

PERFIL DE QUIMIOTERAPÊUTICAS EM IDOSOS COM CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL

EDLA KARINA CABRAL DE OLIVEIRA

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação Interinstitucional em Oncologia da
Fundação Antônio Prudente em parceria com o
Hospital de Câncer de Pernambuco, para obtenção
do título de Mestre em Ciências**

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Samuel Aguiar Junior

Co-Orientador: Dra. Leuridan Cavalcante Torres

São Paulo

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Oliveira, Edla Karina Cabral de

Perfil de quimiocinas em idosos com câncer gástrico e colorretal / Edla Karina Cabral de Oliveira - São Paulo, 2019.

56p.

Dissertação(Mestrado)-Programa de Pós-Graduação Interinstitucional em Oncologia da Fundação Antônio Prudente em parceria com o Hospital de Câncer de Pernambuco

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Samuel Aguiar Junior

Descritores: 1. Quimiocinas/Chemokines. 2. Neoplasias Gástricas/Stomach Neoplasms. 3. Neoplasias Colorretais/Colorectal Neoplasms. 4. Idoso/Aged. 5. Estudos Transversais/Cross-Sectional Studies

AGRADECIMENTOS

À Deus pela sua infinita misericórdia em me guiar e conceder mais essa benção em minha vida.

Aos meus pais, pelas orações, força, confiança e principalmente por nunca me deixar desistir.

À Elka, minha querida irmã por todo seu amor, pelas suas palavras de motivação sempre oportunas em todos os momentos.

Ao Hospital de Câncer de Pernambuco pela oportunidade concedida para realização desse trabalho.

À Coordenação do curso de pós-graduação do A.C.Camargo, pelo comprometimento com a pesquisa e sempre disponível a oferecer aos seus alunos o que há de excelência em conhecimento.

Ao Dr. Samuel Aguiar pela gentileza e disponibilidade em me aceitar como sua aluna. Obrigada pelos ensinamentos e apoio em todos os momentos.

À querida e amada Dr^a Leuridan Torres, por abdicar muitas vezes da sua família nos finais de semana, para que esse trabalho fosse concluído com excelência. A minha eterna gratidão pelos seus ensinamentos.

Às minhas coordenadoras, Mônica Lima e Isabel Leal pela compreensão fundamental nesse processo.

À querida equipe de nutrição do HCP, no qual tenho o maior orgulho em fazer parte.

À Mirian, Cristina, Laís, Carolina, Andréa, Natália e Tamires, agradeço a paciência, por cuidar dos nossos pacientes nos dias que não pude prestar assistência nos momentos de estudo, e em especial, a Ana Paula por todo carinho e palavras de incentivo.

Aos pacientes que, com grande generosidade, nos deram a oportunidade de buscar, em suas histórias, motivação e meios para a realização deste estudo.

Às minhas amigas de hoje e sempre: Ana Luiza, Cintia, Conceição, Gabriela, Juvanier, inestimáveis em todos os momentos e em especial a Ana Maria, minha amada amiga irmã por estar sempre presente nos momentos que mais precisei.

À Luana Riris, Rhayara Ferreira e Kezia Santos nutricionistas residentes, pelo entendimento nos momentos de ausência para realização desse trabalho.

Aos Médicos e residentes da Cabeça e Pescoço e Cirurgia Oncológica, pelas palavras de apoio e em especial ao Dr. Paulo Bentes, por ceder gentilmente a sala de reunião do departamento nos dias em que os estudos se prolongaram durante à noite e nos finais de semana. Ao Dr. Kleber Calheiros e Dr. Steve Mendes por compartilhar seus conhecimentos no câncer gástrico e colorretal e ao Dr. André Raposo sempre à disposição no que fosse preciso.

Ao eterno amigo, Leandro Pernambuco a quem sou imensamente grata, pela sua generosidade em me ajudar incansavelmente.

Ao grande amigo, Heverton Colaço, que sempre pude contar em todos os momentos que precisei durante a execução deste trabalho. Agradeço pelas inúmeras risadas nos momentos agradáveis de descontração.

À Dra. Jurema Teles pelo inestimável apoio para execução desse trabalho.

Aos médicos, residentes, enfermeiras, burocratas e voluntários do Departamento de Oncologia Clínica do IMIP, pela cooperação no recrutamento dos pacientes e ajuda nas coletas de dados.

Ao Laboratório de Pesquisa Translacional do IMIP por conceder a realização dos experimentos. À Dr^a Leuridan, Marina, Kleber, Valéria por me ensinar e me acompanhar em toda técnica desenvolvida nesse trabalho e por esclarecer as minhas dúvidas sempre com muita paciência e dedicação.

À Vera Guedes e Rose Massapé pelas palavras de incentivo e motivação para concluir esse trabalho.

Aos colegas da pós graduação Denise, Reijane, Caiado, Peixoto, Graça, Rogério, Felipe Marinho e Dubourcq, Luciana, Mauro, Marcelo, Thales, Vandrê, pela amizade, momentos agradáveis e experiências compartilhadas ao longo desses anos. Em especial à Mario Rino pela amizade, sempre atencioso e a disposição na colaboração dos projetos, exemplo de caráter e profissionalismo.

A nossa querida Edna e Suely nossas bibliotecárias, pelo carinho, presteza e dedicação em prover acesso às referências e normatização dessa dissertação.

Agradeço também ao meu amado esposo, Miguel, por todo apoio e incentivo nos momentos difíceis, sempre paciente e compreensivo. Sem você eu não teria conseguido, serei eternamente grata.

Aos meus amados filhos, Carolzinha, por se mostrar madura e compreensiva nos momentos de minha ausência. Ao meu pequeno Miguelzinho, sem ter entendimento do que estava acontecendo, era sempre atencioso em me avisar que já era noite, “já anoiteceu” e eu ainda estava estudando, sempre trazia o que eu mais precisava naquele momento, seu abraço! fontes de energia e alegrias em minha vida.

À cada oportunidade de crescimento como pesquisadora e ser humano vividas nestes dois anos de muito aprendizado.

Meu Muito Obrigada!

RESUMO

Oliveira EKC. **Perfil de quimiocinas em idosos com câncer gástrico e colorretal.** São Paulo, 2019. [Dissertação de Mestrado-Programa de Pós-Graduação em Oncologia da Fundação Antônio Prudente, em Parceria com o Hospital de Câncer de Pernambuco].

Introdução: A incidência do câncer cresce em todo o mundo num ritmo que acompanha o envelhecimento populacional. O envelhecimento é dos principais fatores risco para desenvolvimento de câncer gástrico (CG) e colorretal (CCR). O CG pode se apresentar de forma difusa ou localizada na porção proximal, cárdia e fundo do estômago, envolvendo ou não a junção gastroesofágica, e a porção distal (antro e piloro). O CCR tem origem na mucosa do intestino grosso, variando de tumores benignos a câncer invasivo, predominantemente de origem epitelial (adenomas ou adenocarcinomas). O envelhecimento é acompanhado por declínio quantitativo e qualitativo do sistema imune, denominado de imunossenescência. As principais mudanças resultantes da imunossenescência são o aumento na inflamação crônica não específica, a diminuição na defesa contra novas infecções e de neoplasias. Um ambiente inflamatório pode ser criado com o estabelecimento de um tumor, onde vários mediadores, como quimiocinas, podem atuar por mecanismos autócrinos ou parácrinos, facilitando o crescimento, proliferação e migração das células tumorais. **Objetivo:** Avaliar o perfil de quimiocinas (MCP-1, RANTES, IL8 e IP-10) em pacientes idosos com câncer gástrico e colorretal. **Métodos:** Foram incluídos um total de 69 pacientes com CG (N=35) e CCR (N=34) de ambos os sexos, com idade ≥ 60 anos. Como grupo controle, foram incluídos 20 idosos saudáveis. A concentração sérica de quimiocinas foi determinada pela técnica de citometria de fluxo. Para análises estatísticas, foram utilizados os testes de *Mann-Whitney* e *Kruskall Wallis*, e de correlação de *Spearman*. Foi considerado significativo $p < 0,05$. **Resultados:** Os níveis de MCP-1 e IL8 foram elevados nos grupos de pacientes com CG e CCR quando comparado ao grupo controle ($p=0,008$ e $p=0,03$; $p < 0,0001$ respectivamente). Não foi detectado nenhuma associação significativa nos níveis das quimiocinas entre os grupos com CG e CCR. No CG, os

níveis séricos de IL8 foram mais elevados nos pacientes em estágio IV quando comparado aos estádios II e III ($p=0,02$). Na análise de MCP-1, também foi observado elevados níveis dessa quimiocina no estágio IV quando comparado aos estádios II e III ($p=0,0004$ e $p=0,02$, respectivamente). No CCR, os níveis séricos de IL8 foram elevados nos pacientes em estágio IV em comparação aos estádios II e III ($p=0,01$ e $p=0,02$, respectivamente) e também de MCP-1 no estágio IV em comparação aos estádios II e III ($p=0,001$ e $p=0,03$, respectivamente). A presença de metástase foi associada ao aumento de IL8 e MCP-1 no CG e CCR ($p<0,05$) e redução de RANTES no CG. Foi observado correlação apenas entre os níveis de MCP-1 e RANTES no CCR. **Conclusão:** Conclui-se que as quimiocinas MCP-1 e IL 8 estão associadas com a progressão da doença e metástase tumoral, sendo possíveis biomarcadores prognóstico de doença avançada no CG e CCR em idosos.

Palavras Chaves: Quimiocinas. Neoplasias Gástricas. Colorretais. Idoso. Estudos Transversais.

SUMMARY

Oliveira EKC. [Profile of chemokines in elderly with gastric and colorectal cancer]. São Paulo; 2019. [Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Oncologia da Fundação Antônio Prudente, em Parceria com o Hospital de Câncer de Pernambuco].

Introduction: The incidence of cancer grows around the world along with population aging. Aging is one of the main risk factors for the development of gastric (GC) and colorectal cancer (CRC). GC may be diffuse or localized in the proximal, cardiac and fundal portions of the stomach, involving or not the gastroesophageal junction, and the distal portion (antrum and pylorus). The CRC originates in the colonic mucosa, ranging from benign tumors to invasive cancer, predominantly of epithelial origin (adenomas or adenocarcinomas). Aging is accompanied by quantitative and qualitative decline of the immune system, termed immunosenescence. The main changes resulting from immunosenescence are the increase in non-specific chronic inflammation, the decrease in defense against new infections and neoplasms. An inflammatory environment can be created with the establishment of a tumor, where several mediators, such as chemokines, can act by autocrine or paracrine mechanisms, facilitating the growth, proliferation and migration of tumor cells. **Aim:** To evaluate the chemokine profile (MCP-1, RANTES, IL8 and IP-10) in elderly patients with gastric and colorectal cancer. **Methods:** A total of 69 patients with GC (N = 35) and CRC (N = 34) of both sexes, aged ≥ 60 years, were included. As a control group, 20 healthy elderly were included. Serum chemokine concentration was determined by the flow cytometry technique. For statistical analysis, the Mann-Whitney and Kruskal Wallis tests, and Spearman's correlation were used. It was considered significant $p < 0.05$. **Results:** MCP-1 and IL8 levels were elevated in the GC and CRC groups when compared to the control group ($p = 0.008$ and $p = 0.03$, $p < 0.0001$, respectively). No significant association was detected in chemokine levels between the GC and CRC groups. In GC, serum IL8 levels were higher in patients in stage IV when compared to stages II

and III ($p = 0.02$). In the analysis of MCP-1, high levels of this chemokine in the IV stage were also observed when compared to stages II and III ($p = 0.0004$ and $p = 0.02$, respectively). In CRC, serum IL8 levels were elevated in patients in stage IV compared to stages II and III ($p = 0.01$ and $p = 0.02$, respectively) and also of MCP-1 in stage IV compared to stage II and III ($p = 0.001$ and $p = 0.03$, respectively). The presence of metastasis was associated with increased IL8 and MCP-1 in GC and CRC ($p < 0.05$) and reduction of RANTES in GC. Correlation was observed only between the levels of MCP-1 and RANTES in the CRC. **Conclusion:** the chemokines MCP-1 and IL-8 are associated with disease progression and tumor metastasis, being possible predictive biomarkers of advanced disease in GC and CRC in the elderly.

Key-words: Chemokines. Gastric Neoplasms. Colorectal Neoplasms. Elderly. Cross-Sectional Studies

LISTA DE FIGURAS E TABELA

Figura 1	Mapa global da distribuição de incidência/morte de câncer em ambos os sexos em 2018.	3
Figura 2	Estimativa de casos por sexo e tipo tumoral do Brasil.....	4
Figura 3	Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes, exceto pele não melanoma, estimados para 2018, por sexo na região Nordeste do Brasil.....	4
Figura 4	Desenho ilustrativo dos fatores de risco para o câncer gástrico.....	7
Figura 5	Desenho ilustrativo dos fatores de risco genético para o câncer gástrico	8
Figura 6	Desenho ilustrativo do estadiamento no câncer gástrico.....	9
Figura 7	Desenho ilustrativo do estadiamento no câncer colorretal.....	10
Figura 8	Desenho ilustrativo dos fatores de risco para o câncer colorretal	11
Figura 9	Desenho ilustrativo da quimiotaxia das quimiocinas	15
Figura 10	Desenho ilustrativo do mecanismo de recrutamento de células na progressão do câncer	16
Figura 11	Fluxograma de captação dos pacientes e controles	24
Figura 12	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes idosos com câncer gástrico (n= 35), colorretal (n=34) e controles saudáveis (n=20).....	28

Figura 13	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes com câncer gástrico com idade ≤ 75 anos (n=24) e > 76 anos (n=11).....	29
Figura 14	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes com câncer colorretal com idade ≤ 75 anos (n=25) e > 76 anos (n=09).....	30
Figura 15	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes idosos com câncer gástrico em estádios II (n=9), III (n= 9) e IV (n= 17).....	32
Figura 16	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes idosos com câncer colorretal em estádios II (n=9), III (n= 16) e IV n=9)	32
Figura 17	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes com câncer gástrico sem metástase (Não, n=18) e com metástase (Sim, n= 17)	34
Figura 18	Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes com cancer colorretal sem metástase (Não, n=25) e com metástase (Sim, n= 9)	34
Figura 19	Análise de correlação dos níveis de quimiocinas nos pacientes com câncer gástrico (pg/mL) entre IP-10 e IL8 (A), IP-10 e RANTES (B), IP-10 e MCP-1 (C), MCP-1 e IL8 (D), MCP-1 e RANTES (E), IP-10 e RANTES (F).....	35
Figura 20	Análise de correlação dos níveis de quimiocinas nos pacientes com câncer colorretal (pg/mL) entre IP-10 e IL8 (A), IP-10 e RANTES (B), IP-10 e MCP-1 (C), MCP-1 e IL8 (D), MCP-1 e RANTES (E), IP-10 e RANTES (F).....	36

Tabela 1	Distribuição das frequências absolutas e relativas das características socio- demográficas e anatomopatológicas dos pacientes idosos com câncer gástrico e câncer colorretal atendidos no IMIP.....	27
-----------------	---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AJCC	do inglês <i>American Joint Committee on cancer</i>
CBA	do inglês <i>Capture Bead Arroy</i>
CCHNP	Cancer Colorretal Hereditário Não-Polipose
CCL2;5	Quimiocina família CC tipo CC 2; CC tipo CC 5
CCR	Câncer Colorretal
CG	Câncer Gástrico
CXCL8;10	Quimiocinas da família CXC
FGF2	do inglês <i>Fibroblast growth factor 2</i>
HCP	Hostital de Câncer de Pernambuco
IMIP	Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IP-10	do inglês <i>Interferon gamma-induced protein 10</i>
M1;2	Macrófagos do tipo M1; Macrófagos do tipo M2
MCP-1	do inglês <i>Monocyte chemoattractant protein 1</i>
N1;2	Neutrófilos tipo 1; Neutrófilos tipo 2
NCCM	do inglês <i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NK	do inglês <i>Natural Killers</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAF	Polipose Adenomatosa Familiar
PAMPs	do inglês <i>Pathogen-associated molecular pattern</i>
RANTES	do inglês <i>Regulated on ativation, normal t cell expressed and secreted</i>
TAMs	do inglês <i>Tumor-associated Macrophages</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGFb	do inglês <i>Transformingrowth fator beta</i>
TNM	Sistema internacional de classificação de tumores
TLR	do inglês <i>Toll Like</i>
UICC	União Internacional Contra o Câncer
VEGF	do inglês <i>Vascular endothelial growth factor</i>

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Envelhecimento e Câncer.....	1
1.2	Epidemiologia do Câncer Gástrico e Colorretal	2
1.3	Características clínicas e terapêuticas do câncer gástrico e colorretal.....	5
1.3.1	Câncer Gástrico.....	5
1.3.1.1	Fatores de risco do CG.....	6
1.3.1.2	Fatores genéticos no CG	7
1.3.1.3	Tratamento do CG.....	8
1.3.2	Câncer Colorretal.....	10
1.3.2.1	Fatores de risco e tratamento do CCR.....	11
1.4	Sistema Imune, Envelhecimento e Cancer.....	12
1.4.1	Imunidade inata.....	12
1.4.2	Imunidade adaptativa	13
1.5	Quimiocinas	14
1.5.1	Quimiocinas na progressão tumoral.....	15
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	Objetivo Geral.....	20
2.2	Objetivos Específicos.....	20
3	MATERIAS E MÉTODO	21
3.1	Tipo do estudo e aspectos éticos	21
3.2	Local e período do estudo	21
3.3	População do estudo.....	21
3.3.1	Pacientes.....	21
3.3.2	Controles de comparação	22
3.4	Crítérios de Elegibilidade	22
3.4.1	Pacientes.....	22
3.4.1.1	Crítérios de inclusão.....	22

3.4.1.2	Critérios de exclusão	22
3.4.2	Controles de comparação	23
3.4.2.1	Critérios de inclusão.....	23
3.4.2.2	Critérios de exclusão	23
3.5	Captação de pacientes e controles.....	23
3.6	Coleta dos Dados Clínicos e do Material Biológico, e Processamento das Amostras	25
3.7	Testes Laboratoriais	25
3.7.1	Determinação da concentração sérica das quimiocinas mcp-1, rantes, il8 e ip-10	25
3.8	Análise Estatística	26
4	RESULTADOS	27
4.1	Características Clínicas e Demográficas dos Pacientes Idosos com Câncer Gástrico e Câncer Colorretal.....	27
4.2	Níveis Séricos de Quimiocinas em Pacientes Idosos com Câncer Gástrico e Câncer Colorretal	28
4.3	Análise Níveis Séricos de Quimiocinas entre os Pacientes com Idade ≤ 75 e > 76 anos	29
4.4	Análise dos Níveis Séricos de Quimiocinas nos Pacientes com Câncer Gástrico e Colorretal em Estádios II, III E IV da Doença	31
4.5	Análise dos Níveis Séricos de Quimiocinas nos Grupos de Pacientes com e sem Metastase Tumoral.....	33
4.6	Análise de Correlação dos Níveis de Quimiocinas	35
5	DISCUSSÃO.....	37
6	CONCLUSÃO	43
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

ANEXOS

Anexo 1 Parecer Consubstanciado

Anexo 2 Estadimanto Clínico no Câncer Gástrico

Anexo 3 Estadimanto Clínico no Câncer Colorretal

APÊNDICE

Apêndice 1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE

1 INTRODUÇÃO

1.1 ENVELHECIMENTO E CÂNCER

O envelhecimento é um dos principais fatores de risco para câncer gástrico (CG) e colorretal (CCR). Com o avanço da idade, várias doenças crônicas surgem como consequência das alterações celulares e moleculares do organismo. A incidência de câncer na população idosa cresce em todo o mundo, num ritmo que acompanha o envelhecimento populacional decorrente do aumento da expectativa de vida (HURRIA et al. 2015; Ministério da Saúde 2018a). Segundo dados do INCA, 60% dos pacientes oncológicos no país tem 65 anos ou mais e que 70% das mortes decorrentes da doença ocorram nessa fase da vida (PALLIS et al. 2014; Ministério da Saúde 2018b). Os idosos têm susceptibilidade de desenvolver câncer e maiores taxas de risco de morte por câncer quando comparado a população mais jovem (HURRIA et al. 2011).

Evidências sugerem que existe uma relação simbiótica entre envelhecimento, inflamação e câncer, no entanto, não está claro se o envelhecimento leva à indução do processo inflamatório resultando no desenvolvimento das doenças crônicas ou se é um fator indutor do envelhecimento e de câncer (RUHLAND et al. 2016). A inflamação crônica é caracterizada por ocorrer semanas ou meses após o início do processo inflamatório agudo, acontece de forma insidiosa, levando a destruição tecidual e perda de função, e frequentemente assintomática, o que pode ter como consequência, danos do DNA das células pela ação de mediadores inflamatórios ou

de enzimas produzidas por um tempo prolongado (CHUNG 2014; MA et al. 2016), estando associada as neoplasias (BALKWILL e MANTOVANI 2001; MANTOVANI et al. 2008; CANDIDO e HAGEMANN 2013; GALDIERO et al. 2018). Por outro lado, uma neoplasia em desenvolvimento pode induzir respostas inflamatórias locais e sistêmicas (CHUNG 2014; QU et al. 2018).

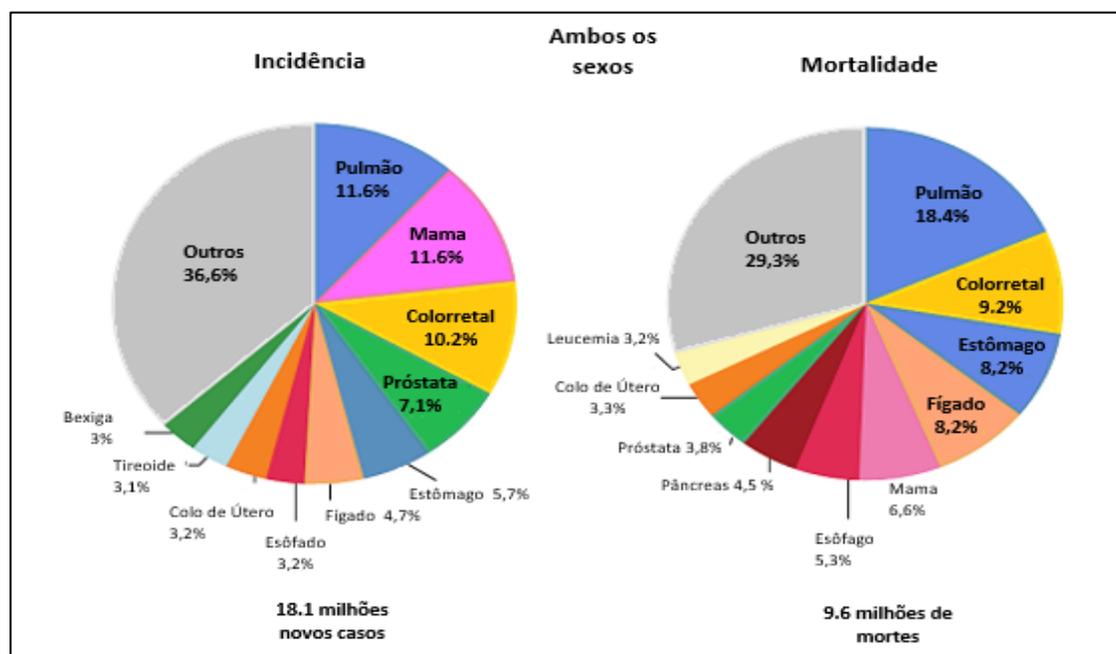
1.2 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL

A incidência de câncer gástrico tem reduzido progressivamente em vários países, mas sua taxa de mortalidade ainda é elevada. Configura-se como o quinto tumor mais freqüente e, em termos de mortalidade, é a terceira causa de óbito por câncer no mundo. Para 2018, foi estimado 1.000.000 de novos casos e 783.000 mortes, sendo equivalente a 1 para cada 12 mortes no mundo. Assim como o câncer gástrico, os tumores malignos que acometem o cólon e o reto representam um dos tipos de neoplasias mais prevalente no mundo, representa o terceiro tipo tumoral com uma estimativa de 1,8 milhões de casos novos em 2018, e a segunda causa de morte por câncer em no mundo (Figura 1) (BRAY et al. 2018).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou para o ano de 2018, 21.290 casos novos de câncer gástrico, sendo 13.450 homens, ocupando o quarto lugar no sexo masculino e 7.750 mulheres, o sexto no sexo feminino. A doença acomete aproximadamente duas vezes mais homens que mulheres. Cerca de 65% dos pacientes diagnosticados com câncer gástrico têm mais de 50 anos e o pico de incidência se dá em sua maioria em homens idosos, por volta dos 70 anos de idade (Figura 2) (Ministério da Saúde 2018b). Embora a incidência e a mortalidade

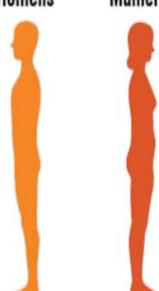
tenham reduzido nos últimos anos, em muitas regiões, esse declínio, em países desenvolvidos, tem sido atribuído às mudanças de hábitos alimentares, preservação de alimentos e controle da infecção pelo *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) (GONZÁLEZ e LÓPEZ-CARRILLO 2010).

Em relação ao câncer colorretal, foi estimado 36.360 casos novos em 2018, sendo 17.380 homens e 18.980 mulheres, ocupando o terceiro lugar em incidência no sexo masculino e o segundo lugar no sexo feminino, sendo apontado como um dos tumores mais prevalente do sistema gastrointestinal nas mulheres (Figura 2). A maior incidência de casos de CCR ocorre na faixa etária entre 50 e 70 anos, e é pouco frequente antes dos 40 anos de idade, exceto em indivíduos com predisposição genética ou com doença crônica intestinal (FEARON 2011; SYNGAL et al. 2015; 2018; Ministério da Saúde 2018b).



Fonte: BRAY et al. (2018)

Figura 1 - Mapa global da distribuição de incidência e de morte/câncer em ambos os sexos em 2018.

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%		Homens Mulheres	Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%			Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%			Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%			Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%			Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%			Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%			Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%			Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%			Leucemias	4.860	2,4%

Fonte: Ministério da Saúde (2018b)

Figura 2 - Estimativa de casos por sexo e tipo tumoral do Brasil

Na região Nordeste, a incidência de CG foi estimada para o biênio 2018-2019 de 3.140 novos casos em homens (5,3%) e de 2.110 novos casos em mulheres (3,6%), sendo o segundo lugar em incidência no sexo masculino e a sexto no sexo feminino (Ministério da Saúde 2018b). Em relação ao câncer colorretal, a incidência foi estimada para o biênio 2018-2019 de 2.800 novos casos em mulheres (4,8%) e de 2.260 novos casos em homens (3,8%), apresentando-se como o terceiro lugar em incidência no sexo feminino e quarto no sexo masculino (Figura 3) (Ministério da Saúde 2018b).

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	15.820	26,9%		Homens Mulheres	Mama feminina	11.860	20,3%
Estômago	3.140	5,3%			Colo do útero	6.030	10,3%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	2.920	5,0%			Cólon e Reto	2.800	4,8%
Cólon e Reto	2.260	3,8%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	2.310	3,9%
Cavidade Oral	1.890	3,2%			Glândula Tireoide	2.220	3,8%
Laringe	1.550	2,6%			Estômago	2.110	3,6%
Esôfago	1.460	2,5%			Ovário	1.480	2,5%
Leucemias	1.380	2,3%			Corpo do útero	1.470	2,5%
Sistema Nervoso Central	1.290	2,2%			Sistema Nervoso Central	1.100	1,9%
Linfoma não Hodgkin	1.000	1,7%			Leucemias	1.090	1,9%

*Números arredondados para múltiplos de 10

Fonte: Ministério da Saúde (2018b)

Figura 3 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes, exceto pele não melanoma, estimados para 2018, por sexo na região Nordeste do Brasil.

A estimativa proposta para a taxa bruta de CG, no estado de Pernambuco, é de 11,88/100.000 homens e de 7,68/100.000 mulheres e para CCR, é de 12,32/100.000 mulheres e 9,35/100.000 homens. Quando analisamos isoladamente a capital Recife, espera-se uma taxa bruta de 12,13/100.000 homens e de 8,59/100.000 mulheres para CG e de 23,9/100.000 mulheres e 17,23/100.000 homens para CCR (Ministério da Saúde 2018b).

1.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E TERAPÊUTICAS DO CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL

1.3.1 Câncer Gástrico

O câncer gástrico pode se apresentar de forma difusa ou localizada na porção proximal, cárdia e fundo do estômago, envolvendo ou não a junção gastroesofágica, e a porção distal (antro e piloro). O tipo histológico mais comum é o adenocarcinoma, que corresponde a 95% dos casos. No estômago, linfomas, sarcomas e tumores de outros padrões histológicos têm potenciais evolutivos e tratamentos diferentes (OKINES et al. 2010).

Do ponto de vista histológico, são utilizadas duas formas de classificação dos adenocarcinomas gástricos, que são a classificação de Lauren (LAUREN 1965) e a classificação da Organização Mundial da Saúde (WHO *Histological Classification of Gastric Tumours* 2010). Foram identificados três padrões de adenocarcinoma gástrico, segundo a classificação de Lauren, que são: o padrão difuso (mal diferenciado), o padrão intestinal (bem diferenciado), e o padrão misto. O tipo

intestinal ocorre em cerca de 54% dos casos, o tipo difuso em cerca de 32% dos casos, e o tipo misto ou indeterminado em cerca de 14% dos casos (LAUREN 1965).

A classificação de *Borrmann* divide o câncer gástrico em dois tipos macroscópicos: avançados e superficiais (precoces). Os avançados são divididos em: tipo I - polipoide, tipo II ulcerado com bordas bem delimitadas, tipo III - ulcerado e infiltrativo, tipo IV - infiltrativo difuso. Os superficiais são divididos em 3 subtipos: tipo I - polipoide, tipo IIa - superficial elevado, tipo IIb - superficial plano, tipo IIc - superficial deprimido e tipo III – ulcerado (PAN et al. 2013).

1.3.1.1 Fatores de risco do CG

Apesar de ser uma das neoplasias mais incidente no mundo, vem se observando uma tendência de declínio em vários países. Vários fatores estão associados a incidência e mortalidade como a geografia, hábitos alimentares, etnia, bem como a presença de microorganismos como *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) e o vírus *Epstein-Barr*. Além do fator ambiental e comportamental, alguns fatores genéticos podem levar ao desenvolvimento do câncer gástrico. A maioria dos carcinomas gástricos é causado por mutação somática (forma esporádica), sendo claramente de etiologia multifatorial e apresentam mecanismos biológicos distintos (Figura 4) (FORMAN 1991; FORMAN et al. 2006). Portanto, os principais fatores de risco para CG são idade avançada, fatores ambientais e de estilo de vida, infecção crônica por *H. pylori*, hábitos alimentares, tabagismo e consumo de álcool são comumente relacionados ao desenvolvimento do câncer gástrico (RAMOS et al. 2018).

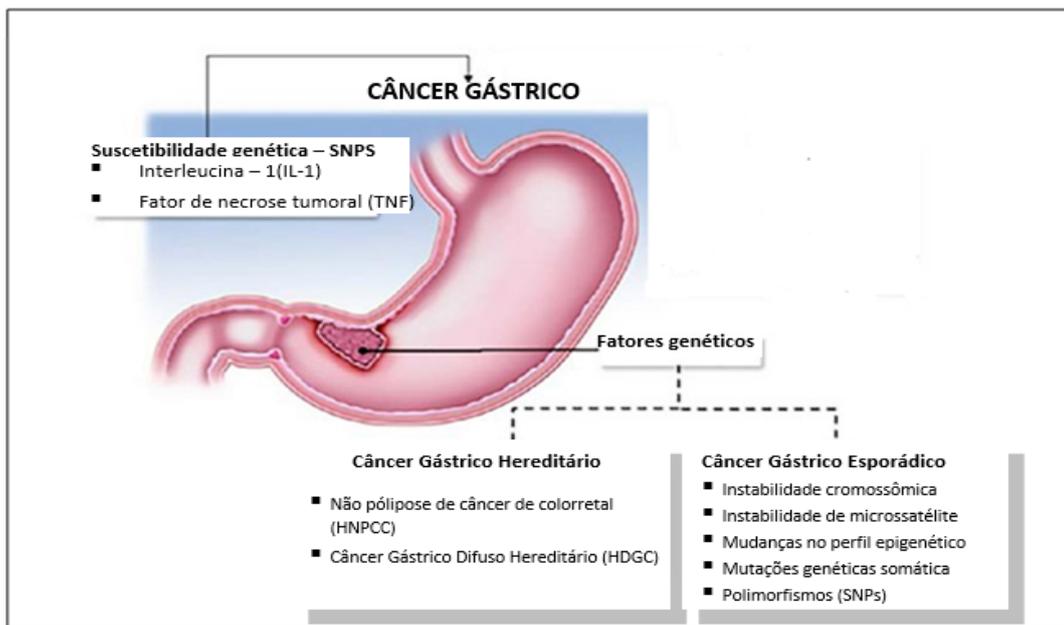


Fonte: Medindia (2016)

Figura 4 - Desenho ilustrativo dos fatores de risco para o câncer gástrico.

1.3.1.2 Fatores genéticos no CG

Alguns fatores genéticos interagem na carcinogênese gástrica e sua maioria surge de maneira esporádica, sem evidência de componentes hereditários. A maioria dos pacientes com câncer gástrico apresenta a forma esporádica, e em cerca de 10% dos casos, é observada história familiar de câncer, sendo de 1 a 3% associada à síndrome hereditária de câncer gástrico, sendo mais comum câncer gástrico hereditário difuso, câncer colorretal hereditário não poliposo e a polipose adenomatosa familiar (MCLEAN e EL-OMAR 2014). Em relação a forma esporádica, as instabilidades microsatélites e cromossômicas, alterações epigenéticas e os polimorfismos são os principais mecanismos moleculares associados ao CG (Figura 5).

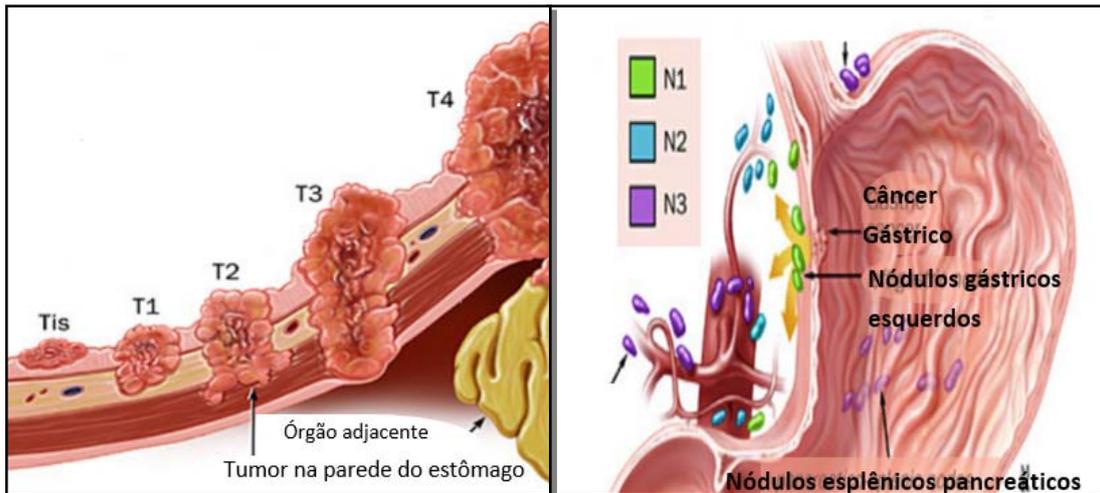


Fonte: RAMOS et al. (2018).

Figura 5 - Desenho ilustrativo dos fatores de risco genético para o câncer gástrico.

1.3.1.3 Tratamento do CG

O tratamento e prognóstico são definidos pela localização e estadiamento do tumor, número de linfonodos acometidos, ressecados e presença de metástases. É utilizado o sistema TNM (*tumor, node, metastasis*), criado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), que classifica o tumor com base na profundidade microscópica de invasão tumoral (T) na parede gástrica, na quantidade de linfonodos regionais com presença de tumor (N) e na presença de metástases à distância (M), (Figura 6) (SANTIAGO et al. 2011).



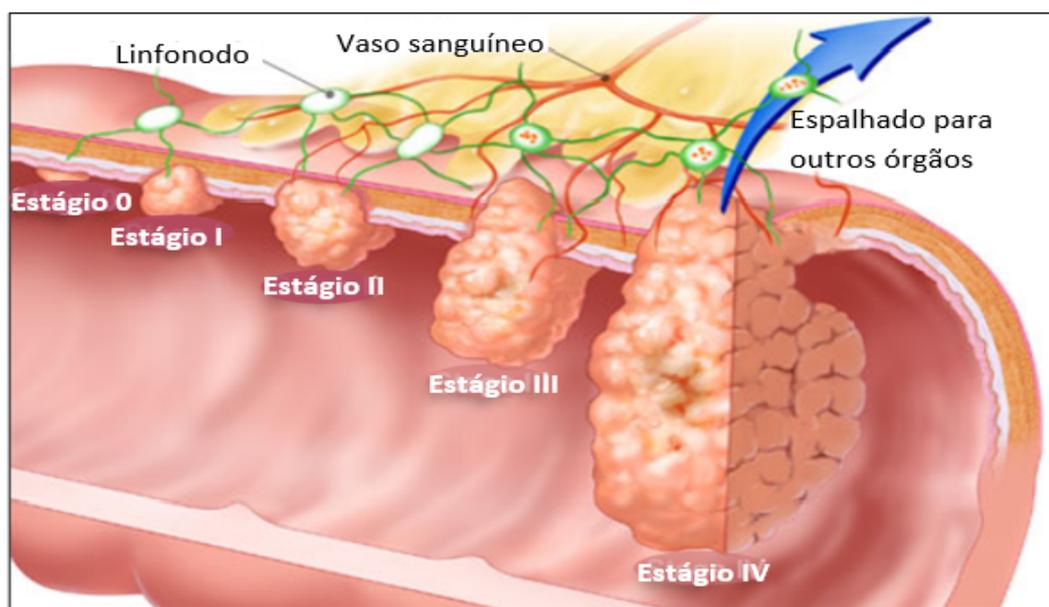
Fonte: Johns Hopkins Medicine(2019)

Figura 6 - Desenho ilustrativo do estadiamento no câncer gástrico.

Consensualmente, o tratamento primário do carcinoma gástrico é cirúrgico. Consiste na remoção parcial ou total do estômago e das cadeias linfonodais que drenam este órgão. Para determinar a melhor abordagem cirúrgica, deve-se considerar a localização, tamanho, padrão e extensão da disseminação e tipo histológico do tumor. A quimioterapia pode ser realizada como complementação terapêutica com a cirurgia e/ou radioterapia, podendo ser indicada para a redução parcial do tumor antes da cirurgia (quimioterapia neoadjuvante) ou após o procedimento cirúrgico (quimioterapia adjuvante), com o objetivo de reduzir a probabilidade de metástases à distância (OKINES et al. 2010).

1.3.2 Câncer Colorretal

O câncer colorretal tem origem na mucosa do intestino grosso, variando de tumores benignos a câncer invasivo, predominantemente de origem epitelial (adenomas ou adenocarcinomas), sendo tumores esporádico, correspondentes a 75% do total de casos, e o hereditário com cerca de 25% dos casos, destacando-se a Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) e o Câncer Colorretal Hereditário Não-Polipose (CCHNP) (SYNGAL et al. 2015). Da mesma forma que os tumores gástrico, seu estadiamento é classificado de acordo com a sistema (TNM), com base na profundidade de invasão (T) na parede do intestino grosso, (N) metástase em linfonodos regionais e a presença de metástase à distância (M), (Figura 7) (EDGE e COMPTON 2010).



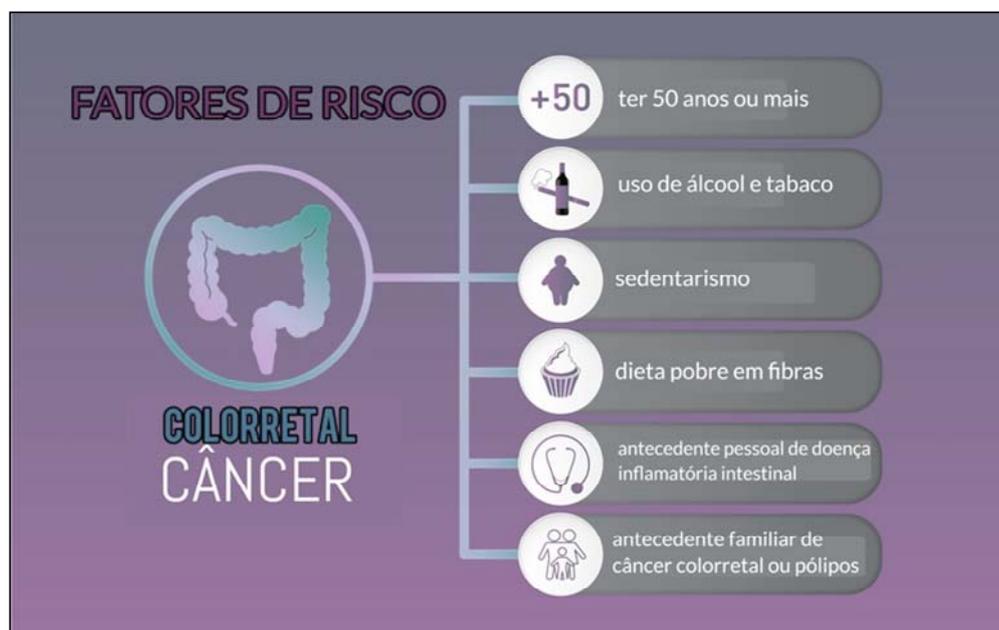
Fonte: WebMD (2018)

Figura 7 - Desenho ilustrativo do estadiamento no câncer colorretal.

1.3.2.1 Fatores de risco e tratamento do CCR

A história familiar, a predisposição genética ao desenvolvimento de doenças crônicas do intestino, fatores relacionados ao estilo de vida e idade são fatores de risco para neoplasia do intestino. Tanto na incidência quanto na mortalidade, observa-se aumento nas taxas com o avanço da idade (Figura 8) (KRZYSZEK-KORPACKA et al. 2016).

As modalidades terapêuticas para tratamento do câncer colorretal consiste em cirurgia, quimioterapia e radioterapia. Pacientes em estadio I e II são candidatos a ressecções cirúrgicas ampla e pacientes em estadio III já têm comprometimento de linfonodos e a quimioterapia é indicada (KORDATOU et al. 2014; SCHNEIDER e LANGNER 2014). A radioterapia e a quimioterapia são tratamentos, que podem determinar melhor resposta na tentativa de modificar a história natural da doença.



Fonte: FURLAN (2019)

Figura 8 - Desenho ilustrativo dos fatores de risco para o câncer colorretal.

1.4 SISTEMA IMUNE, ENVELHECIMENTO E CÂNCER

As alterações no sistema imune associadas ao envelhecimento são denominadas de imunossenescência. Três razões principais podem ser sugeridas para imunossenescência no idoso: (i) involução tímica resultando em redução drástica da produção de células T naïve (MITCHELL et al. 2006), (ii) mudanças na composição ou danos na membrana celular resultando em alteração da sinalização celular (LARBI et al. 2011); e (iii) história imunológica, ou seja, excesso de estimulação antigênica ao longo da vida (patógenos, parasitas, possivelmente câncer) que pode resultar em "exaustão imune" (PAWELEC et al. 2009).

As principais mudanças resultantes da imunossenescência são o aumento na inflamação crônica não específica, a diminuição na defesa contra novas infecções e contra o surgimento de neoplasias malignas, a redução no mecanismo de tolerância imunológica gerando maior autoimunidade e a diminuição da resposta vacinal (MILLER 1996; GORONZY e CORNELIA 2013). São várias as alterações que ocorrem no sistema imune em virtude do processo de envelhecimento, dentre elas, destacam-se as alterações para as principais populações da imunidade inata e adaptativa.

1.4.1 Imunidade inata

Quando se refere à imunidade inata, os seus principais componentes são células fagocíticas como neutrófilos e macrófagos, receptores *Toll Like* (TLR), citocinas e quimiocinas, sistema complemento, células *Natural Killer* (NK) e plaquetas. As células fagocíticas expressam em sua membrana receptores Toll Like que se ligam a padrões moleculares relacionados diversos patógenos (PAMP). Esses

receptores facilitam o reconhecimento e a fagocitose dos patógenos. As proteínas do complemento também facilitam esta fagocitose por atuar como opsonina na membrana das bactérias (MACHADO et al. 2004).

Na imunossenescência, as células fagocíticas diminuem sua capacidade de produzir citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, como também a sua eficiência na divisão celular, durante a resposta aguda a uma infecção. Entretanto, há aumento na liberação basal de mediadores pró-inflamatórios quando essas células não estão combatendo uma infecção, o que caracteriza um perfil secretório das células fagocíticas associado ao envelhecimento (AGIUS et al. 2009; LINTON e THOMAN 2014). As células NK faz parte da imunidade inata e a liberação de mediadores inflamatórios por essas células atuam na destruição de células tumorais e infectadas por vírus (VIEIRA-DE-ABREU et al. 2012; JENNE et al. 2013).

1.4.2 Imunidade adaptativa

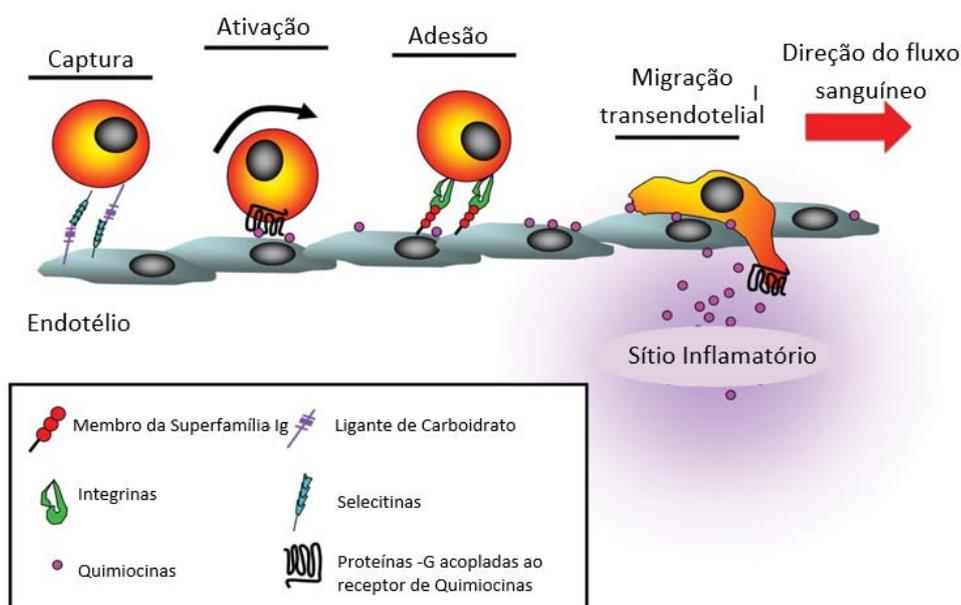
A imunidade adaptativa também é de suma importância no combate às infecções e aos tumores. Embora não tão rapidamente mobilizada quanto a imunidade inata, mas apresenta memória a estímulos antigênicos previamente conhecidos. Essa imunidade é representada pelos linfócitos T e B, que se diferenciam sob estímulo antigênico, em células plasmáticas produtoras de anticorpos (imunoglobulinas) opsonizantes, assim aumentando a capacidade de fagocitose (FALANDRY et al. 2014).

Os linfócitos T precursores são produzidos na medula óssea e liberados para o timo onde sofrerão maturação. Quando maduros são lançados na circulação, gânglios linfáticos e baço. Formam vários subconjuntos de linfócitos T que ao serem ativados,

tornam-se efetores, como os linfócitos TCD8⁺ e TCD4⁺. Ambos liberam citocinas que ativam macrófagos e estimulam o desenvolvimento de células B e ajudam a ativar linfócitos T citotóxicos (FALANDRY et al. 2014). As citocinas são moléculas protéicas solúveis, secretadas por células do sistema imune e não imune em resposta a um estímulo infeccioso ou não (LISTON et al. 2012). As citocinas que promovem a quimiotaxia (migração) de células do sistema imune para os tecidos são chamadas de quimiocinas (KOELINK et al. 2011).

1.5 QUIMIOCINAS

As quimiocinas são uma grande família de citocinas quimiotáticas que se ligam a seus receptores acoplados à proteína G (GPCRs), presentes na superfície celular, cuja principal função é a quimiotaxia - migração da célula para o sítio inflamatório. Uma característica desses sítios é a ativação das células endoteliais dos vasos sanguíneos com aumento de expressão de moléculas de adesão, e por meio do gradiente de quimiocinas, os leucócitos rolam sobre o endotélio através das interações com as moléculas de adesão até a passagem para o tecido (Figura 9) (MCNEILL et al. 2010). São classificadas em dois tipos: i) inflamatória ou indutível, regulada por mediadores pró-inflamatórios como as citocinas durante os processos inflamatórios agudo e crônico, ii) homeostática ou constitutiva, na qual estão envolvidas no desenvolvimento dos órgãos linfóides secundários e de mucosa, desempenhando assim, seu papel na gênese e organização do sistema imune (ZIMMERMAN et al. 2008).



Fonte: MCNEILL et al. (2010)

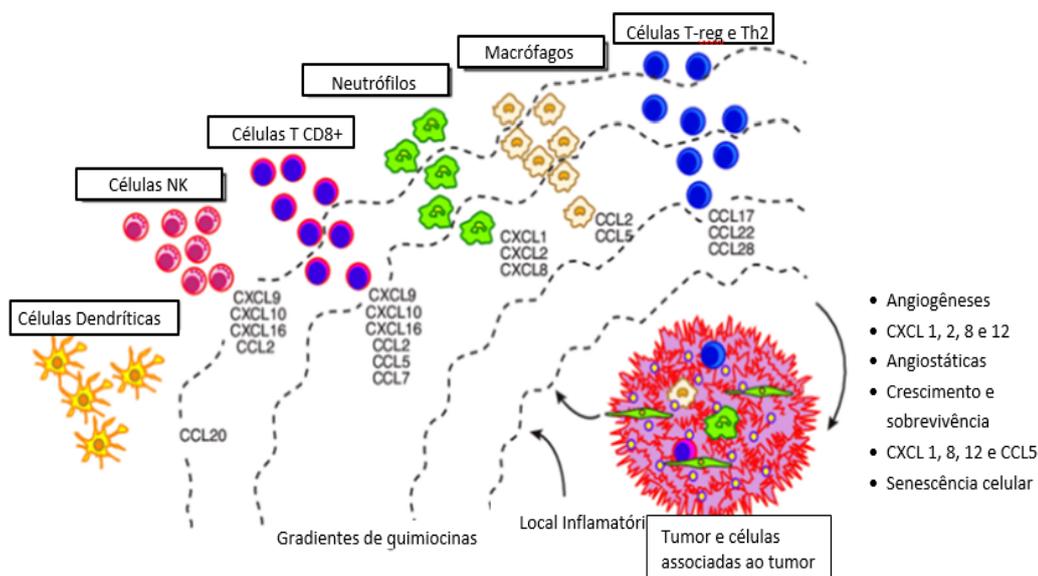
Figura 9 - Desenho ilustrativo da quimiotaxia das quimiocinas.

As quimiocinas, em condições fisiológicas, elas também estão envolvidas na manutenção da homeostase do organismo por regular a recirculação de linfócitos dos órgãos linfóides para os tecidos por meio do sistema linfático e circulatório (LAZENNEC e RICHMOND 2010; MANTOVANI et al. 2010; PACHYNSKI et al. 2016; CHEN et al. 2018).

1.5.1 Quimiocinas na progressão tumoral

O principal mecanismo das quimiocinas é o recrutamento de células para os tecidos, sendo fundamentais na formação do microambiente tumoral e progressão tumoral (ALLAVENA et al. 2011; BALKWILL 2012). O equilíbrio entre os mecanismos angiogênicos e anti-angiogênicos promovidos pela ação das quimiocinas no infiltrado tumoral (LAZENNEC e RICHMOND 2010) podem levar a sobrevivência e a proliferação de células tumorais (ACHARYYA et al. 2012;

ALLAVENA et al. 2011; BALKWILL 2012). O aumento da expressão de receptores de quimiocinas permite que as células tumorais migrem e colonizem outros tecidos, um processo denominado de metástase (BALKWILL 2012; ARVELO et al. 2016) (Figura 10).



Fonte: TARDÁGUILA e MAÑES (2014)

Figura 10 - Desenho ilustrativo do mecanismo de recrutamento de células na progressão do câncer.

O microambiente tumoral é constituído por matriz extracelular e células estromais, no qual incluem fibroblastos, células vasculares e leucócitos inflamatórios (neutrófilos, mastócitos, linfócitos, células dendríticas e macrófagos) (CHUNG 2014). Essas células, isoladamente ou em combinação, podem contribuir potencialmente para o crescimento do câncer gástrico e colorretal, sendo seu recrutamento regulado pela presença de quimiocinas específicas (ITATANI et al. 2016; TANG e WANG 2018).

Dentre as diversas quimiocinas existentes, algumas tem as suas funções bem definidas como CCL2 (MCP-1) e CCL5 (RANTES) que são expressas quando induzidas por um estímulo inflamatório (ALLAVENA et al. 2011). A MCP1 atua especificamente sobre os monócitos, atraindo-os para os sítios de infecção, regulando sua infiltração durante a inflamação. É produzida pelos próprios monócitos/macrófagos para locais de lesão e inflamação tecidual sendo também produzida por células endoteliais, fibroblastos, células epiteliais mas em condições patológicas sua produção pode se dar por células tumorais gástricas e intestinais (BAIER et al. 2005; DESHMANE et al. 2009; MA et al. 2016).

Os monócitos do sangue infiltram os tecidos em resposta à produção local de MCP1, e se diferenciam em macrófagos do tipo M1 e M2. Os macrófagos M1 produzem citocinas inflamatórias e M2, citocinas imunorreguladoras que regulam a resposta imune, reduzindo a ativação e migração de células para o local do processo inflamatório (ZOU et al. 2017; YOSHIMURA 2018). Alguns autores relataram a presença de macrófagos M2 no microambiente tumoral, denominados como *tumor-associated macrophages* (TAMs), sendo associados a progressão tumoral e pior prognóstico (MUKAIDA e BABA 2012; RIDIANDRIES et al. 2016; ZOU et al. 2017; YOSHIMURA 2018; RUYTINX et al. 2018).

A RANTES, desempenha um importante papel no recrutamento dos leucócitos para o processo inflamatório, incluindo também células T. Suas funções na biologia do tumor ainda não estão claras. Sua produção é relevante por induzir respostas imunes adequadas contra tumores, mas também está associada à progressão e metástase tumorais, pois atuam como fatores de crescimento, estimulando a angiogênese, modulando a matriz extracelular, induzindo o recrutamento de células

estromais e inflamatórias adicionais e participando de mecanismos de evasão imune (CAO et al. 2011; CAMBIEN et al. 2011; ALDINUCCI e COLOMBATTI 2014).

Além disso, existem quimiocinas fundamentais para o recrutamento dos neutrófilos como CXCL8 (IL8) e estão envolvidas no crescimento, angiogênese e metástase em vários tipos tumorais (OGURA et al. 2013; WU et al. 2013; LIU et al. 2016). É uma quimiocina que pode promover o crescimento do tumor por induzir angiogênese e quimioatração de granulócitos neutrofílicos. Os neutrófilos produzem fatores proangiogênicos ou antiangiogênicos. São capazes de se diferenciar em dois subconjuntos distintos: neutrófilos tipo 1 (N1) com funções antimicrobianas e neutrófilos associados a tumores (TAN ou N2) dotados de características pró-tumorais e pró-angiogênicas (BRANDAU et al. 2013; DUMITRU et al. 2013). Evidências acumuladas indicaram que os TANS podem estar envolvidos na angiogênese tumoral e no processo metastático (VANDERCAPPELLEN et al. 2008; VERBEKE et al. 2011 e 2012; ZHANG et al. 2016).

A CXCL10 (IP-10) é geralmente vista como uma quimiocina mediadora do sistema imunológico do hospedeiro devido às suas propriedades angiostáticas. É secretada por vários tipos de células, como linfócitos T, neutrófilos, monócitos, células endoteliais, fibroblastos, NK. A CXCL 10 foi associada à imunidade antitumoral a longo prazo, elevação das respostas dos linfócitos T citotóxicos e infiltração de linfócitos TCD4⁺ ou TCD8⁺ nos tumores (BEN-BARUCH 2006). Quando induzível pelo interferon- γ , recrutam linfócitos antitumorais (ABRON et al. 2018). No entanto, sua expressão aumentada, também foram associados a cânceres avançados, incluindo carcinoma ovariano, melanoma e carcinoma colorretal (FURUYA et al. 2007; MONTEAGUDO et al. 2007; JIANG et al. 2010).

Considerando a elevada incidência do câncer gástrico e colorretal, e do aumento crescente da população idosa, foi delineado um estudo que visou avaliar a associação das alterações dos níveis séricos das quimiocinas e a associação entre os seus níveis e o estadiamento da doença e idade dos pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil de quimiocinas em pacientes idosos com câncer gástrico e colorretal e associar ao estágio da doença.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em pacientes idosos com câncer gástrico e colorretal:

- Determinar os níveis séricos de quimiocinas MCP-1, RANTES, IL8 e IP-10;
- Avaliar se existem alterações dos níveis de quimiocinas no câncer gástrico e colorretal;
- Comparar os níveis séricos de quimiocinas entre pacientes com idade ≤ 75 e > 75 anos;
- Avaliar a associação dos níveis séricos de quimiocinas com o estágio da doença;
- Avaliar a correlação entre as quimiocinas nos pacientes com câncer gástrico e colorretal.

3 MATERIAIS E MÉTODO

3.1 TIPO DO ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS

Foi um estudo transversal com grupo de comparação interna. Esse estudo constitui um braço de estudo âncora realizado no Serviço de Oncologia Clínica do IMIP, submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP, sendo aprovado em 25/06/2014, sob o número nº CAAE 14925113.9.0000.5201 (Anexo 1).

3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O presente estudo foi desenvolvido no serviço de Oncogeriatrics e no Laboratório de Pesquisa Translacional do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). O período da coleta de dados e análises laboratoriais foi entre agosto de 2016 outubro de 2017.

3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO

3.3.1 Pacientes

Foram incluídos pacientes de forma consecutiva de ambos os sexos, com idade ≥ 60 anos, com diagnóstico confirmado para câncer gástrico e colorretal admitidos no serviço de oncogeriatrics do IMIP que se enquadraram nos critérios de inclusão e exclusão. O estudo compreendeu um total de 69 pacientes com idade igual

ou superior a 60 anos. Destes, 35 idosos com câncer gástrico e 34 com câncer colorretal.

3.3.2 Controles de comparação

Os indivíduos controles foram 20 idosos saudáveis de ambos os sexos, com idade ≥ 60 anos que não possuíam história pregressa ou familiar de câncer e assintomáticos, oriundos do ambulatório de Geriatria do IMIP.

3.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

3.4.1 Pacientes

3.4.1.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com idade ≥ 60 anos;
- Pacientes com adenocarcinoma gástrico e colorretal;
- Ausência de tratamento cirúrgico ou medicamentoso prévio para a neoplasia;
- Pacientes submetidos à estadiamento por exame clínico, radiológico ou anatomopatológico.

3.4.1.2 Critérios de exclusão

- Uso prolongado de imunossupressores e anti-inflamatórios;;
- História clínica de imunodeficiência primária e secundária;
- Sinais clínicos de infecção nos últimos 30 dias;
- História clínica de hepatites virais;
- História clínica de doença autoimune.

3.4.2 Controles de comparação

3.4.2.1 Critérios de inclusão

- Idosos de ambos os sexos com idade ≥ 60 anos;
- Ser acompanhantes dos pacientes ou funcionárias que concordarem em participar da pesquisa;
- Sem diagnóstico prévio ou atual, e histórico familiar de câncer.

3.4.2.2 Critérios de exclusão

- Uso prolongado de imunossupressores e anti-inflamatórios;
- História clínica de imunodeficiência primária e secundária;
- Sinais clínicos de infecção nos últimos 30 dias;
- História clínica de hepatites virais;
- História clínica de doença autoimune.

3.5 CAPTAÇÃO DE PACIENTES E CONTROLES

Os pacientes foram incluídos no estudo após o consentimento em participar do estudo e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice 1). O estadiamento dos pacientes com câncer gástrico e colorreal foi realizado de acordo com *American Joint Committee on Cancer – AJCC*, 7^a edição (EDGE et al. 2010). As amostras de sangue foram coletadas durante a realização dos exames laboratoriais de rotina para diagnóstico e antes de qualquer tratamento anti-neoplásico, e foram enviadas ao laboratório de Pesquisa Translacional do IMIP.

O grupo controle foi recrutado no ambulatório geral do IMIP, sendo acompanhantes de pacientes e funcionários com idade ≥ 60 anos que concordaram em participar da pesquisa e após avaliação clínica por médico geriatra para selecionar os participantes elegíveis, seguindo os critérios de inclusão e exclusão do estudo. A seguir, fluxograma de captação dos pacientes e controles (Figura 11).

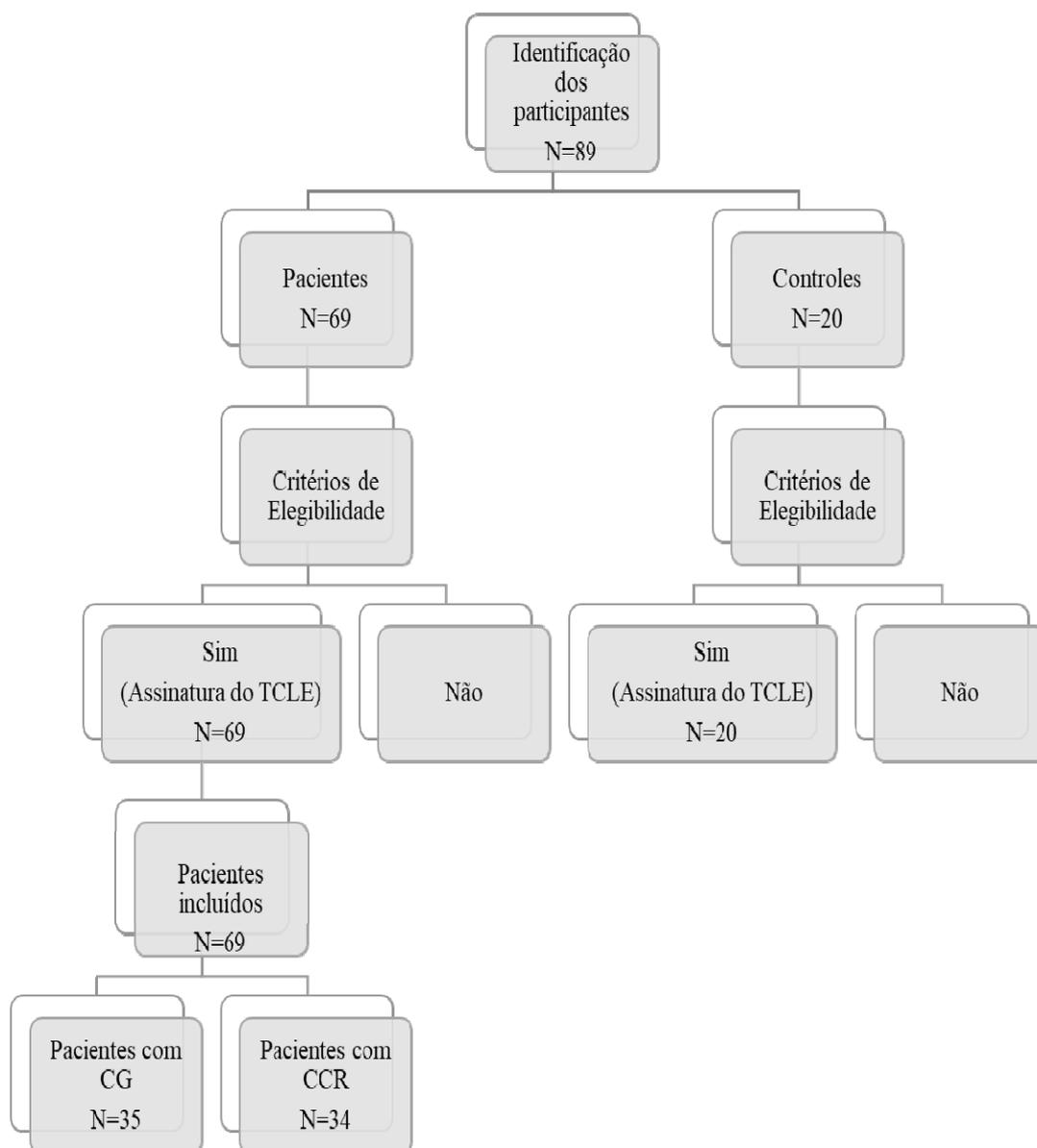


Figura 11 - Fluxograma de captação dos pacientes e controles

3.6 COLETA DOS DADOS CLÍNICOS E DO MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Os dados clínicos foram coletados no formulário específico de dados e nos prontuários dos pacientes. O formulário foi elaborado para o presente estudo (Apêndice 2). Foi coletada amostra de sangue periférico (4 mL) em tubo contendo anticoagulante EDTA dos pacientes e controles saudáveis. As amostras de sangue dos pacientes foram coletadas no momento do diagnóstico, antes de qualquer tratamento. A coleta foi realizada utilizando material descartável e esterilizado, seguindo os princípios de assepsia, conforme as normas de biossegurança, em seguida, o material biológico foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa Translacional do IMIP para processamento. Para separação de plasma, foi realizado a centrifugação à 250 g por 10 minutos da amostra de sangue total, utilizando centrífuga refrigerada (4 °C). Foram feitas alíquotas de 200 uL da amostra de plasma e armazenada em freezer à -80 °C para posterior análise de quimiocinas.

3.7 TESTES LABORATORIAIS

3.7.1 Determinação da concentração sérica das quimiocinas MCP-1, RANTES, IL8 e IP-10

Para análise da concentração das quimiocinas MCP-1, RANTES, IL-8 e IP-10 foi determinada em amostra de plasma por citometria de fluxo, utilizando instruções do kit BD™ CBA - Human Chemokine (BD - eBioscience) com modificações. Foi adicionado 25 uL da amostra de plasma de cada paciente e dos padrões em diluições seriadas em tubos de citometria. Uma curva padrão com as seguintes concentrações:

10 pg/mL, 20 pg/ml, 40 pg/ml, 80 pg/mL, 156 pg/mL, 312,5 pg/mL, 625 pg/mL, 1250 pg/mL, 2500 pg/mL. Em seguida, em cada tubo foram adicionados 25 μ L da mistura de esferas de captura e 25 μ L do reagente de detecção, anticorpos monoclonais específicos para cada quimiocina conjugados ao fluoróforo PE. Após a incubação de 3 horas a temperatura ambiente, foi realizada lavagem e adquiridos 1.500 eventos totais para cada amostra no equipamento de citometria de fluxo (FACSverse, Becton Dickinson, Sunnyvale, CA). A análise foi realizada no software FCAP Array (Becton Dickinson, Sunnyvale, CA) e os valores expressos em pg/mL.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A estatística descritiva das variáveis categóricas foi representada em tabela com distribuição das frequências absolutas e relativas. As variáveis contínuas foram apresentadas como medidas de tendência central (mediana e interquartil - IQR). O teste de Shapiro Wilk foi utilizado para normalidade na distribuição das variáveis quantitativas. Foi utilizado teste de Mann-Whitney para análise entre dois grupos e de Kruskal-Wallis para análise entre três ou mais grupos. Para a análise de correlação, foi utilizado o teste Pearson (distribuição normal). Os níveis de correlação foram classificados segundo o valor do coeficiente (r) em: desprezível (entre 0,00 e 0,3), baixo (entre 0,30 e 0,50), moderado (entre 0,50 e 0,70), alto (entre 0,70 e 0,90) e muito alto (entre 0,90 e 1,00), conforme ponto de corte descrito por MUKAIDA e BABA (2012). A análise dos dados foi realizada no software GraphPad Prism v6.0 (San Diego, CA). Para todas as análises foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS DOS PACIENTES IDOSOS COM CÂNCER GÁSTRICO E CÂNCER COLORRETAL

Para análise dos dados, a amostra foi composta por 35 idosos com câncer gástrico e 34 com câncer colorretal. A mediana da idade dos pacientes com CG foi de 72 anos (66-77,5) e com CCR 71 anos (65 - 78). A maioria dos pacientes com CG apresentava estágio IV e com CCR, estágio III. Nenhum dos pacientes apresentou estágio I. Quanto a metástase, a maioria dos pacientes de ambos os grupos não apresentava metástase à distância. Os detalhes dos dados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição das frequências absolutas e relativas das características socio- demográficas e anatomopatológicas dos pacientes idosos com câncer gástrico e câncer colorretal atendidos no IMIP.

VARIÁVEIS	CÂNCER GÁSTRICO N= 35	CÂNCER COLORRETAL N=34
IDADE (Anos)		
Mediana (IQR)	72 (66 - 77,5)	71 (65 - 78)
	N (%)	N(%)
SEXO		
Feminino	18 (51,4)	23 (67,6)
Masculino	17 (48,6)	11 (32,4)
ESTADIAMENTO		
II	9 (25,7)	9 (26,5)
III	9 (25,7)	16 (47,0)
IV	17 (48,6)	9 (26,6)
METÁSTASE		
Não	18 (51,4)	25 (73,5)
Sim	17 (48,4)	9 (25,5)

IQR: Interquartil (25%-75%)

4.2 NÍVEIS SÉRICOS DE QUIMIOCINAS EM PACIENTES IDOSOS COM CÂNCER GÁSTRICO E CÂNCER COLORRETAL

Os níveis séricos de IL8 foram elevados nos grupos de pacientes com câncer gástrico e colorretal quando comparado ao grupo de controles ($p < 0,0001$). Na análise de MCP-1, também verificou-se aumento dessa quimiocina nos pacientes com câncer gástrico e colorretal quando comparados aos controles ($p = 0,008$ e $p = 0,03$, respectivamente). Para as demais quimiocinas, não foram observadas diferenças significativas entre os pacientes e controles (Figura 12).

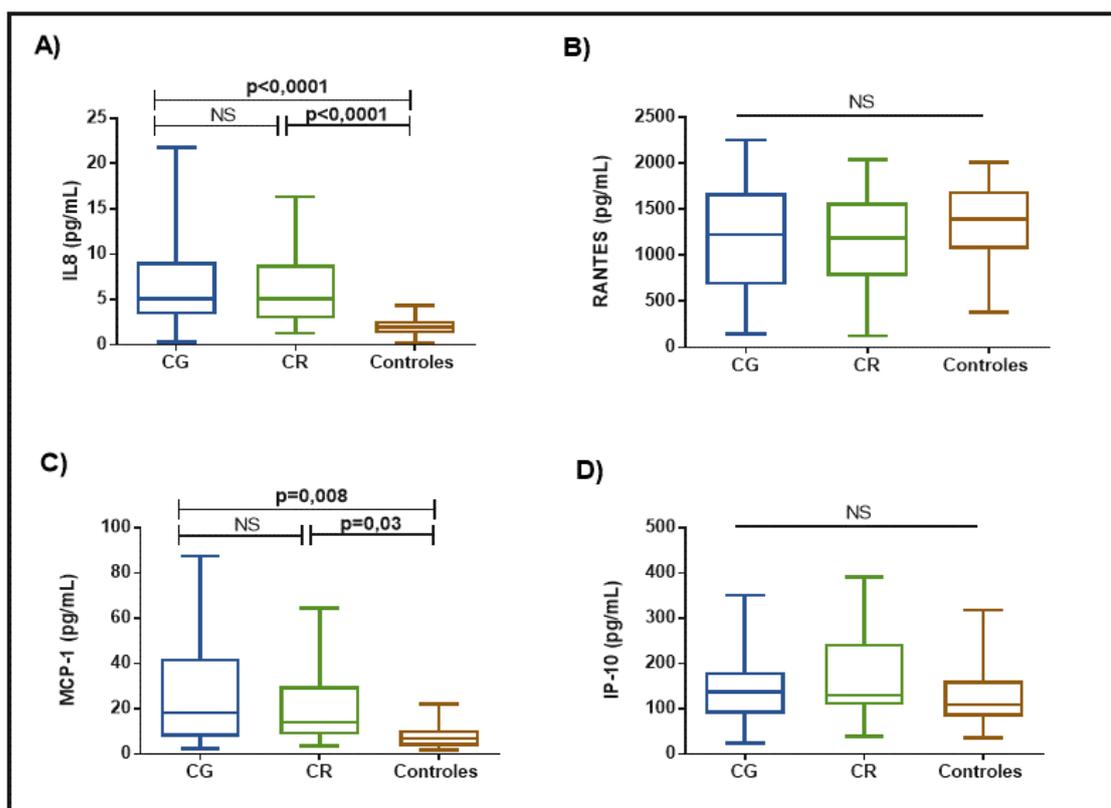


Figura 12 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes idosos com câncer gástrico (CG, $n = 35$), colorretal (CR, $n = 34$) e controles saudáveis ($n = 20$). Os gráficos representam a análise das medianas entre os grupos. Teste de Kruskal-Wallis. Foi considerado significativo $p < 0,05$. NS: não significativo.

4.3 ANÁLISE NÍVEIS SÉRICOS DE QUIMIOCINAS ENTRE OS PACIENTES COM IDADE ≤ 75 e > 76 ANOS

Não foi observado diferenças significativas dos níveis séricos de quimiocinas entre os pacientes com câncer gástrico e colorretal com idade ≤ 75 e > 76 anos, como mostram as Figuras 13 e 14.

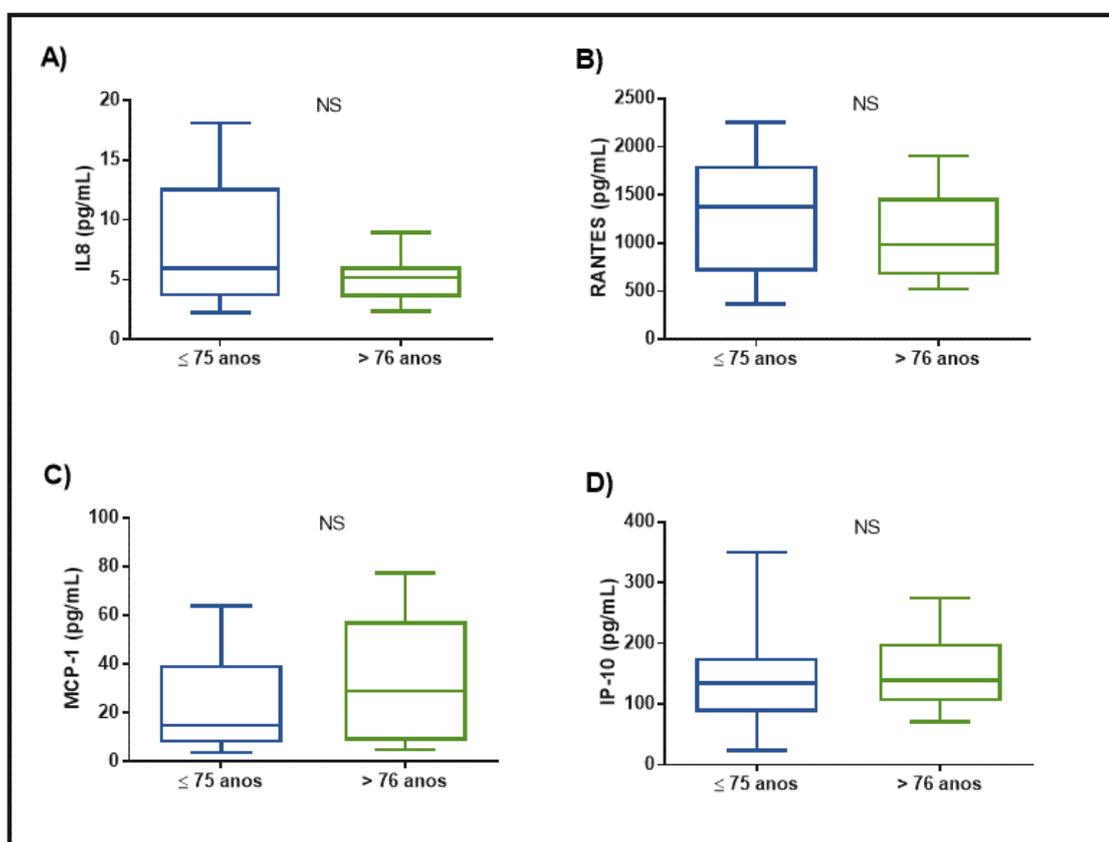


Figura 13 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes com câncer gástrico com idade ≤ 75 anos (n=24) e > 76 anos (n=11). Os gráficos representam a análise das medianas entre os grupos. Foi realizado teste de normalidade de Shapiro Wilk. Foi realizado o teste de Mann Whitney para análise de mediana entre os grupos. Foi considerado significativo $p < 0.05$. NS: não significativo.

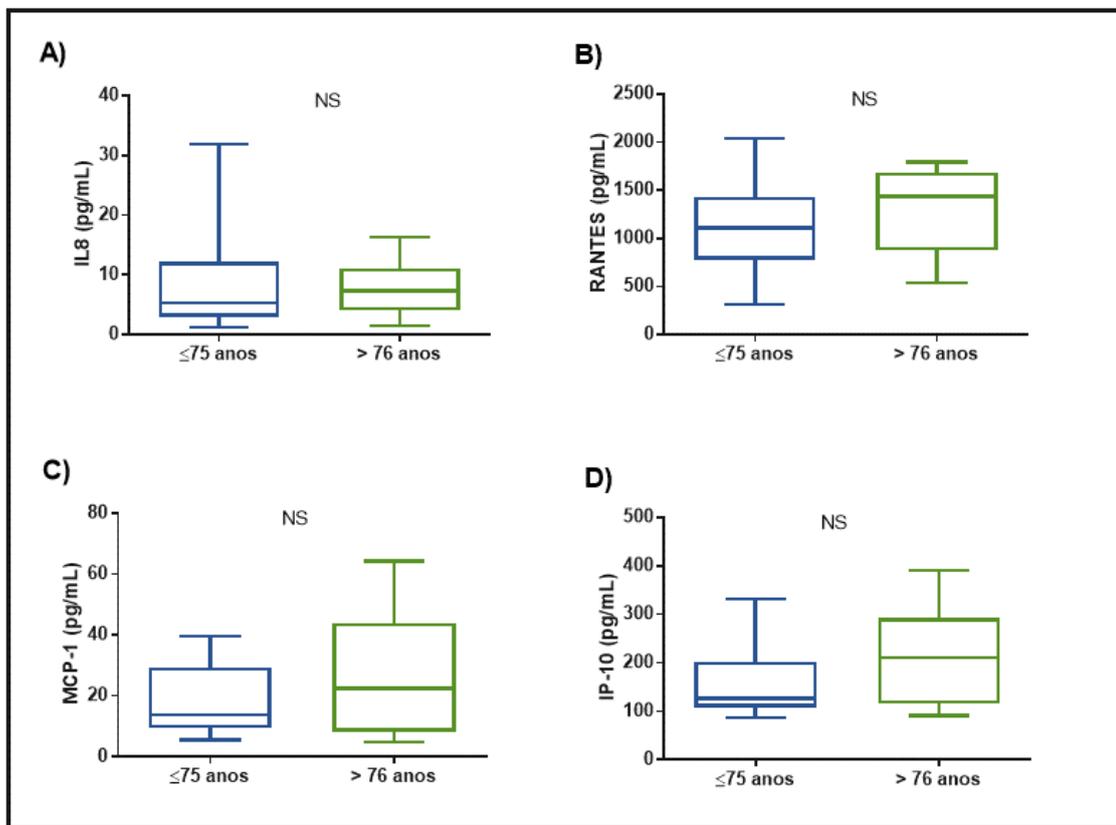


Figura 14 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes com câncer colorretal com idade ≤ 75 anos (n=25) e > 76 anos (n=09). Os gráficos representam a análise das medianas entre os grupos. Foi realizado teste de normalidade de Shapiro Wilk. Foi realizado o teste de Mann Whitney para análise de mediana entre os grupos. Foi considerado significativo $p < 0.05$. NS: não significativo.

4.4 ANÁLISE DOS NÍVEIS SÉRICOS DE QUIMIOCINAS NOS PACIENTES COM CÂNCER GÁSTRICO E COLORRETAL EM ESTÁDIOS II, III e IV DA DOENÇA

- **Câncer Gástrico**

Os níveis séricos de IL8 foram mais elevados nos pacientes com câncer gástrico em estágio IV em comparação aos estádios II e III ($p=0,02$), para ambos. Na análise de MCP-1, também foi observado elevados níveis dessa quimiocina no estágio IV quando comparado aos estádios II e III ($p=0,0004$ e $p=0,02$, respectivamente). Não houve diferença significativa entre os grupos para os níveis RANTES e IP10 (Figura 15).

- **Câncer colorretal**

Os níveis séricos de IL8 foram mais elevados nos pacientes com câncer colorretal em estágio IV em comparação aos estádios II e III ($p=0,01$ e $p=0,02$, respectivamente). Verificou-se níveis elevados de MCP-1 nos pacientes com câncer colorreal em estágio IV em comparação aos estádios II III ($p=0,001$ e $p=0,03$, respectivamente). Não houve diferença significativa entre os grupos para os níveis de RANTES e IP10 (Figura 16).

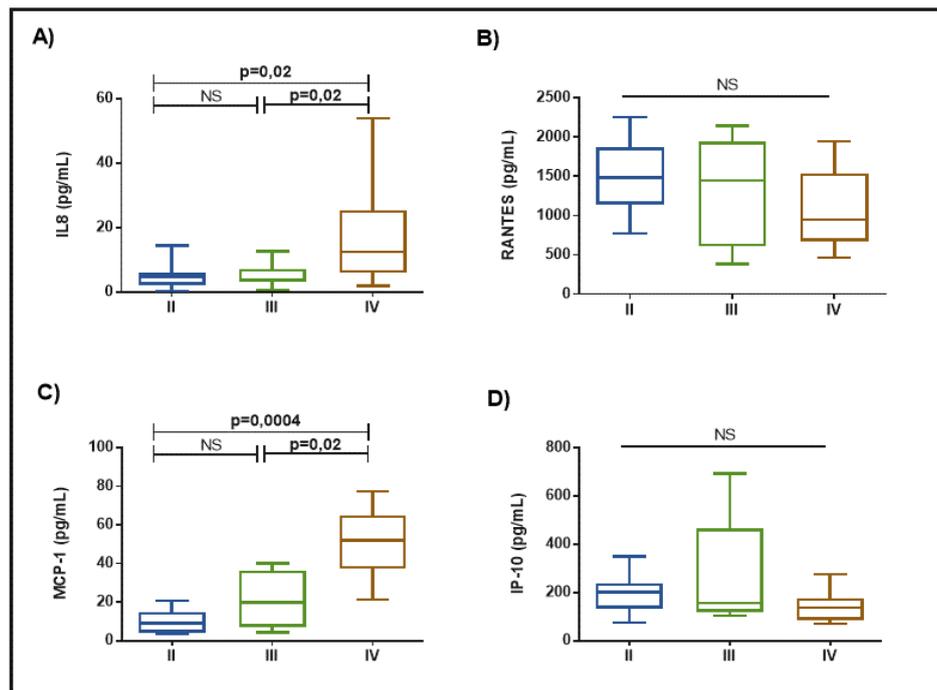


Figura 15 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes idosos com câncer gástrico em estádios II (n=9), III (n=9) e IV (n= 17). Os gráficos estão representados em medianas e interquartil. Teste de Kruskall-Wallis. Foi considerado significativo $p<0.05$. NS: não significativo.

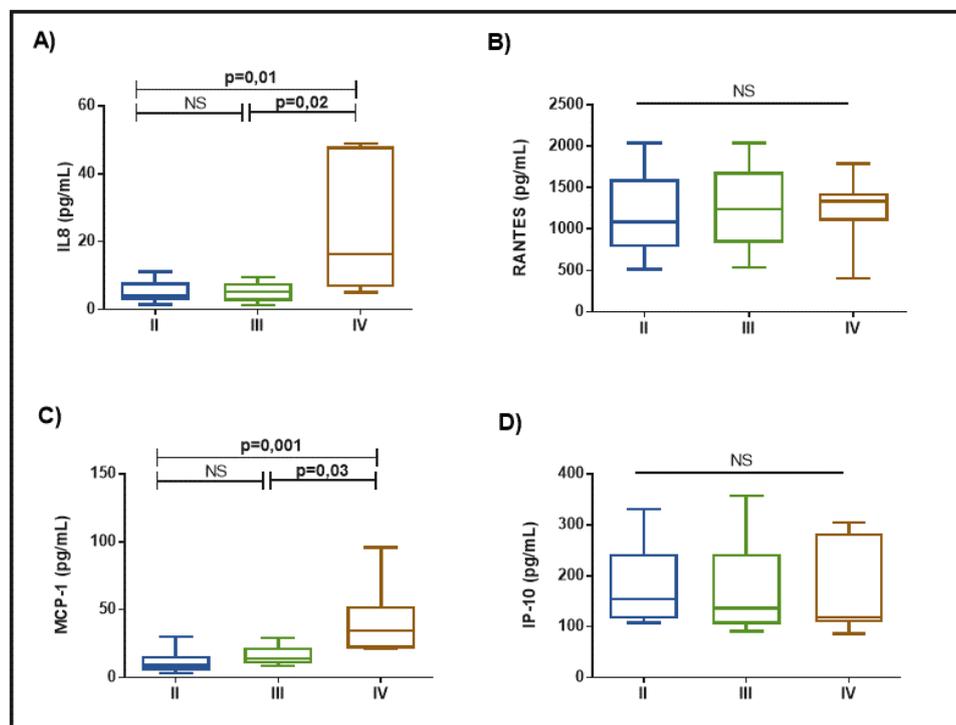


Figura 16 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10(pg/mL) nos pacientes idosos com câncer colorretal em estádios II (n=9), III (n= 16) e IV n=9). Os gráficos estão representados em medianas e interquartil. Teste de Kruskall-Wallis. Foi considerado significativo $p<0.05$. NS: não significativo.

4.5 ANÁLISE DOS NÍVEIS SÉRICOS DE QUIMIOCINAS NOS GRUPOS DE PACIENTES COM E SEM METASTASE TUMORAL

- **Câncer gástrico**

No câncer gástrico, verificou-se elevados níveis de IL8 , MCP-1 e RANTES nos pacientes com metástase quando comparado ao grupo sem metástase ($p=0,001$, $p=0,02$ e $p=0,01$ respectivamente). Não houve diferença significativa nos níveis de IP-10 entre os grupos (Figura 17).

- **Câncer colorretal**

Foram observados no câncer colorretal que os pacientes com metástases apresentaram níveis significativamente mais elevados de IL8 e MCP-1 quando comparado ao grupo de pacientes sem metástase ($p=0,006$ e $p=0,002$, respectivamente). Não houve diferença significativa dos níveis de RANTES e IP-10 entre grupos com e sem metástases, como mostra a Figura 18.

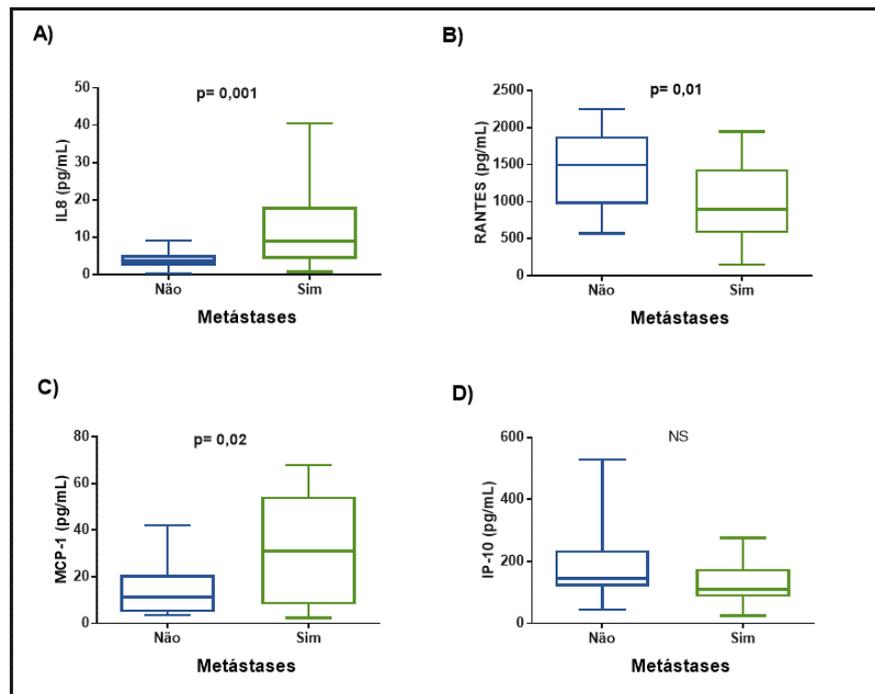


Figura 17 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes com câncer gástrico sem metástase (Não, n=18) e com metástase (Sim, n= 17). Os gráficos estão representados em medianas e interquartil. Foi considerado significativo $p < 0.05$. NS: não significativo.

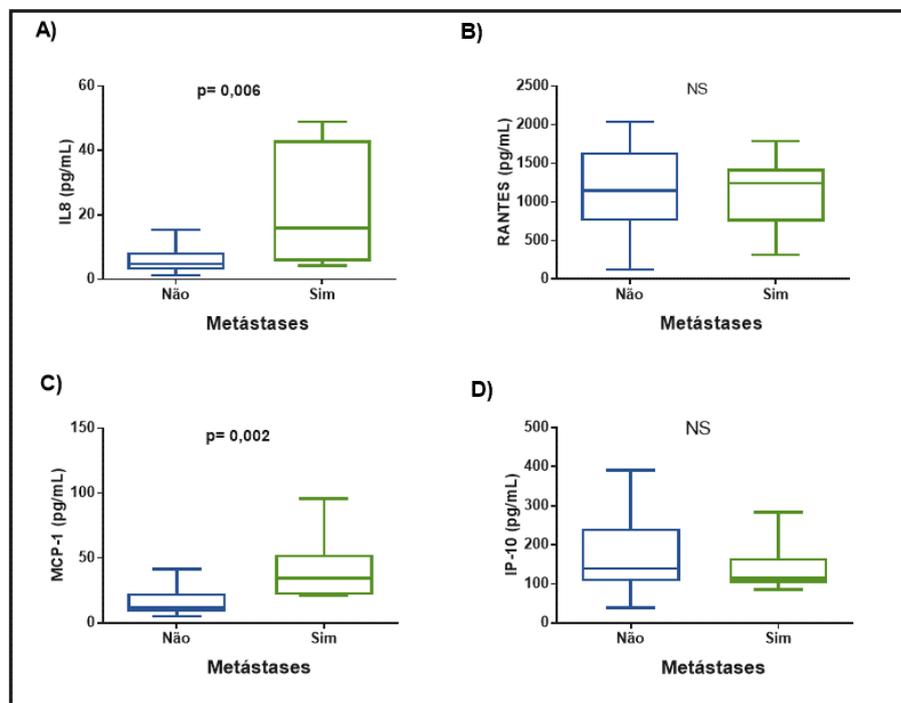


Figura 18 - Análise da concentração sérica de quimiocinas IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 (pg/mL) nos pacientes com cancer colorretal sem metástase (Não, n=25) e com metástase (Sim, n= 9). Os gráficos estão representados em medianas e interquartil. Foi realizado o teste de Mann Whitney para análise de mediana entre os grupos. Foi considerado significativo $p < 0.05$. NS: não significativo.

4.6 ANÁLISE DA CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE IL8, MCP-1, RANTES E IP-10

- **Câncer gástrico**

Não houve correlação entre os níveis de IL8, MCP-1, RANTES, IP-10 nos pacientes com câncer gástrico (Figura 19).

- **Câncer Colorretal**

No câncer colorretal, foi observada uma moderada correlação entre os níveis de MCP1 e RANTES ($r=0,52$; $p=0,002$), como mostra a Figura 20E.

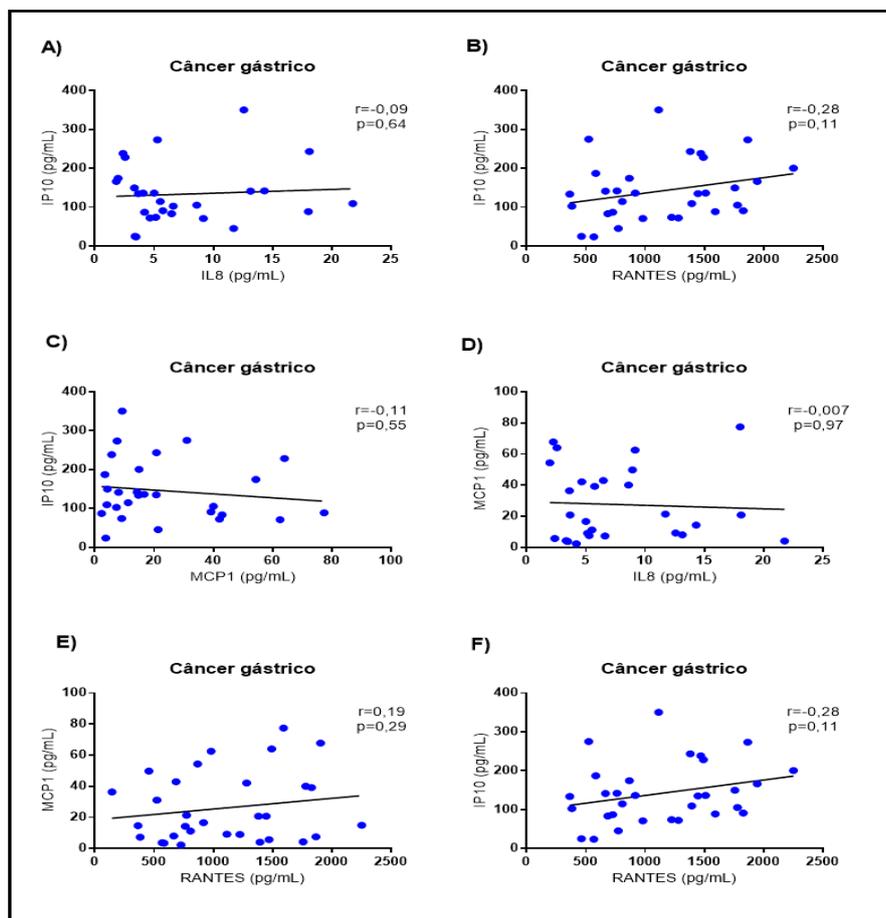


Figura 19 - Análise de correlação dos níveis de quimiocinas nos pacientes com câncer gástrico (pg/mL) entre IP-10 e IL8 (A), IP-10 e RANTES (B), IP-10 e MCP-1 (C), MCP-1 e IL8 (D), MCP-1 e RANTES (E), IP-10 e RANTES (F). Foi realizado o teste de correlação de Pearson. Foi considerado significativo $p<0,05$.

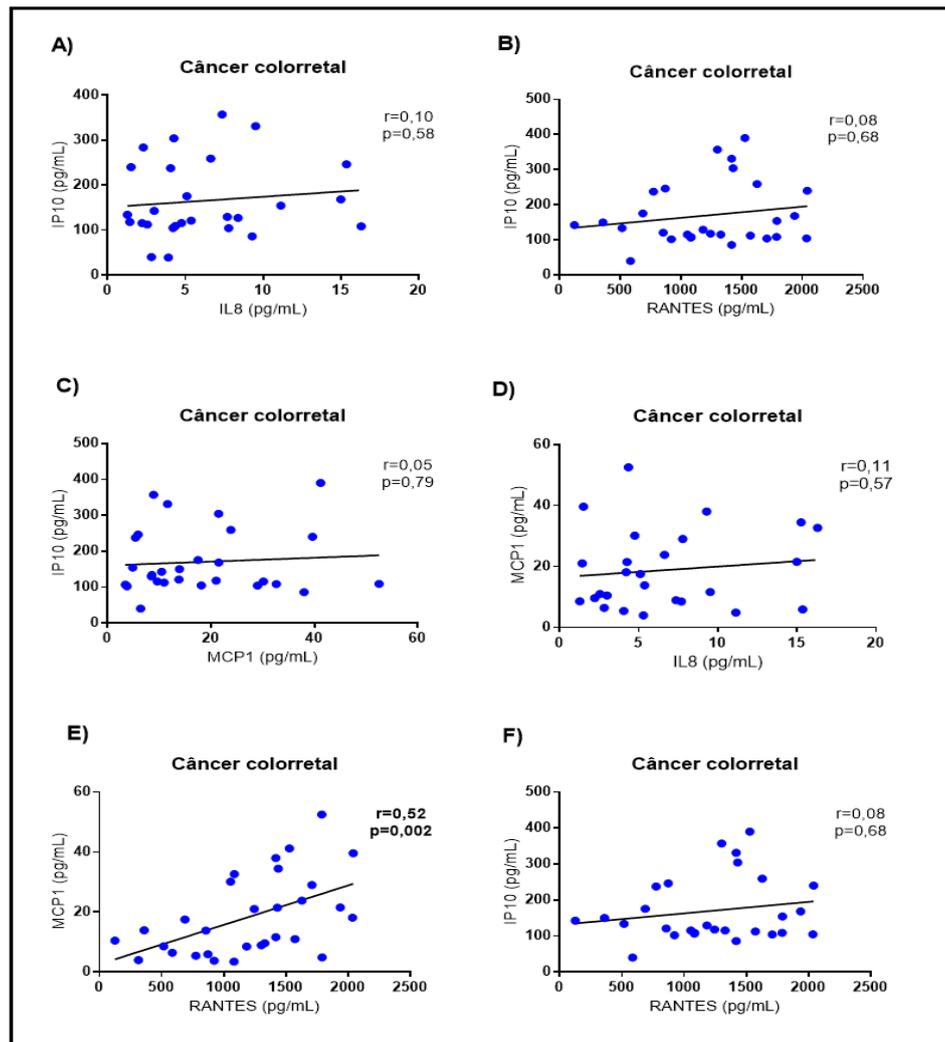


Figura 20 - Análise de correlação dos níveis de quimiocinas nos pacientes com câncer colorretal (pg/mL) entre IP-10 e IL8 (A), IP-10 e RANTES (B), IP-10 e MCP-1 (C), MCP-1 e IL8 (D), MCP-1 e RANTES (E), IP-10 e RANTES (F). Foi realizado o teste de correlação de Pearson. Foi considerado significativo $p<0,05$.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, foram avaliados os níveis séricos de quimiocinas MCP-1, RANTES, IL8 e IP-10 em idosos com câncer gástrico e colorretal, visando caracterizar o perfil dessas quimiocinas nesse tipos de tumores. De acordo com a OMS, 2015, nos países em desenvolvimento, são considerados idosos, pessoas com idade acima de 60 anos, conforme Política Nacional do Idoso (PNI), disposto na Lei nº8. 842, de 4 de janeiro de 1994, sendo a mesma aplicada pelo Estatuto do Idoso, Lei nº 10.741, de 1º de outubro de 2003 (Brasil 2004).

As quimiocinas podem estabelecer uma rede de interações entre muitos dos componentes envolvidos no estabelecimento de tumores primários. A MCP-1 foi descrita em promover a migração de monócitos para locais do processo inflamatório, e podem ser produzida por células tumorais (WU et al. 2013; TAO et al. 2014; SONG et al. 2018). A MCP-1 tem atividade pró-angiogênica, o que pode levar ao recrutamento e ativação de macrófagos para microambiente tumoral (YOSHIMURA 2018).

Algumas quimiocinas são consideradas pró-inflamatórias e sua liberação pode ser induzida durante a resposta imune no local do processo inflamatório. Nesse sentido, RANTES / CCL5 é uma quimiocina principalmente produzida pelas plaquetas após a ativação. Ela medeia a migração de monócitos para o endotélio e pode ser secretado por muitos tipos de células, tais como células endoteliais, macrófagos e células musculares lisas vasculares. Essa quimiocina promove

inflamação por recrutamento de uma grande quantidade de plaquetas e células do sistema imune (BAKOGIANNIS et al. 2017).

A IL8 pode facilitar o crescimento tumoral induzindo a quimiotaxia dos neutrófilos, promovendo a angiogênese e progressão da doença (WU et al. 2012), pois essas células podem liberar alguns fatores pró-angiogênicos como *transforming growth factor beta* (TGF- β) e *platelet-derived growth factor* (PDGF) (QUEEN et al. 2005). A produção de IP-10 é induzida por citocinas inflamatórias, sendo considerada uma quimiocina que participa do processo de homeostase por ser homeostáticas, promove a apoptose celular e o controle do crescimento de células dos sistema imune (SARVAIYA et al. 2013; DIMBERG et al. 2014).

Nas análises realizadas neste trabalho, observou-se níveis elevados de MCP-1 e IL-8 no grupo de idosos com câncer gástrico e colorretal quando comparados ao grupo controle saudáveis. Alguns autores relataram aumento dos níveis de MCP-1 e IL-8 em pacientes idosos com câncer gástrico (BAJ-KRZYWORZEKA et al. 2016; WU et al. 2013; TAS et al. 2016), e com câncer colorretal (BAILEY et al. 2007). Como essas quimiocinas são responsáveis pela migração das células fagocíticas (monócitos/neutrófilos) para o sítio inflamatório, o que sugere o envolvimento dessas células nos mecanismos de resposta anti-tumoral nesses dois tipos tumorais. No tecido, os monócitos do sangue se diferenciam em macrófagos, e no microambiente tumoral podem estar associados a tumores (TAMs). No microambiente, essas células podem produzir mediadores inflamatórios que favorecem o escape tumoral, tendo como principal consequência, a progressão do tumor e um prognóstico desfavorável (NOY e POLLARD 2014; LAHMAR et al. 2016).

Como foi descrito na literatura a associação de algumas quimiocinas com o envelhecimento. Alguns estudos mostraram que os níveis séricos de MCP-1 aumentam conforme o avanço da idade em pessoas idosas saudáveis (ANTONELLI et al. (2006) e MARIANI et al. (2006). Portanto, para minimizar os possíveis vieses nas análises das quimiocinas, utilizando as variáveis estadiamento e metástases tumoral neste estudo, distribuiu-se os pacientes com CG e CCR em dois grupos, um, com idade menor ou igual a 75 anos, e outro, acima de 76 anos e não foi observado diferenças significativas nos níveis séricos das quatro quimiocinas estudadas entre os grupos. Para a formação desses dois grupos, baseou-se na classificação da *National Comprehensive Cancer Network-NCCN* (2016), em que foram considerados como jovens idosos, aqueles com idade entre 65 a 75 anos; idosos, entre 76 a 85 anos; e idosos muito idosos, maior que 85 anos (BALDUCCI 2006).

Nas análises das quimiocinas, verificou-se aumento dos níveis de IL8 e MCP1 nos pacientes com câncer gástrico e colorretal em estágio avançado da doença (estágio IV). O aumento dos níveis dessas quimiocinas também foi observado nos grupos de pacientes com metástase tumoral, o que confirma o envolvimento da IL8 e MCP1 com a progressão tumoral. Esses dados sugerem que a IL8 e MCP1 podem estar envolvidas com um prognóstico desfavorável no CG e CR.

Como a IL8 é uma quimiocina responsável por promover a migração de neutrófilos, sendo as primeiras células que chegam ao sítio inflamatório. Existem dois tipos de neutrófilos, N1 e N2, e ambos possuem funções diferentes durante a resposta imune, sendo o subtipo N2 associado a ação pró-tumoral, pois apresentam baixa capacidade de produzir alguns mediadores fundamentais para ação dessas células contra o tumor, como as espécies reativas de oxigênio. Além disso, as células

N2 produzem fatores pró-angiogênicos, aumentando a vascularização na região do tumor, o que favorece o crescimento tumoral (MATSUO et al. 2009; OLADIPO et al. 2011). A baixa disponibilidade de oxigênio no microambiente tumoral atrai macrófagos tipo M2, os quais são estimulados a expressar diversos genes facilitadores da angiogênese, como *Vascular endothelial growth factor* (VEGF). De fato, os TAMs podem promover a proliferação e o crescimento de células tumorais (LAOUI et al. 2014; CAVNAR et al. 2017; SZEBENI et al. 2017).

KUAI et al. (2012) relatou que no câncer gástrico as células tumorais podem produzir IL8 *in vitro* e *in vivo*. BAJ-KRZYWORZEKA et al. (2016), também observaram aumento dos níveis séricos de IL8 nos pacientes com câncer gástrico, e associaram com a progressão da doença. No câncer gástrico e colorretal, alguns estudos associaram níveis elevados de IL8 ao aumento do tamanho do tumor, invasão angiolinfática e metástase hepática, e redução do tempo de sobrevivência (KONNO et al. 2003; KAMINSKA et al. 2005; NING et al. 2011; SARVAIYA et al. 2013; LEE et al. 2014).

Apesar de existirem relatos quanto a presença de níveis elevados de IP-10 em pacientes com câncer gástrico e colorretal, e a associação com a invasão linfática e prognóstico desfavorável nesses tipos tumorais (TOIYAMA et al. 2012; BAJ-KRZYWORZEKA et al. 2016), não foram observadas alterações dessa quimiocina entre os pacientes e controles, entre os diferentes estágios da doença e entre os grupos com e sem metástases.

No entanto, na análise de RANTES, observou-se alterações nos níveis dessa quimiocina apenas na comparação entre os grupos com e sem metástase nos pacientes com câncer gástrico. Nesse caso, os pacientes com metástase tumoral

apresentaram níveis elevados de RANTES quando comparado ao grupo sem metástase. Alguns autores também relataram no câncer gástrico níveis elevados de RANTES nos pacientes com metástases (SUGASAWA et al. 2008; SIMA et al. 2014; RYU et al. 2018). Esses autores sugerem que alterações dos níveis de RANTES pode estar associados a progressão do câncer gástrico, com disseminação de metástase peritoneal e pior prognóstico.

ALDINUCCI e COLOMBATTI (2014) também relataram que concentrações elevadas de RANTES no mieloma múltiplo, Linfoma de Hodgkin clássico, câncer de próstata, mama, cólon, ovário e melanoma, sendo as alterações de RANTES associadas à progressão e metástase tumoral. RANTES pode ser produzidas pelas células dos tumores primários ou metastáticos, levando a formação de um microambiente favorável ao crescimento do tumor devido ao recrutamento de macrófagos tipo M2, *myeloid-derived suppressor cells* (MDSC) e células T reguladoras (Treg). Essas células promovem a inibição da resposta imune anti-tumoral, induzindo a neoangiogênese no local do tumor, o que leva a disseminação das células tumorais para órgãos distantes (ALDINUCCI e COLOMBATTI 2014).

Para um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na produção das quimiocinas avaliadas neste trabalho, foram realizadas análises de correlação entre os níveis de IL8, MCP1, IP10 e RANTES nos grupos de pacientes com CG e CCR. Nessas análises, verificou-se uma moderada correlação apenas entre os níveis de MCP-1 e RANTES nos pacientes com CCR. Hipotetizamos, que a sincronia na produção dessas quimiocinas, seja devido ao fato de que MCP1 e RANTES pertencem à uma mesma família de quimiocinas. São quimiocinas inflamatórias, expressas por leucócitos em circulação e outros tipos de células apenas após

ativação, cuja expressão é frequentemente desencadeada por mediadores pró-inflamatórios, tais como fator de necrose tumoral e IFN- γ , e produtos microbianos, incluindo lipopolissacarídeo (CHEN et al. 2018). O recrutamento de leucócitos principalmente dos macrófagos, induzido por quimocinas representa uma parte das atividades de MCP-1 e RANTES no contexto das neoplasias (BEN-BARUCH 2006).

Como continuidade deste estudo, é importante analisar os níveis de outras quimocinas e dos seus receptores solúveis no sangue, como também comparar os níveis das quimocinas estudadas entre grupos de adultos jovens e idosos com câncer gástrico e colorretal. Além disso, avaliar os níveis percentuais de monócitos, neutrófilos, linfócitos e plaquetas nos pacientes e correlacionar com os níveis de quimocinas encontrados, o que poderá nos mostrar se existem alterações quantitativas dessas células e quais as quimocinas envolvidas.

Portanto, os nossos resultados sugerem que as quimocinas MCP-1 e IL8 estão associadas a progressão da doença. Além disso, existe o envolvimento dos macrófagos e neutrófilos nos mecanismos de metástase tumoral, face ao papel da MCP-1 e IL8 no recrutamento dessas células, cuja função no microambiente tumoral é a produção de fatores de crescimento e neoangiogênese, sendo possíveis biomarcadores preditivos de doença avançada no CG e CCR em idosos. A partir deste estudo, poderão surgir estudos clínicos que possam comprovar o potencial dessas quimocinas como possíveis alvos terapêuticos, cujo bloqueio pode inibir a migração de fagócitos para a região do tumor, favorecendo o crescimento das células tumorais.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu concluir:

- A produção de quimiocinas MCP-1, RANTES, IL8 e IP-10 foram semelhantes entre os grupos de CG e CCR, o que mostra que a topografia dos tumores do sistema gastrointestinal não influencia os níveis dessas quimiocinas no idoso;
- O avanço da idade dos pacientes idosos não está associado ao aumento ou redução dos níveis de MCP-1, RANTES, IL8 e IP-10;
- As alterações dos níveis de MCP1 e IL8 no CG e CCR foram associadas a progressão tumoral e metástases, sugerindo que o recrutamento de neutrófilos e monócitos pode levar a produção de fatores pró-angiogênicos, o que favorece o crescimento tumoral;
- As alterações dos níveis de RANTES estão apenas associadas ao câncer gástrico, sendo parte dos mecanismos que favorece a metástase tumoral;
- A correlação entre as quimiocinas MCP1 e RANTES pode estar associadas ao fato de pertencerem à uma mesma família de quimiocinas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abron JD, Singh NP, Murphy AE, et al. Differential role of CXCR3 in inflammation and colorectal cancer. **Oncotarget** 2018; 9:17928-36.

Acharyya S, Oskarsson T, Vanharanta S, et al. A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis. **Cell** 2012; 150:165-78.

Agius E, Lacy KE, Vukmanovic-Stejic M, et al. Decreased TNF- α synthesis by macrophages restricts cutaneous immunosurveillance by memory CD4⁺ T cells during aging. **J Exp Med** 2009; 206:1929-40.

Aldinucci D, Colombatti A. The inflammatory chemokine CCL5 and cancer progression. **Mediators Inflamm** 2014; 2014:292376.

Allavena P, Germano G, Marchesi F, Mantovani A. Chemokines in cancer related inflammation. **Exp Cell Res** 2011; 317:664-73.

Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, et al. Increase of CXC chemokine CXCL10 and CC chemokine CCL2 serum levels in normal ageing. **Cytokine** 2006; 34:32-8.

Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Tumour progression and metastasis. **Ecancermedicalscience** 2016; 10:617.

Baj-Krzyworzeka M, Węglarczyk K, Baran J, Szczepanik A, Szura M, Siedlar M. Elevated level of some chemokines in plasma of gastric cancer patients. **Cent Eur J Immunol** 2016; 41:358-62.

Baier PK, Eggstein S, Wolff-Vorbeck G, Baumgartner U, Hopt UT. Chemokines in human colorectal carcinoma. **Anticancer Res** 2005; 25:3581-4.

Bailey C, Negus R, Morris A, et al. Chemokine expression is associated with the accumulation of tumour associated macrophages (TAMs) and progression in human colorectal cancer. **Clin Exp Metastasis** 2007; 24:121-30.

Bakogiannis C, Sachse M, Stamatelopoulos K, Stellos K. Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis. **Cytokine** 2017 Dec 1; [Epub ahead of print].

Balducci L. Management of cancer in the elderly. **Oncology** (Williston Park) 2006; 20:135-43; discussion 144, 146, 151-2.

Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to Virchow? **Lancet** 2001; 35:539-45.

Balkwill FR. The chemokine system and cancer. **J Pathol** 2012; 226:148-57.

Ben-Baruch A. The multifaceted roles of chemokines in malignancy. **Cancer Metastasis Rev** 2006; 25:357-71.

Brandau S, Dumitru CA, Lang S. Protumor and antitumor functions of neutrophil granulocytes. **Semin Immunopathol** 2013; 35:163-76.

Brasil. Lei n. 10.741, de 1º de outubro de 2003. Dispõe sobre o Estatuto do idoso e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. 1º out 2003;1-60.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality Worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin** 2018; 68:394-424.

Cambien B, Richard-Fiardo P, et al. CCL5 neutralization restricts cancer growth and potentiates the targeting of PDGFR β in colorectal carcinoma. **PLoS One** 2011; 6:e28842.

Candido J, Hagemann T. Cancer-related inflammation. **J Clin Immunol** 2013; 33 Suppl 1:S79-84.

Cao Z, Xu X, Luo X et al. Role of RANTES and its receptor in gastric cancer metastasis. **J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci** 2011; 31:342-7.

Cavnar MJ, Turcotte S, Katz SC, et al. Tumor-associated macrophage infiltration in colorectal cancer liver metastases is associated with better outcome. **Ann Surg Oncol** 2017; 24:1835-42.

Chen K, Bao Z, Tang P, Gong W, Yoshimura T, Wang JM. Chemokines in homeostasis and diseases. **Cell Mol Immunol** 2018; 15:324-34.

Chung HW. Role of the tumor microenvironment in the pathogenesis of gastric carcinoma. **World J Gastroenterol** 2014; 20:1667.

Dreamstime. **Estágios do câncer de estômago imagens de stock e clips de stock.** Disponível em: <URL:<https://bit.ly/2YMFEnh>> [2019 jan 27]

Dimberg J, Skarstedt M, Löfgren S, Zar N, Matussek A. Protein expression and gene polymorphism of CXCL10 in patients with colorectal cancer. **Biomed Rep** 2014; 2:340-3.

Dumitru CA, Lang S, Brandau S. Modulation of neutrophil granulocytes in the tumor microenvironment: mechanisms and consequences for tumor progression. **Semin Cancer Biol** 2013; 23:141-8.

Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. **Ann Surg Oncol** 2010; 17:1471-4.

Falandry C, Bonnefoy M, Freyer G, Gilson E. Biology of cancer and aging: a complex association with cellular senescence. **J Clin Oncol** 2014; 32:2604-10.

Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. **Annu Rev Pathol** 2011; 6:479-507.

Forman D. The etiology of gastric cancer. **IARC Sci Publ** 1991; (105):22-32.

Forman D, Burley VJ. Gastric cancer: global pattern of the disease and an overview of environmental risk factors. **Best Pract Res Clin Gastroenterol** 2006; 20:633-49.

Furlan A. **Cólon e reto**. Disponível em: <URL:<https://bit.ly/2IaHW47>> [2019 jan 27]

Furuya M, Suyama T, Usui H. Up-regulation of CXC chemokines and their receptors: implications for proinflammatory microenvironments of ovarian carcinomas and endometriosis B. **Hum Pathol** 2007; 38:1676-87.

Galdiero MR, Mantovani A, Varricchi G, Loffredo S, Marone G. Roles of neutrophils in cancer growth and progression. **J Leukoc Biol** 2018; 103:457-64.

González CA, López-Carrillo L. Helicobacter pylori, nutrition and smoking interactions: their impact in gastric carcinogenesis. **Scand J Gastroenterol** 2010; 45:6-14.

Goronzy J, Cornelia MW. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. **Nat Immunol** 2013; 14:428-36.

Hurria A, Togawa K, Mohile SG, et al. Predicting chemotherapy toxicity in older adults with cancer: a prospective multicenter study. **J Clin Oncol** 2011; 29:3457-65.

Hurria A, Levit LA, Dale W, et al. Improving the evidence base for treating older adults with cancer: American Society of Clinical Oncology Statement. **J Clin Oncol** 2015; 33:3826-33.

Itatani Y, Kawada K, Inamoto S, et al. The role of chemokines in promoting colorectal cancer invasion/metastasis. **Int J Mol Sci** 2016; 17:643.

Jenne CN, Urrutia R, Kubes P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. **Int Jnl Lab Hem** 2013; 35:254-61.

Jiang Z, Xu Y, Cai S. CXCL10 expression and prognostic significance in stage II and III colorectal cancer. **Mol Biol Rep** 2010; 37:3029-36.

Johns Hopkins Medicine. **Gastric cancer**. © Copyright 2001-2013. Available from: <URL:<https://bit.ly/2VJBJUF>> [2019 mai 1].

Kaminska J, Nowacki MP, Kowalska M, et al. Clinical significance of serum cytokine measurements in untreated colorectal cancer patients: soluble tumor necrosis factor receptor type I-an independent prognostic factor. **Tumour Biol** 2005; 26:186-94.

Kuai WX, Wang Q, Yang XZ, Zhao Y, Yu R, Tang XJ. Interleukin-8 associates with adhesion, migration, invasion and chemosensitivity of human gastric cancer cells. **World J Gastroenterol** 2012; 18:979-85.

Koelink PJ, Overbeek SA, Braber S, et al. Targeting chemokine receptors in chronic inflammatory diseases: an extensive review. **Pharmacol Ther** 2012; 133:1-18.

Kordatou Z, Kountourakis P, Papamichael D. Treatment of older patients with colorectal cancer: a perspective review. **Ther Adv Med Oncol** 2014; 6:128-40.

Konno H, Ohta M, Baba M, Suzuki S, Nakamura S. The role of circulating IL-8 and VEGF protein in the progression of gastric cancer. **Cancer Sci** 2003; 94:735-40.

Krzystek-Korpacka M, Gorska S, Diakowska D, et al. Midkine is up-regulated in both cancerous and inflamed bowel, reflecting lymph node metastasis in colorectal cancer and clinical activity of ulcerative colitis. **Cytokine** 2017; 89:68-75.

Lahmar Q, Keirsse J, Laoui D, Movahedi K, Van Overmeire E, Van Ginderachter JA. Tissue-resident versus monocyte-derived macrophages in the tumor microenvironment. **Biochim Biophys Acta** 2016; 1865:23-34

Laoui D, Van Overmeire E, Di Conza G, et al. Tumor hypoxia does not drive differentiation of tumor-associated macrophages but rather fine-tunes the M2-like macrophage population. **Cancer Res** 2014; 74:24-30.

Larbi A, Pawelec G, Wong SC, et al. Impact of age on T cell signaling: a general defect or specific alterations? **Ageing Res Rev** 2011; 10:370-8.

Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification. **Acta Pathol Microbiol Scand** 1965; 64:31-49.

Lazennec G, Richmond A. Chemokines and chemokine receptors: new insights into cancer-related inflammation. **Trends Mol Med** 2010; 16:133-44.

Lee HJ, Song IC, Yun HJ, Jo DY, Kim S. CXC chemokines and chemokine receptors in gastric cancer: from basic findings towards therapeutic targeting. **World J Gastroenterol** 2014; 20:1681-93.

Linton PJ, Thoman ML. Immunosenescence in monocytes, macrophages, and dendritic cells: lessons from the lung and heart. **Immunology** 2014; 162:290-7.

Liston A, Papadopoulou AS, Danso-Abeam D, et al. MicroRNA-29 in the adaptive immune system: setting the threshold. **Cell Mol Life Sci** 2012; 69:3533-41.

Liu Q, Li A, Tian Y, et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. **Cytokine Growth Factor Rev** 2016; 31:61-71.

Ma HY, Liu XZ, Liang CM. Inflammatory microenvironment contributes to epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. **World J Gastroenterol** 2016; 22:6619-28.

Machado PRL, Araújo MIAS, Carvalho L, Carvalho EM. Mecanismos de resposta imune às infecções. **An Bras Dermatol** 2004; 79:647-62.

McLean MH, El-Omar EM. Genetics of gastric cancer. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol** 2014; 11:664-74.

McNeill E, Channon KM, Greaves DR. Inflammatory cell recruitment in cardiovascular disease: murine models and potential clinical applications. **Clin Sci** 2010; 118:641-55.

Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. **Nature** 2008; 454:436-44.

Mantovani A, Savino B, Locati M, Zammataro L, Allavena P, Bonecchi R. Cytokine & growth factor reviews the chemokine system in cancer biology and therapy. **Cytokine Growth Factor Rev** 2010; 21:27-39.

Mariani E, Cattini L, Neri S, et al. Simultaneous evaluation of circulating chemokine and cytokine profiles in elderly subjects by multiplex technology: relationship with zinc status. **Biogerontology** 2006; 7:449-59.

Matsuo Y, Ochi N, Sawai H, et al. CXCL8/IL-8 and CXCL12/SDF-1 α cooperatively promote invasiveness and angiogenesis in pancreatic cancer. **Int J Cancer** 2009; 124:853-61.

Medindia. **Stomach Cancer/Gastric Cancer**. Last Updated on Dec 17, 2016. Available from: <URL:<https://bit.ly/2EiI7Yp>> [2019 jan 27].

Miller RA. The Aging immune system: primer and prospectus. **Science** 1996; 273:70-4.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. José Alencar Gomes da Silva. **Atlas de mortalidade por câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2018a.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Inca; 2018b.

Mitchell WA, Meng I, Nicholson SA, et al. Thymic output, ageing and zinc. **Biogerontology** 2006; 7:461-70.

Monteagudo C, Martin JM, Jorda E, Llombart-Bosch A. CXCR3 chemokine receptor immunoreactivity in primary cutaneous malignant melanoma: correlation with clinicopathological prognostic factors. **J Clin Pathol** 2007; 60:596-9.

Mukaida N, Baba T. Chemokines in tumor development and progression. **Exp Cell Res** 2012; 318:95-102.

Ning Y, Manegold PC, Hong YK, et al. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models. **Int J Cancer** 2011; 128:2038-49.

Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. **Immunity** 2014; 41:49-61.

Ogura M, Takeuchi H, Kawakubo H, et al. Clinical significance of CXCL-8/CXCR-2 network in esophageal squamous cell carcinoma. **Surgery** 2013; 154:512-20.

Okines A, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A; ESMO Guidelines Working Group. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Ann Oncol** 2010; 21 Suppl 5:v50-4.

Oladipo O, Conlon S, O'Grady A, et al. The expression and prognostic impact of CXC-chemokines in stage II and III colorectal cancer epithelial and stromal tissue. **Br J Cancer** 2011; 104:480-7.

Pachynski R, Nazha J, Kohrt H. Leukocyte trafficking: can we bring the fight to the tumor. **Discov Med** 2016; 21:205-12.

Pallis AG, Hatse S, Brouwers B, et al. Evaluating the physiological reserves of older patients with cancer: the value of potential biomarkers of aging? **J Geriatr Oncol** 2014; 5:204-18.

Pan M, Huang P, Li S, Chen J, Wei S, Zhang Y. Double contrast-enhanced ultrasonography in preoperative Borrmann classification of advanced gastric carcinoma: comparison with histopathology. **Sci Rep** 2013; 3:3338.

Pawelec G, Lustgarten J, Ruby C, et al. Impact of aging on cancer immunity and immunotherapy. **Cancer Immunol Immunother** 2009; 58:1723-4.

Queen MM, Ryan RE, Holzer RG, Keller-Peck CR, Jorcyk CL. Breast cancer cells stimulate neutrophils to produce oncostatin M: potential implications for tumor progression. **Cancer Res.** 2005; 65:8896-904.

Qu X, Tang Y, Hua S. Immunological approaches towards cancer and inflammation: a cross talk. **Front Immunol** 2018; 9:563.

Ramos MFKP, Ribeiro Júnior U, Viscondi JKY, Zilberstein B, Ceconello I, Eluf-Neto J. Risk factors associated with the development of gastric cancer - case-control study. **Rev Assoc Med Bras** 2018; 64:611-9.

Ridiandries A, Tan JTM, Bursill CA. The role of CC-chemokines in the regulation of angiogenesis. **Int J Mol Sci** 2016; 17:1856.

Ruhland MK, Coussens LM, Stewart SA. Senescence and cancer: an evolving inflammatory paradox. **Biochim Biophys Acta - Rev Cancer** 2016; 1865:14-22.

Ruytinx P, Proost P, Damme J Van, Struyf S. Chemokine-induced macrophage polarization in inflammatory conditions. **Front Immunol** 2018; 9:1-12.

Ryu H, Baek SW, Moon JY, Jo IS, Kim N, Lee HJ. C C motif chemokine receptors in gastric cancer. **Mol Clin Oncol** 2018; 8:3-8.

Santiago JM, Sasako M, Osorio J. TNM-7th edition 2009 (UICC/AJCC) and Japanese Classification 2010 in Gastric Cancer. Towards simplicity and standardisation in the management of gastric cancer. **Cir Esp** 2011; 89:275-81.

Sarvaiya PJ, Guo D, Ulasov I, Gabikian P, Lesniak MS. Chemokines in tumor progression and metastasis. **Oncotarget** 2013; 4:2171-85.

Schneider NI, Langner C. Prognostic stratification of colorectal cancer patients: current perspectives. **Cancer Manag Res** 2014; 6:291-300.

Szebeni GJ, Vizler C, Kitajka K, Puskas LG. Inflammation and cancer: extra- and intracellular determinants of tumor-associated macrophages as tumor promoters. **Mediators Inflamm** 2017; 2017:9294018.

Sima AR, Sima HR, Rafatpanah H, et al. Serum chemokine ligand 5 (CCL5/RANTES) level might be utilized as a predictive marker of tumor behavior and disease prognosis in patients with gastric adenocarcinoma. **J Gastrointest Cancer** 2014; 45:476-80.

Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. **Am J Gastroenterol** 2015; 110:223-63.

Song M, Sasazuki S, Camargo MC, et al. Circulating inflammatory markers and colorectal cancer risk: a prospective case-cohort study in Japan. **Int J Cancer** 2018; 143:2767-76.

Sugasawa H, Ichikura T, Tsujimoto H, et al. Prognostic significance of expression of CCL5/RANTES receptors in patients with gastric cancer. **J Surg Oncol** 2008; 97:445-50.

Tang P, Wang JM. Chemokines: the past, the present and the future. **Cell Mol Immunol** 2018; 15:295-8.

Tao LL, Shi SJ, Chen LB, Huang. CExpression of monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 in gastric cancer and its relationship with tumor hypoxia. **World J Gastroenterol** 2014; 20:4421-7.

Tardáguila M, Mañes S. The complex role of chemokines in cancer: the case of the CX3CL1/CX3CR1 Axis. In: Stock I, editor. **Oncology: theory & practice**. Hong Kong: Concept Press; 2014. p.181-211.

Tas F, Karabulut S, Serilmez M, Karabulut M, Duranyildiz D. Elevated circulating monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1/CCL-2) level may be an unfavorable predictive factor to platinum- and taxane-based combination chemotherapy in patients with gastric cancer. **Cancer Chemother Pharmacol** 2016; 77:127-31.

Toiyama Y, Fujikawa H, Kawamura M, et al. Evaluation of CXCL10 as a novel serum marker for predicting liver metastasis and prognosis in colorectal cancer. **Int J Oncol** 2012; 40:560-6.

Vandercappellen J, Damme J Van, Struyf S. The role of CXC chemokines and their receptors in cancer. **Cancer Lett** 2008; 267:226-44.

Verbeke H, Struyf S, Laureys G, Van Damme J. The expression and role of CXC chemokines in colorectal cancer. **Cytokine Growth Factor Rev** 2011; 22:345-58.

Verbeke H, Geboes K, Van Damme J, Struyf S. The role of CXC chemokines in the transition of chronic inflammation to esophageal and gastric cancer. **Biochim Biophys Acta** 2012; 1825:117-29.

Vieira-de-Abreu A, Campbell RA, Weyrich AS, Zimmerman GA. Platelets: versatile effector cells in hemostasis, inflammation, and the immune continuum. **Semin Immunopathol** 2012; 34:5-30.

Wang T, Wei Y, Tian L, et al. C-C motif chemokine ligand 5 (CCL5) levels in gastric cancer patient sera predict occult peritoneal metastasis and a poorer prognosis. **Int J Surg** 2016; 32:136-42.

WebMD. **Colorectal cancer. Slideshows. What you need to know about colorectal cancer. The stages of colorectal cancer.** Reviewed by Laura J. Martin, MD on July 31, 2018. Available from: <URL:<https://wb.md/2AZxBRP>> [2019 jan 27]

Wu J, Liu X, Wang Y. Predictive value of preoperative serum CCL2, CCL18, and VEGF for the patients with gastric cancer. **BMC Clin Pathol** 2013; 13:15.

Yoshidome H Significance of monocyte chemoattractant protein-1 in angiogenesis and survival in colorectal liver metastases. **Int J Oncol** 2009; 34:923-30.

Yoshimura T. The chemokine MCP-1 (CCL2) in the host interaction with cancer: a foe or ally? **Cell Mol Immunol** 2018; 15:335-45.

Zhang X, Zhang W, Yuan X, Fu M, Qian H, Xu W. Neutrophils in cancer development and progression: roles, mechanisms, and implications (review). **Int J Oncol** 2016; 49:857-67.

Zimmerman NP, Vongsa RA, Wendt MK, Dwinell MB. Chemokines and chemokine receptors in mucosal homeostasis at the intestinal epithelial barrier in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis** 2008; 14:1000-11.

Zou K, Wang Y, Hu Y, Zheng L, Xu W, Li G. Specific tumor-derived CCL2 mediated by pyruvate kinase M2 in colorectal cancer cells contributes to macrophage recruitment in tumor microenvironment. **Tumor Biol** 2017; 39:1010428317695962.

Anexo 1 – Parecer Consubstanciado

SOCIEDADE PERNAMBUCANA
DE COMBATE AO CÂNCER-
SPCC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE NEUTRÓFILOS NO PRÉ-OPERATÓRIO DE PACIENTES COM CÂNCER GÁSTRICO APÓS CONSUMO DE DIETA

Pesquisador: EDLA KARINA CABRAL

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 54851916.9.0000.5205

Instituição Proponente: SOCIEDADE PERNAMBUCANA DE COMBATE AO CÂNCER -SPCC

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.670.832

Anexo 2 - Estadimanto Clínico no Câncer Gástrico

ESTÁGIO	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
IIIB	T4b	N0	M0
	T4b	N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
IIIC	T4b	N2	M0
	T4b	N3	M0
	T4a	N3	M0
IV	qualquer T	qualquer N	M1

Fonte: Adaptado EDGE e COMPTON (2010).

Anexo 3 - Estadimanto Clínico no Câncer Colorretal

Estádio	T	N	M
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio I	T1, T2	N0	M0
Estádio IIA	T3	N0	M0
Estádio IIB	T4a	N0	M0
Estádio IIC	T4b	N0	M0
Estádio IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Estádio IIIB	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
Estádio IIIC	T4a	N2a	M0
	T3, T4b	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Estádio IVA	Qualquer T	Qualquer N	M1a
Estádio IVB	Qualquer T	Qualquer N	M1b

Fonte: Adaptado EDGE e COMPTON (2010) .

Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA PESQUISA FUTURA

Eu _____ responsável e equipe pela pesquisa estamos fazendo um convite para você para participar como voluntário deste nosso estudo, porque você é um paciente com idade superior a sessenta anos que será acompanhado no serviço de oncologia do IMIP. Esta pesquisa pretende avaliar os fatores de risco para a ocorrência de infecção durante o seu tratamento. Acreditamos que a pesquisa seja importante porque pacientes com idade acima de sessenta anos, com o seu diagnóstico, realizando exames e/ou tratamentos podem ter um risco maior de desenvolver esta complicação (infecção) , porém este risco varia muito com a situação do paciente e os diferentes tratamentos , a população brasileira está ficando cada vez mais idosa e há muitos poucos estudos sobre os melhores tipos de cuidados para esta população, além desta população ter muitas características diferentes entre si, e essas diferenças podem ser importantes para o cuidado de saúde de cada um. Para a realização deste estudo, que só iniciará após a autorização do comitê de ética do IMIP. Não iremos modificar as condutas da equipe de saúde e de seu médico, apenas iremos observar seu acompanhamento, o resultado de exames e seus dados de prontuários , será realizado uma entrevista para lhe conhecer melhor e /ou esclarecer alguns dados de seu prontuário com duração de cerca de 20 minuto. Quando você for realizar um exame de sangue pedido por seu médico iremos aproveitar para coletar uma pequena amostra de sangue que permita fazer um exame de uma proteína que pode esta relacionada a este risco de desenvolver a infecção. Sua participação constará de permitir o acompanhamento de seu tratamento durante o período do estudo e atendimentos no IMIP, pessoalmente conversaremos você a princípio na sua admissão no estudo e se ocorrer uma infecção , e sempre que você precisar de informações e esclarecimentos, ou se ficarmos com alguma dúvida em seu prontuário. Os benefícios que esperamos como estudo são conhecer a diversidade destes fatores de risco de modo a prevenir ainda mais a ocorrência de infecção e suas complicações , sem que atrapalhe o tratamento planejado e a qualidade de vida do paciente , este conhecimentos irá beneficiar aos pacientes que irão enfrentar o tratamento e acompanhamento que você está passando agora, além de permitir que o IMIP e outros serviços planeje as ações de cuidados , principalmente para a população mais idosa . É importante esclarecer que, caso você decida não participar, nada mudará em seu atendimento, sendo garantido o tratamento e acompanhamento de rotina previsto para você. Durante todo o período da pesquisa você tem o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato, com algum dos pesquisadores ou com o Conselho de Ética em Pesquisa do IMIP. Em caso de algum problema relacionado com a pesquisa você terá direito à assistência gratuita que será prestada no IMIP, como sempre. Você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão. As informações desta pesquisa serão sempre confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a

não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação. O sangue coletado será utilizado apenas para a finalidade científica desta pesquisa. Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores.

Os testes laboratoriais serão realizados no sangue onde estudaremos a sua imunidade e marcadores genéticos, ou no material de biópsia. Com relação ao material de biópsia, um pequeno fragmento fresco será enviado para cultura celular e avaliação de infiltrado inflamatório, habitualmente tais testes são dispensáveis, pois não alteram a conduta do seu tratamento, mas conhecê-los pode ser de utilidade para o futuro. Serão também realizadas coletas de 10 mL de sangue periférico para realização dos testes laboratoriais que avaliarão a sua imunidade e também possíveis marcadores genéticos relacionados com sua doença, porém que não irão alterar o tipo do seu tratamento. O material excedente à rotina será armazenado no Biorrepositório localizado no Laboratório de Pesquisa Translacional do IMIP, sob condições adequadas de temperatura para garantir a integridade das amostras e uso no projeto de pesquisa acima e o material de biópsia será guardado no Departamento de Anatomia Patológica do IMIP.

Existe um risco mínimo para o participante de pesquisa. Será colocada pomada anestésica (EMLA) antes da coleta de sangue para evitar a dor da picada da agulha. A coleta poderá provocar uma mancha vermelha ou roxa no local da picada da agulha. Os pais dos pacientes serão orientados de como tratar, caso ocorra mancha vermelha ou roxa no local.

Reiteramos que os pesquisadores deste trabalho se comprometem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa descrita acima e, casos o material seja utilizado em outra pesquisa, um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido lhe será apresentado para pedir sua autorização.

CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o objetivo e os testes laboratoriais que serão realizados neste trabalho.

Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os testes laboratoriais que serão realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também estou isenta de despesas e que terei a garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízos ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido ou no meu atendimento neste serviço.

Declaro estarem claros para mim quais são os objetivos desta atividade, como participarei, que terei garantia de confidencialidade e a certeza de que obterei esclarecimentos a qualquer momento, bem como retirada deste consentimento a qualquer momento. Estou ciente que minha participação é isenta de despesas ou ganhos financeiros e que isto não irá interferir no meu tratamento.

Se os meus materiais biológicos guardados Biorrepositório do IMIP forem utilizados em pesquisas aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa, escolho livremente a opção abaixo assinalada:

Autorizo a utilização dos meus materiais biológicos sem necessidade de novo consentimento a cada pesquisa.

Desejo ser contatada para autorizar o uso dos meus materiais biológicos a cada pesquisa e em caso de impossibilidade de contato comigo, indico que a nova autorização seja fornecida pelo senhor (a) (nome e contato do familiar ou representante legal)

Nome e assinatura do paciente Data

Assinatura do Responsável Legal/Testemunha Imparcial Data

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente (ou de seu representante legal) para a cessão de material biológico para armazenamento no Biorrepositório do projeto acima referido.

_____/_____/_____
Nome e assinatura do responsável pela obtenção do Termo

Data

Assinatura de uma testemunha

Dados do pesquisado responsável:

Jurema Telles de Oliveira Lima

Pesquisadora principal/médica /oncologista clínica -CRM 11279

Rua dos Coelhos 300 Boa Vista CEP 50070-550 telefone : 99763591 /21224185

email: jurema@imip.org.br

Comitê de ética do IMIP

Prédio administrativo orlando Onofre do IMIP- 1º andar

Telefone 21224756

Apêndice 2 - Formulário para coleta de dados dos pacientes

QUESTIONÁRIO DE PESQUISA	
CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	
Responsável pela coleta dos dados: _____	Data da coleta: _____
/ /	
Nome do paciente: _____	
Hospital de origem: (1) IMIP	Data da matrícula: ____/____/____
Data de Nascimento: ____/____/____	
Verificação dos critérios de elegibilidade:	
Idade <input type="checkbox"/> 60 anos	(1) Sim (2) Não
Diagnóstico confirmado de adenocarcinoma de estômago e colorretal	(1) Sim (2) Não
Ausência de história pessoal de câncer prévio	(1) Sim (2) Não
Ausência de tratamento cirúrgico ou medicamentoso prévio	(1) Sim (2) Não
Nas questões anteriores, respondeu SIM a todos:	(1) Sim (Inclusão) (2) Não (Exclusão)
Assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:	(1) Sim (Inclusão) (2) Não (Exclusão)
ENTREVISTA NO INÍCIO DO ESTUDO	
Responsável pela coleta dos dados: _____	Data da coleta: _____
/ /	
Nº do Prontuário: _____	
Residência (cidade e estado): _____	Naturalidade: _____
Sexo (1) Masculino (2) Feminino	
Qual foi a data aproximada do primeiro sintoma relativo ao câncer? / /	
COLETA DE DADOS NO PRONTUÁRIO	
Informações Clínicas	
Data da confirmação diagnóstica de câncer (BPO): ____/____/____	
Data da primeira consulta no serviço: ____/____/____	
Data do início do tratamento: ____/____/____	
Estadiamento cirúrgico:	
Estadiamento patológico: (1) I (2) IIA (3) IIB (4) IIIA (5) IIIB (6) IIIC (7) IV (8) Sem Informação	
Presença de metástases: (0) M0 (1) M1	