

**AVALIAÇÃO DAS INTERLEUCINAS IL-6 E IL-10 E QUALIDADE
DE VIDA NO CÂNCER DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL
ANTES DA TERAPIA ANTINEOPLÁSICA**

DANIELY SOUZA DE NARDI

Dissertação de mestrado em Ciências Fisiológicas

Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, abril de 2021

DANIELY SOUZA DE NARDI

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.
Aprovado em// 2021 por:

____ Prof^ª. Dr^ª. Sonia Alves Gouvea

Orientadora, PPGCF-UFES

____ Prof^ª. Dr^ª. Carmem Luiza Sartório –

Coorientadora, PPGCF-UFES

____ Prof^ª. Dr^ª. Livia Carla De Melo Rodrigues

____ Prof^ª. Dr^ª. Simoni Alves de Almeida Simões

Coordenadora do PPGCF: Prof^ª. Dr^ª. Sonia Alves
Gouvea

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Vitória, 2021

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a todas as pessoas que estiveram ao meu redor nesta caminhada, pois ninguém é capaz de fazer nada sozinho, desta forma, este trabalho é fruto do apoio de diversas pessoas que estiveram presentes em minha caminhada. Agradeço primeiramente a Deus, pois se não fosse da vontade Dele, nada seria possível!

Aos meus pais e minha irmã, que sempre foram compreensivos em meus momentos de ausência, sempre estiveram de prontidão para me ouvir e me apoiar, me prepararam muito café e me ajudaram a nunca desistir! Vocês são a minha força!

A Prof^o Sônia, agradeço a oportunidade, ela que me acolheu desde o início da iniciação científica, sempre me guiando sempre, ela que é mais que uma mestre, é uma amiga que eu vou levar por toda a minha vida, muito obrigada por todos os ensinamentos, todos os puxões de orelha e todo carinho concedido a mim.

A prof^o Carmem por me ajudar nos processos de desenvolvimento deste trabalho, fazendo com que eu enxergasse que era possível!

A Karine que está presente desde minha graduação, sendo muito mais que uma amiga que me corrigia e incentivava em todo o processo de aprendizado.

Ao meu amigo Vinícius, por todo apoio, compreensão e pelas palavras de otimismo, por segurar a minha mão e falar que tudo iria dar certo, por ser um amigo/irmão. À Bruno por nunca me deixar desanimar, à Helena por todo apoio e por me dedicar seu tempo em ajuda, muito obrigada por terem paciência, e acreditarem que eu conseguiria, quando eu mesma não acreditei!

Um agradecimento especial a Marcela, por ser uma amiga/mãe. Por estar junto a mim em todos os momentos, faça chuva, faça sol! Como é bom poder dividir esse caminho com você, Obrigada!

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas por toda a ajuda, às professoras Lívia e Simoni por aceitarem participar da minha banca.

A todos os pacientes que aceitaram participar desta pesquisa, mesmo passando por um período difícil de suas vidas, porque sem eles este trabalho não seria possível.

Ao apoio financeiro da FAPES que viabilizou a realização desta pesquisa.

Meus sinceros agradecimentos!

“Você não pode mudar o vento, mas pode ajustar as velas do barco para chegar aonde quer” - Confúcio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	30
2.1 Objetivo geral.....	30
2.2 Objetivos específicos.....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1 Delineamento do estudo.....	31
3.2 Grupo amostral, variáveis do estudo e instrumentos utilizados.....	31
3.2.2 <i>Estadiamento TNM</i>	30
3.2.2 <i>European Organization for Research And Treatment Of Cancer Quality Of Life Questionnaire “Core” 30-Items (EORTC QLQ-C30) versão 3.0</i>	32
3.3 Coleta de sangue para dosagem bioquímica.....	33
3.4 Citocinas pró e anti-inflamatórias.....	33
3.5 Análise estatística.....	34
4. RESULTADOS.....	37
4.1 Perfil clínico-patológico da população estudada.....	37
4.2 Análise do estadiamento tumoral dos pacientes com CCEO em relação variáveis tabagismo e etilismo.....	39
4.3 Análise entre os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10 nos pacientes do grupo câncer e controle.....	40
4.4 Análise entre os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10 e o estadiamento tumoral.....	41
4.5 Avaliação do questionário eortc qlq-c30.....	42
4.6 Avaliação das concentrações séricas da citocina anti-inflamatória IL-10 e indicadores de qualidade de vida dos pacientes com câncer de células escamosas oral.....	43
4.7 Avaliação das concentrações séricas da citocina pró-inflamatória IL-6 e indicadores de qualidade de vida dos pacientes com câncer de células escamosas oral.....	44
4.8 Avaliação das concentrações séricas da citocina pró-inflamatória IL-6 em relação aos hábitos de etilismo e tabagismo.....	45

4.9 Avaliação das concentrações séricas da citocina anti-inflamatória IL-10 em relação aos hábitos de etilismo e tabagismo.....	46
5. DISCUSSÃO.....	47
6. CONCLUSÃO.....	52
7. REFERÊNCIAS.....	53
8. NEXOS.....	57
ANEXO 1. Aprovação do comitê de ética em pesquisa.....	57
ANEXO 2. Termo de consentimento livre e esclarecido CCEO.	58
ANEXO 3: Questionário de qualidade de vida aplicado aos pacientes com CCEO.....	63

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil homens e mulheres, estimadas para o triênio 2020-2022, segundo Unidade da Federação (neoplasia maligna da cavidade oral) (adaptado de INCA, 2020).....16
- Figura 2.** Representação dos sítios anatômicos que compreendem a cavidade oral (adaptado de <https://www.redbubble.com>)17
- Figura 3.** Ilustração dos polipeptídeos ao se ligarem aos seus receptores, desencadeando os eventos de tirosina (Tyr) quinase (TK) dos receptores Src ou JAKs. A ação de STAT-3 subjacente é o receptor estimulado para fosforilação no resíduo de Tyr específico por TKs que causa a dimerização e estimulação de STAT-3. O STAT-3 monta no núcleo, onde se liga a elementos específicos de resposta do DNA nos promotores dos genes alvo, o que causa a transcrição do gene adaptado de (JINNO et al., 2015).27
- Figura 4.** Níveis plasmáticos das citocinas pró-inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10 do grupo controle (n=32) e CCEO (n=35) Teste Mann Whitney, * p=0,05.....40
- Figura 5.** Comparação entre as concentrações da citocina pró-inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10 em relação ao estadiamento tumoral em pacientes com CCEO (n I+II =16) (III+IV=15) Teste Mann Whitney, * p=0,05.....41
- Figura 6.** Avaliação da concentração da citocina IL-10 nos pacientes com CCEO em relação aos indicadores de qualidade de vida, NV=náusea e vômito, Teste Mann Whitney, * p=0,05.....42
- Figura 7.** Avaliação da concentração da citocina IL6 nos pacientes com CCEO em relação aos indicadores de qualidade de vida, NV=náusea e vômito, Teste Mann Whitney, * p=0,05.....43

Figura 8. Avaliação da concentração da citocina IL-6 em relação aos hábitos de tabagismo e etilismo dos pacientes CCEO, Teste Mann Whitney, * $p=0,05$44

Figura 9. Avaliação da concentração da citocina IL-10 em relação aos hábitos de tabagismo e etilismo dos pacientes CCEO, Teste Mann Whitney, * $p=0,05$45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características do grupo de pacientes CCEO (n= 39)	35
Tabela 2. Relação entre a variável estadiamento tumoral e o hábito do etilismo nos pacientes com câncer de cabeça e pescoço.....	36
Tabela 3. Relação entre a variável estadiamento e o hábito de tabagismo nos pacientes com câncer de cabeça e pescoço.....	37
Tabela 4. Análise descritiva do questionário EORTC QLQ-C30 aplicado aos pacientes do grupo CCEO (n = 39)	39

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

DNT - Doenças não transmissíveis

OMS - Organização Mundial de Saúde

INCA - Instituto Nacional do Câncer

DNA - Ácido desoxirribonucleico

CCEO - Câncer de Células Escamosas Oral

EGFR - Receptor do fator de crescimento epidérmico

p53 - Proteína 53

p16 - Proteína 16

HBV - Vírus da hepatite B

HPV - Papilomavírus Humano

EORTC - European Organization for Research and Treatment of Cancer

IL-1 - Interleucina 1

IL-2 - Interleucina 2

IL-6 - Interleucina 6

IL-7 - Interleucina 7

FNT - Fator de Necrose Tumoral

IL-4 - Interleucina 4

IL-10 - Interleucina 10

IL-13 - Interleucina 13

IL-23 - Interleucina 23

IL-12 - Interleucina 12

TAMs - Macrófagos associados a tumores

Th1 - T helper 1

Th2- T helper 2

Th17 - T helper 17

Treg - Células T reguladoras

IFN- γ - Interferon γ

MHC - Complexo principal de histocompatibilidade

GM-CSF - Fator estimulador de colônias de monócitos

G-CSF - Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos

LIF - Fator Inibidor de leucemia

PAF - Fator ativador de plaquetas

TAF - Fator de atividade tissular

PGE2 - Prostaglandinas

JAKs - Janus Kinase

STATs - Transcrição de sinal e transdutores de ativação

STAT-3 - Transcrição de sinal e transdutores de ativação 3

IL-6R - Receptor de interleucina 6

IL-10R-Receptor de interleucina 10

IL10R - Receptor de interleucina 10

HUCAM - Ambulatório do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes

UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

CEP - Comitê de ética em Pesquisa

TNM - Classificação de Tumores Malignos

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

RESUMO

A inflamação é responsável por várias etapas no processo de tumorigênese, estudar as citocinas pró e antiinflamatórias é importante para entender a resposta imune do hospedeiro frente ao estabelecimento de um processo patológico como o câncer de células escamosas oral. Compreender como esta doença afeta os indivíduos antes da terapia antineoplásica e como ela pode interferir na qualidade de vida dos pacientes é de extrema importância. Objetivo do trabalho: Avaliar a expressão das citocinas pró e antiinflamatórias IL-6 e IL-10 em pacientes com câncer de células escamosas oral antes da terapia antineoplásica. O estudo foi realizado no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes sob aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa (nº 29.040-091). Foram avaliados 39 pacientes diagnosticados com CCEO através de exame clínico e realizada a análise por citometria de fluxo da amostra de sangue periférico. Os dados epidemiológicos foram obtidos a partir dos prontuários e a qualidade de vida foi avaliada através do questionário European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life-Core 30 (eortc qlq-c30). Os resultados mostram que concentrações plasmáticas da citocina IL-6 do grupo com CCEO são maiores em relação ao grupo controle, assim como a expressão em estadiamentos tumorais avançados III/TIV é elevada em relação aos estadiamentos iniciais I/II da doença. Entre os pacientes com CCEO, os etilistas possuíam níveis plasmáticos elevados de IL-6 e os tabagistas possuíam maiores níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10. O que evidencia o papel da IL-6 como marcador de progressão tumoral nos pacientes com CCEO. Os pacientes com aumento dos níveis plasmáticos das citocinas apresentaram maior sintomatologia quanto a perda de apetite, presença de náusea e vômito, e fadiga (somente IL-6) de forma que podemos relacionar o processo inflamatória a presença de maior sintomatologia dos pacientes com CCEO.

Palavras chave: Câncer oral, inflamação, imunidade, IL-10, IL-6, qualidade de vida.

ABSTRACT

Inflammation is responsible for several stages in the process of tumorigenesis, studying pro and antiinflammatory cytokines is important to understand the host's immune response to the establishment of a pathological process such as oral squamous cell cancer. Understanding how this disease affects individuals before antineoplastic therapy and how it can interfere with patients' quality of life is extremely important. the aim of this study is evaluate the expression of the pro and anti-inflammatory cytokines IL-6 and IL-10 in patients with oral squamous cell cancer before antineoplastic therapy. The study was carried out at Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes under approval by the Research Ethics Committee (n ° 29.040-091). Thirty-nine patients diagnosed with CCEO by clinical examination were evaluated and flow cytometry analysis of the peripheral blood sample was performed. Epidemiological data were obtained from medical records and quality of life was assessed using the European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life-Core 30 questionnaire (eortc qlq-c30). The results show that plasma concentrations of the cytokine IL-6 of the group with CCEO are higher in relation to the control group, as well as the expression in advanced tumor staging III / TIV is high in relation to the initial staging I/II of the disease. Among patients with CCEO, alcohol users had high plasma levels of IL-6 and smokers had higher plasma levels of IL-6 and IL-10. This highlights the role of IL-6 as a marker of tumor progression in patients with CCEO. Patients with increased plasma levels of cytokines showed greater symptoms in terms of loss of appetite, presence of nausea and vomiting, and fatigue (only IL-6) so that we can relate the inflammatory process to the presence of greater symptoms of patients with CCEO.

Keywords: Oral cancer, inflammation, immunity, IL-10, IL-6, quality of life.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os principais problemas de saúde pública do mundo temos o câncer que é classificado como uma doença não transmissível (DNT) e ocupa a primeira ou segunda opção de causas de morte antes dos 70 anos na maioria dos países (OMS, 2015). A incidência e a mortalidade por câncer têm aumentado em decorrência do envelhecimento e crescimento populacional e pela exposição a diferentes fatores de risco dentre os quais podemos citar o álcool, tabaco e radiação ultravioleta (BRAY et al., 2018).

A estimativa de mortes causadas por câncer no ano 2018 apontou que ocorreram no mundo 18 milhões de casos de câncer e 9,6 milhões de óbitos (BRAY et al., 2018; FERLAY et al., 2018). Para o triênio de 2020-2022 estima-se que, no Brasil, ocorrerão 625 mil casos novos de câncer a cada ano, 450 mil se excluídos os casos de câncer de pele não melanoma. Os tipos de câncer mais frequentes em homens, à exceção do câncer de pele não melanoma, serão próstata (29,2%), cólon e reto (9,1%), pulmão (7,9%), estômago (5,9%) e cavidade oral (5,0%). Nas mulheres, exceto o câncer de pele não melanoma, os cânceres de mama (29,7%), cólon e reto (9,2%), colo do útero (7,4%), pulmão (5,6%) e tireóide (5,4%) se mostrarão entre os principais (INCA, 2020).

Nesse contexto, estima-se para o triênio 2020-2022 que o câncer de cavidade oral será responsável por 11.180 novos casos – o que representara o quinto tipo de câncer mais incidente na população do sexo masculino. Na população feminina, ele aparecerá como o décimo terceiro mais frequente, com a previsão de 4.010 novos casos (Figura 1). As estimativas para a região sudeste é que ocorrerão 5.930 novos casos de câncer de cavidade oral em homens e 1.850 casos em mulheres. Para o estado do Espírito Santo, estimam-se 240 novos casos na população do sexo masculino e 60 para a população do sexo feminino. Essas estimativas são ajustadas para 100 mil habitantes (INCA, 2020).

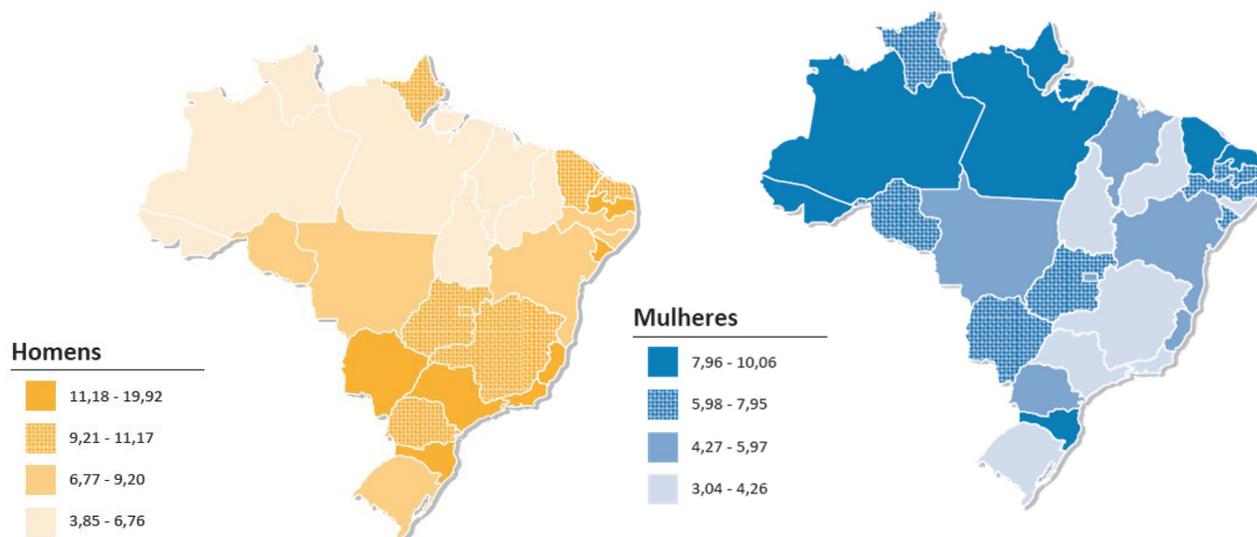


Figura 1. Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil homens e mulheres, estimadas para o triênio 2020-2022, segundo Unidade da Federação (neoplasia maligna da cavidade oral)(adaptado de INCA, 2020).

O termo “câncer de cabeça e pescoço” se refere às neoplasias malignas do trato aero digestivo superior compreendendo os tumores da boca, orofaringe, hipofaringe, laringe, nasofaringe, tumores de tireoide, lábios, pele, glândulas salivares e seios da face. O câncer de células escamosas oral (CCEO) ocorre com maior frequência em pacientes do sexo masculino com média de idade de 60 anos, 95% dos casos ocorrendo após os 45 anos de idade (GOMES; CRISTIANO; MACENA, 2018).

O CCEO pode afetar os seguintes sítios anatômicos: lábios, dois terços anteriores da língua, mucosa jugal, assoalho da boca, gengiva inferior, gengiva superior, área retromolar e palato duro (figura 2) (INCA, 2020). Os sítios acometidos com maior frequência na cavidade bucal são a língua (26%) e o lábio (23%), principalmente o inferior. Outros 16% são encontrados no soalho da boca e 11% nas glândulas salivares menores. O restante acomete a região das gengivas e outros locais (CONSOLARO et al., 2010).

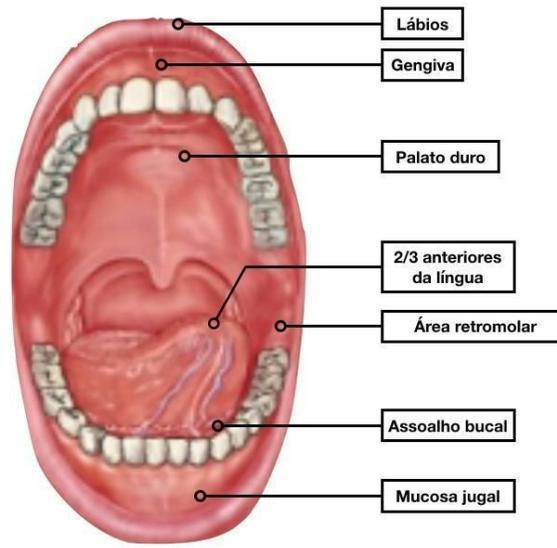


Figura 2. Representação dos sítios anatômicos que compreendem a cavidade oral (adaptado de <https://www.redbubble.com>).

O câncer é uma doença de etiologia complexa e multifatorial em que mutações gênicas levam a alterações no DNA celular e conseqüente no equilíbrio entre a proliferação celular e os mecanismos fisiológicos de apoptose. Tais alterações podem ocorrer em genes específicos, denominados proto-oncogenes que uma vez ativados, tornam-se oncogenes e transformam células normais em células cancerosas (SCUTTI et al., 2016). Este fenômeno conduz ao desenvolvimento de um clone com capacidade de invadir e destruir tecidos adjacentes, além de se disseminar a outras localizações em forma de metástase (INCA ; NEVILLE, 2015; LIU *et al.*, 2016).

A carcinogênese bucal surge como resultado de um processo composto por diferentes etapas, sendo modulado por fatores endógenos e ambientais predisponentes (SYRJANEN S et al., 2011). Apesar da comprovada participação de fatores carcinogênicos extrínsecos, existem influências genéticas na sua patogênese. Assim, uma variedade de eventos genéticos e epigenéticos são responsáveis pela instabilidade genômica e conseqüente desenvolvimento e progressão tumoral (YAN et al., 2006).

Em paralelo aos fatores intrínsecos relacionados à carcinogênese, fatores ambientais aparecem como importantes personagens neste processo. Eles interagem

de diferentes formas e momentos, podendo participar do início, da promoção ou progressão tumoral (INCA, 2018). Como exemplo de fator químico podemos citar o tabaco e o álcool;(DAL MASO et al., 2016) como fator físico, a radiação ultravioleta e ionizante (ULISSES; CALEGARO, 2007) e no fator biológico os vírus como HBV e HPV (ANTONIO et al., 2006).

O tabagismo é considerado o principal fator de risco para o câncer de boca, principalmente quando associado ao etilismo (FREITAS et al., 2016) (MARQUES et al., 2019). Acredita-se que a carcinogênese originada pelo tabaco é dose dependente, isto é, o risco de desenvolver câncer é proporcional à quantidade de cigarros consumidos por dia, além do tempo de consumo. Os indivíduos tabagistas têm um risco quinze vezes maior de desenvolver CCEO quando comparados aos não tabagistas (VENTURI, PAMPLONA; CARDOSO, 2004).

Dentre os outros fatores de risco temos o álcool, que impede que as células epiteliais organizem a barreira de permeabilidade, o que leva a desidratação e a penetração de agentes externos (HOWIE et al., 2001). Com isto, o etilismo aparece como facilitador, uma vez que consumo de bebidas com concentração alcoólica entre 15% e 25% favorecem a penetração de diferentes substâncias carcinogênicas como as nitrosaminas, presentes no fumo, através da mucosa (GOFFINET M. et al.,2019).

O metabolismo do álcool aumenta a produção de radicais livres e diminui os mecanismos antioxidantes, levando ao estresse oxidativo. O polimorfismo genético das enzimas de degradação do álcool pode ser responsável pela diferença na sensibilidade individual. Algumas isoformas dessas enzimas permitem o acúmulo de metabolitos tóxicos como o acetaldeído, que podem causar danos ao DNA ou a outras estruturas celulares. O acetaldeído é um metabólito tóxico capaz de provocar a quebra da dupla fita de DNA e de formar complexos com diferentes moléculas, principalmente com proteínas, o que compromete o metabolismo celular (VÄKEVÄINEN et al., 2000) (CARRARD et al., 2008).

Sabemos que a maior parte dos casos de câncer de cavidade oral tem sido diagnosticada em estágios avançados, e dentre os fatores relacionados ao diagnóstico tardio, podemos citar profissionais que não sabem orientar corretamente pacientes; pacientes que não procuram o profissional por medo do diagnóstico ou

somente o procuram quando já sofrem alguma restrição alimentar, de fala ou de convívio social (BONFANTE et al., 2014).

Os sinais e sintomas desta doença aparecem como ferida que não cicatriza, nódulo ou dificuldade para engolir, alterações na voz, rouquidão e dor na garganta persistentes. (Oncoguia,2017). A cavidade oral é o sítio anatômico de funções básicas como fala, deglutição, audição e respiração; funções essas relacionadas à interação social, de importância vital para um indivíduo. Portanto, tanto a manifestação da doença quanto as sequelas do seu tratamento impactam diretamente a qualidade de vida do paciente (MELO FILHO et al., 2013).

O diagnóstico empregado atualmente para CCEO compreende biópsia seguida de análise histopatológica. No entanto, nenhum consenso foi alcançado sobre a melhor técnica a ser adotada para um diagnóstico preciso (ELANGO et al., 2011). Atualmente têm sido propostas novas análises em nível sistêmico, com enfoque para os biomarcadores, com o objetivo de se fazer diagnóstico precoce (PATARO, 2015). Em termos de análise de sangue, essas técnicas baseiam-se na detecção de biomoléculas presentes nas células tumorais, como por exemplo as citocinas envolvidas no processo tumoral, e nas alterações sistêmicas induzidas, como o processo inflamatório, acarretado pela instalação da doença.

Desta forma o diagnóstico precoce é de suma importância nos pacientes com CCEO, uma vez que o diagnóstico tardio está relacionado a elevadas taxas de morbidade e mortalidade além dos risco de mutilação ocasionados pelo aumento da complexidade dos tratamentos o que interfere diretamente na reabilitação do paciente e podem resultar em pior qualidade de vida destes indivíduos (MILLER et al., 2008).

Desta forma, avaliar as consequências que estes pacientes enfrentam perante a doença é importante para entender como ela pode afetar a qualidade de vida dos indivíduos acometidos por CCEO. Segundo a OMS, qualidade de vida é “a percepção do indivíduo de sua inserção na vida, no contexto da cultura e sistemas de valores nos quais ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações”. Envolve o bem-estar espiritual, físico, mental, psicológico e emocional, além de relacionamentos sociais, como família e amigos e, também, saúde, educação, habitação saneamento básico e outras circunstâncias da vida (OMS, 1998).

Qualidade de vida é um conceito que vem sendo definido na tentativa de categorizar aspectos da experiência do ser humano por meio da avaliação de domínios individuais (SHEPERDET al., 2004). Avalia-se o impacto físico e psicossocial que as enfermidades, disfunções ou incapacidades podem acarretar para os indivíduos acometidos, permitindo um melhor conhecimento do paciente e de sua adaptação à sua doença (ANGELO et al., 2010).

Dentre os problemas que surgem durante o CCEO e podem interferir na qualidade de vida deste indivíduo, temos a fadiga, que é um sintoma muito comum e debilitante ao paciente, sendo relatada como um estado elevado de esgotamento, de maior intensidade e duração que a fadiga típica. Distúrbios no sono relatados com frequência por pacientes oncológicos, podendo estar relacionado tanto a doença quanto a preocupações e situações de estresse que estes indivíduos são submetidos, afetando negativamente a qualidade de vida dos mesmos (CAMPOS et al., 2011).

O CCEO afeta as funções do sistema estomatognático, que é composto por estruturas responsáveis pela a alimentação e nutrição (CASTRO MSJ, TORO AADC, SAKANO E, 2012), desta forma os pacientes com CCEO enfrentam problemas nutricionais ocasionados pela dificuldade na mastigação e deglutição além de prejuízos na comunicação verbal que são decorrentes das injúrias sofridas às membranas da mucosa oral, podendo acarretar disfunções fonéticas e rouquidão (MOSTAFA ALIZADE- HARAKEYAN et al., 2018). O comprometimento das estruturas da cavidade oral pode prejudicar também as funções respiratórias e, em alguns casos, os pacientes evoluem para quadros em que há necessidade de alimentação por sonda nasogástrica (REN, HONG AND GRAY, 2019).

A falta de apetite é relatada pelos pacientes como a diminuição no desejo de se alimentar que em alguns quadros pode evoluir para um alta desnutrição protéico-energética e, eventualmente quadros de caquexia. O controle da ingestão de alimentos é mediado no hipotálamo, e as citocinas produzidas centralmente estão envolvidas no desencadeamento das mudanças moleculares associadas ao desenvolvimento de anorexia e caquexia em pacientes com câncer (MOLFINO et al., 2016).

A resposta inflamatória altera a atividade dos núcleos hipotalâmicos, que estão envolvidos na regulação da homeostase energética. Desta forma, os desequilíbrios

hormonais podem desempenhar um papel relevante na desregulação da ingestão alimentar em indivíduos com câncer, e uma vez que a leptina é um dos hormônios responsáveis por controlar o apetite possuindo também efeitos anorexígenos, acredita-se que a desregulação deste hormônio acarrete a perda de apetite nos pacientes. Já foi observado que os níveis de leptina diminuem significativamente em pacientes com caquexia por câncer, quando comparados aqueles que possuem o quadro de caquexia ocasionado por outra doença, assim como em indivíduos saudáveis (GHOSH et al., 2012).

Outros sintomas que interferem negativamente na qualidade de vida dos pacientes são as náuseas e vômitos. A sensação de náusea e o ato de vomitar são reflexos protetores que livram o intestino e o estômago de substâncias tóxicas. A náusea pode ser considerada uma fase prodrômica ao ato de vômito (BLOECHL-DAUM et al., 2006). O mecanismo responsável pelo enjoo ainda não está bem estabelecido, mas dentre seus possíveis estímulos, temos a ingestão de materiais tóxicos, a presença de patógenos no intestino, ou um estímulo dentro do sistema nervoso central que podem ser o medo, estresse, trauma cerebral dentre outros (ALESSIO MOLFINO et al., 2017).

Diante de todas as sintomatologias que o paciente com CCEO podem apresentar, avaliar a qualidade de vida destes indivíduos é de extrema importância para o desenvolvimento de estratégias que tenham como objetivo minimizar as dificuldades enfrentadas pelos pacientes. O questionário European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC – C30) foi desenvolvido para avaliar a qualidade de vida dos pacientes com câncer, ele é multidimensional, auto-administrável e consiste de 30 questões que avaliam o paciente quanto questões gerais sobre câncer, como sintomas, efeitos colaterais do tratamento, sofrimento psicológico, funcionamento físico, interação social, sexualidade, imagem corporal, saúde global e qualidade de vida (KLEE; GROENVOLD; MACHIN, 1997).

Um estudo prospectivo avaliou o funcionamento social e global de saúde pelo questionário do QLQ - C30 em pacientes com câncer de cabeça e pescoço que ainda não haviam começado o tratamento. Foi observado que a percepção da doença estava significativamente relacionada às subescalas física, funcional, emocional e cognitiva. Pacientes atentos aos sintomas, que acreditavam na maior probabilidade

de agravamento da doença apresentaram fortes reações emocionais em relação ao processo de doença, e baixos escores de qualidade de vida (SCHARLOO et al., 2005).

Desta forma maior atenção ao quadro de sintomas que acompanham os pacientes no processo de progressão do câncer e de seu tratamento tem sido observada, no entanto a etiologia do sintomas relacionados ao câncer ainda é complexa, podendo estar associada de alterações em nível celular, especialmente em vias de sinalização no microambiente tumoral, por exemplo, na liberação exacerbada de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas (AVELAR et al., 2019).

As citocinas são pequenas moléculas compostas de proteínas solúveis de baixo peso molecular e são responsáveis pela regulação e funcionamento de diferentes funções celulares (Wollenberg e Ralph, 2006). Elas estão presentes tanto na resposta imune inata quanto adaptativa. Dentre as células que expressam citocinas podemos citar os leucócitos, células endoteliais, plasmócitos, fibroblastos, e também alguns tipos de células epiteliais (BONOMI et al., 2014). Dentre as funções fisiológicas das citocinas no nosso organismo, estão o desenvolvimento, maturação e homeostase do sistema imunológico, respostas inflamatórias e o reparo tecidual. Para exercerem suas funções, as citocinas se ligam a receptores de superfície celular ou em elementos da matriz extracelular (LEMAIRE; COUTINHO DE LIMA; ARAÚJO DOS SANTOS, 2018).

O efeito pleiotrópico destas moléculas permite que determinada citocina exerça influência sobre vários tipos celulares, desta forma diferentes citocinas podem desempenhar funções similares. O modo de atuação pode ser autócrino (nas próprias células produtoras), parácrino (em células vizinhas) ou sistêmico. Embora estas moléculas tenham efeito pleiotrópico, estas podem ser divididas em pró-inflamatórias, como as interleucinas IL-1, IL- 2, IL-6, IL-7 e FNT (fator de necrose tumoral) e antiinflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13) (Oliveira C. et al., 2011).

A regulação da resposta imune, ocorre através da ação conjunta de citocinas com seus respectivos inibidores e seu papel na inflamação é fisiológico, a inflamação gerada é uma resposta benéfica ao organismo para que ocorra reparo tecidual frente a lesões e eliminação de patógenos (Chest et al, 2000). No entanto, os efeitos da inflamação quando não regulada fazem com que o processo se torne crônico, o que pode induzir a transformações celulares malignas nos tecidos circundantes e assim a

infecção se torna patológica. A resposta inflamatória compartilha vários alvos moleculares e vias de sinalização no processo carcinogênico como apoptose, aumento da taxa de proliferação celular e angiogênese (YAN et al., 2006).

A inflamação está presente em todas as etapas do processo de tumorigênese, desde o seu início através da instalação tumoral até a progressão metastática. Através de seus efeitos pró-tumorigênicos a inflamação é capaz de influenciar a resposta imune do hospedeiro, que tem por objetivo a eliminação do patógeno, no entanto no microambiente tumoral as alterações causadas pela tumorigênese podem desorganizar os processos de resposta imunológica (GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010).

Desta forma os desequilíbrios na regulação das resposta pró- e antiinflamatórias nos processos de agressão surgem quando a função da citocina, que normalmente é adaptativa para resposta à lesão leve induzida por carcinógenos, patógenos ou antígenos ambientais, é insuficiente para limitar o estresse celular e o dano celular resultante, assim o processo inflamatório crônico e a estimulação celular desregulada não permitem o reparo celular (DRANOFF, 2004).

As alterações celulares que dão origem ao câncer podem provocar modificações na expressão local de citocinas. Estas perturbações estimulam a produção de células do sistema imunológico, que por sua vez, liberam citocinas adicionais (Oliveira C. et al., 2011). As células imunológicas encontradas com maior frequência dentro do microambiente tumoral são macrófagos associados a tumores (TAMs) e células T (GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010).

As células T podem exercer tanto a supressão tumoral quanto a promoção da tumorigênese (LANGOWSKI; KASTELEIN; OFT, 2007). Macrófagos podem ser classificados em tipos M1 e M2 de acordo com as citocinas que expressam (SICA; ALLAVENA; MANTOVANI, 2008). Macrófagos M1, expressam altos níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12 ou IL-23), são capazes de eliminar patógenos e preparar respostas imunológicas antitumorais. Os macrófagos M2 induzem principalmente a expressão da citocina antiinflamatória IL-10. Na resposta aos agentes tumorais, a maioria das citocinas promotoras de tumor são citocinas estimuladas por M1, já as citocinas supressoras de tumor são estimuladas por M2 (GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010). Assim os mecanismos de defesa ao

desenvolvimento tumoral dependem da natureza das interações celulares que serão desencadeadas. Embora as células de defesa do organismo possam produzir fatores antiinflamatórios. O microambiente tumoral pode fornecer fatores que suprimem as respostas do sistema imunológico antitumoral (CANDIDO J. et al, 2012).

Dentre as citocinas envolvidas no processo de instalação e progressão tumoral se destacam a IL-6 e a IL-10. A IL-6 realiza um papel crucial no crescimento e diferenciação de tumores malignos e está envolvida na progressão do tumor (AZEVEDO, 2011). O papel da IL-10 na tumorigênese e no desenvolvimento ainda é controverso. Também é possível que a IL-10 possa desempenhar um duplo papel no desenvolvimento do câncer, podendo estar envolvida tanto na resposta antiinflamatória como nos mecanismos de imunossupressão (MANNINO et al., 2015).

A IL-6 é uma citocina multifuncional que foi originalmente identificada por sua capacidade de conduzir a diferenciação de linfócitos B em plasmócitos produtores de anticorpos, atuando nos mecanismos de defesa perante um agente agressor. Ela atua como citocina pró-inflamatória e sua ação junto à IL-1 e ao fator de necrose tumoral pode iniciar a resposta imune inata e induzir a fase aguda da inflamação (DUFFY et al., 2008), também exerce função sobre diversos tipos celulares como osteoblastos, osteoclastos, células endoteliais e células imunológicas, o processo de sinalização celular desta citocina pode ser autócrino e/ou parácrino (ARA; DECLERCK, 2010).

A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina secretada por vários tipos de células: monocitos/macrófagos, células B, vários subconjuntos de células T reguladoras, células T (CD4 e CD8) e natural killer (NK) (MANNINO et al., 2015). É uma citocina antiinflamatória que inibe a síntese da produção de mediadores e citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 α , IL- β , IL-6, IL-12, IL-18 e GM-CSF (Fator estimulador de colônias de monócitos), G-CSF (Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos), TNF $-\alpha$, LIF (Fator Inibidor de leucemia), PAF (fator ativador de plaquetas), TAF (fator de atividade tissular), quimiocinas e PGE2 (prostaglandinas) (DRAGANA JANKOVIC, DAVID G. KUGLER, 2010) (SRIURANPONG et al., 2003).

A IL-10 pode promover respostas imunes inatas de epitélios de tecidos facilitando o processo de cicatrização de tecidos em lesões causadas por infecção ou inflamação, reprimir as respostas pró-inflamatórias e limitar rupturas teciduais desnecessárias causadas pelo processo inflamatório (OUYANG et al., 2011), no

entanto, diversos estudos demonstraram que a alta expressão da IL-10 está relacionada a um pior prognóstico nos pacientes oncológicos devido a imunossupressão induzida por essa citocina ao suprimir a capacidade de apresentação de antígeno de células dendríticas, monocitos e macrófago o que propicia a invasão tumoral e metástase, como já foi mostrado em casos de carcinoma de esôfago (GHOLAMIN et al., 2009), pulmão (HATANAKA et al., 2000), hepatocelular (CHAN et al., 2012), ovário (PISA et al., 1992) e de melanoma (NEMUNAITIS et al., 2001).

Para que ocorra a sinalização para a produção de genes decodificadores de citocinas estas moléculas se ligam a Janus quinases (JAKs), que são os principais ativadores de proteínas transdutoras de sinal e ativadores de transcrição (STAT). A sinalização JAK – STAT-3 é crucial para o desenvolvimento do câncer em células tumorais e no microambiente tumoral, e tanto JAK quanto STAT-3 surgiram como alvos importantes para o tratamento do câncer. As STATs são moléculas proteicas que funcionam como fatores de transcrição ligados ao DNA (Figura 3). Existem sete tipos de STATs, dentre eles o STAS 3 é apontado como fator de transcrição responsável por mediar a resposta inflamatória e tumorigênica. A progressão do câncer e desenvolvimento de um ambiente inflamatório estão associadas a citocinas ativadas por STAT-3 com destaque para IL-6 e IL-10 (YANG; STARK, 2008).

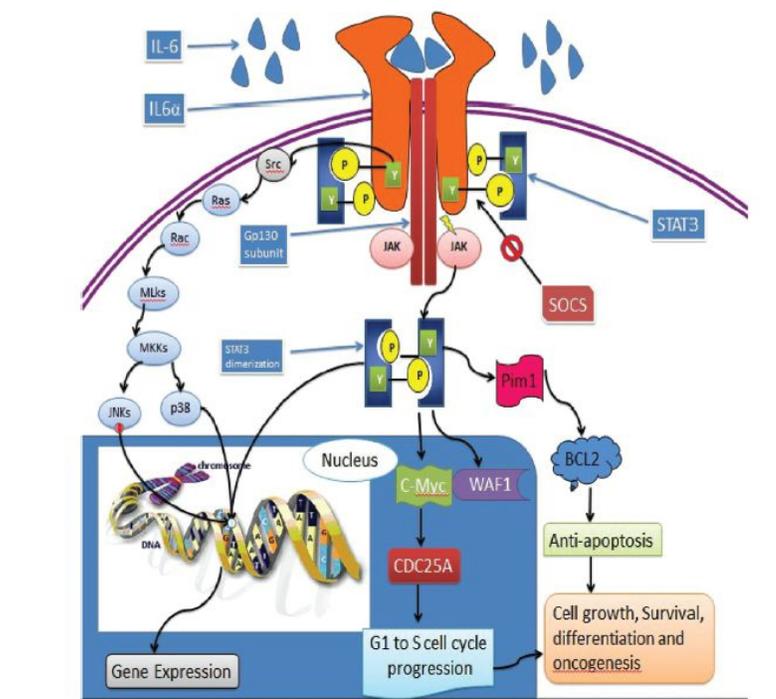


Figura 3. Ilustração dos polipeptídeos ao se ligarem aos seus receptores, desencadeando os eventos de tirosina (Tyr) quinase (TK) dos receptores Src ou JAKs. A ação de STAT-3 subjacente é o receptor estimulado para fosforilação no resíduo de Tyr específico por TKs que causa a dimerização e estimulação de STAT-3. O STAT-3 monta no núcleo, onde se liga a elementos específicos de resposta do DNA nos promotores dos genes alvo, o que causa a transcrição do gene. Adaptado de (JINNO et al., 2015).

A STAT-3 está envolvida em várias etapas do processo de progressão tumoral como a inflamação, a supressão da apoptose celular, proliferação e metástase. Tais processos são mediados pela ação de agentes pró-inflamatórios como a ativação por IL-6, fumaça de cigarro e lipopolissacarídeos (ARSHAD et al., 2020) (KAUR et al., 2019).

A sinalização de IL-6 via STAT-3 ocorre através da ligação ao seu receptor IL-6R, localizado na membrana do núcleo celular, e ativação dos fatores de transcrição intracelulares através de fosforilação. Níveis elevados de STAT-3 foram observados em tumores e foi relacionada alta expressão de IL-6 (JACQUELINE A. GASCHÉ, JÜRGEN HOFFMANN, C. RICHARD BOLAND¹, 2012) . STAT-3 tem um papel predominante na transdução de sinal de IL-6, atuando na proliferação e sobrevivência de células malignas uma vez que a maioria dos genes alvo da IL-6 está envolvida na progressão do ciclo celular e na supressão da apoptose, ressaltando a importância da IL-6 na tumorigênese (LIN; KARIN, 2007).

A citocina IL-10 ao se ligar a STAT-3 pode tanto gerar uma resposta pró-tumoral, quanto antitumoral, a ligação ao receptor IL-10R-Jak estimula STAT-3 a transcrever genes supressores de resposta antiinflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-12, fazendo com que IL-10 impeça o desenvolvimento e a progressão do tumor. No entanto a IL-10 pode exercer ações promotoras do desenvolvimento tumoral a partir da ligação de uma alça autócrina e/ou parácrina do receptor IL-10R-Jak que ativa STAT 3, que nesta situação se torna fator de transcrição para a sub expressão de IL-10, levando a uma supressão do processo inflamatório. A ativação STAT-3 através de IL-10 também pode promover o desenvolvimento de tumor a partir da regulação positiva da expressão de genes anti-apoptóticos (LIN; KARIN, 2007).

Desta forma, observamos que a inflamação está intimamente relacionada a carcinogênese, e que as citocinas pró- e antiinflamatórias atuam de diversas maneiras

durante a instalação tumoral, avaliar a expressão destas citocinas em pacientes com CCEO que ainda não realizaram terapias antineoplásica é necessário para entender como a inflamação se comporta nestes pacientes, da mesma forma é importante avaliar a maneira que a qualidade de vida desse paciente é afetada antes da terapia antineoplásica observando se a inflamação gerada pelo tumor pode afetar a qualidade de vida destes indivíduos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o papel da citocina pró-inflamatória IL-6 e antiinflamatória IL-10 e à qualidade de vida dos pacientes com CCEO antes do início da terapia antineoplásica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar o perfil clínico-patológico da população estudada;

Determinar o nível plasmático da citocina pró-inflamatória IL-6 e da citocina antiinflamatória IL-10 antes da terapêutica oncológica e associar com as características clínico-patológicas;

Relacionar os níveis plasmáticos de IL-10 e IL-6 com a qualidade de vida dos pacientes com CCEO.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Foi realizado um estudo clínico transversal nos pacientes com diagnóstico de CCEO, antes do início da terapia antineoplásica, atendidos no Ambulatório do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM) – sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo – CEP/UFES (n° 29.040-091) (Anexo 1) o estudo foi explicado para cada participante e aqueles que aceitaram participar do projeto assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2). Este termo foi obtido de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Saúde n°196, de 10 de outubro de 1996.

3.2 Grupo amostral, variáveis do estudo e instrumentos utilizados

Dentre os pacientes que foram atendidos na HUCAM, os que recebiam o diagnóstico de CCEO e não possuíam outras neoplasias nem haviam passado por terapia antineoplásica prévia eram convidados a participar da pesquisa. Desta forma, foram obtidos os dados clínico-epidemiológicos como estadiamento do tumor, que foi realizado pelo médico, no momento da consulta, de acordo com a avaliação do paciente e dos exames apresentados pelo mesmo. A classificação do tumor seguiu o sistema TNM (do inglês tumor, linfonodo, metástase), no qual T mede o tamanho do tumor, N descreve a propagação para os gânglios linfáticos próximos, M se houver metástase, ou seja a propagação do tumor para outros órgãos (ANTÓN; PÉREZ, 2015), sendo este sistema um meio de realizar a classificação dos tumores malignos como mostrado no quadro 1. Dados complementares como a localização do tumor, história do consumo de álcool e uso do tabaco, além das variáveis gênero, idade, também foram coletados. As entrevistas foram realizadas por duas profissionais treinadas e os pacientes foram questionados de maneira objetiva quanto ao consumo ou abstinência de tabaco e do álcool etílico e, em caso positivo, por quanto tempo. Pacientes que faziam consumo de bebidas alcoólicas na frequência de duas/três vezes na semana ou mais eram considerados alcoólatras (BARROS et al., 2008).

Definiu-se como manutenção dos hábitos as situações em que o paciente nunca abandonou o fumo e/ou o álcool ou retomou esses hábitos após um período de abstinência. Foi considerado abandono dos hábitos quando o paciente estava há pelo menos 30 dias da data da entrevista sem fumar ou ingerir bebidas alcoólicas (PINTO et al., 2011).

Foram incluídos neste estudo, pacientes maiores de 18 anos, que aceitaram participar da pesquisa. Foram excluídos deste estudo pacientes com outros tumores e pacientes que tenham realizado terapia antineoplásica. Pacientes que se recusaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e indivíduos com capacidade cognitiva que inviabilize o preenchimento dos questionários foram excluídos da pesquisa.

O grupo CCEO foi composto por 39 indivíduos com diagnóstico confirmado por exame histopatológico de CCEO e que não tinham iniciado nenhum tratamento antineoplásico e neste grupo foi aplicado um questionário de qualidade de vida (EORTC QLQ-C30). Os participantes foram questionados quanto ao acometimento de outras comorbidades e estas informações foram coletadas de maneira auto referida. Nestes participantes foi realizada a coleta de sangue periférico para a dosagem das citocinas pró e antiinflamatórias IL-6 e IL-10 respectivamente.

O grupo controle foi composto por 32 indivíduos voluntários que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, neste grupo foram incluídos apenas indivíduos que não possuem e nunca possuíram diagnóstico de neoplasia. Neste grupo realizamos a dosagem dos níveis das citocinas pró e antiinflamatória.

Quadro 1: Classificação TNM de acordo com as diretrizes oncológicas 2018 para os pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

Câncer de cabeça e pescoço	
T	TUMOR PRIMÁRIO
Tx	Tumor primário não pode ser avaliado
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor de 2 cm ou menos nas maiores dimensões e até 5 mm de profundidade de invasão

T2	Tumor com mais de 2 cm nas maiores dimensões e entre 5 a 10 mm de profundidade de invasão ou tumor de mais de 2 cm e menor ou igual que 4 cm nas maiores dimensões e profundidade de invasão de até 10 mm
T3	Tumor com mais de 4 cm nas maiores dimensões ou mais de 10 mm de profundidade de invasão
T4a	Tumor invade somente as estruturas adjacentes (por exemplo, através do osso cortical da mandíbula ou da maxila ou invade a pele da face)
T4b	Tumor invade o espaço mastigatório, placas pterigoideas ou base do crânio, ou circunferencialmente a artéria carótida interna
N	ESTADIAMENTO LINFONODAL
Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Sem metástases em linfonodos regionais
N1	Linfonodo regional único, ipsilateral ao tumor e com 3 cm ou menos nas maiores dimensões, sem extravasamento capsular
N2a	Linfonodo regional único, ipsilateral ao tumor, com tamanho entre 3 e 6 cm, sem extravasamento capsular
N2b	Múltiplos linfonodos regionais comprometidos, ipsilateral ao tumor, nenhum com mais de 6 cm nas suas maiores dimensões, sem extravasamento capsular
N2c	Linfonodos regionais bilaterais ou contralaterais comprometidos, nenhum maior que 6 cm em sua maior dimensão, sem extravasamento capsular
N3a	Linfonodo regional comprometido com mais de 6 cm em sua maior dimensão, sem extravasamento capsular
N3b	Metástases em um ou mais linfonodos com extravasamento capsular (a presença de envolvimento da pele ou invasão de tecidos moles com fixação da musculatura ou estruturas adjacentes ou sinais clínicos de envolvimento neural, classificado como extensão extracapsular clínica)
M	ETÁSTASE DE DISTÂNCIA
M0	Ausência de metástases a distância
M1	Presença de metástases a distância

3.2 Avaliação dos sintomas e da qualidade de vida através do questionário: European Organization for Research And Treatment Of Cancer Quality Of Life Questionnaire “Core” 30-Items (EORTC QLQ-C30) versão 3.0

O questionário EORTC QLQ-C30 desenvolvido pela *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) foi utilizado para avaliação de sintomas e da qualidade de vida dos pacientes portadores de neoplasias em geral, neste estudo ele foi aplicado aos pacientes com o diagnóstico de CCEO, antes que tivessem iniciado a terapia antineoplásica, para avaliar como é a qualidade de vida destes pacientes com CCEO antes de iniciarem o tratamento. Este questionário é composto por 30 itens distribuídos em cinco escalas de funcionalidade (função física, função cognitiva, função emocional, função social e desempenho de atividades); três escalas de sintomas (fadiga, dor, náuseas e vômitos); uma escala de qualidade de vida e saúde global; seis itens de outros sintomas (dispnéia, falta de apetite-anorexia, insônia, constipação e diarreia); e uma escala de avaliação do impacto financeiro do tratamento e da doença (BJORDAL et al., 2000).

Os itens 1 a 28 do QLQ-C30 versão 3.0 são avaliados em uma escala tipo Likert de 4 pontos (ou seja: 1=não, 2=pouco, 3=moderado, 4=muito). Os

itens 29 e 30, que avaliam saúde geral e qualidade de vida global, respectivamente, são respondidos em uma escala numérica de 1 (péssima) a 7 (ótima) pontos (Fayers et al., 2001). Em todos os itens, os entrevistados devem considerar como período de referência a semana anterior à avaliação.

Todos os escores das escalas e das medidas dos itens individuais variam de 0 a 100, sendo que um alto escore para a escala funcional representa um nível funcional saudável, enquanto que um escore alto para a escala de sintomas/itens representa um alto nível de sintomatologia/problemas (Fayers et al., 2001). O cálculo dos escores das escalas segue o manual de (Fayers et al., 2001).

Calcular o escore bruto (EB) de cada escala, que é a soma do valor das alternativas assinaladas em cada questão/item que compõem a escala, dividido pelo número total das questões de cada escala. O valor das alternativas varia de 1 a 4, da questão 1 a 28:

$$EB = q_1 + q_2 + q_3$$

q_n/n ; (n é o número total dos itens que compõem a escala ou item individual).

Assim, segue o seguinte cálculo:

Escalas Funcionais/qualidade de vida:

$$S = 1 - \frac{(EB-1)}{\text{Diferença}} \times 100$$

3.3 Coleta de sangue para dosagem bioquímica

As coletas de sangue foram realizadas após o diagnóstico de CCEO (confirmado por biópsia) e antes do início da terapia proposta pela equipe médica. Foram coletados aproximadamente 10 ml de sangue periférico de cada paciente.

Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 2400 rotações por minutos, 4 °C por 15 minutos. O plasma foi obtido através da coleta em tubos de sangue com EDTA, e o material foi coletado e armazenado a -80 °C para posterior análise.

3.4 Citocinas pró e antiinflamatórias

As citocinas IL-10, IL-6, foram medidas pelo método de citometria de fluxo utilizando o kit CBA (Cytometryc Bead Array - Human Th1/Th2/Th17) da BD Biosciences. O princípio do método de dosagem com o kit CBA consiste na ligação de anticorpos com as citocinas de interesse. O kit oferece seis grupos de microesferas, apresentando intensidades de fluorescência diferentes, revestidas com anticorpos específicos para cada tipo de citocina, denominadas “esferas de captura”. Para as dosagens, as esferas de captura específicas para cada citocina, foram agrupadas e posteriormente misturadas com 50µL de cada amostra (plasma) a fim de permitir a ligação das esferas de captura com as possíveis citocinas presentes na amostra. Em seguida, foram adicionados a essa mistura anticorpos monoclonais específicos para cada citocina humana, conjugados com o fluorocromo ficoeritrina (PE). Após esta etapa (de marcação), as fluorescências de um total de 5000 eventos por amostra foram registradas em citômetro de fluxo FACS Canto II (BD), com base em gráficos de tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC). As populações das microesferas foram detectadas de acordo com suas respectivas intensidades de fluorescência, se distribuindo ao longo de eixo Y (detector de fluorescência 4, PE, o qual capta luz no comprimento de onda ~650 nm, correspondente a cor vermelha. O mesmo procedimento foi realizado previamente para a construção de uma curva padrão com concentrações de 20 a 5000pg/ml, empregada para determinar as concentrações de cada citocina na amostra em análise. As amostras foram

quantificadas utilizando 64 o software FCAP Array (BD) e os valores foram expressos em pg/MI (KAUR et al, 2018).

3.5 Análise estatística

Os resultados foram apresentados em média \pm DP e frequência. E a avaliação da qualidade de vida foi expressa pelos escores do questionário EORTC QLQ-C30. Associações entre as escalas e outros fatores foram analisados por meio de testes não paramétricos (Mann-Whitney e Kruskal-Wallis) e frequência da distribuição da amostra foi determinada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov.

O programa de software estatístico Graphpad Prism versão 7.05 foi utilizado para a análise de dados e para a construção dos gráficos. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Perfil clínico-patológico da população estudada

As características do grupo amostral estudado estão exemplificadas na Tabela 1 que mostra 74% dos pacientes são do sexo masculino, com média de idade de 60,7 anos, a média do peso era de 55 ± 11 kg, e altura de $1,55 \pm 0,4$ metros. Em relação aos hábitos de etilismo e tabagismo observamos que a maioria dos pacientes era etilista (56,4%) e tabagista (64%). Nota-se que 79% destes pacientes apresentavam alguma comorbidade, quanto ao estadiamento tumoral, 53,8% dos pacientes se encontram em estadiamento inicial da doença (T I/II) e 46,2% se encontram em estadiamento tumoral avançado (T III/IV). No que diz respeito à localização anatômica, a borda lateral da língua foi o sítio acometido com maior frequência (31%) seguida do soalho bucal (23%) e o tratamento empregado com maior frequência foi a ressecção cirúrgica (19%).

O grupo controle foi composto por 32 pacientes, 12 (37%) do sexo feminino e 20 (63%) do sexo masculino, com média de idade 52 anos, 5 (16%) tabagistas e 15 (47%) etilistas, dos quais 12 (37%) pacientes apresentavam alguma comorbidade.

TABELA 1: CARACTERÍSTICAS DO GRUPO DE PACIENTES CCEO (N= 39).

Variável	n	%
Sexo		
Feminino	10	26
Masculino	29	74
Idade (anos)	61± 12	
Peso (Kg)	55± 11	
Altura (metro)	1,55 ± 0,4	
Tabagista		
Sim	25	64
Não	7	18
Ex tabagista	7	18
Etilista		
Sim	22	56,4
Não	11	28,2
Ex etilista	6	15,4
Comorbidades		
Sem comorbidades	12	31
Hipertensão	9	23
Diabetes	2	5
Hipertensão e diabetes	8	20,5
Não informado	8	20,5
Estadiamento		

I	8	20,5
II	13	33,3
III	6	15,4
IV	12	30,8
Local da lesão		
Borda lateral de língua	12	31
Assoalho	8	23
Lábio inferior	6	15
Mucosa jugal	9	21
Área Retromandibular	4	10
Tratamento proposto		
Cirurgia	19	49
Radioterapia	11	28
Radio+químio	7	18
Cirurgia+radio+químio	2	5

4.2 Análise do estadiamento tumoral dos pacientes com CCEO em relação variáveis tabagismo e etilismo

A tabela 2 traz a relação entre o hábito de etilismo e o estadiamento tumoral dos pacientes com CCEO e nota-se que 77,7 % dos pacientes com estadiamento tumoral avançado (III/IV) eram etilistas e que 38% dos pacientes etilistas possuía estadiamento tumoral inicial (I/II). Já a tabela 3 mostra a relação entre o tabagismo e o estadiamento tumoral e observamos que 83% dos pacientes tabagistas se encontravam em estadiamento tumoral avançado (III/IV) e 47.6% estavam em estadiamento inicial (I/II).

TABELA 2. RELAÇÃO ENTRE A VARIÁVEL ESTADIAMENTO TUMORAL E O HÁBITO DO ETILISMO NOS PACIENTES COM CCEO

T	Étilista	Não etilista	Ex etilista	Total
Estádio	N (22)	N (11)	N (6)	N (39)
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
I/II	8 (38)	10(47,6)	3(14,4)	21(100)
III/IV	14(77,7)	1(5,7)	3(16,6)	18(100)

TABELA 3. RELAÇÃO ENTRE A VARIÁVEL ESTADIAMENTO E O HÁBITO DE TABAGISMO NOS PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO

T	Tabagistas	Não tabagistas	Ex tabagistas	Total
Estádio	N (25)	N (7)	N (7)	N (39)
	N (%)	N (%)	N(%)	N (%)
I/II	10(47,61)	7(18)	4(33)	21(100)
III/IV	15(83,3)	0(0)	3(17)	18(100)

4.3 Análise entre os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10 nos pacientes do grupo câncer e controle

Para o estudo da citocina pró-inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10 foram analisados 35 pacientes com CCEO e 32 pacientes do grupo controle que não possuem e/ou nunca tiveram histórico de doença neoplásica.

Na figura 4 se observa que a concentração plasmática da citocina IL-6 (pg/mL) do grupo CCEO ($13,16 \pm 10,7$) foi maior quando comparado ao grupo controle ($7,02 \pm 1,92$). As concentrações plasmáticas de IL-10 (pg/mL) no grupo câncer ($4,05 \pm 1,02$) não foram estatisticamente maiores que a do grupo controle ($3,6 \pm 1,1$).

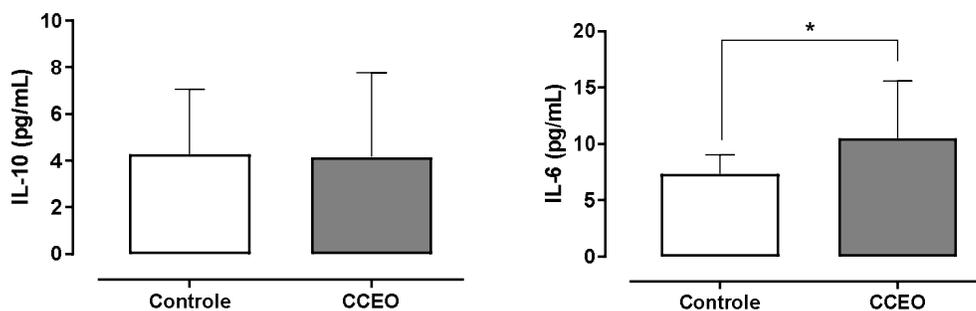


Figura 4. Níveis plasmáticos das citocinas pró- inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10 do grupo controle (n=32) e CCEO (n=35) Teste Mann Whitney, * p=0,05.

4.4 Análise entre os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10 e o estadiamento tumoral

Para o estudo da citocina pró-inflamatória IL-6 e antiinflamatória IL-10 em relação ao estadiamento tumoral foram analisados 16 pacientes com câncer de cavidade oral no estadiamento (I+II) e 15 pacientes no grupo de pacientes com estadiamento (III+IV).

A figura 5 mostra que houve diferença significativa na concentração da citocina pró-inflamatória IL-6 e que não houve diferença nas concentrações da citocina antiinflamatória IL-10 em relação ao estadiamento tumoral de pacientes com câncer de células escamosas oral.

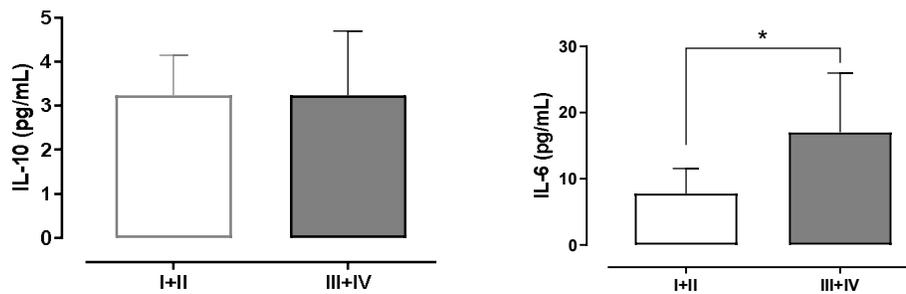


Figura 5. Comparação entre as concentrações da citocina pró-inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10 em relação ao estadiamento tumoral em pacientes com CCEO (I+II =16) (III+IV=15) Teste Mann Whitney, * p=0,05.

4.4 Avaliação do questionário EORTC QLQ-c30

Em relação a qualidade de vida os escores do estado global de saúde foi de 60,5. Na escala de sintomas, o escore mais alto relatado foi o de dor (36,8) seguido da insônia (28,9), perda de apetite (27,2) e fadiga (24,2). As escalas funcionais mostram valores de score mais baixos para funcionamento emocional (63,4) e desempenho de atividades (67,54). De acordo com Oliveira et al., 2013 o questionário mostrou ser confiável.

TABELA 4. ANÁLISE DESCRITIVA DO QUESTIONÁRIO EORTC QLQ-C30 APLICADO AOS PACIENTES DO GRUPO CCEO (N = 39).

Escala QLQ-C30	Sigla	Media (DP)
Estado global de saúde	QL	60,5 ± 24,40
Escalas Funcionais		
Funcionamento físico	PF	80,7± 25,55
Desempenho de atividades	RF	67,54 ± 35,5
Funcionamento emocional	EF	63,4 ± 32,7
Funcionamento cognitivo	CF	85,1 ± 18,89
Funcionamento social	SF	81,5 ± 23,82
Escala de sintomas		
Fadiga	FA	24,2 ± 25,94
Náusea e vômito	NV	12,7 ± 24,33
Dor	PA	36,8 ± 32,68
Dispneia	DY	14,1 ± 26,43
Insônia	SL	28,9 ± 37,3
Perda de apetite	AP	27,2 ± 35,39
Constipação	CO	8,7 ± 21,48
Diarréia	DI	0,87 ± 5,40

Dificuldades financeiras	FI	21,9 ± 29,28
--------------------------	----	--------------

4.6 Avaliação das concentrações plasmática da citocina antiinflamatória IL-10 e indicadores de qualidade de vida dos pacientes com câncer de células escamosas oral

A figura 6 mostra os gráficos que avaliaram a qualidade de vida dos pacientes com CCEO em relação aos níveis plasmáticos de citocina antiinflamatória IL-10. Podemos observar que não houve diferença significativa quanto a concentração desta citocina em relação a sintomatologia de dor ($3,34 \pm 1,67$) /sem dor ($2,66 \pm 1,12$) dos pacientes, assim como para os indicadores de insônia ($5,14 \pm 4,99$) /sem insônia ($3,15 \pm 1,29$) e fadiga ($3,29 \pm 1,26$) /sem fadiga ($2,71 \pm 0,93$). Foi observada diferença significativa nas concentrações plasmáticas de IL-10 em relação a sinais de perda de apetite ($3,9 \pm 1,19$) /apetite ($2,88 \pm 1,75$) e presença de náusea/vômito ($3,89 \pm 1,02$) sem náusea/vômito ($2,88 \pm 1,20$).

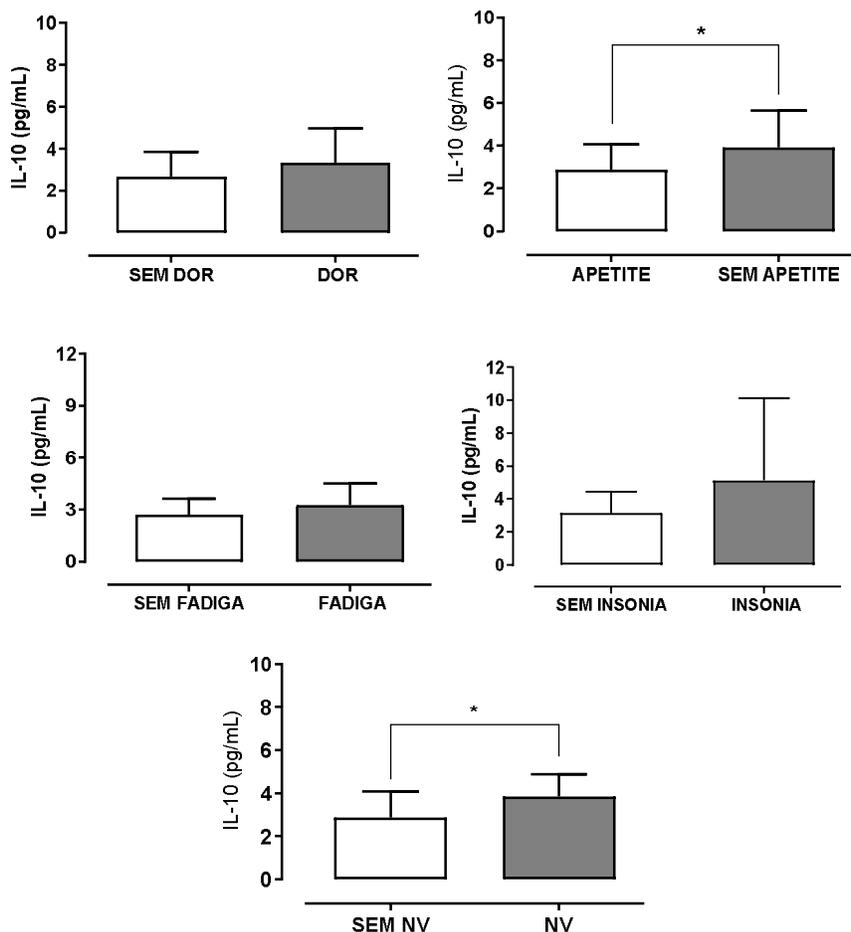


Figura 6. Avaliação da concentração da citocina IL-10 nos pacientes com CCEO em relação aos indicadores de qualidade de vida, NV=náusea e vômito, Teste Mann Whitney, * p=0,05.

4.7 Avaliação das concentrações plasmáticas da citocina pró-inflamatória IL-6 e indicadores de qualidade de vida dos pacientes com câncer de células escamosas oral

A figura 7 mostra os gráficos que avaliaram a qualidade de vida dos pacientes com CCEO em relação aos níveis plasmáticos de citocina pró-inflamatória IL-6. Podemos observar que não houve diferença significativa quanto a concentração desta citocina quanto a sintomatologia de dor ($11,49 \pm 7,08$) /sem dor ($7,85 \pm 3,87$) dos pacientes, assim como para os indicadores de insônia ($11,72 \pm 8,6$) /sem insônia ($9,38 \pm 5$). Foi observado que pacientes com o aumento da concentração plasmáticas de IL-6 apresentaram maior sintomatologia quanto a perda de apetite ($12,99 \pm 6,84$) /apetite ($8,79 \pm 4,28$) e presença de náusea/vômito ($18 \pm 10,78$) sem náusea/vômito ($8,62 \pm 4,63$) e fadiga ($10,49 \pm 1,12$) /sem fadiga ($4,88 \pm 5,76$).

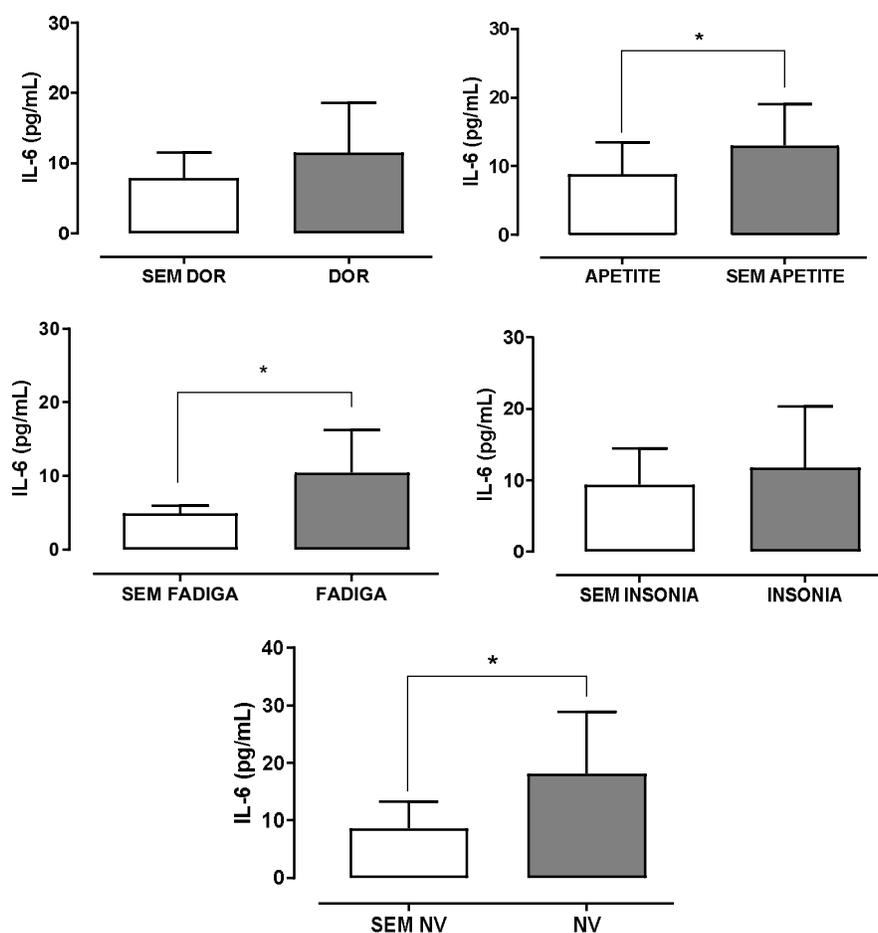


Figura 7. Avaliação da concentração da citocina IL-6 nos pacientes com CCEO em relação aos indicadores de qualidade de vida, NV=náusea e vômito, Teste Mann Whitney, * p=0,05.

4.8 Avaliação das concentrações plasmáticas da citocina pró-inflamatória IL-6 em relação aos hábitos de etilismo e tabagismo

A figura 8 mostra que houve aumento na expressão da concentração da citocina pró-inflamatória IL-6 em todos os pacientes com CCEO etilistas ($15,6 \pm 10,9$) ($n=25$) em relação a não etilistas ($6,98 \pm 4,1$) ($n=10$) e todos os pacientes indivíduos ($11,8 \pm 4,9$) ($n= 16$) em relação a não tabagistas ($6,19 \pm 1,6$) ($n=13$).

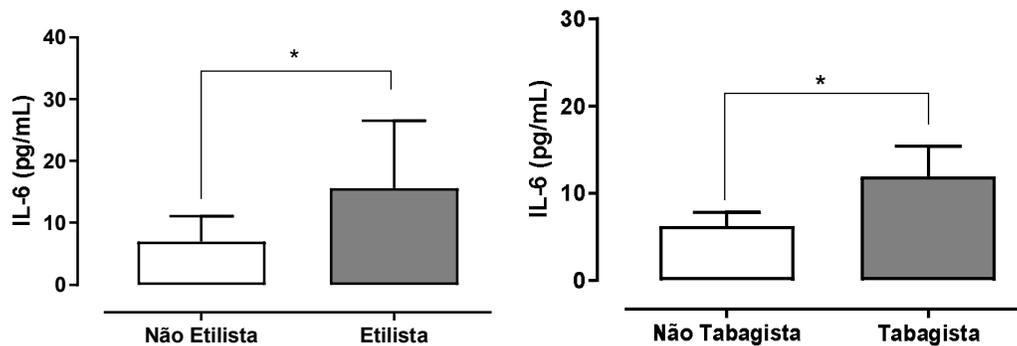


Figura 8. Avaliação da concentração da citocina IL-6 em relação aos hábitos de tabagismo e etilismo dos pacientes CCEO, Teste Mann Whitney, * $p=0,05$.

4.9 Avaliação das concentrações plasmáticas da citocina anti-inflamatória IL-10 em relação aos hábitos de etilismo e tabagismo

A figura 9 mostra que níveis plasmáticos de IL-10 se encontram significativamente elevados em pacientes tabagistas. Não foi observada diferença significativa entre etilismo e IL-10 nos pacientes com CCEO.

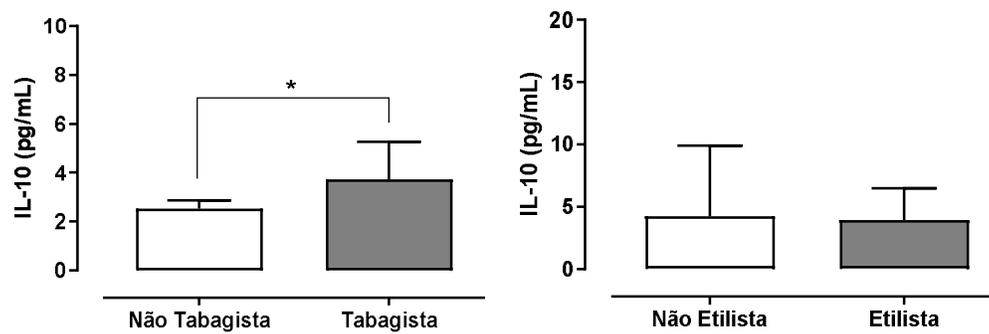


Figura 9. Avaliação da concentração da citocina IL-10 em relação aos hábitos de tabagismo e etilismo dos pacientes CCEO, Teste Mann Whitney, * p=0,05.

5. DISCUSSÃO

O câncer é considerado um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, dentre os tipos de câncer se destaca o CCEO, que foi responsável por 6.605 mortes no ano de 2019 (INCA, 2018). Os processos inflamatórios e o desequilíbrio da defesa do organismo estão relacionados ao processo de instalação desta doença, que é responsável por afetar negativamente a qualidade de vida dos indivíduos acometidos, desta forma, é importante entender como ocorre a resposta do organismo frente inflamação gerada pelo CCEO e como esse processo afeta a qualidade de vida dos pacientes antes da terapia antineoplásica.

No presente estudo, foi observado que os pacientes com CCEO apresentaram maiores concentrações plasmáticas de IL-6 quando comparados aos do grupo controle, este aumento na expressão se mostrou significativo nos pacientes com estadiamento tumoral avançado (III/IV) em relação ao grupo com estadiamento inicial (I/II). Pacientes com CCEO que tinham maiores concentrações plasmáticas de IL-6 apresentaram maiores sintomas de fadiga, náusea/vômito, e perda de apetite e também foi observado maior concentração plasmática desta citocina nos pacientes tabagistas e etilistas. Em relação a citocina antiinflamatória IL-10 foi observado que os pacientes com CCEO tabagistas apresentavam maiores concentrações plasmáticas da mesma e em relação a qualidade de vida a maior expressão de IL-10 foi relacionada a sintomas de náusea/vômito e perda de apetite.

Os pacientes com CCEO, possuíam média de idade de 60 anos, maioria do sexo masculino (63%), e em relação as variáveis tabagismo e etilismo, observamos que a maior parte dos pacientes eram tabagistas (64%) e entre os indivíduos que possuíam este hábito, 83,3% se encontravam com estadiamento tumoral avançado da doença (III/IV), já em relação ao etilismo, a maior parte dos pacientes com CCEO possuíam esse hábito (53%) e entre estes indivíduos, 77,7% se encontravam com estadiamento tumoral avançado da doença.

Estes dados corroboram os levantamentos epidemiológicos do INCA, e uma vez que os indivíduos tabagistas têm risco quinze vezes maior de desenvolver CCEO quando comparados aos não tabagistas (PINHEIRO; CARDOSO; PRADO, 2010)(VENTURI et al., 2004) estas informações reforçam

que o tabagismo e etilismo são fatores de risco para o CCEO, tais substâncias atuam em sinergismo de forma que o álcool aumenta a permeabilidade dos tecidos da cavidade bucal facilitando a penetração de agentes cancerígenos presentes no tabaco, como as nitrosaminas e nicotina. Um estudo realizado em modelo animal, mostrou que a penetração da nicotina e das nitrosaminas do tabaco nos tecidos bucais é de 6% e quando em presença de álcool ocorre um aumento de 2% na penetração dessas substâncias nos tecidos bucais (DU et al., 2000), o aumento da permeabilidade da mucosa oral pelo álcool já foi comprovado em outros estudos (CARRARD et al., 2008), um estudo que avaliou esfregaços de tecido da mucosa oral, mostrou que mesmo com a interrupção do hábito de etilismo de 9 a 14 dias, a permeabilidade da mucosa permanece aumentada quando comparada a dos pacientes não etilistas (OGDEN, 2005).

Em relação aos sítios de maior acometimento, um estudo epidemiológico, observou que as regiões anatômicas prevalentes no CCEO foram o assoalho bucal com 22,7% e a língua com 21,8% de acometimento (TEIXEIRA et al., 2009). Em nossa amostra, o sítio anatômico de maior acometimento foi a borda lateral da língua com 31% seguida do assoalho bucal com 23%. Estas regiões anatômicas foram relacionadas a maiores taxas de óbito em pacientes com CCEO em relação a outras regiões da cavidade oral (BONFANTE et al., 2014). Uma vez que o álcool e o tabaco são considerados fatores de risco para o CCEO, a região de soalho bucal e bordas laterais de língua são mais expostas a esses fatores que as outras regiões da cavidade oral tanto pela questão anatômica, em que essas substâncias se encontram em maior contato com essas regiões durante o consumo e ingestão das mesmas pelos indivíduos (SQUIER, 1991), quanto pelo fato de essas regiões possuírem um tecido epitelial não queratinizado, o que pode facilitar a penetração das substâncias carcinogênicas nestas regiões com maior facilidade em relação às regiões que possuem um revestimento epitelial queratinizadas como dorso de língua, palato e mucosa jugal (FRANZ-MONTAN et al., 2016) (SQUIER, 1986).

O tratamento para CCEO é empregado de acordo com o sítio anatômico, idade do paciente, estadiamento tumoral, entre outros fatores e uma vez que a maior parte dos pacientes com CCEO recebe o diagnóstico tardio da doença, o tratamento pode trazer complicações (LAURA Q.M. CHOW; A, 2020). Dentre os tipos de tratamento disponíveis, a ressecção cirúrgica é o tratamento empregado com maior frequência, que tem por objetivo a remoção de todo o tecido neoplásico com margens negativas, evitando que células tumorais permaneçam

nos tecidos adjacentes (GALBIATTI et al., 2013), no entanto nem sempre a eliminação de todo tecido tumoral é passível de ser realizada, pelo fato de que ela pode envolver estruturas anatômicas vitais aos pacientes ou que podem levar a disfunções em áreas como mastigação, deglutição, fala, afetando negativamente a qualidade de vida destes indivíduos, desta forma a radioterapia e a quimioterapia são terapias empregadas no tratamento do CCEO (NEOH et al., 2020). Os pacientes do nosso estudo tiveram a ressecção cirúrgica como terapêutica empregada com maior frequência, no entanto uma limitação do estudo transversal é que não há acompanhamento dos pacientes, e desta forma não se sabe se houveram mudanças na terapia antineoplásica realizada.

Em nosso estudo observamos que 53,8% dos indivíduos foram diagnosticado em estadiamento inicial da doença (I/II) e 46,2% foram diagnosticados em estadiamento avançado da doença (III/IV), dados que diferem de outros trabalhos encontrados na literatura (WONG; WIESENFELD, 2018)(SCUTTI et al., 2016) como um estudo realizado em um Hospital Universitário em São Paulo em que apenas 16% dos pacientes foram diagnosticados em estadiamento inicial da doença e 83,75% foram diagnosticados em estadiamento avançado (FELIPPU et al., 2016). O fato de os pacientes do estudo terem sido diagnosticados precocemente pode estar relacionado ao fato de muitas campanhas de prevenção serem realizadas no estado, fazendo com que as pessoas tenham maior acesso à informação e aos serviços de saúde de detecção do Estado e também pela existência do serviço de patologia prestado pela Faculdade de Odontologia da UFES que detectava a doença e realizava o encaminhamento destes indivíduos ao ambulatório da HUCAM para o início da terapia antineoplásica.

Na literatura, a sintomatologia relatada por pacientes oncológicos muitas vezes é relacionada ao tratamento empregado (LANGIUS et al., 2015) e ao crescimento do tumor (LIMA et al., 2013), no entanto os pacientes deste estudo não haviam passado por nenhuma terapia antineoplásica prévia, e a maior partes dos pacientes possuíam estadiamento tumoral inicial da doença, desta forma acredita-se que o desequilíbrio causado pelo processo inflamatório na instalação da doença tenha interferido na qualidade de vida destes indivíduos pois foi observado que os pacientes com CCEO que expressavam maiores níveis plasmáticos de IL-10 apresentaram sintomas de náusea/vômito e perda de apetite, enquanto os pacientes com maiores níveis plasmáticos de IL-6 apresentaram fadiga além dos sintomas citados, outro trabalho realizado por

nosso grupo de pesquisa também observou uma diminuição na qualidade de vida e maior presença de sintomatologias em pacientes com câncer de cabeça e pescoço antes da terapia antineoplásica (OLIVEIRA et al., 2020).

Desta forma acreditamos que os sintomas apresentados pelos pacientes sejam decorrentes do aumento da expressão de citocinas tanto pró quanto antiinflamatória no microambiente tumoral, confirmando a hipótese de que a inflamação gerada está relacionada há uma pior qualidade de vida e a presença de sintomas dos indivíduos com CCEO antes do início de qualquer terapia antineoplásica. Foi observado a presença de sintomas como náusea/vômito e perda de apetite em outros quadros clínicos como no pós-operatório de cirurgias que são procedimento que podem gerar inflamação e trauma tecidual (HORN, 2015), no entanto os mecanismos causadores e desencadeadores destes sintomas ainda não foram elucidados.

Sintomas de náusea/vômito podem ocorrer devido a disfunções psicológicas como já foi observado em pacientes ansiosos, com crises de enxaqueca, e podem ser decorrentes também de alterações no sistema nervoso ao redor do intestino, que levam sinais ao cérebro através do nervo vago, que através da ativação do receptor 5HT3 conduzem ao vômito. Este receptor, presente nos músculos lisos, intervêm no mecanismo da náusea e da sensopercepção e influi sobre a liberação de dopamina (MALEC; SHEGA, 2020).

Muito se tem estudado sobre a relação entre o 5HT3 e as células tanto do intestino quanto do sistema imunológico uma vez que podem ser produzidos por células como os macrófagos, células dendríticas dentre outras do sistema imunológico que podem expressar o transporte de serotonina, desta forma células imunes residentes no SNC, bem como células imunes de vias periférica podem ser capazes de influenciar a função cerebral, atuando em uma variedade de contextos como em doenças inflamatórias (WU et al., 2019).

Foi demonstrado que a produção de citocinas também pode ser alterada pela sinalização de 5-HT3, e que níveis elevados de citocinas pró e antiinflamatórias estão relacionadas a aumento de ansiedade e depressão de pacientes, desta forma acredita-se que o córtex cerebral e sistema límbico (MALEC; SHEGA, 2020), que fornece recursos emocionais e cognitivos que são traduzidos nas sintomatologias apresentadas pelos pacientes com CCEO uma vez que cada pessoa tem um limite específico para náuseas e vômitos que variam de acordo com a interação entre esses sistemas e seus estado psicológico (GONÇALVES, 2017). A interação entre esses sistemas é uma

explicação provável para variabilidade de experiências e sintomas desses pacientes embora ainda sejam necessários mais estudos que elucidam a relação entre estes sintomas em pacientes antes da terapia antineoplásica.

O aumento na expressão da citocina IL-6 já foi relacionada como um fator causador de sintomas relacionados ao câncer, incluindo caquexia, sintomas semelhantes aos da gripe e fadiga (YAN et al., 2006). Ainda não se sabe como as citocinas pró e antiinflamatórias podem estar envolvidas nos sintomas dos pacientes com CCEO, mas sabemos que a IL-6 está relacionada a aumento na transcrição de leptina e já foi observado que pacientes com altos níveis de leptina apresentam perda de peso, conseqüentemente menor apetite (WONG; WIESENFELD, 2018).

Ainda em relação aos níveis plasmáticos de IL-6, foi observado aumento significativo desta citocina em pacientes tabagistas e etilistas, em relação a pacientes não tabagistas e não etilistas. Esses dados corroboram um estudo realizado por Cottin *et al.*, 2018, que relacionou o aumento de níveis plasmático de IL-6 em 527 pacientes diagnosticados com CCEO, com tabagismo e o etilismo (COTTIN et al., 2018). As associações entre os níveis plasmáticos de IL-6 e o consumo de tabaco e álcool também foram relatadas em indivíduos com doenças cardiovasculares (KELSEY C. MARTIN MHATRE V. HO, 2012) e artrite reumatoide (MARLENA et.,al 2008), na qual os níveis elevados de IL-6 em pacientes tabagistas e etilistas se encontravam elevados em relação ao grupo de pacientes controle. Esta relação pode ocorrer pelo fato de o álcool e o tabaco modulam negativamente a resposta imune dos indivíduos, uma vez que o tabagismo está associado à liberação de citocinas pró-inflamatória e a inibição de citocinas antiinflamatórias (DU et al., 2000).

A citocina IL-6 é um importante constituinte da via pró-inflamatória e níveis elevados desta citocina foram correlacionadas com prognóstico desfavorável cânceres gástrico, renal, prostático, ovariano e mamário, que pode estar relacionado com a ativação da via IL6-STAT3, responsável por transcrever fatores inibidores de apoptose (AZEVEDO, 2011). Um estudo *in vitro* realizado com células escamosas de ratos com CCEO observou que as células escamosas secretam altas concentrações de IL-6 e que a expressão desta citocina estava relacionada ao processo de tumorigênese e diminuição da resposta imunológica através da regulação negativa da expressão de células

TCD8, que é um responsável no sistema imunológico pela lise de células tumorais (THOMAS et al., 2004).

Um estudo transversal avaliou biópsia tecidual e imuno-histoquímica de 78 pacientes com diagnóstico confirmado de CCEO e observou que níveis elevados de IL-6 parecem estar relacionados com pior prognóstico para estes pacientes, pois foram observados com maior frequência em pacientes com estadiamento clínico avançado. Os resultados mostraram que o aumento da expressão de IL-6 nas células cancerosas foi significativamente associado a uma resposta fraca à quimiorradioterapia pré-operatória (JINNO et al., 2015).

Em nosso estudo foi observado que pacientes com CCEO possuíam níveis plasmáticos elevados de IL-6 em relação a pacientes do grupo controle, além disso, também foram observadas diferenças quanto ao estadiamento tumoral, em que pacientes com estadiamento avançado III/IV possuíam níveis plasmáticos elevados desta citocina em relação aos estadiamentos iniciais I/II da doença, esses dados corroboram com um estudo realizado por Duffy e colaboradores (2008), no qual foi avaliado o nível desta citocina no soro de 444 pacientes com CCEO antes de iniciarem a terapia antineoplásica e os autores observaram que indivíduos com idade avançada eram mais propensos a terem níveis plasmáticos aumentados de IL-6 em relação a pessoas mais jovens, assim como tabagistas e ex tabagistas possuíam níveis plasmáticos de IL-6 elevados em relação a não tabagistas, este estudo também relatou que indivíduos com câncer em estágio III/IV apresentavam plasmáticos elevados de IL-6 tanto relação aos pacientes que possuíam estadiamento inicial da doença I/II, quanto em relação aos pacientes que não apresentavam CCEO (DUFFY et al., 2008).

O mecanismo pelo qual o aumento plasmático de IL-6 está relacionado com a progressão do câncer pode ser explicado pelos seus efeitos na iniciação do tumor através de seus mecanismos de ação parácrino ou autócrino e também por seus efeitos inibitórios sobre a resposta imune mediada contra o tumor (DUFFY et al., 2008). Ao inibir a diferenciação de células dendríticas, que são as principais células na apresentação de antígeno da defesa inata, esta citocina pró-inflamatória pode induzir uma tolerância imunológica nos tumores e facilitar o processo de metástase (SRIURANPONG et al., 2003a), o aumento das concentrações de IL-6 nos pacientes com CCEO é proveniente tanto das células do próprio tumor quanto dos monócitos em nível sistêmico e este aumento pode ser observado desde os estágios iniciais da doença (GORI et al., 1993).

Desta forma níveis elevados de IL-6 tem sido associada a progressão tumoral (JINNO et al., 2015), estadiamentos avançados e prognóstico ruim em pacientes com CCEO (THOMAS et al., 2004), além de estar diretamente relacionada a ativação do fator de transcrição STAT3 que é relacionado ao progressão tumoral, supressão da apoptose, proliferação celular e metástase (ARSHAD et al., 2020).

Apesar de não haver na literatura um consenso no papel da citocina IL-10 em relação ao CCEO, ela é geralmente classificada como uma citocina antiinflamatória que pode exercer funções distintas no processo de tumorigênese. Concentrações séricas da IL-10 foram avaliadas em diferentes tipos de cânceres e associadas tanto ao estadiamento da doença quanto a um pior prognóstico em casos de sarcoma ósseo, linfoma células B, câncer gástrico, câncer de cólon, linfoma de Hodgkin, câncer hepatocelular, melanoma, câncer de células renais e câncer pancreático (DRAGANA JANKOVIC, DAVID G. KUGLER, 2010).

Embora a ação de IL-10 seja relatada como supressora de inflamação, alguns estudos mostram que a citocina pode favorecer o crescimento tumoral *in vitro* ao atuar estimulando a proliferação celular e inibindo o processo de apoptose, desta forma altos níveis sistêmicos de IL-10 se correlacionam com baixa sobrevida de pacientes com câncer (CANDIDO J. et al., 2013)(AZEVEDO, 2011). Um estudo realizado com 325 pacientes com CCEO que ainda não haviam iniciado a terapia antineoplásica, mostrou que a alta expressão de IL-10 estava relacionada ao pior prognóstico nos pacientes, mesmo os que foram diagnosticados em estágios iniciais da doença, os altos níveis de IL-10 estavam relacionados imunossupressão da resposta antiinflamatória e a pior qualidade de vida do paciente (CHEN et al., 2013).

Um estudo realizado em 2011 no Reino Unido avaliou 40 pacientes com CCEO que ainda não haviam iniciado a terapia antineoplásica e observou que os níveis plasmáticos de IL-10 nestes indivíduos eram elevados em relação ao grupo controle. Ao relacionar as concentrações de IL-10 com os estadiamentos da doença, as concentrações desta citocina eram maiores em pacientes com estadiamento avançado III/IV (LEONCINI et al., 2014). Entretanto, em nosso estudo não foram observadas diferenças significativas na concentração da citocina pró-inflamatória IL-10 nos pacientes com CCEO e grupo controle e também não foram encontradas diferenças significativas da citocina em relação

aos estadiamentos tumorais nos pacientes com CCEO, o que pode ser explicado por a maior parte dos pacientes possuírem estadiamentos iniciais da doença (OLIVEIRA et al., 2020).

Tanto a citocina IL-10 quando a IL-6 estão associadas ao aumento de componentes inflamatórios dentro do microambiente tumoral e os pacientes acometidos pelo CCEO apresentam sintomatologia associada ao aumento da expressão da presença destas citocinas, estudar como os sintomas estão relacionados a qualidade de vida dos pacientes pode ajudar para que no futuro existam terapias que regulam a expressão de citocinas nos pacientes com CCEO, para que tanto os processos de progressão tumoral e quando a sintomatologia relatada sejam menores nos pacientes acometidos pela doença.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou que pacientes diagnosticados com CCEO, antes de iniciarem a terapia antineoplásica, têm maiores níveis plasmáticos de citocina pró-inflamatória IL-6 e que estes níveis são maiores no estadiamento avançado da doença, o que evidencia o papel desta citocina como marcador de progressão tumoral nos pacientes com CCEO. A citocina IL-10 não se mostrou como um biomarcador nos pacientes da amostra. A qualidade de vida está reduzida devido aos sintomas apresentados de náusea/vômito, perda de apetite e fadiga, que estão diretamente relacionados com o estado inflamatório dos pacientes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSIO Molfino, et al .,Cancer anorexia:hypotalamic activity and its association with inflammation and appetite-regulating peptides in lung cancer. . [S.l.]: journal of cachexia, 2017

ANTONIO, Marcos et al. Associação do vírus Epstein-Barr (EBV) com tumores sólidos. Rev Bras Cancerologia, v. 52, n. 085, p. 87–96, 2006.

ARA, Tasnim; DECLERCK, Yves A. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. European Journal of Cancer, v. 46, n. 7, p. 1223–1231, 2010.

ARSHAD, Sundas et al. Targeting STAT-3 signaling pathway in cancer for development of novel drugs: Advancements and challenges. Genetics and Molecular Biology, v. 43, n. 1, p. 1–20, 2020.

AVELAR, Juliana Maria de Paula et al. Fatigue in patients with head and neck cancer undergoing radiation therapy: A prospective study. Revista Latino-Americana de Enfermagem, v. 27, n. August, 2019.

AZEVEDO, Andreia. IL-6/IL-6R as a potential key signaling pathway in prostate cancer development. World Journal of Clinical Oncology, v. 2, n. 12, p. 384, 2011.

BLOECHL-DAUM, Brigitte et al. Delayed nausea and vomiting continue to reduce patients' quality of life after highly and moderately emetogenic chemotherapy despite antiemetic treatment. Journal of Clinical Oncology, v. 24, n. 27, p. 4472–4478, 20 set. 2006.

BONFANTE, Gisele Macedo da Silva et al. Sobrevida de cinco anos e fatores associados ao câncer de boca para pacientes em tratamento oncológico ambulatorial pelo Sistema Único de Saúde, Brasil. Cadernos de Saude Publica, v. 30, n. 5, p. 983–997, 2014.

BONOMI, Marcelo et al. The role of inflammation in head and neck cancer. Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 816, p. 107–127, 2014.

CAMPOS, Maira Paschoin de Oliveira et al. Fadiga relacionada ao câncer: uma revisão. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 57, n. 2, p. 211–219, 2011.

CARRARD, Vinícius Coelho et al. Álcool e Câncer Bucal : Considerações sobre os Mecanismos Relacionados. Revista Brasileira de Cancerologia, v. 54, n. 1, p. 49–56, 2008.

CASTRO MSJ, TORO AADC, SAKANO E, RibeiroJD. Avaliação das funções orofaciais do sistema estomatognático nos níveis de gravidade de asma. J Soc Bras Fonoaudiol, v. 24, n. 2, p. 119–124, 2012.

CHEN, Chih Jung et al. High expression of interleukin 10 might predict poor prognosis in early stage oral squamous cell carcinoma patients. Clinica Chimica Acta, v. 415, p. 25–30, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.09.009>>.

CONSOLARO, Renata et al. O tabaco é um dos principais fatores etiológicos do câncer bucal: conceitos atuais. Revista Odontológica de Araçatuba, p. 63–67, 2010.

COTTIN, Sylvine Carrondo et al. Predictors of circulating INTERLEUKIN-6 levels in head and neck cancer patients. Cancers of the Head & Neck, v. 3, n. 1, p. 1–10, 2018.

DAL MASO, Luigino et al. Combined effect of tobacco smoking and alcohol drinking in the risk of head and neck cancers: a re-analysis of case-control studies using bi-dimensional spline models. *European Journal of Epidemiology*, v. 31, n. 4, p. 385–393, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10654-015-0028-3>>.

DAVID G. DENARDO, JAIRO B. BARRETO, PAULINE ABREU, LESLEY VASQUEZ, DAVID TAWFIK, NIKITA KOLHATKAR, and Lisa M. Coussend. CD4+T Cells Regulate Pulmonary Metastasis of Mammary Carcinomas by Enhancing Protumor Properties of Macrophages. *cancer cell*, v. 16, n. 2, p. 91–102, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>>.

DRAGANA JANKOVIC, DAVID G. KUGLER, and Alan Sher. IL-10 production by CD4+ effector T cells: a mechanism for self-regulation. v. 3, n. 3, p. 239–246, 2010.

DRANOFF, Glenn. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, v. 4, n. 1, p. 11–22, 2004.

DU, X. et al. Penetration of N-nitrosornicotine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, v. 29, n. 2, p. 80–85, 2000.

DUFFY, Sonia A. et al. Interleukin-6 predicts recurrence and survival among head and neck cancer patients. *Cancer*, v. 113, n. 4, p. 750–757, 2008.

ELANGO, Kalavathy Jayapal et al. Mouth self-examination to improve oral cancer awareness and early detection in a high-risk population. *Oral Oncology*, v. 47, n. 7, p. 620–624, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.05.001>>.

FELIPPU, André Wady Debes et al. Impact of delay in the diagnosis and treatment of head and neck cancer. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, v. 82, n. 2, p. 140–143, 1 mar. 2016.

FRANZ-MONTAN, Michelle et al. Evaluation of different pig oral mucosa sites as permeability barrier models for drug permeation studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 81, p. 52–59, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2015.09.021>>.

FREITAS, Rivelilson Mendes de et al. Fatores de risco e principais alterações citopatológicas do câncer bucal: uma revisão de literatura Risk. *Rbac*, v. 48, n. 1, p. 13–8, 2016. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/05/ARTIGO-2_VOL-48_1_2016-ref-120.pdf> <http://sbac.org.br/rbac/wp-content/uploads/2016/05/ARTIGO-2_RBAC-48-1-2016-ref.-120-corr.pdf>.

GALBIATTI, Ana Livia Silva et al. Head and neck cancer: Causes, prevention and treatment. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. [S.l.]: Sociedade Brasileira de Otorrinolaringologia. Disponível em: <<http://www.bjorl.org/http://www.bjorl.org/>>. Acesso em: 31 mar. 2021. , 2013

GEIGER, Jessica L.; GRANDIS, Jennifer R.; BAUMAN, Julie E. The STAT3 pathway as a therapeutic target in head and neck cancer: Barriers and innovations. *Oral Oncology*, v. 56, p. 84–92, 2016.

GHOSH, Sujoy et al. Leptin and cancer: Pathogenesis and modulation. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, v. 16, n. 9, p. 596, 2012. Disponível em: <</pmc/articles/PMC3602989/>>. Acesso em: 7 mar. 2021.

GOMES, Luciana Carneiro; CRISTIANO, Francisco; MACENA, Sores. Revisão De Literatura : Câncer De Boca Diagnóstico E Fatores De Riscos Associados Literature Review : Diagnostic Associated Risk Factors Mouth Cancer and. *Revista Interdisciplinar Em Saúde*, v. 5, n. 4, p. 655–670, 2018.

GONÇALVES, M. REVISÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE SEROTONINA E

LAURA Q.M. CHOW, M.D.; A. Head and neck cancer. *The New England Journal of Medicine*, v. 382;1, p. 60–72, 2020.

LEMAIRE, Denise Carneiro; COUTINHO DE LIMA, Radamés; ARAÚJO DOS SANTOS, Luama. Inflamação e síndrome metabólica. A síndrome metabólica e suas implicações clínicas, p. 87–112, 2018.

LEONCINI, E. et al. Adult height and head and neck cancer: A pooled analysis within the INHANCE Consortium. *Head and Neck*, v. 36, n. 10, p. 1391, 2014.

LIN, Wan Wan; KARIN, Michael. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *Journal of Clinical Investigation*, v. 117, n. 5, p. 1175–1183, 2007.

LIMA A, et al. Avaliação da dor em pacientes oncológicos internados em um hospital escola do nordeste do Brasil. *Rev. dor*, v.14, n.4, p.267-271, 2013.

MALEC, Monica; SHEGA, Joseph W. Management of Gastrointestinal Symptoms (Nausea, Anorexia and Cachexia, Constipation) in Advanced Illness. *Medical Clinics of North America*, v. 104, n. 3, p. 439–454, 1 maio 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025712519301506>>. Acesso em: 23 mar. 2021.

MANNINO, Mark H. et al. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Letters*, v. 367, n. 2, p. 103–107, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2015.07.009>>.

MARLENA S. FEJZOA FREDERIC PAIK SCHOENBERGB, KIMBER MACGIBBONC, PATRICK MULLIND, ROBERTO ROMEROE, F, AND KHALIL TABSHA AUNIVERSITY, Aromalyn Magtirab. Public Access. *Bone*, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2008. Disponível em: <[file:///Users/mayyungtiet/Documents/My work/PhD/Projects/Other projects/Leigh treatabolome/Review papers/Review references MT/Gempel 2007 ETFGDH.pdf](file:///Users/mayyungtiet/Documents/My%20work/PhD/Projects/Other%20projects/Leigh%20treatabolome/Review%20papers/Review%20references%20MT/Gempel%202007%20ETFGDH.pdf)>.

MARQUES, Vinícius Bermond et al. Chronic iron overload intensifies atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice: Role of oxidative stress and endothelial dysfunction. *Life Sciences*, v. 233, n. July, 2019.

MELO FILHO, Mário Rodrigues de et al. Quality of life of patients with head and neck cancer. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, v. 79, n. 1, p. 82–88, 2013.

MILLER, Barry A. et al. Cancer incidence and mortality patterns among specific Asian and Pacific Islander populations in the U.S. *Cancer Causes and Control*, v. 19, n. 3, p. 227–256, 2008.

MOLFINO, Alessio et al. Cancer anorexia: hypothalamic activity and its association with inflammation and appetite-regulating peptides in lung cancer. 2016.

MOSTAFA ALIZADE- HAKIYAN et al. Radiobiological modeling of acute esophagitis after radiation therapy of head, neck, and thorax tumors: The influence of chemo-radiation. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, v. 14, n. 7, p. 1525–1534, 2018.

NEOH, May Kay et al. and Functional Status during Head and Neck. 2020.

OLIVEIRA, Karine., et al. Valor prognóstico de biomarcadores cardiovasculares de pré-tratamento no carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. *Oral Dieases*.2020.

ODONTOESTOMATOLOGÍA, Avances EN; ANTÓN, Mateo-Sidrón MC; PÉREZ, Somacarrera ML. Revisión de la literatura. *Av. Odontoestomatol.* [S.l: s.n.], 2015.

OGDEN, Graham R. Alcohol and oral cancer. *Alcohol*, v. 35, n. 3, p. 169–173, 2005.

OUYANG, Wenjun et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual Review of Immunology*, v. 29, p. 71–109, 2011.

PATARO, Luciana. *Fundamentos de Espectroscopia no Infravermelho The Power of Molecular Spectroscopy*. [s.d.].2015

PINTO, Fábio Roberto et al. Manutenção do tabagismo e etilismo em pacientes tratados por câncer de cabeça e pescoço: influência do tipo de tratamento oncológico empregado. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 57, n. 2, p. 171–176, 2011.

REN, HONG AND GRAY, William M. Effectiveness of exercise-based rehabilitation on functional capacity and quality of life in head and neck cancer patients receiving chemoradiotherapy. *Physiology & behavior*, v. 176, n. 3, p. 139–148, 2019.

SCHARLOO, Margreet et al. Quality of life and illness perceptions in patients with recently diagnosed head and neck cancer. *Head and Neck*, v. 27, n. 10, p. 857–863, 2005.

SCUTTI, Jorge Augusto Borin et al. Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC): desvendando os mistérios do microambiente tumoral. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent*, v. 70, n. 2, p. 156–163, 2016.

SICA, Antonio; ALLAVENA, Paola; MANTOVANI, Alberto. Cancer related inflammation: The macrophage connection. *Cancer Letters*, v. 267, n. 2, p. 204–215, 2008.

SQUIER, C. A. Penetration of nicotine and nitrosornicotine across porcine oral mucosa. *Journal of Applied Toxicology*, v. 6, n. 2, p. 123–128, 1986.

The permeability of oral mucosa. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, v. 2, n. 1, p. 13–32, 1991.

SRIURANPONG, Virote et al. Epidermal growth factor receptor-independent constitutive activation of STAT3 in head and neck squamous cell carcinoma is mediated by the autocrine/paracrine stimulation of the interleukin 6/gp130 cytokine system. *Cancer Research*, v. 63, n. 11, p. 2948–2956, 2003a.

Epidermal Growth Factor Receptor-independent Constitutive Activation of STAT3 in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Is Mediated by the Autocrine/Paracrine Stimulation of the Interleukin 6/gp130 Cytokine System. *CANCER RESEARCH*. [S.l.: s.n.], 2003b.

TEIXEIRA, Ana Karine Macedo et al. Carcinoma espinocelular da cavidade bucal: um estudo epidemiológico na Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza. *Rev. bras. cancerol*, v. 55, n. 3, p. 229–236, 2009. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/rbc/n_55/v03/pdf/33_artigo4.pdf>.

THOMAS, Giovana R. et al. Cytokines IL-1 α , IL-6, and GM-CSF constitutively secreted by oral squamous carcinoma induce down-regulation of CD80 costimulatory molecule expression: Restoration by interferon γ . *Cancer Immunology, Immunotherapy*, v. 53, n. 1, p. 33–40, 2004.

ULISSES, José; CALEGARO, Manzzini. ::IX-X IX Baixos níveis de radiação ionizante causam câncer? *Radiol Bras*. [S.l.: s.n.], 2007. Disponível em: <www.medscape.com/viewarticle/523000_1>.

VÄKEVÄINEN, Satu et al. High salivary acetaldehyde after a moderate dose of alcohol in ALDH2- deficient subjects: Strong evidence for the local carcinogenic action of acetaldehyde. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 24, n. 6, p. 873–877, 2000.

VENTURI, Beatriz da Rocha Miranda; CABRAL, Márcia Grillo; LOURENÇO, Simone de Queiroz Chaves. Carcinoma de células escamosas oral - contribuição de vírus

oncogênicos e alguns marcadores moleculares no desenvolvimento e prognóstico da lesão: uma revisão. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v. 70, n. 3, p. 385–392, 2004.

VENTURI, Beatriz R. M.; PAMPLONA, Ana C. F.; CARDOSO, Abel S. Carcinoma de células escamosas da cavidade oral em pacientes jovens e sua crescente incidência: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v. 70, n. 5, p. 679–686, 2004.

VICHAYA, Elisabeth G. et al. Neuroimmune mechanisms of behavioral alterations in a syngeneic murine model of human papilloma virus-related head and neck cancer. *Psychoneuroendocrinology*, v. 79, p. 59–66, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.02.006>>.

WONG, T. S.C.; WIESENFELD, D. Oral Cancer. *Australian Dental Journal*, v. 63, p. S91–S99, 2018.

WU, Hera et al. Beyond a neurotransmitter: The role of serotonin in inflammation and immunity. *Pharmacological Research*, v. 140, n. June 2018, p. 100–114, 2019.

YAN, Li et al. Therapeutic potential of cytokine and chemokine antagonists in cancer therapy. *European Journal of Cancer*, v. 42, n. 6, p. 793–802, 2006a.

Therapeutic potential of cytokine and chemokine antagonists in cancer therapy. v. 2, p. 4–13, 2006b.

YANG, Jinbo; STARK, George R. Roles of unphosphorylated STATs in signaling. *Cell Research*, v. 18, n. 4, p. 443–451, 2008.

ANEXO 1. Aprovação do comitê de ética em pesquisa.

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: Avaliação da expressão de marcadores moleculares em câncer de Cabeça e Pescoço

Pesquisador: sonia alves gouvea

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 62653116.0.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.851.336

Apresentação do Projeto:

Este estudo trata-se de uma pesquisa translacional que tem como objetivo principal avaliar e relacionar a expressão de marcadores moleculares em diferentes tipos de amostra obtidas em pacientes diagnosticados com carcinoma de células escamosas em Cabeça e Pescoço. Os sítios anatômicos que estão incluídos nesse grupo de neoplasias constituem a cavidade oral, que compreende mucosa bucal, gengivas, palato duro, língua, assoalho de língua; faringe, que inclui: orofaringe, nasofaringe, hipofaringe; cavidade nasal e seios paranasais; laringe glótica e supraglótica; e glândulas. A ocorrência aproximada é de 40% na cavidade oral, 15% na faringe e 25% na laringe, sendo o restante nos demais sítios remanescentes. O Carcinoma de células escamosa é responsável por 95% das lesões malignas localizadas na cavidade oral. Inicialmente será feito um levantamento do perfil clínico epidemiológico da população por meio de entrevista e análise de

ANEXO 2. Termo de consentimento livre e esclarecido do grupo CCEO.**TCLE- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você foi convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “Avaliação da expressão de marcadores moleculares em câncer de cabeça e pescoço”, sob a responsabilidade da Prof. Dra. Sonia Alves Gouvea.

LEIA COM ATENÇÃO

Você está sendo convidado a fazer parte voluntariamente deste estudo. Antes de dar seu consentimento como participante, por favor, leia o que está escrito a seguir e peça qualquer esclarecimento que julgar necessário para o seu entendimento.

JUSTIFICATIVA

O câncer de cabeça e pescoço ainda é muito frequente na população e necessita de métodos de diagnóstico para que seja feito um tratamento mais adequado. Estudos tem demonstrado que pacientes oncológicos apresentam a dor como o sintoma mais freqüente, mas ainda falta uma avaliação específica da dor. Diariamente, grande numero de pacientes recebe o diagnóstico de desordens potencialmente malignizáveis na clínica odontológica. Pouco se sabe a respeito da análise comparativa de marcadores biológicos e dor entre estes dois grupos. Assim, a avaliação destes pacientes, especificamente dos portadores de neoplasias, poderá melhorar a qualidade de vida e possibilitar ser diagnosticado mais cedo. Dessa forma, acreditamos que o acompanhamento pela equipe, poderá contribuir para maior controle da dor e a melhoria da qualidade de vida e da possibilidade de tratamento do paciente.

OBJETIVO DA PESQUISA

Objetivo deste estudo será avaliar a expressão de marcadores moleculares para determinar sua participação no processo prognóstico e diagnóstico do carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e seu impacto na qualidade de vida. Os objetivos específicos são: fazer levantamento do perfil clínico-epidemiológico da população estudada; quantificar marcadores moleculares e citocinas e relacioná-los com o nível de dor e o tratamento antineoplásico.

PROCEDIMENTOS QUE SERÃO REALIZADOS DURANTE O ESTUDO

Se você decidir participar deste estudo, em nada será alterado seu tratamento, você deverá continuar tomando seus medicamentos como de costume, sem nenhuma alteração de dose ou horário.

Serão realizados os seguintes procedimentos:

- Algumas informações sobre sua saúde serão coletadas de seu prontuário para nos ajudar na pesquisa;

- A qualidade de vida e os efeitos dos tratamentos que você é submetido serão avaliados por meio de algumas perguntas na forma de um questionário que serão respondidas por você nos dias de sua consulta. Será necessário coletar uma alíquota de saliva com algodão e 10 mL de sangue em sua consulta para a avaliação de biomarcadores. Caso o procedimento indicado ao seu caso for cirúrgico ou se um fragmento para biópsia for removido, parte deste material será utilizado. A coleta será realizada por profissional de saúde devidamente treinado e capacitado. Isto poderá trazer algum desconforto por causa da picada da agulha, sendo que é muito pequeno o risco de ocorrência de trauma. Os materiais utilizados serão descartáveis, não havendo risco de contaminação. A saliva, sangue ou tecido coletado será processado e armazenado no -80°C do Biorrepositório do Prédio da Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas-UFES para posterior análise dos biomarcadores. Concordando com este estudo você estará autorizando que estas amostras sejam armazenadas por um período de 05 anos, podendo ser solicitada prorrogação deste prazo, para serem utilizadas em investigações futuras. Toda nova pesquisa a ser realizada utilizando estas amostras deverá ser submetida à nova aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

As entrevistas serão feitas nos dias de sua consulta no Hospital Evangélico de Vila Velha, Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (HUCAM) ou Ambulatório da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo, por membro da equipe. Portanto, não alterará em nada sua rotina. O acompanhamento acontecerá durante todo o seu tratamento pelos pesquisadores..

RISCOS E DESCONFORTOS

A coleta de sangue será realizada por profissional de saúde devidamente treinado e capacitado que seguirá todas as normas de biossegurança e controle de infecção. Durante a coleta do sangue, o participante pode sentir um pouco de dor ou apresentar um hematoma (mancha roxa) no local onde for realizada a punção. Para evitar ou minimizar o hematoma no local onde for realizada a coleta, o garrote será liberado antes da remoção

da agulha e uma compressão com algodão será aplicada no local puncionado por um período mínimo de 3 minutos, mantendo-se o braço estendido, sem dobrá-lo. Após esse período, um curativo compressivo será aplicado. Todo o procedimento da coleta será explicado ao participante junto com seu acompanhante, se houver, reforçando de que se trata de um procedimento rápido a fim de deixá-lo mais a vontade e evitar o possível mal estar relacionado ao medo de agulhas. Se ocorrer algum desconforto no procedimento, o participante será imediatamente atendido pelos profissionais do hospital.

BENEFÍCIOS ESPERADOS

A sua participação neste estudo fornecerá informações que poderão ser úteis para melhorar os sintomas ocasionados pela terapia antineoplásica e ajudar no tratamento. Você, participante, terá acompanhamento para responder ao questionário da Dor que poderá fornecer informações que poderão melhorar a qualidade de vida e o relacionamento pessoal dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço e com desordens potencialmente malignizáveis. Além disso, haverá colaborações em campanhas para a prevenção do câncer. O benefício esperado com o estudo está relacionado ao maior conhecimento sobre os aspectos sociodemográficos, clínicos e biológicos dos pacientes acometidos pelas neoplasias supracitadas. A avaliação dos biomarcadores poderá ser utilizada como fator prognóstico norteando terapias ou até mesmo agilizando o processo de diagnóstico. Isso aumentará as chances de sucesso do tratamento, diminuirá incidência dos sintomas à terapia antineoplásica e o número de hospitalizações e assim, melhorando a qualidade de vida. Espera-se que se tenha a produção de artigos com a participação de alunos de graduação e pós-graduação influenciando positivamente em sua formação.

GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO

A participação neste estudo é totalmente voluntária. Se você não desejar participar, isto não lhe causará qualquer situação desconfortável ou prejuízo na forma como você recebe o seu tratamento. Além disto, você poderá a qualquer momento durante a pesquisa retirar o seu consentimento e sair do estudo sem também qualquer prejuízo. Você também poderá participar da pesquisa e se recusar a responder algumas perguntas durante a entrevista caso não sinta confortável, E caso os pesquisadores participantes do estudo e o Comitê de Ética julguem necessário suspender sua participação na pesquisa, isso será realizado, mesmo sem o seu consentimento, levando sempre em consideração o seu bem-estar e a sua segurança

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Você terá a garantia do sigilo que assegure a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa. Os resultados do estudo serão publicados na forma de artigos científicos, sejam eles favoráveis ou não, e a sua identidade permanecerá anônima. É permitido a você o acesso aos seus dados do estudo e documentos médicos. Serão cumpridas as regulamentações da Resolução CSN 466/12.

NOTIFICAÇÃO, CUSTO E COMPENSAÇÃO

A sua participação no estudo não acarretará nenhum custo financeiro para você. Também não lhe causará nenhum dano, pois serão utilizados apenas questionários e as amostras biológicas obtidas serão utilizadas apenas para fins de investigação. Qualquer material que não seja imediatamente utilizado permanecerá armazenado. Você tem o direito de saber, a qualquer momento, dos resultados de exames realizados em sua amostra, tendo ou não aplicabilidade clínica. Não haverá nenhuma compensação ou pagamento pelo preenchimento do questionário e fornecimento da amostra biológica.

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Você terá a garantia do sigilo que assegure a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa. Os resultados do estudo serão publicados na forma de artigos científicos, sejam eles favoráveis ou não, e a sua identidade permanecerá anônima. É permitido a você o acesso aos seus dados do estudo e documentos médicos. Serão cumpridas as regulamentações da Resolução CSN 466/12.

NOTIFICAÇÃO, CUSTO E COMPENSAÇÃO

A sua participação no estudo não acarretará nenhum custo financeiro para você. Também não lhe causará nenhum dano, pois serão utilizados apenas questionários e as amostras biológicas obtidas serão utilizadas apenas para fins de investigação. Qualquer material que não seja imediatamente utilizado permanecerá armazenado. Você tem o direito de saber, a qualquer momento, dos resultados de exames realizados em sua amostra, tendo ou não aplicabilidade clínica. Não haverá nenhuma compensação ou pagamento pelo preenchimento do questionário e fornecimento da amostra biológica.

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) Sr.(a) pode contatar a pesquisadora Prof^a. Dr^a. Sônia Alves Gouvea no telefone (27) 3335-7342 ou no Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Av. Marechal Campus, 1468, Maruípe, Vitória, ES, CEP: 29.040-090, Brasil

O (A) Sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, e-mail cep.ufes@hotmail.com ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinada pelo(a) pesquisador(a) principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

Vitória, ____/____/____

_____ Participante da pesquisa/Responsável legal

Na qualidade de pesquisador responsável pela pesquisa “Avaliação da expressão de marcadores moleculares em câncer de cabeça e pescoço” eu, Sonia Alves Gouvea, declaro ter cumprido as exigências do item IV.3, da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

_____ Pesquisadora

ANEXO 3: Questionário de qualidade de vida aplicado aos pacientes com CCEO.



Estudo Sobre o Câncer e Suas Características no Espírito Santo

Prontuário: _____	Data: _____	Telefone: _____
Nome: _____		ID: _____
Endereço: _____		
Sexo: <input type="checkbox"/> F / <input type="checkbox"/> M	Idade: ____	Data nasc: _____
Tabagista () sim () não () ex Etilista () sim () não () ex		

Nós estamos interessados em alguns dados sobre você e sua saúde. Responda, por favor, a todas as perguntas fazendo um X na resposta que melhor se aplica a você. Não há respostas certas ou erradas. As informações que você fornecer permanecerão estritamente conf

Para as seguintes perguntas, por favor, faça um círculo em volta do número entre 1 e 7 que melhor se aplica a você.

29. Como você classificaria a sua saúde em geral, DURANTE A ÚLTIMA SEMANA?

1	2	3	4	5	6	7
---	---	---	---	---	---	---

Péssima
Ótima

30. Como você classificaria a sua qualidade de vida em geral, durante a última semana?

1	2	3	4	5	6	7
---	---	---	---	---	---	---

Péssima
Ótimo

<u>DURANTE A ÚLTIMA SEMANA</u>	não	pouco	bastante	muito
--------------------------------	-----	-------	----------	-------

6. Tem sido difícil trabalhar ou realizar suas atividades diárias?				
7. Tem sido difícil praticar seu hobby ou participar de atividades de lazer?				
8. Você teve falta de ar?				
9. Você tem tido dor?				
10. Você precisou repousar?				
11. Você tem tido problemas para dormir?				
12. Você tem se sentido fraco/a?				
13. Você tem tido falta de apetite?				
14. Você tem se sentido enjoado/a?				
15. Você tem vomitado?				
16. Você tem tido prisão de ventre?				
17. Você tem tido diarreia?				
18. Você esteve cansado/a?				
19. A dor interferiu em suas atividades diárias?				
20. Você tem tido dificuldade para se concentrar em coisas como ler jornal ou ver televisão?				
21. Você se sentiu nervoso/a?				
22. Você esteve preocupado/a?				
23. Você se sentiu irritado/a facilmente?				
24. Você se sentiu deprimido(a)?				
25. Você tem tido dificuldade para se lembrar das coisas?				
26. A sua condição física ou o tratamento médico tem interferido em sua vida familiar?				
27. A sua condição física ou o tratamento médico tem interferido em suas atividades sociais?				

28. A sua condição física ou o tratamento médico tem lhe trazido dificuldades financeiras?				
--	--	--	--	--

CID: _____ Histopatológico _____
T: ___ N: ___ M: _____ Estadio: ___ Tratamento realizado: Cirurgia () Radioterapia () Quimioterapia () Quimioterápico: _____ Ciclos: _____
Peso: _____ Altura: _____ PAS: _____ PAD: _____ Comorbidades: Hipertensão () Diabetes (). Outros _____
Medicamentos usados: _____
Dados complementares: _____
Nome do entrevistador: _____