor <i>p</i>	0,350 ^b	0,244 ^b	

Abreviações: IL-1β – Interleucina-1 beta; IL-6 – Interleucina-6; IL-8 – Interleucina-8; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; TNF-α – Fator de Necrose Tumoral alfa; PGE2 – Prostaglandina E 2; PCR – Proteína C-reativa; Grupo GC - Grupo controle; Grupo GO - Grupo ômega-3.

^a Teste de Mann Whitney;

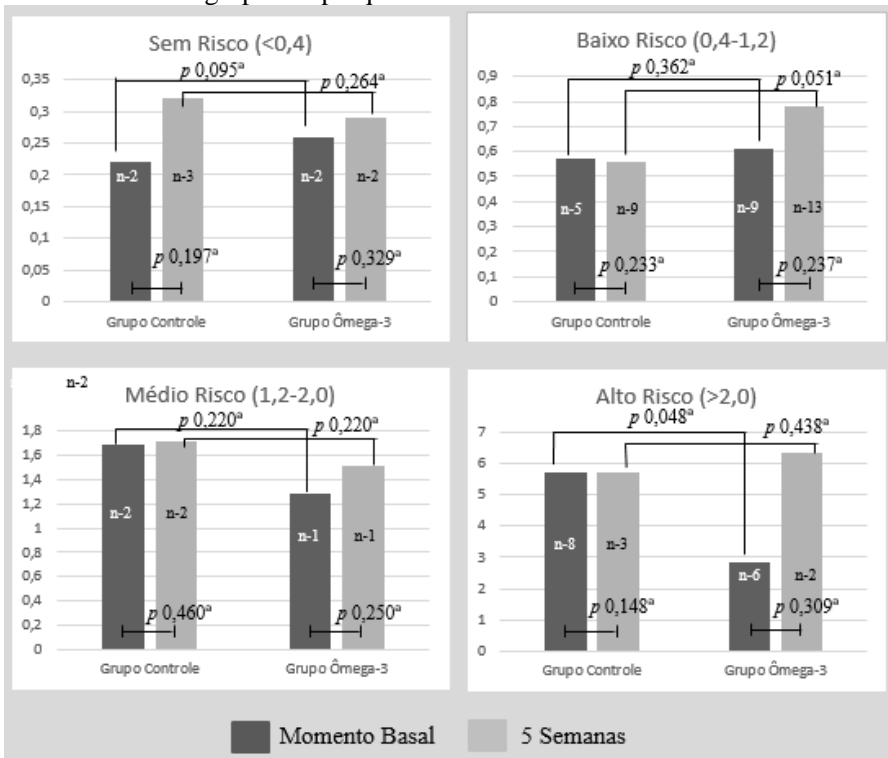
^b Teste de Wilcoxon;

^c Teste t não pareado

*Valor de *p*<0,05

Valores de média (DP) ou mediana [IQR].

Figura 2 – Relação PCR/Albumina nos momentos Basal e 5 Semanas de acordo com os grupos de pesquisa



PCR – Proteína C-reativa

^aTeste t não pareado

Tabela 4 – Diferença da mediana dos momentos Basal e 5 Semanas dos marcadores de inflamação de acordo com a localização do tumor nos grupos de pesquisa – GC vs GO (n=37)

Var	Localização do tumor					
	Colorretal (n=30)			Gástrico (n=7)		
	Grupo GC (n=14)	Grupo GO (n=16)	<i>P</i>	Grupo GC (n=4)	Grupo GO (n=3)	<i>P</i>
IL-1β (pg/mL)	0,00[-0,6;0,00]	0[0,00;0,34]	0,241 ^a	0[-0,48;0,06]	-0,42[0,83;0,29]	0,275 ^a
IL-6 (pg/mL)	0,14[-0,86;1,12]	0,11[-1,78;2,44]	0,908 ^a	0,76[-0,97;2,75]	1,54[-0,38;1,76]	0,827 ^a
IL-8 (pg/mL)	-4,66[-21,66;-0,04]	-4,23[-33,14;3,20]	0,713 ^a	-1,88[-13,10;8,81]	-28,86[-99,93;-2,84]	0,157 ^a
IL-10 (pg/mL)	-0,04[-0,24;0,12]	0,08[-0,12;0,39]	0,150 ^a	0,02[-0,10;0,26]	-0,41[-1,45;0,12]	0,289 ^a
IL-12 (pg/mL)	0[-0,02;0,00]	0[-0,04;0,02]	0,600 ^a	0[0,00;0,00]	0,01[0,00;0,18]	0,078 ^a
TNF-α	-0,14[-0,47;0,00]	0[-0,94;0,41]	0,827 ^a	-0,57[-0,97;0,00]	0[-0,68;0,07]	0,376 ^a
PGE2 (pg/mL)	0,18[-0,23;1,02]	0,53[-0,62;3,27]	0,679 ^a	0,56[-0,20;2,50]	0,15[0,02;0,32]	1,000 ^a
PCR (mg/L)	-5,5[-16,8;0,2]	0,40[-3,2;0,90]	0,058 ^a	1,0[-0,55;9,0]	-5,3[-7,8;-0,60]	0,077 ^a
Albumina	0,15[-0,05;0,35]	0[-0,3;0,20]	0,171 ^b	0,15[-0,50;0,10]	-0,40[-1,40;-0,10]	0,289 ^b

Abreviações: IL-1β – Interleucina-1 beta; IL-6 – Interleucina-6; IL-8 – Interleucina-8; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; TNF-α – Fator de Necrose Tumoral alfa; PGE2 - Prostaglandina E 2; PCR – Proteína C-reativa; Grupo GC - Grupo controle; Grupo GO - Grupo ômega-3.

^a Teste de Mann Whitney

^b Teste de Wilcoxon

Valores de mediana [IQR]

Tabela 5 – Valores dos marcadores de inflamação de acordo com o estadiamento do tumor nos grupos de pesquisa – GC vs GO (n=37) (Continua)

Marcadores Inflamatórios	Estadiamento 3		Valor p	Estadiamento 4		Valor p
	Grupo GC	Grupo GO		Grupo GC	Grupo GO	
IL-1 β (pg/mL)	10	8		5	6	
Basal	0[0,00;0,00]	0[0,00;1,97]		0,48[0,0 0;0,78]	0,21[0,00;0,47]	
5 semanas	0[0,00;0,05]	0,91[0,26;1, 30]		0,00[0,0 0;0,34]	0[0,00;0,00]	
Δ média	0,00	0,06		-0,48	0	
Valor p	0,605 ^b	0,583 ^b	0,506 ^a	0,201 ^b	0,963 ^b	0,702 ^a
IL-6 (pg/mL)	9	8		4	5	
Basal	1,17[0,61;1,28]	0,75[0,44;2, 14]		1,85[1,4 2;2,44]	3,98[3,12;4,46]	
5 semanas	0,55[0,26;1,42]	3,17[2,67;6, 91]		3,61[2,3 4;5,08]	1,91[1,25;3,00]	
Δ média	0,00	2,44		1,89	-1,10	
Valor p	0,726 ^b	0,015 ^{*b}	0,021 ^{*a}	0,125 ^b	0,437 ^b	0,033 ^{*a}
IL-8 (pg/mL)	11	5		5	4	
Basal	18,95[11,62;32, ,86]	12,88[10,25; 14,48]		31,41[11 ,59;39,2 1]	18,02[17,06;40 ,91]	
5 semanas	12,94[5,30;27, 25]	13,69[10,99; 17,06]		17,55[8, 12;24,81]	11,90[11,54;21 ,28]	
Δ média	-5,84	2,64		-3,47	-6,84	
Valor p	0,240 ^b	0,625 ^b	0,315 ^a	0,312 ^b	0,125 ^b	0,555 ^a
IL-10 (pg/mL)	11	8		5	6	
Basal	0,25[0,19;0,44]	0,32[0,12;0, 43]		0,34[0,3 2;0,52]	0,77[0,56;0,97]	
5 semanas	0,32[0,20;0,37)	0,40[0,27;0, 75]		0,27[0,2 0;0,28]	0,83[0,44;1,30]	
Δ média	0,08	0,13		-0,07	0,16	
Valor p	0,500 ^b	0,250 ^b	0,386 ^a	0,812 ^b	0,578 ^b	0,855 ^a
IL-12 (pg/mL)	11	7		5	6	
Basal	0[0,00;0,00]	0[0,00;0,17]		0[0,00;0, 00]	0[0,00;0,04]	
5 semanas	0[0,04;0,00]	0[0,00;0,09]		0[0,00;0, 00]	0,01[0,00;0,02]	
Δ média	0,00	0,00		0	0,01	
Valor p	0,583 ^b	0,583 ^b	0,766 ^a	0,573 ^b	0,855 ^b	0,290 ^a
TNF- α	10	8		5	6	
Basal	0[0,00;0,94]	0,03[0,00;1, 29]		0,48[0,2 8;97]	0,54[0,14;0,81]	
5 semanas	0,20[0,00;0,80]	0,60[0,44;0, 96]		0[0,00;0, 38]	0,08[0,00;0,28]	

Tabela 5 – Valores dos marcadores de inflamação de acordo com o estadiamento do tumor nos grupos de pesquisa – GC vs GO (n=37) (Conclusão)

Marcadores Inflamatórios	Estadiamento 3			Estadiamento 4		
	Grupo GC	Grupo GO	Valor p	Grupo GC	Grupo GO	Valor p
<i>Δ média</i>	0,00	0,33		-0,48	-0,27	
<i>Valor p</i>	0,262 ^b	0,932 ^b	0,369 ^a	0,125 ^b	0,201 ^b	0,855 ^a
PGE2 (pg/mL)	11	7		5	5	
Basal	5,67[0,21;7,13]	0,46[0,10;1,13]		6,05[5,9;6,11,84]	6,55[0,15;8,03]	
5 semanas	5,61[0,85;7,90]	1,26[1,11;1,81]		9,75[9,0;10,72]	6,47[3,85;7,22]	
<i>Δ média</i>	-0,34	0,53		0,36	0,15	
<i>Valor p</i>	0,262 ^b	0,687 ^b	0,821 ^a	0,437 ^b	0,812 ^b	0,465 ^a
PCR (mg/L)	9	7		4	5	
Basal	8,30[2,40;13,30]	2,60[2,20;3,00]		3,10[1,5;3,19,65]	7,90[7,70;10,8]	
5 semanas	2,30[1,80;3,0]	3,90[3,05;5,15]		4,35[2,7;5,9,80]	2,60[1,70;3,00]	
<i>Δ média</i>	-1,90	0,9		0,50	-5,3	
<i>Valor p</i>	0,097 ^b	0,015 ^{*b}	0,027 ^{*a}	0,562 ^b	0,062 ^b	0,221 ^a
Albumina	8	7		4	5	
Basal	3,90[3,70;3,90]	3,9[3,85;4,15]		3,60[3,3;3,88]	3,50[3,40;3,80]	
5 semanas	3,90[3,88;4,00]	3,70[3,30;3,90]		3,50[3,2;3,68]	3,40[3,00;3,50]	
<i>Δ média</i>	0,10	-0,40		-0,10	-0,10	
<i>Valor p</i>	0,338 ^b	0,141 ^b	0,094 ^b	0,625 ^b	0,593 ^b	0,702 ^b

Abreviações: IL-1β – Interleucina-1 beta; IL-6 – Interleucina-6; IL-8 – Interleucina-8; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; TNF-α – Fator de Necrose Tumoral alfa; PGE2 - Prostaglandina E 2; PCR – Proteína C-reativa; Grupo GC - Grupo controle; Grupo GO - Grupo Ômega-3. Δ média – Diferença de mediana.

^a Teste de Mann Whitney

^b Teste de Wilcoxon

*Valor de $p < 0,05$

Valores de mediana [IQR]

DISCUSSÃO

De acordo com os nossos resultados, o AGPI n-3 conduziu a uma diminuição significativa da IL-6 (p 0,033) em cinco semanas de suplementação nos indivíduos com estadiamento 4 de câncer gástrico e colorretal. Resultados se assemelham ao presente estudo quanto aos efeitos do AGPI n-3 na resposta inflamatória em pacientes com câncer gástrico, em que apresentaram após a suplementação, níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-6 significativamente menores no grupo experimental em comparação com o grupo controle (15). Igualmente, ensaios com câncer colorretal relataram redução da IL-6 com a suplementação de AGPI n-3 quando comparados ao placebo (16-18), entretanto, nenhum dos estudos relatados abordam a comparação com o estadiamento do tumor.

Nossos resultados abordam uma das primeiras investigações relacionando os efeitos do AGPI n-3 nos marcadores de inflamação em pacientes oncológicos segundo o estadiamento do tumor, conferindo ao AGPI n-3 capacidade de redução de agentes pró-inflamatórios e, promoção da síntese da citocina anti-inflamatória (IL-10) nos pacientes com estadiamento IV do câncer gástrico e colorretal. A nossa hipótese é que a administração do AGPI n-3 apresenta atuação mais eficaz nos marcadores de inflamação em indivíduos mais graves, enquanto outros ácidos graxos insaturados atuam positivamente em indivíduos com menor gravidade.

Estudo randomizado em pacientes com câncer gástrico e colorretal que receberam emulsão lipídica intravenosa enriquecida com AGPI n-3, e óleo de soja no grupo controle, por via parenteral não diferiram nos marcadores pró-inflamatórios entre os grupos, todavia nos pacientes com estresse grave, houve um efeito atenuante da inflamação com o AGPI n-3 (19). A nutrição parenteral contendo emulsão de óleo de peixe em pacientes após ressecção cirúrgica do câncer gástrico diminuiu ainda, os níveis de marcadores inflamatórios em comparação com o grupo controle em outro estudo que não diferenciou estadiamento ou gravidade da doença (20). Investigações com a suplementação oral de óleo de peixe nos marcadores inflamatórios em pacientes com câncer gástrico e colorretal (16-18, 21) e que não apresentaram alteração desses marcadores entre os grupos de estudo, igualmente não realizaram comparações quanto ao estadiamento. Já a suplementação do AGPI n-3 em outras localizações de tumor em estágio 3, indicou menor produção de IL-6 em comparação ao grupo controle não suplementado com EPA e DHA (22).

A IL-6 tem sido diretamente associada ao câncer e as doenças inflamatórias intestinais, desempenhando um papel crítico na modulação da inflamação intestinal e na regulação da permeabilidade intestinal (23). Evidências sugerem que esta citocina possa regular a gravidade das doenças inflamatórias (24, 25) e o aumento do nível da expressão da IL-6 pode estar relacionado com baixa função de barreira intestinal (26-28).

O grupo controle, nesta pesquisa, apresentou diminuição significativa das citocinas IL-8 (p 0,038) e IL-12 (p 0,027) na quinta semana de suplementação em comparação com o GO. Esse grupo, que recebeu o azeite de oliva apresentou redução das citocinas pró-inflamatórias e elevação da IL-10 no estadiamento III da doença.

Nas doenças inflamatórias intestinais e no câncer, a IL-8 é produzida principalmente na lâmina própria do cólon, trata-se de uma das citocinas pró-inflamatórias mais importantes na carcinogênese intestinal (29, 30). Desta forma, agentes nutricionais que inibem a síntese de IL-8 são terapêuticos promissores para estes pacientes. Foi observada redução média da IL-8 no grupo ômega-3 no estadiamento IV, esses resultados sustentam as hipóteses benéficas da suplementação do AGPI n-3 para o paciente grave, enquanto o azeite de oliva mostra-se eficaz no estágio III.

Do mesmo modo, a IL-12 atua como um quimioatraente de macrófagos (33) e os altos níveis sistêmicos desta interleucina contribuem com a resposta das células Th1 associada ao tumor (34). Apesar de significativa redução da IL-12 no GC quando comparada ao GO, as variações médias observadas foram relativamente baixas não garantindo que essa redução seja de valia para o curso clínico no câncer gástrico ou colorretal (Δ média = 0,01). A produção de IL-12, assim como de outras citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e receptores de quimiocinas é inibida pela IL-10 (33). Nossos resultados apresentaram aumento médio dos marcadores de IL-10 no grupo ômega-3 e redução média no grupo controle nas cinco semanas de estudo, achado que sugere a ação anti-inflamatória em curto período de tempo de AGPI n-3. Do mesmo modo, Wang et al., 2015 observaram elevação significativa no nível de IL-10 em paciente suplementado com AGPI n-3 em comparação ao placebo.

O azeite de oliva, por se tratar de um ácido graxo monoinsaturado, se assemelha ao ácido graxo poli-insaturado quanto à atuação no processo inflamatório (35, 36). Assim, no presente estudo o azeite de oliva não se comportou como placebo uma vez que não foi neutro quanto aos efeitos metabólicos. Todavia, a escolha por azeite de oliva como placebo justifica-se a partir do cálculo do índice inflamatório

e dietético de diversos óleos vegetais desenvolvido por Cavicchia et al (2009) (37) e realizado por Mocellin 2015 (38), no qual, assume-se que os nutrientes geram um índice que pode assumir um valor médio negativo (pró-inflamatório) ou positivo (anti-inflamatório), com maior potencial quanto mais afastado do valor zero forem. Os óleos de soja, milho, girassol e oliva foram comparados com o suplemento de AGPI n-3, e apresentaram valores: -2,36, -4,19, -4,47 e -2,34 respectivamente, ou seja, todos os óleos descritos apresentam potencial pró-inflamatório (índice negativo). Todavia, o azeite de oliva foi o óleo com o menor potencial pró-inflamatório sendo ainda, o óleo com a menor proporção de AGPI n-6, o qual compete com AGPI n-3 pelas reações bioquímicas.

Achados na literatura, entretanto, ratificam os benefícios do azeite de oliva nos marcadores de inflamação, porém, em doenças de menor gravidade quando comparadas ao câncer (39-43), como na doença inflamatória intestinal, ou ainda, em população saudável (44-52).

No presente estudo, ocorreu reclassificação no risco nutricional e inflamatório no número de indivíduos em ambos os grupos (do alto risco para sem e baixo risco), realizado através da relação PCR/Albumina. Quando analisado de forma isolada os marcadores PCR e Albumina, houve aumento significativo da PCR no GO no estadiamento 3 do câncer, entretanto, redução média nesse mesmo grupo no estadiamento IV, sendo provavelmente esse o fator que conseguiu proporcionar a reclassificação no risco nesse grupo. Já o GC apresentou redução significativa da PCR comparada ao grupo ômega-3 exclusivamente no estágio 3. Ensaio clínico utilizando o azeite de oliva como placebo na avaliação dos efeitos do AGPI n-3 sobre marcadores de inflamação (53) relatou diminuição significativa da PCR no grupo suplementado com AGPI n-3. Além disso, estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa encontraram diferenças no comportamento da PCR, com redução no grupo suplementado com ômega-3 e aumento no grupo controle (10, 54). Em nenhum dos estudos citados foram observados os estadiamento do tumor para estes resultados.

Para compreensão dos resultados e dos múltiplos mecanismos que influenciam o papel dos ácidos graxos no processo inflamatório deve-se considerar especificidades inerentes à pesquisa, incluindo a dose e o tempo de suplementação, adesão e absorção dos compostos além das características dos indivíduos. Até o momento, não existe uma recomendação com evidência suficiente sobre a dosagem e tempo de suplementação de AGPI n-3 para indivíduos em quimioterapia com câncer gástrico e colorretal. Nesta pesquisa, 1,5 g de AGPI n-3 em cinco

semanas reduziu estatisticamente a IL-6, além das médias dos marcadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-8, TNF- α , PGE2, PCR) em pacientes oncológicos com estadiamento 4. Estudos observaram modulação benéfica da inflamação em pacientes com câncer gastrointestinal suplementados com AGPI n-3 num tempo inferior (cinco dias) (17), entretanto não estavam em tratamento quimioterápico; outra análise com suplementação em curto prazo (48h) de AGPI n-3 suprimiu a expressão de TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8 em indivíduos saudáveis (55); e ainda, indivíduos saudáveis suplementados por 120 dias com DHA apresentaram diminuição da concentração de ácido araquidônico (AA) de 19,8% para 10,7%, além de reduzir a produção de PGE2, leucotrieno B4 (LTB4) e a secreção *in vitro* de IL-1 β e TNF- α (56).

A adequada absorção e adesão celular do ácido graxo são fundamentais para o processo de sinalização lipídica e formação de moléculas inflamatórias. Damsgaard et al., 2008 (57) propuseram que EPA e DHA são totalmente aderidos às células após a ingestão de cinco mililitros de óleo de peixe/dia por oito semanas. Contudo, 2g/dia de óleo de peixe durante 9 semanas foi suficiente para alterar a composição de ácidos graxos dos constituintes lipídicos plasmáticos em pacientes com câncer colorretal (54) num estudo com desenho semelhante ao nosso.

A diferença de idade entre os grupos deve ser considerada nestes desfechos. O grupo que recebeu como suplemento o azeite de oliva era mais jovem que o grupo que recebeu intervenção com óleo de peixe. A faixa etária pode influenciar, não apenas a absorção lipídica como o transcorrer natural do sistema imunológico. Tem-se conhecimento que as alterações no sistema imunológico apresentam uma correlação inversa com a idade, com efeitos mais nítidos de dificuldade do retorno a homeostase em pessoas com idade mais avançada (58). A progressão da idade pode estar associada ao aumento dos níveis de cortisol e redução dos níveis de d-hidro-epiandrosterona (DHEA), como consequência desse desequilíbrio há indução da produção de IL-6 e TNF- α , além da diminuição da atividade das células NK (59, 60). A IL-6 já foi mencionada como a citocina das gerontologias e é comparável a PCR quanto ao risco de mortalidade (61). Adicionalmente, os receptores TLR, componente crítico promotor de câncer gástrico derivado do *H. pylori*, são alterados substancialmente em indivíduos idosos levando a suscetibilidade aumentada a infecções (62). A ingestão alimentar e/ou adesão celular pode ainda ser

prejudicada na população mais idosa devido à presença comum de doenças crônicas.

Este estudo apresenta como pontos fortes: a) a originalidade e precaução em avaliar o AGPI n-3 segundo o estadiamento do tumor, trazendo um novo olhar para a questão; e b) Somado a possibilidade de validação e extrapolação dos dados encontrados para a população com câncer gástrico e colorretal elegível.

Algumas limitações devem ser observadas: a) o placebo utilizado apresenta em sua composição ácidos graxos monoinsaturados não sendo totalmente adequadas para estudos que avaliam desfechos de inflamação e, portanto, não apresentou características de placebo, apesar do menor valor quando calculado o índice inflamatório de diversos óleos e menor proporção n-6:n-3; b) Os grupos do estudo eram diferentes quanto a idade, para tanto, recomenda-se que, em futuras investigações, a idade seja considerada na randomização dos grupos; e c) Ainda, as diferenças metodológicas nos estudos com o mesmo tema limitam a comparação dos nossos resultados com outras pesquisas e, conseqüentemente, chegar a uma conclusão sobre a evidência apresentada.

Com base nos resultados encontrados e nas investigações acima mencionadas, sugere-se que estudos futuros avaliem a viabilidade destes óleos comparando seus efeitos em diferentes gravidades de inflamação e estadiamento do tumor, esperando que os resultados encontrados com o óleo de peixe sejam uma alternativa adjuvante no tratamento àqueles pacientes mais grave. Sugere-se a condução de novas investigações sobre o efeito do AGPI n-3 no carcinoma gástrico e colorretal com tratamento quimioterápico e em especial considerando-se diferentes estadiamento do tumor.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, conclui-se que a administração em 5 semanas de ácidos graxos poli-insaturados (1,5 g de EPA+DHA) oriundos da ingestão diária de 2 g/dia de óleo de peixe diminuiu citocinas pró-inflamatórias no estadiamento IV do tumor (gástrico e colorretal) e que a suplementação de 2 g/dia de azeite de oliva, diminuiu as citocinas pró-inflamatórias no estadiamento III. Assim, sugere-se que a potencial ação terapêutica dos ácidos graxos insaturados está relacionada ao estadiamento da doença.

RECONHECIMENTOS

- ✓ À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (Capes);
- ✓ Ao Centro de pesquisas oncológicas (Cepon);
- ✓ À Empresa Tiaraju®, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil;
- ✓ Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (PPGN/UFSC)
- ✓ Ao Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU);
- ✓ Ao Laboratório de Investigação em Doenças Crônicas do Centro de Ciência Biológicas (CCB/UFSC).

CONFLITO DE INTERESSES

Não há conflitos de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Koong AC, Denko NC, Hudson KM, Schindler C, Swiersz L, Koch C, et al. Candidate genes for the hypoxic tumor phenotype. *Cancer research*. 2000;60(4):883-7.
2. Kuraishy A, Karin M, Grivennikov SI. Tumor promotion via injury- and death-induced inflammation. *Immunity*. 2011;35(4):467-77.
3. Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer cell*. 2005;7(3):211-7.
4. Algul H, Treiber M, Lesina M, Schmid RM. Mechanisms of disease: chronic inflammation and cancer in the pancreas--a potential role for pancreatic stellate cells? *Nature clinical practice Gastroenterology & hepatology*. 2007;4(8):454-62.

5. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition*. 2002;21(6):495-505.
6. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et biophysica acta*. 2015;1851(4):469-84.
7. Rakheja D, Kapur P, Hoang MP, Roy LC, Bennett MJ. Increased ratio of saturated to unsaturated C18 fatty acids in colonic adenocarcinoma: implications for cryotherapy and lipid raft function. *Medical hypotheses*. 2005;65(6):1120-3.
8. Neergheen VS, Bahorun T, Taylor EW, Jen LS, Aruoma OI. Targeting specific cell signaling transduction pathways by dietary and medicinal phytochemicals in cancer chemoprevention. *Toxicology*. 2010;278(2):229-41.
9. HOCHMAN Bea. Research designs. *Acta Cir Bras*. 2005;20(2):2-9.
10. Silva Jde A, Trindade EB, Fabre ME, Menegotto VM, Gevaerd S, Buss Zda S, et al. Fish oil supplement alters markers of inflammatory and nutritional status in colorectal cancer patients. *Nutrition and cancer*. 2012;64(2):267-73.
11. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Incidência do câncer no Brasil. 2016;Rio de Janeiro(INCA).
12. Côrrea CRA, Aparecida Yooko Outa; Camargo, Nádia dos Reis; Barbosa, Luciano; Burini, Roberto Carlos. Comparação entre a relação PCR/albumina e o índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN). *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2002;38(3):183-90.
13. Lohman TG RA, Martorell. *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics. 1988.
14. Frisancho AR. Introduction. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 1990;2(6):599-601.
15. Wang D, Zhang H, Zhang Y, Li W, Sun X, Xing Y, et al. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on postoperative inflammatory reaction and clinical efficacy. *Zhonghua wei chang wai ke za zhi = Chinese journal of gastrointestinal surgery*. 2015;18(7):651-5.
16. Braga M, Gianotti L, Vignali A, Carlo VD. Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. *Surgery*. 2002;132(5):805-14.

17. Matsuda A, Furukawa K, Takasaki H, Suzuki H, Kan H, Tsuruta H, et al. Preoperative oral immune-enhancing nutritional supplementation corrects TH1/TH2 imbalance in patients undergoing elective surgery for colorectal cancer. *Diseases of the colon and rectum*. 2006;49(4):507-16.
18. Zhu MW, Tang DN, Hou J, Wei JM, Hua B, Sun JH, et al. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on elderly patients after colorectal cancer surgery. *Chinese medical journal*. 2012;125(2):178-81.
19. Ma CJ, Wu JM, Tsai HL, Huang CW, Lu CY, Sun LC, 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*. 2015;14:9.
20. Wei Z, Wang W, Chen J, Yang D, Yan R, Cai Q. 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*. 2014;13:25.
21. Calder PC. Dietary modification of inflammation with lipids. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2002;61(3):345-58.
22. van der Meij BS, Langius JA, Smit EF, Spreeuwenberg MD, von Blomberg BM, Heijboer AC, et al. Oral nutritional supplements containing (n-3) polyunsaturated fatty acids affect the nutritional status of patients with stage III non-small cell lung cancer during multimodality treatment. *The Journal of nutrition*. 2010;140(10):1774-80.
23. Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature reviews Immunology*. 2014;14(5):329-42.
24. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature reviews Immunology*. 2014;14(3):141-53.
25. Al-Sadi R, Ye D, Dokladny K, Ma TY. Mechanism of IL-1beta-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *Journal of immunology*. 2008;180(8):5653-61.
26. Ding L, Lu Z, Foreman O, Tatum R, Lu Q, Renegar R, et al. Inflammation and disruption of the mucosal architecture in claudin-7-deficient mice. *Gastroenterology*. 2012;142(2):305-15.
27. Suzuki T, Yoshinaga N, Tanabe S. Interleukin-6 (IL-6) regulates claudin-2 expression and tight junction permeability in intestinal epithelium. *The Journal of biological chemistry*. 2011;286(36):31263-71.

28. Park KI, Kim DG, Lee BH, Ma JY. Fermented Herbal Formulas KIOM-MA128 Ameliorate IL-6-Induced Intestinal Barrier Dysfunction in Colon Cancer Cell Line. Mediators of inflammation. 2016;2016:6189590.
29. Daig R, Andus T, Aschenbrenner E, Falk W, Scholmerich J, Gross V. Increased interleukin 8 expression in the colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. Gut. 1996;38(2):216-22.
30. Mazzucchelli L, Bacchi M, Studer UE, Markwalder R, Sonntag RW, Kraft R. Invasion depth is the most important prognostic factor for transitional-cell carcinoma in a prospective trial of radical cystectomy and adjuvant chemotherapy. International journal of cancer. 1994;57(1):15-20.
31. Fredriksson K, Lundahl J, Palmberg L, Romberger DJ, Liu XD, Rennard SI, et al. Red blood cells stimulate human lung fibroblasts to secrete interleukin-8. Inflammation. 2003;27(2):71-8.
32. Bhattacharyya A, Pathak S, Datta S, Chattopadhyay S, Basu J, Kundu M. Mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappaB regulate Helicobacter pylori-mediated interleukin-8 release from macrophages. The Biochemical journal. 2002;368(Pt 1):121-9.
33. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: receptors, functions, and roles in diseases. The Journal of allergy and clinical immunology. 2011;127(3):701-21 e1-70.
34. Vayrynen E, Nojonen K, Vipin A, Thow XY, Al-Nashash H, Kortelainen J, et al. Automatic Parametrization of Somatosensory Evoked Potentials With Chirp Modeling. IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering : a publication of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2016;24(9):981-92.
35. Menendez JA, Ropero S, Lupu R, Colomer R. Dietary fatty acids regulate the activation status of Her-2/neu (c-erbB-2) oncogene in breast cancer cells. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2004;15(11):1719-21.
36. Zibera L, Samec D, Mocan A, Nabavi SF, Bishayee A, Farooqi AA, et al. Oleanolic Acid Alters Multiple Cell Signaling Pathways: Implication in Cancer Prevention and Therapy. International journal of molecular sciences. 2017;18(3).
37. Cavicchia PP, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, Ma Y, Ockene IS, et al. A new dietary inflammatory index predicts interval changes in serum high-sensitivity C-reactive protein. The Journal of nutrition. 2009;139(12):2365-72.

38. Mocellin MC, Trindade EBSM. Suplementação de óleo de peixe em câncer colorretal: Efeitos sobre a resposta inflamatória, o estado nutricional, o perfil de ácidos graxos plasmáticos e a tolerância à quimioterapia. [dissertação] 2012:130.
39. Alarcon de la Lastra C, Barranco MD, Motilva V, Herrerias JM. Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil. *Current pharmaceutical design*. 2001;7(10):933-50.
40. Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis*. 2007;190(1):181-6.
41. Moreno-Luna R, Munoz-Hernandez R, Miranda ML, Costa AF, Jimenez-Jimenez L, Vallejo-Vaz AJ, et al. Olive oil polyphenols decrease blood pressure and improve endothelial function in young women with mild hypertension. *American journal of hypertension*. 2012;25(12):1299-304.
42. Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, Romero-Mamani ES, Valderas-Martinez P, Arranz S, et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacological research*. 2012;65(6):577-83.
43. Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, Romero-Mamani ES, Valderas-Martinez P, Salas-Salvado J, et al. The Mediterranean diet pattern and its main components are associated with lower plasma concentrations of tumor necrosis factor receptor 60 in patients at high risk for cardiovascular disease. *The Journal of nutrition*. 2012;142(6):1019-25.
44. de Lorgeril M, Salen P. Mediterranean type of diet for the prevention of coronary heart disease. A global perspective from the seven countries study to the most recent dietary trials. *International journal for vitamin and nutrition research Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernährungsforschung Journal international de vitaminologie et de nutrition*. 2001;71(3):166-72.
45. Singh RB, Dubnov G, Niaz MA, Ghosh S, Singh R, Rastogi SS, et al. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomised single-blind trial. *Lancet*. 2002;360(9344):1455-61.
46. Stark A, Madar Z. Phytoestrogens: a review of recent findings. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2002;15(5):561-72.
47. Mitrou PN, Kipnis V, Thiebaut AC, Reedy J, Subar AF, Wirfalt E, et al. Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause

mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Archives of internal medicine*. 2007;167(22):2461-8.

48. Shen J, Wilmut KA, Ghasemzadeh N, Molloy DL, Burkman G, Mekonnen G, et al. Mediterranean Dietary Patterns and Cardiovascular Health. *Annual review of nutrition*. 2015;35:425-49.

49. Turati F, Pelucchi C, Galeone C, Praud D, Tavani A, La Vecchia C. Mediterranean diet and non-fatal acute myocardial infarction: a case-control study from Italy. *Public health nutrition*. 2015;18(4):713-20.

50. Berrino F. Mediterranean Diet and Its Association With Reduced Invasive Breast Cancer Risk. *JAMA oncology*. 2016;2(4):535-6.

51. Hoffmann G, Schwingshackl L. Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil reduces the incidence of invasive breast cancer in a randomised controlled trial. *Evidence-based medicine*. 2016;21(2):72.

52. Cardeno A, Sanchez-Hidalgo M, Alarcon-de-la-Lastra C. An up-date of olive oil phenols in inflammation and cancer: molecular mechanisms and clinical implications. *Current medicinal chemistry*. 2013;20(37):4758-76.

53. Svensson M, Schmidt EB, Jorgensen KA, Christensen JH. The effect of n-3 fatty acids on lipids and lipoproteins in patients treated with chronic haemodialysis: a randomized placebo-controlled intervention study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2008;23(9):2918-24.

54. Mocellin MC, Pastore e Silva Jde A, Camargo Cde Q, Fabre ME, Gevaerd S, Naliwaiko K, 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):879-88.

55. Mayer K, Meyer S, Reinholz-Muhly M, Maus U, Merfels M, Lohmeyer J, et al. Short-time infusion of fish oil-based lipid emulsions, approved for parenteral nutrition, reduces monocyte proinflammatory cytokine generation and adhesive interaction with endothelium in humans. *Journal of immunology*. 2003;171(9):4837-43.

56. Kelley AE. Functional specificity of ventral striatal compartments in appetitive behaviors. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;877:71-90.

57. Damsgaard CT, Frokiaer H, Lauritzen L. The effects of fish oil and high or low linoleic acid intake on fatty acid composition of human

- peripheral blood mononuclear cells. *The British journal of nutrition*. 2008;99(1):147-54.
58. A. ED. Imunossenescência: as alterações do sistema imunológico provocadas pelo envelhecimento. *Rev Hosp Um Pedro Ernesto*. 2008;7(1).
59. Bauer ME. Stress, glucocorticoids and ageing of the immune system. *Stress*. 2005;8(1):69-83.
60. Trzonkowski P, Mysliwska J, Godlewska B, Szmit E, Lukaszuk K, Wieckiewicz J, et al. Immune consequences of the spontaneous pro-inflammatory status in depressed elderly patients. *Brain, behavior, and immunity*. 2004;18(2):135-48.
61. Jylha M, Paavilainen P, Lehtimäki T, Goebeler S, Karhunen PJ, Hervonen A, et al. Interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-6, and C-reactive protein as predictors of mortality in nonagenarians: the vitality 90+ study. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2007;62(9):1016-21.
62. van Duin D, Allore HG, Mohanty S, Ginter S, Newman FK, Belshe RB, et al. Pre-vaccine determination of the expression of costimulatory B7 molecules in activated monocytes predicts influenza vaccine responses in young and older adults. *The Journal of infectious diseases*. 2007;195(11):1590-7.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Não verificamos alterações significativas nos níveis plasmáticos das citocinas avaliadas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e TNF- α) e proteínas de fase aguda (PCR e Albumina) com a suplementação de 1,5 g de EPA e DHA nos momentos do estudo, todavia, a suplementação com o óleo de peixe reduziu significativamente a IL-6 nos indivíduos com estadiamento 4 da doença, além de se mostrar promissora na redução das citocinas pró-inflamatórias e elevação da citocina anti-inflamatória nos pacientes em situação de maior agravo do câncer gástrico e colorretal.
- As intervenções ofertadas reduziram o risco de complicações inflamatórias e nutricionais avaliadas pela relação PCR/albumina, reclassificando os indivíduos de alto para sem e baixo risco, sugerindo uma possível alteração na resposta hepática relacionada à inflamação durante o tratamento e o curso da doença com a suplementação de ácidos graxos insaturados.
- O estadiamento do tumor, nunca antes considerado em ensaios semelhantes, se mostrou decisivo para a tomada de decisões clínicas referente à composição do ácido graxo insaturado a ser administrado, apresentando maior eficácia do AGPI n-3 em pacientes com maior agravo da doença.
- Os indivíduos não eram semelhantes quanto às características basais (idade) entre os grupos, podendo ocasionar vieses nos resultados.
- O tamanho da amostra apresenta boa validade externa, entretanto pode ter interferido na não significância em algumas análises.
- Ausência de estudos com as mesmas populações, situações clínicas (quimioterapia) e via de ingestão ou administração limitou a comparação dos resultados encontrados.
- Por fim, a suplementação de 2 g/dia de óleo de peixe em pacientes portadores de câncer gástrico e colorretal em quimioterapia durante cinco semanas parece proporcionar redução dos valores de marcadores pró-inflamatórios em pacientes mais graves exercendo potencial atividade de redução de riscos, recomendando-se que mais estudos sejam realizados nessa perspectiva, no intuito de comprovar essa hipótese.

REFERÊNCIAS

- ABE A, KUWATA T, YAMAUCHI C et al High Mobility Group Box1 (HMGB1) released from cancer cells induces the expression of pro-inflammatory cytokines in peritoneal fibroblasts. *Pathol Int* 2014; 64: 58–66.
- AC Koong, NC Denko, KM Hudson, et al. Candidate genes for hypoxic tumor phenotype. *Cancer Res*, 60 (2000), pp. 883–887
- AHMED SN, BROWN DA, LONDON E. On the origin of sphingolipid/cholesterol-rich detergent-insoluble cell membranes: physiological concentrations of cholesterol and sphingolipid induce formation of a detergent-insoluble, liquid-ordered lipid phase in model membranes. *Biochemistry*. 1997 ;36:10944– 10953
- ALARCON DE LA LASTRA C., M.D. BARRANCO, V. MOTILVA, J.M. HERRERIAS Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil. *Curr. Pharm. Des.*, 7 (2001)
- ALGÚL, H., TREIBER, M., LESINA, M., & SCHMID, R. M.. Mechanisms of disease: chronic inflammation and cancer in the pancreas—a potential role for pancreatic stellate cells? *Nature Clinical Practice. Gastroenterology & Hepatology*, 4, 454–462 (2007).
- AMERICAN CANCER SOCIETY. *Anal Cancer*. Atlanta. Última atualização: 06 janeiro 2015a. Disponível em: <<http://www.cancer.org/cancer/analcancer/detailedguide/index.htm>>. Acesso em: 15 janeiro 2016.
- ANAND P, KUNNUMAKKARA AB, C SUNDARAM, HARIKUMAR KB, THARAKAN ST, et al. O câncer é uma doença evitável que exige grandes mudanças de estilo de vida. *Pharm. Res.* 25: 2097-116. 2008.
- ARAB, L. Biomarkers of Fat and Fatty Acid Intake. *The Journal of Nutrition*, v. 133, n. 3, p. 925S-932S, mar. 2003.
- ARTERBURN LM, HALL EB, OKEN H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1467S–1476.
- B.E. Schneider, D. Korbelt, K. Hagens, M. Koch, B. Raupach, J. Enders, et al. A role for IL-18 in protective immunity against *Mycobacterium tuberculosis* *Eur J Immunol*, 40 (2010), pp. 396-405
- BALKWILL, F.; CHARLES, K.A.; MANTOVANI, A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*, v. 7, p. 211-217, 2005.

- BARONE M, NOTARNICOLA M, CARUSO MG, SCAVO MP, VIGGIANI MT, TUTINO V, POLIMENO L, PESETTI B, DI LEO A, FRANCAVILLA A. Olive oil and omega-3 polyunsaturated fatty acids suppress intestinal polyp growth by modulating the apoptotic process in ApcMin/+ mice. *Carcinogenesis*. 2014 Jul;35(7)
- BAUER, M. E. STRESS, glucocorticoids and ageing of the immune system. *Stress*, v. 8, n. 1, p. 69-83, Mar. 2005
- BEAUCHAMP, G.K.; KEAST, R.S.; MOREL, D.; LIN, J.; PIKA, J.; HAN, Q.; LEE, C.-H.; SMITH, A.B.; BRESLIN, P.A. Phytochemistry: Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature* 2005
- BELDA, M.C.R.; CAMPOS, M.A.P. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v. 11, p. 5-33, 1991.
- BERMUDEZ, B., LOPEZ, S., ORTEGA, A., VARELA, L. M., PACHECO, Y. M., et al. (2011) Oleic acid in olive oil: from a metabolic framework toward a clinical perspective. *Curr. Pharm. Des.* 17, 831–843
- BERNARDINI, E.; VISIOLI, F. High quality, good health: The case for olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2016.
- Braga M, Gianotti L, Vignali A, Carlo VD. Preoperative oral arginine and fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. *Surgery*. 2002;132:805-814. C.A. Akdis, M. Akdis. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells *J Allergy Clin Immunol*, 123 (2009), pp. 735-746 quiz 47-8
- BRAGA M, GIANOTTI L, VIGNALI A, CARLO VD. Preoperative oral arginine and fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. *Surgery*. 2002;132:805-814.
- BRASIL. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2016.
- BURDGE GC, CALDER PC. Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective. *Nutr Res Rev* 2006; 19: 26–52.
- BYERS T. Nutrition and cancer among American Indians and Alaska Natives *Cancer*, 78 (1996), pp. 1612–1616

- C.S. Hsieh, S.E. Macatonia, C.S. Tripp, S.F. Wolf, A. O'Garra, K.M. Murphy Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages *Science*, 260 (1993), pp. 547-549
- CALDER P, ZURIER R. Polyunsaturated fatty acids and rheumatoid arthritis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*.2001
- CALDER P.C. Dietary modification of inflammation with lipids. *Proc Nutr Soc* 61:345–358. 2002
- CALDER PC. Fatty acids and inflammation: the cutting edge between food and pharma. *Eur J Pharmacol* 2011; 668: S50–58.
- CALDER PC. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1505S–1519.
- 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*, n. 0, 2014.
- CALDER, P. C. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology?. *BJCP Volume 75, Issue 3 March 2013*
- CALDER, P.C. Mechanisms of Action of (n-3) Fatty Acid. *The Journal of Nutrition*, v. 142, n. 3, p. 592S-599S, mar. 2012.
- CALDER, P.C.; DECKELBAUM, R.J. Omega-3 fatty acids: time to get the message right. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, v. 11, p. 91-93, 2008.
- CALDER, PC , Fatty acids and inflammation : the forefront of food and pharmaceutical . *Eur. J. Pharmacol.* , 618 , S50 - S58 . 2011.
- CARDENO, A., MAGNUSSON, M. K., STRID, H., ALARCON DE LA LASTRA, C. et al., The unsaponifiable fraction of extra virgin olive oil promotes apoptosis and attenuates activation and homing properties of T cells from patients with inflammatory bowel disease. *Food Chem.* 2014, 161, 353–360.
- CARDENO, A., SANCHEZ-HIDALGO, M., ALARCON-DE-LA-LASTRA, C., An up-date of olive oil phenols in inflammation and cancer: molecular mechanisms and clinical implications. *Curr. Med. Chem.* 2013, 20, 4758–4776.
- CARTER, S.J.; ROBERTS, M.B.; SALTER, J.; EATON, C.B. Relationship between Mediterranean diet score and atherothrombotic risk: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), 1988–1994. *Atherosclerosis* 2010

CASAS R., SACANELLA E., URPÍ-SARDÀ M., CHIVA-BLANCH G., ROS E., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ M.-A., COVAS M.-I., LAMUELA-RAVENTOS R.M., SALAS-SALVADÓ J., FIOL M., et al. The effects of the Mediterranean diet on biomarkers of vascular wall inflammation and plaque vulnerability in subjects with high risk for cardiovascular disease. A randomized trial. *PLoS ONE*. 2014

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.

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.

DOUMAS, B. T.; WATSON, W. A.; BIGGS, H. G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta*, v. 31, n. 1, p. 87-96, Jan. 1971.

DUPERTUIS Y.M. et al (2007) Colon cancer therapy: new perspectives of nutritional manipulations using polyunsaturated fatty acids *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 10, 427- 432.

DVORAK H.F. Tumors: wounds that do not heal *N Engl J Med*, 315 (1986), pp. 1650–1659

EBBEN J.D., D.M. TREISMAN, M. ZORNIAC, R.G. KUTTY, P.A. CLARK, J.S. KUO The cancer stem cell paradigm: a new understanding of tumor development and treatment *Expert Opin. Ther. Targets*, 14 (2010), pp. 621–632;

ELVEVOLL E.O., H. BARSTAD, E.S. BREIMO, J. BROX, K.E. EILERTSEN, T. LUND, J.O. OLSEN, B. OSTERUD. Enhanced incorporation of n-3 fatty acids from fish compared with fish oils *Lipids*, 41 (2006), pp. 1109–1114

ESQUENAZI D. A. Imunossenescência: as alterações do sistema imunológico provocadas pelo envelhecimento. *Rev Hosp Um Pedro Ernesto*. Vol.7, n.1 Jan/Jun 2008

Mediterranean diet on heart failure biomarkers: A randomized sample from the PREDIMED trial. *Eur. J. Heart Fail*. 2014

FJ LEJEUNE, C RUEGG, D LIENARD. Clinical applications of TNF-a in cancer. *Curr Opin Immunol*, 10 (1998), pp. 573–580

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.

FRANCISCO G, HERNÁNDEZ C, SIMÓ R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. *Clin Chim Acta.*;369:1-16. 2006

FUCCIO L, ZAGARI RM, EUSEBI LH, et al.: Meta-analysis: can *Helicobacter pylori* eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Ann Intern Med* 151 (2): 121-8, 2009.

FURTADO, R.A.; RODRIGUES, E.P.; ARAUJO, F.R.; OLIVEIRA, W.L.; FURTADO, M.A.; CASTRO, M.B.; CUNHA, W.R.; TAVARES, D.C. Ursolic acid and oleanolic acid suppress preneoplastic lesions induced by 1,2-dimethylhydrazine in rat colon. *Toxicol. Pathol.* 2008, 36, 576–580.

G KOLLIAS, E DOUNI, G KASSIOTIS, D KONTOYIANNIS. On the role of tumor necrosis factor and receptors in models of multiorgan failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Immunol Rev*, 169 (1999), pp. 175–194

G LUBOSHITS, S SHINA, O KAPLAN, et al. Elevated expression of the CC chemokine regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) in advanced breast carcinoma *Cancer Res*, 59 (1999), pp. 4681–4687

G TRICOT New insights into role of microenvironment in multiple myeloma *Lancet*, 355 (2000), pp. 248–250

G. Gallagher, H. Dickensheets, J. Eskdale, L.S. Izotova, O.V. Mirochnitchenko, J.D. Peat, et al. Cloning, expression and initial characterization of interleukin-19 (IL-19), a novel homologue of human interleukin-10 (IL-10) *Genes Immun*, 1 (2000), pp. 442-450
GAO, L.; XU, Z.; WANG, Y.; SUN, B.; SONG, Z.; YANG, B.; LIU, X.; LIN, Y.; PENG, J.; HAN, G.; et al. Anticancer effect of SZC017, a novel derivative of oleanolic acid, on human gastric cancer cells. *Oncol. Rep.* 2016, 35, 1101–1108.

GELALETI G.B. Avaliação da interleucinas 8 e 12, do CA 15-3 e DNA livre circulante como marcadores prognósticos no soro sanguíneo de cadelas com neoplasia mamária. *Uni Est Paulista Julio de Mesquita Filho. São José do Rio Preto – SP* 2011

Global Cancer Facts & Figures. Atlanta: American Cancer Society, 2011.

GONG, D.; GENG, C.; JIANG, L.; CAO, J.; YOSHIMURA, H.; ZHONG, L. Effects of hydroxytyrosol-20 on carrageenan-induced acute inflammation and hyperalgesia in rats. *Phytother. Res.* 2009
GRANADOS-PRINCIPAL, S.; QUILES, J.L.; RAMIREZ-TORTOSA, C.; CAMACHO-CORENCIA, P.; SANCHEZ-

- ROVIRA, P.; VERA-RAMIREZ, L.; RAMIREZ-TORTOSA, M. Hydroxytyrosol inhibits growth and cell proliferation and promotes high expression of sfrp4 in rat mammary tumours. *Mol. Nutr. Food Res* 2011
- GREEN KN, MARTINEZ-CORIA H, KHASHWJI H, HALL EB, YURKO-MAURO KA, ELLIS L, LAFERLA FM. Dietary docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid ameliorate amyloid-beta and tau pathology via a mechanism involving presenilin 1 levels. *J Neurosci.* 2007;27:4385–4395.
- GRIVENNIKOV S.I., F.R. GRETEN, M. KARIN Immunity, inflammation, and cancer *Cell*, 140 (2010), pp. 883–899
- HM PINEDO, HMW VERHEUL, RJ D'AMATO, J FOLKMAN Involvement of platelets in tumour angiogenesis? *Ke Lancet*, 352 (1998), pp. 1775–1777
- HOCHMAN, B. et al. Research designs. *Acta Cir Bras*, v. 20, Supl. 2, p. 2-9, 2005.
- HOFFMANN, G.; SCHWINGSHACKL, L. Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil reduces the incidence of invasive breast cancer in a randomised controlled trial. *Evid. Based Med.* 2016
- 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.
- HOWLADER N, NOONE AM, KRAPCHO M, MILLER D, BISHOP K, ALTEKRUSE SF, KOSARY CL, YU M, RUHL J, TATALOVICH Z, MARIOTTO A, LEWIS DR, CHEN HS, FEUER EJ, CRONIN KA et al.. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/, April 2016.
- HUDSON J.D., MA SHOAIBI, R MAESTRO, A CARNERO, GJ HANNON, DH BEACH A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity *J Exp Med*, 190 (1999), pp. 1375–1382
- HUSSAIN, S.S.; KUMAR, A.P.; GHOSH, R. Food-based natural products for cancer management: Is the whole greater than the sum of the parts? *Semin. Cancer Biol.* 2016
- 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.

- KANG K.S. et al. 2010. Docosahexaenoic acid induces apoptosis in MCF-7 cells in vitro and in vivo via reactive oxygen species formation and caspase 8 activation. *PLoS One*, 5
- KHALFOUN B., F. THIBAUT, H. WATIER, P. BARDOS, Y. LEBRANCHU. Docosa-hexaenóico e ácido eicosapentaenóico inibir a produção de células endoteliais humanas in vitro de interleucina-6 *Adv. Exp. Med. Biol.*, 400 (1997), pp. 589-597
- KIM E., W. KIM, Y. KANG, Y. HA, L. BACH, J. PARK Inhibition of Caco-2 cell proliferation by (n-3) fatty acids: possible mediation by increased secretion of insulin-like growth factor binding protein-6 *Nutr Res*, 20 (2000), pp. 1409–1421
- KIM, MCMURRAY, CHAPKIN. N-3 Polyunsaturated fatty acids—Physiological relevance of dose. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA) Volume 82, Issues 4–6, April–June 2010, Pages 155–158*
- KITAMURA T, QIAN BZ, POLLARD JW. Immune cell promotion of metastasis. *Nat Rev Immunol* 2015; 15: 73–86.
- KOLAR SS, BARHOUMI R, LUPTON JR, CHAPKIN RS. Docosahexaenoic acid and butyrate synergistically induce colonocyte apoptosis by enhancing mitochondrial Ca²⁺ accumulation. *Cancer Res.* 2007;67:5561–5568.
- KRIS-ETHERTON PM. AHA science advisory. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. American heart association. Nutrition committee. *Circulation.* 1999;100(11):1253–1258. doi: 10.1161/01.CIR.100.11.1253.
- KURASHIY, A.; KARIN, M.; GRIVENNIKOV, S. I. Tumor promotion via injury- and death-induced inflammation. *Immunity*, v. 35, n. 4, p. 467-77, Oct. 2011.
- KVINLAUG B.T., B.J. HUNTLY Targeting cancer stem cells *Expert Opin. Ther. Targets*, 11 (2007), pp. 915–927
- LADEIRAS-LOPES R, PEREIRA AK, NOGUEIRA A, et al.: Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer Causes Control* 19 (7): 689-701, 2008.
- LEE, TH, HOOVER, RL, WILLIAMS, JD, SPERLING, RI et al., Efeitos de enriquecimento da dieta com ácido eicosapentaenóico e ácido docosa-hexaenóico na geração in vitro de neutrófilos e monócitos leucotrieno e função dos neutrófilos. *N. Eng. J. Med.* ,312, 1217 - 1224. 1985
- LESLIE C.A., W.A. GONNERMAN, M.D. ULLMAN, K.C. HAYES, C. FRANZBLAU, E.S. Cathcart Dietary fish oil

modulates macrophage fatty acids and decreases arthritis susceptibility in mice *J. Exp. Med.*, 162 (1985), pp. 1336–1349

LEVIN B, LIEBERMAN DA, MCFARLAND B, et al; American Cancer Society Colorectal Cancer Advisory Group; US Multi-Society Task Force; American College of Radiology Colon Cancer Committee. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(3):130-160.

LEVINA V, A.M. MARRANGONI, R. DEMARCO, E. GORELIK, A.E. LOKSHIN Drug-selected human lung cancer stem cells: cytokine network, tumorigenic and metastatic properties *PLoS One*, 3 (2008), p. e3077

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

MANACH, C.; HUBERT, J.; LLORACH, R.; SCALBERT, A. The complex links between dietary phytochemicals and human health deciphered by metabolomics. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009, 53, 1303–1315.

MANTOVANI A, B BOTTAZZI, F COLOTTA, S SOZZANI, L RUCO The origin and function of tumor-associated macrophages *Immunol Today*, 13 (1992), pp. 265–270

MANTOVANI A., F BUSSOLINO, E DEJANA. Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J*, 6 (1992), pp. 2591–2599

MARCHETTI P. Natural medicine: a ‘new frontier’ in oncology? *Ann Oncol*, 16 (2005), pp. 339–340;

MARNELL, L.; MOLD, C.; CLOS, T.W.D. C-reactive protein: Ligands, receptors and role in inflammation. *Clinical Immunology*, v. 117, p. 104-111, 2005

MARTÍN-PELÁEZ S., COVAS M.I., FITÓ M., KUSAR A., PRAVST I. Health effects of olive oil polyphenols: Recent advances and possibilities for the use of health claims. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B..*Bioquímica Básica*, 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

MATSUDA A, FURUKAWA K, TAKASAKI H, SUZUKI H, KAN H, TSURUTA H. et al. Preoperative oral immune-enhancing nutritional supplementation corrects Th1/Th2 imbalance in patients

undergoing elective surgery for colorectal cancer. *Diseases of the Colon e Rectum*. 2006;49:507-516.

MAYER K MEYER S, REINHOLZ-MUHLY M, MAUS U, MERFELS M, LOHMEYER J, GRIMMINGER F, SEEGER W. Short-time infusion of fish oil-based lipid emulsions, approved for parenteral nutrition, reduces monocyte proinflammatory cytokine generation and adhesive interaction with endothelium in humans. *J Immunol* 171:4837-4843. 2003

MOYANO, M. J., HEREDIA, F. J., AND MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. (2010) The color of olive oils: the pigments and their likely health benefits and visual and instrumental methods of analysis. *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety* 9, 278–291.

MURPHY G, PFEIFFER R, CAMARGO MC, RABKIN CS. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. *Gastroenterology*. 2009;137:824–833.

MUTO, E.; DELL'AGLI, M.; SANGIOVANNI, E.; MITRO, N.; FUMAGALLI, M.; CRESTANI, M.; FABIANI, E.; CARUSO, D. Olive oil phenolic extract regulates interleukin-8 expression by transcriptional and posttranscriptional mechanisms in Caco-2 cells. *Mol. Nutr. Food Res*. 2015

National Cancer Institute of the National Institute of Health. Gastric Cancer Treatment

(PDQ®). <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/gastric/HealthProfessional>.

National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. Abdelsattar ZM, Wong SL, Regenbogen SE, Jomaa DM, Hardiman KM, Hendren S. Colorectal cancer outcomes and treatment patterns in patients too young for average-risk screening. *Cancer*. 2016;122(6):929-934.

NCI. National Cancer Institute. Nutrition in Cancer Care. 01 de abril de 2016. Disponível em: <

<http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/supportivecare/nutrition/Patient/page1> >. Acesso em: 15 de janeiro de 2017.

NEERGHEEN, V.S.; BAHORUN, T.; TAYLOR, E.W.; JEN, L.S.; ARUOMA, O.I. Targeting specific cell signaling transduction pathways by dietary and medicinal phytochemicals in cancer chemoprevention. *Toxicology* 2010, 278, 229–241.

NELSON R. Oleic acid suppresses overexpression of ERBB2 oncogene *Lancet Oncol*, 6 (2005), p. 69

- NEWTON K, DIXIT VM. Signaling in innate immunity and inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; 4: a006049
- NOTARNICOLA M. et al (2011) Effects of olive oil polyphenols on fatty acid synthase gene expression and activity in human colorectal cancer cells. *Genes Nutr.*, 6,63-69.
- NOVAK TE, TA BABCOCK, DH JHO, WS HELTON, NJ. NF-kappa B inibição por ácidos gordos omega-3 modula a transcrição de macrófagos de TNF-alfa estimulada por LPS. *Sou. J. Physiol.*, 284 (2003), pp. L84-L89
- NOZOE, T. et al. Significance of preoperative elevation of serum C-reactive protein as an indicator for prognosis in colorectal cancer. *American Journal of Surgery*, v. 176, p. 335-338, 1998.
- 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.
- OSHIMA H, ISHIKAWA T, YOSHIDA GJ et al TNF- α /TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells. *Oncogene* 2014; 33: 3820–9.
- OSHIMA H, MATSUNAGA A, FUJIMURA T et al Carcinogenesis in mouse stomach by simultaneous activation of the Wnt signaling and prostaglandin E₂ pathway. *Gastroenterology* 2006; 131: 1086–95.
- 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.
- 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.
- PARKINSON L., CICERALE S. The Health Benefiting Mechanisms of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds. *Molecules*, 21(12), 1734; 2016
- PELTOLA, H.; VALMARI, P. Serum C-reactive protein as detector of pretreated childhood bacterial meningitis. *Neurology*, v. 35, n. 2, p. 251-3, Feb. 1985.
- PETERSON L. D., N.M. JEFFERY, F. THIES, P. SANDERSON, E.A. NEWSHOLME, P.C. CALDER. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandin E₂ production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity *Lipids*, 33 (1998), pp. 171–180

- PFISTER, G. et al. Naive T cells in the elderly: are they still there? *Ann N Y Acad Sci*, v. 1067, p. 152-7, May 2006
- PISCHON T, HANKINSON S.E., HOTAMISLIGIL G.S., RIFAI N., WILLETT W.C., RIMM E.B.; Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among U.S. men and women. *Circulation* 108:155-160. 2003
- PISTERS PWT, KELSEN DP, TEPPER JE: Cancer of the stomach. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds.: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Vols. 1 & 2. 8th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2008, pp 1043-1079.
- POLLARD JW. Tumour-educated macrophages promotes tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer*2004; 4: 71–8.
- POLYAK K., R.A. WEINBERG Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits *Nat. Rev.*, 9 (2009), pp. 265–273
- PRADERE JP, DAPITO DH, SCHWABE RF. The Yin and Yang of Toll-like receptors in cancer. *Oncogene*2014; 33: 3485–95.
- PURASIRI P, MURRAY A, RICHARDSON S, HEYS SD, HORROBIN D, EREMIN O. Modulation of cytokine in vivo by dietary essential fatty acids in patients with colorectal cancer. *Clinical Science*. 1994;87:711-717.
- R. DAIG, T. ANDUS, E. ASCHENBRENNER, W. FALK, J. SCHÖLMERICH, V. Gross Increased interleukin 8 expression in the colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease *Gut*, 38 (1996), pp. 216–222
- R. De Waal Malefyt, J. Abrams, B. Bennett, C.G. Figdor, J.E. De Vries Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes *J Exp Med*, 174 (1991), pp. 1209-1220
- R.S. CHAPKIN, C.C. AKOH, C.C. MILLER. Influence of dietary n-3 fatty acids on macrophage glycerophospholipid molecular species and peptidoleukotriene synthesis *J. Lipid Res.*, 32 (1991), pp. 1205–1213
- RUI, L.X.; SHU, S.Y.; JUN, W.J.; MO, C.Z.; WU, S.Z.; MIN, L.S.; YUAN, L.; YONG, P.J.; CHENG, S.Z.; SHENG, W.S.; ET AL. THE DUAL INDUCTION OF APOPTOSIS AND AUTOPHAGY BY SZC014, A SYNTHETIC OLEANOLIC ACID DERIVATIVE, IN GASTRIC CANCER CELLS VIA NF-KB PATHWAY. *TUMOUR BIOL*. 2016

- SAUKKONEN K, RINTAHAKA J, SIVULA A et al Cyclooxygenase-2 and gastric carcinogenesis. *APIMS* 2003; 111: 915–25.
- SEIERSTAD S.L., SELJEFLOT I., JOHANSEN O., HANSEN R., HAUGEN M., ROSENLUND G., FROYLAND L., ARNESEN H.; Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis. *Eur J Clin Invest* 35:52–59. 2005
- SEKI, H.; TANI, Y.; ARITA, M. Omega-3 PUFA derived anti-inflammatory lipid mediator resolvin E1. *International Journal of Cancer*, v. 103, p.642-646, 2009.
- SERRA-MAJEM, L.; TRICHOPOULOU, A. Trichopoulou, Updating the Benefits of the Mediterranean Diet: From the Heart to the Earth. In *Mediterranean Diet*; Springer: Cham, Switzerland, 2016
- SERVILI M., MONTEODORO G.F. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2002
- SERVILI, M., SORDINI, B., ESPOSTO, S., URBANI, S., VENEZIANI, G., et al. (2013) Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil. *Antioxidants (Basel)* 3, 1–23.
- SEXTON, P.; BLACK, P.; METCALF, P.; WALL, C.R.; LEY, S.; WU, L.; SOMMERVILLE, F.; BRODIE, S.; KOLBE, J. Influence of Mediterranean Diet on Asthma Symptoms, Lung Function, and Systemic Inflammation: A Randomized Controlled Trial. *J. Asthma* 2013
- SHEN, J.; WILMOT, K.A.; GHASEMZADEH, N.; MOLLOY, D.L.; BURKMAN, G.; MEKONNEN, G.; GONGORA, M.C.; QUYYUMI, A.A.; SPERLING, L.S. Mediterranean Dietary Patterns and Cardiovascular Health. *Annu. Rev. Nutr.* 2015
- SICA A, A SACCANI, B BOTTAZZI, et al. Defective expression of the monocyte chemotactic protein-1 receptor CCR2 in macrophages associated with human ovarian carcinoma *J Immunol*, 164 (2000), pp. 733–738
- SIDDIQUI RA, SHAIKH SR, SECH LA, YOUNT HR, STILLWELL W, ZALOGA GP. Omega 3-fatty acids: health benefits and cellular mechanisms of action. *Mini Rev Med Chem.*2004
- SILVA J.D.E.A., TRINDADE E.B., FABRE M.E., MENEGOTTO V.M., GEVAERD S., BUSS Z.D.A.S., FRODE T.S. Fish oil supplement alters markers of inflammatory and nutritional status in

colorectal cancer patients. *Nutr Cancer*. 2012;64(2):267-73. Epub 2012 Feb 1.

TAVANI A., et al. n-3 polyunsaturated fatty acid intake and cancer risk in Italy and Switzerland. *Int. J. Cancer*, 105, 113–116. 2003

TOLEDO, E.; SALAS-SALVADÓ, J.; DONAT-VARGAS, C.; BUIL-COSIALES, P.; ESTRUCH, R.; ROS, E.; CORELLA, D.; FITÓ, M.; HU, F.B.; ARÓS, F. Mediterranean diet and invasive breast cancer risk among women at high cardiovascular risk in the PREDIMED trial: A randomized clinical trial. *JAMA Intern. Med.* 2015

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.

TREBBLE TM, SA WOOTTON, EA MILES, M. MULLEE, NK ARDEN, AB BALLINGER, MA STROUD, PC CALDER A

prostaglandina E2 produção e função de células T após a suplementação com óleo de peixe: resposta à co-suplementação com antioxidantes *Sou. J. Clin. Nutr.*, 78 (2003), pp. 376-382

TURATI, F.; PELUCCHI, C.; GALEONE, C.; PRAUD, D.; TAVANI, A.; LA VECCHIA, C. Mediterranean diet and non-fatal acute myocardial infarction: A case-control study from Italy. *Public Health Nutr.* 2015

TURNER, R., ETIENNE, N., ALONSO, M. G., DE PASCUAL-TERESA, S., MINIHANE, A. M., et al. (2005) Antioxidant and anti-atherogenic activities of olive oil phenolics. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 75, 61–70.

VISVADER J.E., G.J. LINDEMAN Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions *Nat. Rev. Cancer*, 8 (2008), pp. 755–768;

WANG D, DUBOIS RN. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer. *Oncogene* 2010; 29: 781–8.

WANG K, KARIN M. Tumor-elicited inflammation and colorectal cancer. *Adv Cancer Res* 2015; 128: 173–96

WHO Classification of Tumours of the Digestive System. 4. International Agency for Research on Cancer; 2010.

WHO (2015) Healthy diet - Fact sheet N°394. World Health Organization.

WILLETT, W. C., SACKS, F., TRICHOPOULOU, A., DRESCHER, G., FERRO-LUZZI, A., et al.

(1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am. J. Clin. Nutr.* 61, 1402S–1406S.

World Health Organization (WHO). World Health Statistics 2010; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2010

YANG, X. F. Immunology of stem cells and cancer stem cells. *Cell Mol Immunol*, v. 4, n. 3, p. 161-71, Jun. 2007.

YAQOOB, P. , PALA, SH , CORTINA-BORJA, M. , NEWSHOLME, EA et al., Óleo de peixe encapsulado e enriquecido em α -tocoferol altera fosfolípido do plasma e composições de ácidos gordos de células mononucleares, mas não mononuclear funções celulares . *Eur.J. Clin. Invest.* , 30 , 260 - 274 . 2000

YAQOOB, P., P.C. CALDER Effects of dietary lipid manipulation upon inflammatory mediator production by murine macrophages *Cell. Immunol.*, 163 (1995), pp. 120–128

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.

YOSHIMURA, H.; SUGAWARA, K.; SAITO, M.; SAITO, S.; MURAKAMI, S.; MIYATA, N.; KAWASHIMA, A.; MORIMOTO, S.; GAO, N.; ZHANG, X.; et al. In vitro TGF- β 1 antagonistic activity of ursolic and oleanolic acids isolated from *Clerodendranthus spicatus*. *Planta Med.* 2003, 69, 673–675

ZAMORA-ARDOY M.A., F. BANEZ SANCHEZ, C. BANEZ SANCHEZ, et al. Olive oil: influence and benefits on some pathologies *An Med Interna*, 21 (2004), pp. 138–142

Zhu MW, Tang DN, Hou J, Wei JM, Hua B, Sun JH. et al. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on elderly patients after colorectal cancer surgery. *Chin Med J.* 2012;125:178-181.

ZIBERNA L., SAMEC D., MOCAN A., NABAVI S. F., BISHAYEE A., FAROOQI A. A., SUREDA A., NABAVI S. M. Oleanolic Acid Alters Multiple Cell Signaling Pathways: Implication in Cancer Prevention and Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18(3), 643.

Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA-3 NOS MARCADORES DE INFLAMAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO

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 2 g/dia de óleo de peixe em modular a inflamação e o estado nutricional associado ao câncer. 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 (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: Erasmo Benício de Moraes Trindade pelo telefone: (48) 3721-2289 ou e-mail: erasmotrindade@gmail.com

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....., RG:..... Fone ()
fui esclarecido sobre a pesquisa, 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 paciente

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do profissional que apresentou o termo

Florianópolis ___/___/_____