



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Marina Nogueira Silveira

**Avaliação do cálcio sérico como fator prognóstico em pacientes com câncer
colorretal**

Evaluation of serum calcium as a prognostic factor in patients with colorectal cancer

CAMPINAS

2018

Marina Nogueira Silveira

Avaliação do cálcio sérico como fator prognóstico em pacientes com câncer colorretal

Evaluation of serum calcium as a prognostic factor in patients with colorectal cancer

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências, na área de Oncologia.

Dissertation presented to the Faculty of Medical Sciences of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, in the area of Oncology.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Barreto Campello Carvalheira
COORIENTADOR: Dra. Maria Carolina Santos Mendes

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA MARINA
NOGUEIRA SILVEIRA, E ORIENTADA
PELO PROF. DR. JOSÉ BARRETO
CAMPELLO CARVALHEIRA.

CAMPINAS

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3775-515>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Si39a Silveira, Marina Nogueira, 1992-
Avaliação do cálcio sérico como fator prognóstico em pacientes com câncer colorretal / Marina Nogueira Silveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: José Barreto Campello Carvalheira.

Coorientador: Maria Carolina Santos Mendes.

Dissertação (mestrado profissional) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Neoplasias colorretais. 2. Análise de sobrevida. 3. Carbonato de cálcio. I. Carvalheira, José Barreto Campello, 1971-. II. Mendes, Maria Carolina Santos, 1983-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of serum calcium as a prognostic factor in patients with colorectal cancer

Palavras-chave em inglês:

Colorectal neoplasms

Survival analysis

Calcium carbonate

Área de concentração: Oncologia

Titulação: Mestra em Ciências

Banca examinadora:

José Barreto Campello Carvalheira [Orientador]

Marcello Ferretti Fanelli

Everton Cazzo

Data de defesa: 25-07-2018

Programa de Pós-Graduação: Assistência ao Paciente Oncológico

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

MARINA NOGUEIRA SILVEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ BARRETO CAMPELLO CARVALHEIRA

COORIENTADOR: DRA. MARIA CAROLINA SANTOS MENDES

MEMBROS:

1. PROF. DR. JOSÉ BARRETO CAMPELLO CARVALHEIRA

2. PROF. DR. MARCELLO FERRETTI FANELLI

3. PROF. DR. EVERTON CAZZO

Programa de Pós-Graduação em Assistência ao Paciente Oncológico da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 25/07/2018

*Dedico aos meus pais Lúcia e
Rubens, meu irmão Filipe e ao
meu querido companheiro
Murilo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me amparar em todos os momentos e por proporcionar todas as oportunidades para realização de meus sonhos.

Agradeço ao meu pai Rubens, por nunca deixar de acreditar nas minhas decisões, por se orgulhar de toda e qualquer conquista que pude compartilhar com ele, que tão breve deixou saudade.

Agradeço minha mãe Lúcia, pilar da minha educação, exemplo de força e bondade.

Ao meu irmão Filipe, prestativo em todos os horários.

Agradeço meu amor Murilo pela imensa paciência e apoio, carinho e auxílio nos momentos mais difíceis durante esse trajeto.

E a todos familiares que participaram dessa jornada, meus tios Regina e José Roberto pelo amparo.

Agradeço imensamente ao Professor José Barreto por me orientar e ensinar durante o mestrado, pela sabedoria e compreensão.

Agradeço a querida Maria Carolina, coorientadora, professora, amiga e anjo em minha vida.

Agradeço a amável colega e amiga Lorena, por todo carinho e apoio, pela grande dedicação para realizarmos o mestrado.

Também à todos colegas e amigos do grupo de pesquisa pelos ensinamentos e carinho em todos os encontros.

Agradeço ao Hospital de Clínicas UNICAMP e todos da Oncologia Clínica do HC, profissionais e pacientes que possibilitaram a realização deste trabalho.

RESUMO

O câncer colorretal (CCR) é o terceiro mais incidente de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), relaciona-se a diferentes fatores ambientais e genéticos. Dentre os fatores ambientais há forte relação do CCR com a dieta, e o consumo de produtos lácteos vem sendo estudado como fator protetor para o surgimento do câncer. A ingestão elevada de cálcio bem como os níveis séricos de cálcio estão associados à menor incidência de CCR. Entretanto, o impacto da calcemia na sobrevida em indivíduos com diagnóstico de CCR é desconhecido. Nesse contexto objetivamos caracterizar a influência dos níveis séricos de cálcio no prognóstico de pacientes com CCR, avaliando a relação do cálcio sérico ao diagnóstico com a sobrevida livre de progressão e sobrevida global de pacientes com CCR, por meio de estudo retrospectivo com pacientes coletados por conveniência acompanhados no ambulatório de oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP). Foram identificados 857 pacientes com diagnóstico de câncer colorretal estágio de I-IV, atendidos entre os anos de 2000 a 2017. Foram considerados os valores de cálcio e albumina no período de até 6 meses do diagnóstico. Para a coleta de dados, foram registradas variáveis sócio demográficas e clínicas. Foi avaliada a associação entre os níveis de cálcio sérico corrigido pela albumina e a mortalidade geral e a mortalidade específica por CCR, ajustadas para variáveis sociodemográficas e de gravidade da doença. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste T-student ou Mann-Whitney para variáveis contínuas, ou teste Qui Quadrado ou Teste Exato de Fisher para variáveis categóricas. O método de Kaplan–Meier foi utilizado para comparar a sobrevida entre os grupos. Para a análise multivariada da relação entre cálcio corrigido e sobrevida global utilizamos o modelo de risco proporcional de Cox. Os testes aplicados foram bicaudais, sendo os valores significativos se $p < 0,05$. As análises foram realizadas no programa estatístico *Stata versão 12.0* (StataCorp LP®). Este estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP (2580016). Após seleção foram identificados 332 pacientes com CCR em estágio de I-IV com cálcio e albumina sérico dentro do período de 6 meses ao diagnóstico. Os níveis de cálcio corrigido superiores a 8,84 mg/dl (segundo e terceiro tercil) foram associados a mortalidade específica por CCR (HR 1,77; intervalo de confiança de 95% [IC], 1,10-2,84; $P_{\text{trend}} = 0,015$ para segundo tercil e HR: 1,97; IC: 95%, 1,28-3,).

para o terceiro tercil, $P_{\text{trend}} = 0.0071$) e mortalidade geral (HR 1,63; IC: 95%, 1,09-2,43 e HR:1,87; IC: 95% 1,28-2,72, $P_{\text{trend}} = 0,0039$). Assim, concluímos que o cálcio corrigido ao diagnóstico foi associado a maior mortalidade específica por CCR e menor sobrevida global. A Compreensão dos aspectos envolvidos na associação entre cálcio corrigido e a mortalidade é essencial para melhorar o prognóstico dos pacientes.

Descritores: Neoplasias Colorretais, Análise de Sobrevida, Carbonato de Cálcio

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the third most incident according to the World Health Organization (WHO), related to different environmental and genetic factors. Among the environmental factors, there is a strong relationship between the CRC and the diet, and the consumption of dairy products has been studied as a factor protector for the onset of cancer. High calcium intake as well as serum calcium levels are associated with a lower incidence of CRC. However, the impact of serum corrected calcium on survival in individuals diagnosed with CRC is unknown. In this context we characterize the influence of serum corrected calcium levels on CRC specific mortality and overall mortality of patients with CRC, evaluating the relation of serum calcium to the diagnosis with progression-free survival and overall survival of patients with CRC, by means of retrospective study, with 857 patients diagnosed with colorectal cancer stage I-IV attended between 2000 and 2017 at Hospital das Clínicas da UNICAMP. Values of calcium and albumin were considered within 6 months of diagnosis. For data collection, socio-demographic and clinical variables were recorded. The association between albumin-corrected serum calcium levels and overall mortality and CRC-specific mortality, adjusted for sociodemographic variables and disease severity, was evaluated. The differences between the groups were assessed by the T-student or Mann-Whitney test for continuous variables, or Chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables. The Kaplan-Meier method was used to compare survival between groups. For the multivariate analysis of the relationship between corrected calcium and CRC-specific and overall survival we used the Cox proportional hazards model, followed by Wald test. All tests were two-tailed, with significant values at $p < 0.05$. The analyzes were performed in the statistical program Stata version 12.0 (StataCorp LP®). This study was approved by the IRB of UNICAMP (2580016). After the selection, 332 patients with CRC in the I-IV stage with calcium and serum albumin were identified within the 6-months period at diagnosis. Corrected calcium levels above 8.83 mg/dL (second and third tertiles) were associated with worse CRC-specific mortality (HR: 1.77; 95% CI: 1.10–2.84 for intermediate calcium levels and HR: 1.97; 95% CI: 1.28–3.05 for high calcium levels, $P_{\text{trend}} = 0.0071$) and overall mortality (HR: 1.63; 95% CI: 1.09–2.43 for intermediate calcium levels and HR: 1.87; 95% CI: 1.28–2.72 for high calcium levels, $P_{\text{trend}} =$

0.0039), after adjusting the model for stage, grade, cancer site, and age at diagnosis. Thus, we concluded that Corrected calcium at diagnosis was associated with higher CRC-specific mortality and lower overall survival. Understanding the aspects involved in the association between corrected calcium and mortality is essential to improve the prognosis of patients.

Descriptors: Colorectal Neoplasms, Survival Analysis, Calcium carbonate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Incidência mundial de câncer em 2012	20
Figura 2. Incidência e mortalidade mundial de câncer, principais tipos tumorais, 2012	21
Figura 3. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto câncer de pele não melanoma*	22
Figura 4. Marcas do Câncer	25
Figura 5. Consumo global de cálcio categorizado	25
Figura 6. Regulação do cálcio sérico	28
Figura 7. Fluxograma da seleção do estudo	38
Figura 8. Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida específica por câncer colorretal (A) e sobrevida global (B) pelos tercis de cálcio corrigido	42
Figura 9. Relação de risco para a associação do cálcio corrigido com mortalidade específica por câncer colorretal (A) e mortalidade global (B) no modelo ajustado <i>Cubic Spline</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Diagnóstico caquexia no câncer	32
Tabela 2. Características selecionadas de acordo com os tercis dos níveis de cálcio corrigido na população de pacientes com câncer colorretal da UNICAMP de 2000 a 2017 (332)	39
Tabela 3. Cálcio corrigido e sobrevida a partir da data do diagnóstico	41
Tabela 4. Análise de sensibilidade, excluindo óbitos precoces	44
Tabela 5. Análise de regressão de Cox multivariada entre os tercis de cálcio corrigido e sobrevida por características selecionadas	46
Tabela 6. Cálcio corrigido e sobrevida	47

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Parecer consubstancial do Comitê de Ética	60
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	American Joint Committee
BRAF	Gene da RAF quinase do tipo B
CACON	Centro de Alta Complexidade
CASR	Receptor de detecção de cálcio
CC	Câncer de Cólon
CCR	Câncer Colorretal
CEP	Comitê de Ética
EUA	Estados Unidos da América
FOSP	Fundação Oncocentro de São Paulo
HC	Hospital de Clínicas
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IMC	Índice da Massa Corporal
INCA	Instituto Nacional de Câncer
MMR	Mismatch Repair
OMS	Organização Mundial da Saúde
PET-CT	Tomográfico por Emissão de Pósitrons/ Tomografia Computadorizada
PTH	Hormônio da Paratireóide
PTHrp	Proteína relacionada do Hormônio da Paratireoide
RAS	Gene Humano
RHC	Registro Hospitalar de Câncer
UICC	International Union for Cancer Control
CaR	Receptor de cálcio
1,25 D	Calcitriol
PTHr	Receptor do Hormônio da Paratireóide
VDR	Receptor de Vitamina D
Ca	Cálcio
TRPV5	Transient Receptor Potential Vanilloid 5
NCX1	Sodium/Calcium exchanger
PMCA1b	Plasma Membrane Ca(2+) ATPase
AMP	Monofosfato de Adenosina Cíclica
RANK	Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa-B

RANKL Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa-B
HHM Hipercalcemia Humoral Maligna
FGF-23 Fator de Crescimento de Fibroblastos 23

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
OBJETIVOS	19
Objetivo geral	19
Objetivos específicos	19
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
Epidemiologia do Câncer	20
Fatores associados à carcinogênese	22
Fatores associados ao CCR	23
Ingestão de cálcio e risco de desenvolvimento de CCR	25
Homeostase do Cálcio	28
Cálcio sérico e o CCR	30
Hipercalcemia na malignidade (HCM)	31
METODOLOGIA	34
Tipo de estudo	34
População e amostra	34
Coleta dos exames bioquímicos	35
Cálcio corrigido	36
Análise de dados	36
Aspectos éticos	37
RESULTADOS	38
Características da amostra	38
Análise Sobrevida	40
Análise de Subgrupos	44
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXOS	59
Anexo 1	59

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde estima mais de 20 milhões de casos de câncer para 2025 sendo esperado que destes 80% atinja países em desenvolvimento. Em 2018 o Instituto Nacional de Câncer pressupôs a ocorrência de 600 mil casos novos de câncer no Brasil e o câncer colorretal (CCR) embora continue a ser o terceiro mais incidente (16,83 casos novos para 100 mil homens e 17,90 casos novos para 100 mil mulheres) apresenta crescente ocorrência (1).

O CCR é relacionado a fatores modificáveis/ambientais, como hábitos alimentares e estilo de vida inadequados, e não modificáveis como histórico familiar, fatores genéticos, presença de doenças inflamatórias intestinais e faixa etária. Dentre os fatores ambientais envolvidos no desfecho dessa doença, a dieta é um dos mais pesquisados atualmente (1, 2). Os fatores dietéticos associados ao risco de CCR abrangem consumo de carnes processadas e carnes vermelhas, e relacionados a proteção o consumo de vegetais, frutas, fibras e produtos lácteos (3).

Apesar dos achados positivos entre consumo de produtos lácteos e suplementação de cálcio com a prevenção do CCR (4-7), não é clara a influência do cálcio sérico, uma vez que, apesar do teor de cálcio da alimentação, sua concentração no sangue é influenciada fortemente pelos níveis de vitamina D e o hormônio da paratireóide (PTH) (8, 9). O cálcio apresenta importante papel no corpo humano, está em quase sua totalidade presente no esqueleto (99%) e o restante está distribuído e ativo em processos celulares. Aproximadamente metade do cálcio circulante está livre, a porção restante está ligada a proteínas (40%) e complexos iônicos (9%) (8).

Fortes evidências correlacionam a ingestão de cálcio com o menor desenvolvimento do câncer colorretal (CCR), porém sua relação ainda não foi descrita de maneira clara. Também há pouco na literatura sobre a influência do cálcio sérico em indivíduos com CCR avançado e seu desfecho durante o tratamento.

Nesse contexto, a melhor caracterização do metabolismo do cálcio nos pacientes portadores de CCR pode facilitar a incorporação dessa dosagem na prática clínica e conseqüente melhor avaliação do prognóstico dos pacientes portadores dessa neoplasia. Frente ao impacto do CCR e sua elevada incidência,

encontrar biomarcadores de seu prognóstico que não gerem custo adicional e que apresentem fácil obtenção e análise são necessários.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a influência do cálcio sérico no prognóstico de pacientes com câncer colorretal, por meio de estudo retrospectivo com os pacientes acompanhados no ambulatório de oncologia do HC-UNICAMP.

Objetivos específicos

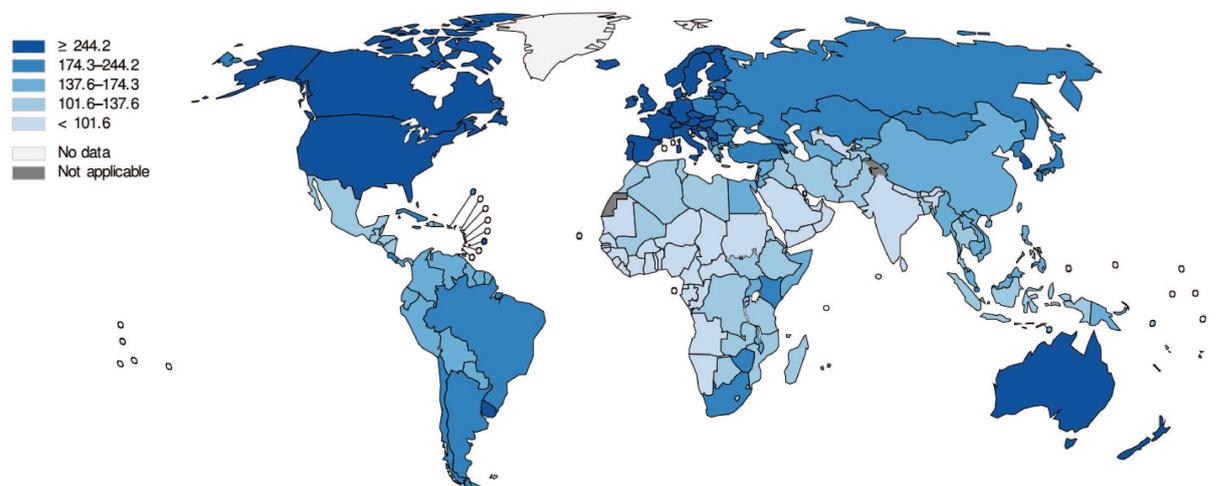
- Analisar a relação do cálcio sérico ao diagnóstico com a sobrevida livre de progressão de pacientes com CCR;
- Analisar a relação do cálcio sérico ao diagnóstico com a sobrevida global de pacientes com CCR;
- Analisar a relação do cálcio sérico com subgrupos estratificados por estágio clínico, sítio tumoral, grau histológico e idade ao diagnóstico.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Epidemiologia do Câncer

Segundo a OMS e dados publicados no *World Cancer Report 2014*, o câncer é uma das principais causas de morte no mundo, estima-se cerca de 14 milhões de casos novos em 2012 e 8,8 milhões de mortes em 2015 (10, 11). Nos Estados Unidos da América (EUA) estimou-se 595.690 óbitos por câncer em 2016 (Figura 1) (12). O câncer colorretal (CCR) é o terceiro mais incidente no mundo e mensurando a ocorrência por gênero para os homens este câncer é o terceiro mais incidente e para as mulheres o segundo (3).

Dados apresentados pelo *Global Burden of Disease Cancer Collaboration* mostram o câncer com a segunda maior mortalidade, posterior apenas as doenças cardiovasculares. O câncer de cólon e reto foi responsável por 832.000 mortes em 2015, sua incidência apresentou um aumento de 37%, de 1,2 milhão para 1,7 milhão, em 10 anos (13).



Data source: GLOBOCAN 2012
 Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr/>)
 © International Agency for Research on Cancer 2018

International Agency for Research on Cancer

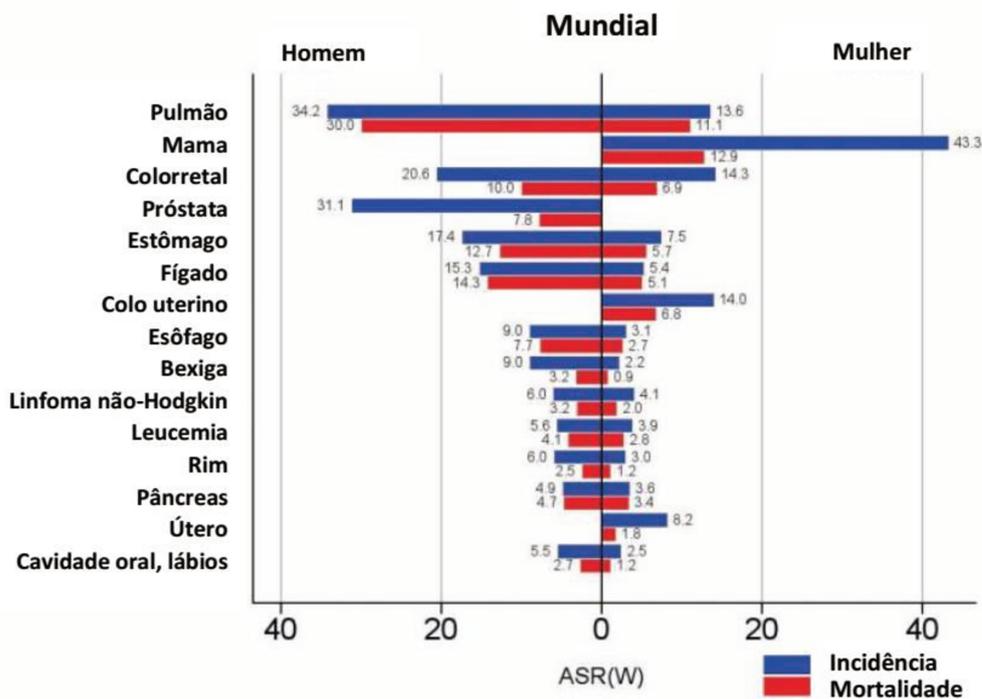


Fonte: GLOBOCAN 2012 (14).

Figura 1. Estimativa da Incidência mundial de câncer.

O câncer colorretal apresenta destaque em relação a crescente incidência e mortalidade, ocupando a terceira posição em ambos os índices. (Figura 2) (3). Analisando sua distribuição de acordo com o Índice de Desenvolvimento Humano os países que sofreram uma transição econômica e social apresentam crescente incidência, países com IDH médio e alto, justificada por diversos fatores mas talvez principalmente pelas melhorias no serviço de saúde referentes ao diagnóstico (15).

Países com IDH alto apresentam dois padrões sobre incidência e mortalidade do CCR. O grupo com a faixa mais elevada, IDH muito alto, vem demonstrando uma queda de ambos os índices, tanto de mortalidade quanto de incidência, já os países com IDH alto apresentam uma diminuição da mortalidade e aumento da incidência (15). Países em desenvolvimento apresentam um prognóstico inferior comparado a países desenvolvidos, pois em geral países com melhores serviços de saúde aumentam as chances de um diagnóstico precoce, refletindo em maior sobrevivência (16).



Fonte: World Cancer Report 2014 (14).

Figura 2. Incidência e mortalidade mundial de câncer, principais tipos tumorais, 2012.

No Brasil, para o ano de 2018, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) pressupõe a ocorrência de 600 mil novos casos de câncer no Brasil, e destes 36.360

casos serão de câncer colorretal (Figura 3). Só no estado de São Paulo são esperados 141.250 novos casos em 2018 e 12.060 novos casos de CCR, sendo o terceiro tipo de câncer mais incidente no estado permanecendo atrás do câncer de próstata (14.890 casos) e câncer de mama feminino (16.340 casos) (1).

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

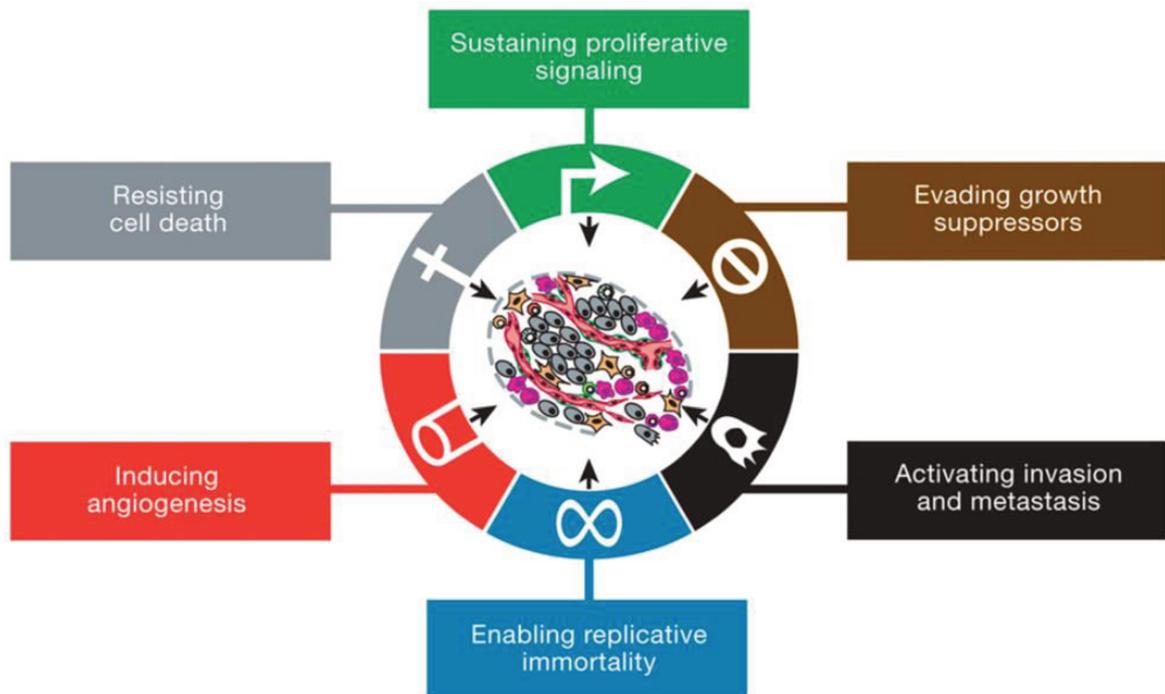
*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: INCA, Incidência de Câncer no Brasil: Estimativa 2018 (1).

Figura 3. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto câncer de pele não melanoma*.

Fatores associados à carcinogênese

O câncer é caracterizado como uma desordem com etiologia abrangente com influências externas, ou por padrões genéticos, que compõem uma rede complexa de mecanismos. Hanahan & Weinberg propuseram as características adquiridas pela célula neoplásica que facilitam o entendimento biológico da carcinogênese (Figura 4). Dentre as capacidades das células tumorais, o controle proliferativo é ponto chave. Ademais, evasão de supressores de crescimento, a morte celular dificultada, a indução de angiogênese, a replicação ilimitada, a capacidade de invasão e metástases, aliados à mutação e instabilidade genômica, à desregulação celular energética, à evasão da destruição imune e à promoção através da inflamação compõem os marcadores da célula tumoral (17).



Fonte: Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation (17).

Figura 4. Marcas do Câncer.

Dentre os principais fatores de risco modificáveis relacionados com o câncer são reconhecidos o tabagismo, o etilismo, o excesso de peso, as infecções, o sedentarismo, os hábitos alimentares, a exposição ocupacional a agentes cancerígenos, os fatores hormonais, a exposição à radiação ultra violeta, a poluentes, drogas, medicações e outros (18).

Fatores associados ao CCR

A carcinogênese do cólon é um processo heterogêneo influenciado por alterações genéticas, responsável por cerca de 15% dos casos, e uma grande variedade de alterações somáticas moleculares, influenciadas pela dieta, fatores ambientais, exposição microbiana e imunidade do hospedeiro (19). A maioria destes agressores está relacionada à inflamação crônica como as doenças inflamatórias

intestinais, a obesidade e fatores dietéticos como a ingestão de carnes vermelhas e processadas (20).

A taxa da carcinogênese é determinada pelo grau de penetrância da mutação genética e pela agressividade do insulto ambiental (21). O CCR polipoide, mais incidente, se inicia com o surgimento de pólipos, normalmente benignos, que sem a ressecção podem evoluir para uma displasia de alto grau e posteriormente um tumor invasivo. O CCR inicial apresenta taxa de cura elevada e mesmo os tumores com comprometimento linfonodal, se tratados com quimioterapia associada a ressecção cirúrgica, mantem uma taxa curativa alta (73%) (22).

Um dos fatores determinantes no desfecho destes pacientes é a velocidade do diagnóstico. Após o diagnóstico realiza-se o estadiamento da doença para chegar ao tratamento mais adequado a cada paciente. O método mais utilizado para estagiar o câncer é o TNM, T para quantificar a extensão do tumor, N para classificar os linfonodos regionais e M para determinar metástases a distância, mantido pelo *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* e a *International Union for Cancer Control (UICC)* (23).

Outro fator determinante para o CCR é a identificação de genes relacionados ao seu desenvolvimento, mutações dMMR (*mismatch repair*) e BRAF foram estabelecidas como influenciadores do prognósticos dos pacientes com CCR (24). O estabelecimento de regimes quimioterápicos mais efetivos para o tratamento do CCR levou a uma intensa pesquisa de marcadores preditivos e prognósticos. Embora pacientes com CCR devam ser submetidos a exames para a análise mutacional do RAS e BRAF p.V600 bem como a pesquisa da presença de defeitos de *mismatch*, a estratificação de grupos de risco baseada em características clínicas permanece mal definida (24). Assim, a identificação de características clínicas ou laboratoriais que estejam associadas com alto risco de progressão do câncer são essenciais para o melhor entendimento da doença.

Fatores Alimentares associados ao CCR

Dentre os fatores associadas a carcinogênese colorretal, o hábito alimentar é um dos mais pesquisados atualmente (1, 2). O CCR associa-se a vários fatores modificáveis, como tabagismo, etilismo e hábitos alimentares (25). O efeito da

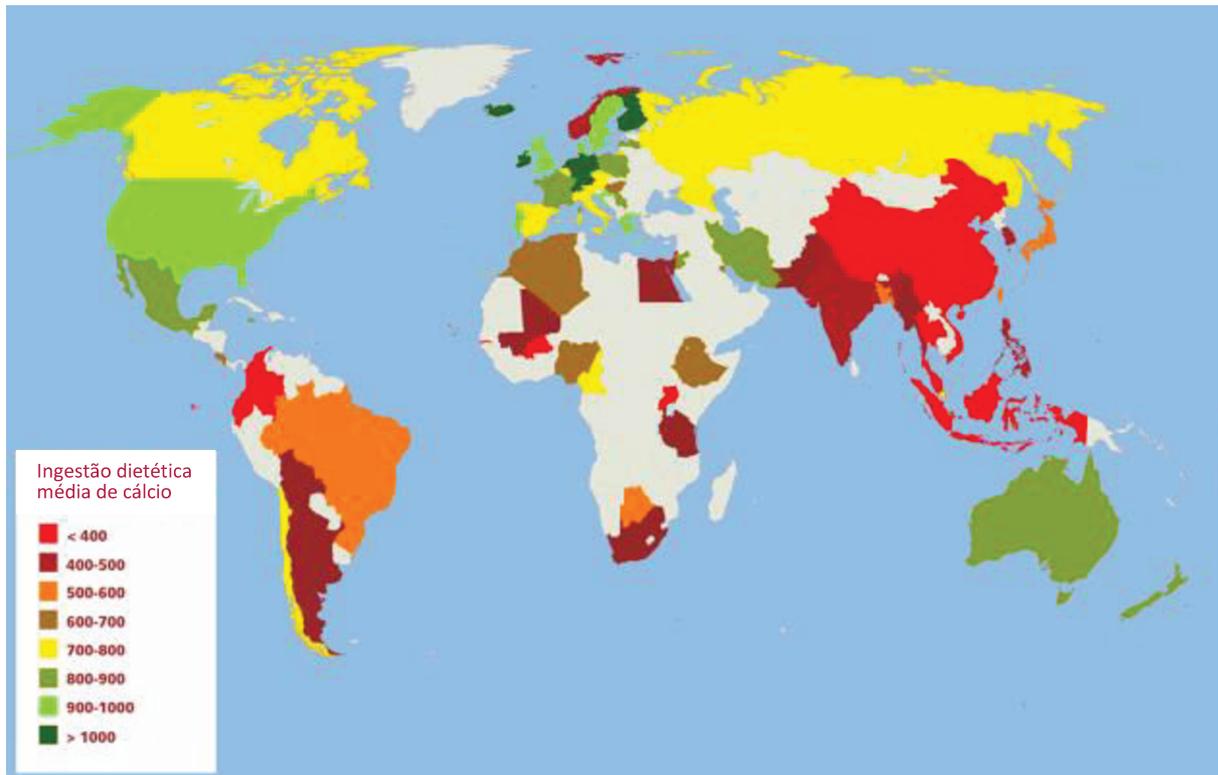
ingestão de gordura com o CCR não está totalmente definido, alguns estudos sugerem um aumento no risco (26, 27), embora este dado não seja consenso na literatura (28, 29). Já o consumo de carne vermelha e carnes processadas estão associadas ao maior risco de desenvolvimento do CCR (30-32).

Em relação ao efeito protetor da dieta, a ingestão de fibras é o componente de maior destaque. Estudo retrospectivo que avaliou a ingestão de fibras a partir de recordatório alimentar em pacientes com CCR identificou associação inversa para mortalidade específica por CCR ($P_{\text{trend}} = 0,004$) (33).

Atualmente, estudos nutricionais com suplementação de cálcio ou análise do consumo de produtos lácteos com o CCR, concluíram que a ingestão ou uso de suplementação de cálcio associou-se com a diminuição do risco de CCR, sugerindo uma ação quimiopreventiva do cálcio (9, 30). Tratando-se de uma patologia com crescente incidência, estudos para prevenção e para direcionamento do tratamento são fundamentais para o cuidado oncológico.

Ingestão de cálcio e risco de desenvolvimento de CCR

A associação do cálcio suplementado ou oriundo da dieta e o câncer colorretal é apresentada por vários estudos retrospectivos e prospectivos (6, 7, 34, 35). Um nutriente com ampla importância, o cálcio em diferentes populações dificilmente é consumido nos níveis recomendados pela OMS, 1000 mg/dia para adultos (36). Uma revisão publicada em 2017 mensurou a ingestão global de cálcio a partir de 78 estudos. O consumo foi categorizado como apresenta a Figura 5, e o Brasil foi classificado dentre os países com baixo consumo, em média 500 a 600mg/dia de cálcio a partir da dieta (37).



Fonte: International Osteoporosis Foundation (37).

Figura 5. Consumo global de cálcio categorizado.

Estudos epidemiológicos sugerem que o aumento da ingestão do cálcio está associado à redução no risco de desenvolvimento de CCR (4-7, 38-40), apesar desse resultado não ser consistente em todos os trabalhos (9, 41). O possível efeito quimiopreventivo do cálcio em relação ao CCR está descrito na literatura de diversas maneiras. Alguns estudos avaliaram a ingestão identificando redução do risco para CCR com doses de cálcio alimentar a partir de 500mg/d, mas com efeito mais claro para o câncer de colón distal, reduções de risco variaram de 28% a 45% (6, 38). Considerando a possível influência da vitamina D neste resultado, um dos estudos mantiveram essa associação como câncer de colón distal apenas em indivíduos com ingestão elevada de vitamina D (6).

Também em uma análise de aproximadamente 293.000 homens e 198.000 mulheres do *National Institutes of Health-American Association of Retired Persons (NIH-AARP)* e *Diet and Health Study* a alta ingestão de cálcio foi associado a

redução de aproximadamente 20% do risco de desenvolver CCR em homens e aproximadamente 30% em mulheres (42). Na população sul-coreana, um estudo caso-controle identificou forte associação de proteção para o consumo de cálcio e o risco de CCR. [Odds ratio(OR): 0,16, Intervalo de confiança de 95% (IC): 0,11-0,24, para os homens e OR: 0,16, IC 95%: 0,09-0,29, para mulheres] (7). Entretanto, resultados divergentes foram encontrados em ensaio clínico, no qual a suplementação diária de 1000 mg de cálcio elementar por 7 anos não foi associada a redução do risco de CCR (9).

Interessante notar que a associação do cálcio com o risco de CCR, parece ser mais forte quando a ingestão é por uso de suplementos e não por fonte alimentar. Esta redução no risco do CCR foi maior nos indivíduos que suplementaram 500mg de cálcio ou mais (4). Dois trabalhos randomizados para avaliação de desenvolvimento de pólipos após a remoção por colonoscopia mostraram que a suplementação de 1200 a 2000 mg de cálcio elementar foi associada com a redução da recorrência de pólipos no *Calcium Polyp Prevention Study* (5) e *European Cancer Prevention Organisation Intervention Study* (43).

O efeito protetivo do cálcio também foi apresentado de maneira linear em uma meta-análise. Foi analisado a ingestão total do cálcio e o CCR, o consumo a partir de 300mg/dia, considerado uma dose baixa a moderada, alcançou uma associação dose-resposta de 8% na diminuição do risco de CCR, mais consistente no câncer de colón, comparando ao câncer de reto isoladamente (34).

Um estudo prospectivo utilizando uma amostra extensa levantou a hipótese da influência da expressão do receptor de detecção de cálcio (CASR) com a redução do CCR. O alto consumo de cálcio, interessantemente, relacionou-se com a diminuição de CCR mas apenas para tumores positivos para CASR. Esta proteína é encontrada de maneira abundante no epitélio intestinal de indivíduos saudáveis mas reduzida em células tumorais. Os mecanismos envolvidos nessa alteração do epitélio não são totalmente determinados, contudo a redução dos CASR não acontece de imediato à carcinogênese intestinal, mas de modo mais claro no CCR avançado e pouco diferenciado (44).

Outra meta-análise avaliou 19 estudos (24 publicações) para identificar associação de dose-efeito da ingestão de cálcio com o risco do CCR e encontrou associação protetiva comparando ingestão elevada versus baixa ingestão de cálcio,

a partir de produtos lácteos e leite. Após estratificação por sitio tumoral apenas o câncer de cólon se manteve significativo no estudo. Em relação dose-resposta novamente não foi encontrada associação com o câncer de reto isoladamente, porém com o câncer de cólon houve associação inversa com o aumento de 400mg/dia de cálcio (RR: 0,84). Assim como na maioria dos estudos presentes na literatura o alto consumo de laticínios relacionou-se com a diminuição do risco do CCR (45).

Zhang e colaboradores, a partir da análise de dados obtidos após 32 anos de seguimento de duas grandes coortes (*Nurses Health Study* e *Healthcares Follow-up Study*) também identificaram redução significativa para o câncer de colón, esta associação foi evidente especialmente no câncer de colón distal. O resultado sugere um efeito quimiopreventivo do cálcio no câncer de colón, efeito identificado principalmente em uma ingestão elevada (>1200mg/dia) por pelo menos 10 anos antes do diagnóstico (35).

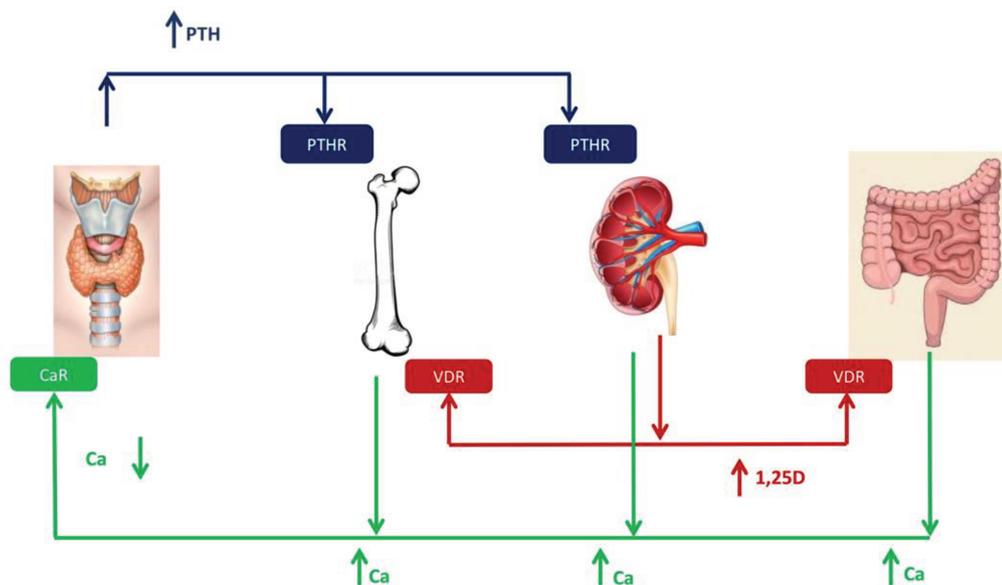
Postula-se que o cálcio possa atuar prevenindo o CCR por mecanismos indiretos ou diretos. Indiretamente, o cálcio pode se ligar a ácidos graxos livres e ácidos biliares na luz intestinal, neutralizando estes, e impedindo o efeito tóxico destes metabólitos nas células epiteliais intestinais (46). Por outro lado, estudos experimentais demonstraram que o cálcio extracelular pode agir como sinalizador celular, ativando a proliferação e diferenciação celular, pela desregulação da via APC/WNT/CTNNB1(α -catenin), ou suprimindo a ativação transcricional da CTNNB1, ambas associadas ao desenvolvimento CCR (22, 47-51).

Por outro lado, um trabalho recente que avaliou a suplementação de cálcio e vitamina D durante 8 anos identificou um efeito adverso relacionado ao consumo do suplemento, pacientes que receberam a suplementação apresentaram aumento de pólipos serrilhados sésseis (52). Apesar das evidências epidemiológicas que a ingestão de cálcio está relacionada ao menor risco de desenvolvimento do CCR vários aspectos desta associação ainda necessitam de maior esclarecimento.

Homeostase do Cálcio

O cálcio apresenta papel fundamental em diversas funções, como vias de sinalização e contratilidade muscular. Em quase sua totalidade está presente no

esqueleto (99%), e o restante está distribuído e ativo em processos sinalização, transmissão de impulsos e contração muscular. Aproximadamente metade do cálcio circulante está livre, a porção restante está ligada a proteínas (40%) e complexos iônicos (9%) (8).



Fonte: Adaptado de Peacock, 2010 (8).

Figura 6. Regulação do cálcio sérico. As setas em azul indicam a produção de hormônio pela glândula paratireoide (PTH) e a ativação de seus receptores (PTHR) renais e ósseos. Em vermelho os alvos da vitamina D (1,25D) e ativação dos receptores de vitaminas D (VDR) e as setas em verde mostram o aumento do cálcio plasmático levando a ativação do Receptor de cálcio (CaR), controlando a homeostase.

Suas vias de absorção e regulação envolvem diversos mecanismos, o intestino delgado e cólon são os responsáveis pela absorção deste nutriente, em cada porção do intestino essa absorção ocorre de maneira e velocidade diferente. Outro fator importante para determinar a absorção é a idade, com o aumento da idade esta absorção diminui o que justifica o frequente uso de suplementação. No entanto, é conhecido que o principal controlador do cálcio sérico é o Hormônio da Paratireoide (PTH). Se os níveis sanguíneos de cálcio estão reduzidos o PTH

estimula a transferência de cálcio dos ossos para a corrente sanguínea e também a reabsorção renal, além de estimular o aumento de produção de vitamina D renal para aumentar a absorção intestinal do mineral, mantendo este ciclo equilibrado por mecanismo de *feedback* (Figura 6) (53). Dentre os hormônios e fatores controladores do cálcio plasmático estão o PTH, vitamina D, calcitonina, estrogênio e fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) (54).

A ação do PTH na homeostase do cálcio sérico acontece em três pontos, primeiro ligando-se aos osteoclastos que aumentarão a reabsorção óssea. A segunda atuação do PTH ocorre na reabsorção, a partir da ativação da *adenylyl cyclase* provocando o aumento do monofosfato de adenosina cíclica (AMP), estimulando a proteína quinase A, que irá fosforilar o *transient receptor potential vanilloid 5* (TRPV5), aumentando o cálcio transcelular. O hormônio também aumenta a expressão de TRPV5, calbindin-D28k, NCX1 e PMCA1b, que aumentarão a reabsorção renal de cálcio. Por fim, o PTH agirá na absorção intestinal com a produção de vitamina D, que aumentará a absorção (54).

O 1,25-di-hidroxicolecalciferol D [1,25(OH)₂ D], responsável pelo controle de absorção intestinal de cálcio é secretado pelo rins após estímulo do PTH. Normalmente, o cálcio da dieta é absorvido em 30% de sua totalidade. Variações na absorção do cálcio luminal podem ocorrer por influência de fatores antinutricionais, nutrientes competidores, agentes que se ligam ao cálcio, como fosfato, oxalato e celulose, ou alterações nos níveis de 1,25(OH)₂ D como superdosagens ou insuficiência do mesmo (8).

Cálcio sérico e o CCR

Apesar dos achados positivos entre consumo de cálcio e a prevenção do CCR, não é clara a influência do cálcio sérico no desenvolvimento do câncer, uma vez que, além da ingestão alimentar de cálcio, a sua concentração sérica é fortemente influenciada pelos níveis de vitamina D e pelo PTH (8, 9). Em oposição a maioria dos estudos epidemiológicos, *Wulaningsih et al.* identificaram redução discreta no risco de desenvolvimento de CCR associado a níveis inferiores de cálcio sérico [HR: 1.07 (95% CI: 1.00 – 1.14)] (55).

De maneira interessante, no paciente oncológico, o cálcio sérico tem sido associado com o pior prognóstico de algumas neoplasias, como por exemplo no câncer de ovário, onde os níveis de cálcio estavam relacionados tanto com a incidência como com a sobrevida das pacientes (56).

O aumento sérico de cálcio, ultrapassando os níveis de normalidade, relaciona-se ao pior prognóstico de pacientes oncológicos, quando ocorre hipercalcemia associada à malignidade (HCM). Hipercalcemia é definida pela elevação do cálcio sanguíneo chegando a valores superiores à 10,5 mg/dL (57), e pode associar-se não apenas a malignidade como também ao hiperparatireoidismo primário (58).

A hipercalcemia maligna apresenta-se mais comumente em tumores malignos de pulmão, mama, cabeça e pescoço e mieloma múltiplo. Entretanto, no CCR este evento raramente é observado. Uma análise entre 2009 e 2013 demonstrou que a prevalência de hipercalcemia no CCR não foi superior a 2%, mesmo estratificando os valores de hipercalcemia em quartis. A prevalência de cálcio sérico acima de 13,5 mg/dL (quartil mais elevado), foi 0,0% em 2009, 2011, 2012 e 2013, e em 2010 foi encontrado valor de 0,1% (59).

De modo retrospectivo, *Hamilton et al.*, analisaram 54267 pacientes do grupo *DISCOVERY* para determinação de indivíduos com hipercalcemia prévia ao diagnóstico de câncer. Os níveis acima da taxa máxima de cálcio sérico se associaram com a ocorrência de diferentes tipos tumorais (pulmão, próstata, colorretal, mama e tumores hematológicos), principalmente em homens (60). Dentre as características clínicas, no que se refere aos exames laboratoriais, o cálcio sérico é um fator de risco estabelecido para alguns tipos de câncer como o renal, mas seu valor prognóstico para o CCR é desconhecido (61).

Hipercalcemia na malignidade (HCM)

Alguns autores apontam a HCM como sendo hipercalcemia em qualquer paciente oncológico, mesmo que esta definição muitas vezes esteja associadas a outro fatores (59). A HCM pode ser apresentada por três mecanismos, a produção tumoral de peptídeo relacionado ao PTH (PTHrp), metástases osteolíticas e secreção tumoral de calcitriol (62). O surgimento da hipercalcemia maligna está associado ao aumento dos níveis séricos de (PTHrp), secretado pelas células

tumorais, este hormônio exerce função de sinalização para reabsorção óssea e renal de cálcio, resultando no aumento dos níveis séricos de cálcio (63).

Vale destacar que os níveis séricos de PTHrp estão associados ao volume tumoral (64), entretanto pacientes com HCM apresentam pior prognóstico quando comparados a pacientes com tumores em estágios semelhantes (65). Achados também sugerem que o PTHrp relaciona-se com a presença de metástases ósseas, assim com a progressão da doença (66). A fisiopatologia apresentada pela HCM é relacionada ao PTHrp, como já foi abordado, mas os mecanismos envolvidos ainda não estão bem definidos. As definições apresentadas para este evento seriam: primeiro, a HCM ocorre por alterações na homeostase do cálcio por influência do PTHrp secretado pelo tumor; segundo, a HCM com a presença de metástases osteolíticas extensas (67).

A hipercalcemia induzida pelo PTHrp, também chamada de hipercalcemia humoral maligna (HHM), ocorre normalmente em pacientes com doença avançada, e está associada ao pior prognóstico do paciente. É possível diferenciar os pacientes com hipercalcemia e HHM dosando o PTHrp sérico que estará elevado, os níveis de PTH aparecem baixos e os níveis de vitamina D normais ou baixos. A diferenciação destas síndromes é importante para entendimento dos pacientes que apresentam resposta ao tratamento quimioterápico e se beneficiam com terapias com bisfosfonatos (62).

Na HHM, o PTHrp irá influenciar o *Receptor ativador do Fator Nuclear kappa-B* (RANK), que age como ligante (RANKL) no tecido ósseo. Na superfície dos osteoclastos, o RANKL se ligará a precursores que contribuem para a HCM. O complexo RANKL/RANK atua influenciando a migração e diferenciação das células osteoclásticas ocasionando o processo de reabsorção óssea de cálcio (62).

Dentre as complicações influenciadas pelo PTHrp, estudos apontam para caquexia no câncer (63, 68). *Fearon et al* , definiu a caquexia no câncer como uma síndrome multifatorial que ocasiona perda de musculatura esquelética progressiva (com ou sem perda de massa gorda) e perda de funcionalidade, e que não apresenta resposta total a terapias nutricionais convencionais. O critérios utilizados para definição estão apresentados na Tabela 1, frequentemente também há redução na ingestão alimentar e inflamação sistêmica (69).

Tabela 1. Diagnóstico caquexia no câncer.

Critérios para diagnóstico da caquexia no câncer		
Perda ponderal > 5%, em 6 meses (na ausência de inanição);	Perda ponderal > 2% com Índice de Massa Corporal (IMC) < 20kg/m ² ;	Sarcopenia e perda ponderal > 2%.

Fonte: Adaptado de *Fearon et al.* (69).

Estudo experimental identificou a associação dos níveis de PTHrp e a produção de citocinas pró-inflamatórias à caquexia. Após aplicação de anticorpo contra o PTHrp houve melhora significativa dos sinais clínicos da caquexia (67). Assim pode-se inferir que a presença de HCM está relacionada à pior sobrevida dos pacientes oncológicos, por ação direta dos níveis de cálcio ou pela ação do PTHrp.

Já foi demonstrado que pacientes com hipercalcemia e níveis normais de PTH (40 pacientes) apresentaram sobrevida significativamente inferior comparados aos que apresentavam HCM por hiperparatireoidismo (7 pacientes), 33 dias versus 817 dias respectivamente, $p=0,007$ (70). Desta forma, a distinção da hipercalcemia relacionada ou não à malignidade é necessária para um manejo adequado de cada paciente e melhor predição do prognóstico.

Tomando em conjunto esses dados pode-se sugerir que o metabolismo do cálcio esteja associado ao prognóstico dos pacientes portadores de CCR e não há evidências na literatura sobre essa associação.

METODOLOGIA

Tipo de estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo e analítico sobre a influência do cálcio sérico no prognóstico de pacientes com câncer colorretal. O estudo é unicêntrico, realizado no Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP). O HC-UNICAMP funciona como Centro de Alta Complexidade (CACON) de Campinas e região. Os dados foram coletados em prontuário médico de pacientes atendidos no ambulatório de oncologia do HC-UNICAMP, no período de Janeiro de 2000 a 2017.

População e amostra

A amostra conta com 857 pacientes, coletados por conveniência, diagnosticados com câncer colorretal estágio I-IV submetidos a tratamento ambulatorial no HC-UNICAMP, oriundos do Registro Hospitalar de Câncer (RHC) sobre a plataforma Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP) e também pacientes submetidos ao exames Tomográfico por Emissão de Pósitrons/ Tomografia Computadorizada (PET-CT) no HC-UNICAMP.

Crítérios de Inclusão

- Confirmação mediante biópsia de carcinoma colorretal;
- Estágio tumoral I a IV, segundo a classificação American Joint Committee on Cancer (AJCC) cancer staging manual (23);
- Disponibilidade de exames bioquímicos e informações em prontuário médico referentes à idade, data do diagnóstico, topografia, tipo histológico e estadiamento do tumor;
- Exames bioquímicos dentro de seis meses do diagnóstico;
- Acesso a última data de seguimento ou data do óbito.

Crítérios de exclusão

- Presença de câncer primário em outro sítio;
- Dados do cálcio e albumina sérica faltantes;
- Tempo de seguimento inferior a 12 meses;

Variáveis

As variáveis utilizadas foram obtidas por meio de pesquisa em registros clínicos em prontuário e permanecerão registradas em formulário específico por meio da ferramenta eletrônica de coleta de dados – RedCap (71), oferecida pela Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

- Variáveis sócio demográficas: idade, sexo e etnia;
- Variáveis clínicas coletadas, abaixo descritas:
 - Peso (kg), Altura (cm) e Índice de Massa Corporal (Kg/m^2) no diagnóstico;
 - Data do diagnóstico;
 - Exames Laboratoriais (Cálcio, Albumina);
 - Topografia do tumor (Reto baixo, Reto médio, Reto alto, Sigmoides, Cólon descendente, Cólon transverso, Cólon ascendente e Ceco);
 - Estádio clínico e patológico de acordo com *American Joint Committee on Cancer (AJCC) cancer staging manual 7th edition (Tumor, Node, and Metastases – TNM)*;
 - Diferenciação do tumor (Grau I, Grau II e Grau III);
 - Óbito e data;
 - Última data do seguimento;

Coleta dos exames bioquímicos

Para obtenção dos valores de Cálcio sérico e Albumina sérica foi necessário a busca dos exames laboratoriais usando o Portal de Sistemas online do Hospital de Clínicas HC-UNICAMP. Onde com o número de registro do paciente foi possível visualizar o históricos de exames bioquímicos.

O critério para utilização dos exames foi de seis meses a data do diagnóstico exames coletados antes do início do tratamento quimioterápico nos pacientes metastáticos e antes da cirurgia nos pacientes com CCR inicial.

Cálcio corrigido

As referências de normalidade comumente utilizadas para o Ca sérico variam de 8,8 a 10,4 mg/dL¹⁷ (8). Para a realização das análises com o Cálcio antes foi empregada sua correção com os valores de Albumina sérica. Essa medida é necessária e empregada para que os valores encontrados sejam o mais próximo do Cálcio ionizado livre (8, 72).

- Formula de correção:

$$\text{Cálcio corrigido} = \text{Cálcio sérico} + [(4,0 - \text{albumina sérica}) \times 0,8] \text{ (73).}$$

Análise de dados

As análises do estudo foram realizadas comparando grupos com diferentes valores de cálcio sérico divididos em tercis. As diferenças entre os grupos foram analisadas usando teste Qui quadrado e teste de Kruskal-Wallis. As associações de cálcio sérico corrigido e CCR foram analisadas com Regressão de riscos proporcionais de Cox, ajustada por variáveis de importância clínica. A variáveis com $p < 0,02$, relacionadas a morte específica por CCR foram incluídas na análise multivariada.

Também foram realizadas análises de sensibilidade para reduzir chances de causabilidade inversa, excluindo paciente com óbito de 3 a 6 meses após o diagnóstico. O método de Kaplan–Meier foi utilizado para comparar a sobrevida entre os grupos e o teste de log-rank para definir se existem diferenças significativas

entre as curvas. Para a análise multivariada da relação entre cálcio corrigido e sobrevida global, será utilizado o modelo de risco proporcional de Cox.

A análise *Cubic spline* foi usada para as associações não lineares entre cálcio corrigido e sobrevida global ou específica por CCR. As variáveis clínicas foram estratificadas para análise e as interações foram testadas com o teste Wald. Os testes aplicados foram bicaudais, com valores de $p < 0,05$ considerados significativos. As análises foram realizadas no programa estatístico *Stata versão 12.0* (StataCorp LP®).

Aspectos éticos

O presente estudo foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP, de acordo com a Resolução CNS n.º 466/12. Com o número 2580016. O parecer substancial consta em anexo.

RESULTADOS

Após a seleção de 857 pacientes com CCR inicialmente, foram incluídos 332 pacientes com CCR estágio I-IV no estudo (Figura 7), destes 180 foram a óbito e 138 óbitos foram relacionados ao CCR. O tempo médio de seguimento foi de 2,9 anos (IQR 1,4-5,2 anos).

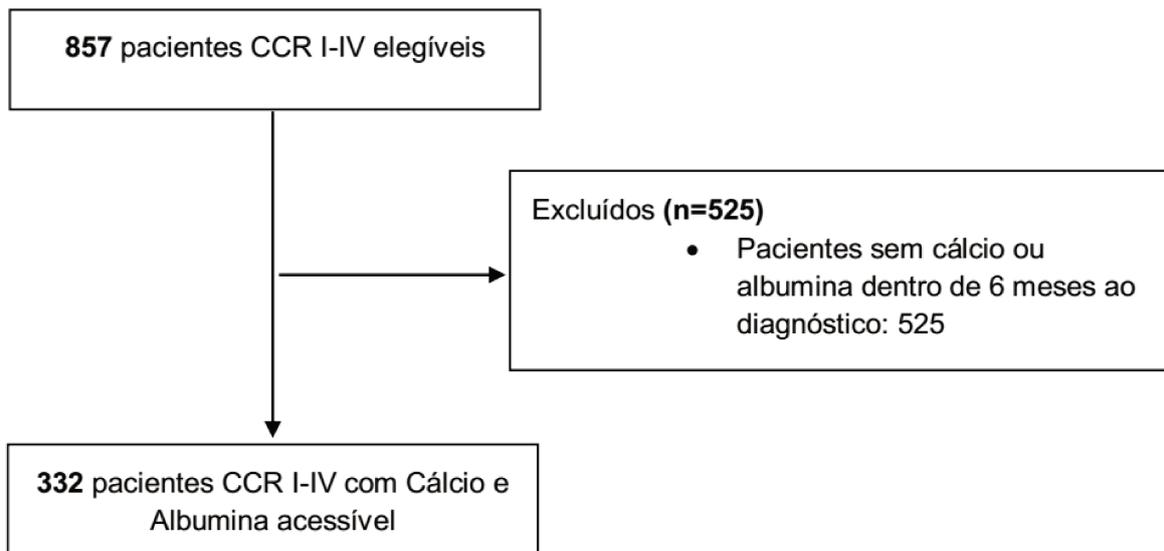


Figura 7. Fluxograma da seleção do estudo.

Características da amostra

As características iniciais da amostra estão apresentadas na Tabela 2. Os pacientes que apresentaram o cálcio no 3º tercil, grupo mais elevado, eram em sua maioria mulheres (59,3%). Já os pacientes no menor tercil compunham-se na maioria de homens (58,2%), em estágio inicial da doença (38,2%). As demais variáveis analisadas apresentaram semelhantes nos diferentes tercis de Cálcio sérico corrigido.

Tabela 2. Características selecionadas de acordo com os tercis dos níveis de cálcio corrigido na população de pacientes com câncer colorretal da UNICAMP de 2000 a 2017 (332).

	Cálcio Corrigido (mg/dL)			Total	P
	Baixo (6.50-8.83)	Intermediário (8.84-9.29)	Alto (9.30-14.24)		
N	110	109	113	332	
Mediana de cálcio corrigido	8.5	9.0	9.6	9.1	<0.001
Idade mediana ao diagnóstico (anos)	60	62	60	60	0.345
Sexo (%)					0.009
Feminino	41.8	41.3	59.3	47.6	
Raça/etnia (%)					0.149
Branco	75.6	87.2	78.8	80.4	
Afrodescendente	2.7	0.9	5.3	3.0	
Oriental	1.8	0.9	0.0	0.9	
Outros	20.0	11.0	15.9	15.6	
IMC ^a (%), kg/m ²					0.619
<18.5	6.4	7.3	7.1	6.9	
18.5≤25	54.5	50.5	59.3	54.8	
25≤30	24.5	22.0	23.0	23.2	
≥30	14.6	20.2	10.6	15.1	
Estadiamento (%)					0.013
I	11.8	7.3	9.7	9.6	
II	26.4	23.9	11.5	20.5	
III	27.3	27.5	21.2	25.3	
IV	34.5	41.3	57.5	44.6	
Grau de diferenciação (%)					0.836
Alto	10.1	9.6	11.7	10.5	
Moderado	84.2	86.5	82.0	84.9	
Baixo	3.7	3.9	6.3	4.6	
Sítio do tumor primário (%)					0.112
Colon	41.8	36.7	50.4	43.1	
Reto	58.2	63.3	49.6	56.9	

Todos os valores foram coletados no momento da triagem do paciente

Abreviaturas: IMC, índice de massa corporal.

^aIMC foi calculado com o peso (kg) /altura (m)²

Análise Sobrevida

A regressão de Cox não ajustada demonstrou que os níveis elevados e intermediários (Tabela 3) de cálcio corrigido associam-se a diminuição da sobrevida específica por CCR (HR: 2,64; IC 95%: 1,71 – 4,05, $P_{\text{trend}} < 0,0001$) e sobrevida geral (HR: 2,28; IC 95%: 1,57 – 3,30, $P_{\text{trend}} = 0,0001$).

Após ajustado por estágio, grau de diferenciação, sitio tumoral, idade no diagnóstico, o modelo de Cox manteve as associações, com a diminuição da sobrevida específica por CCR (HR: 1,77; IC 95%: 1,10-2,84 para os níveis intermediários e HR: 1,97; IC 95%: 1,28-3,05 para os níveis elevados, $P_{\text{trend}} = 0,0071$) e sobrevida geral (HR: 1,63; IC 95%: 1,09-2,43 para os níveis moderados e HR: 1,87; IC 95%: 1,28-2,72 para os níveis elevados, $P_{\text{trend}} = 0,0039$).

Tabela 3. Cálcio corrigido e sobrevida a partir da data do diagnóstico.

	Cálcio Corrigido [HR (95% IC)]			<i>P</i>
	Baixo (6.50-8.83)	Intermediário (8.84-9.29)	Alto (9.30-14.24)	
Mortalidade específica por Câncer Colorretal				
# Eventos / risco	32/110	42/109	64/113	
Não ajustada	Referência	1.60 (1.01-2.52)	2.64 (1.71-4.05)	<0.0001
Ajustada ^a	Referência	1.77 (1.10-2.84)	1.97 (1.28-3.05)	0.0071
Mortalidade global				
# Eventos / risco	45/110	58/109	77/113	
Não ajustada	Referência	1.48(1.00-2.18)	2.28 (1.57-3.30)	0.0001
Ajustada ^a	Referência	1.63 (1.09-2.43)	1.87 (1.28-2.72)	0.0039

Abreviaturas: IC, intervalo de confiança; HR, Hazard ratio.

^aModelo de Cox ajustado por estágio (I-III versus IV), grau de diferenciação (moderado ou baixo versus alto), sítio tumoral (colon versus reto) e idade no diagnóstico (contínua).

As curvas de *Kaplan-Meier* apresentam a diferença entre os tercís de cálcio corrigido com a sobrevida global e sobrevida específica por CCR (Figura 8).

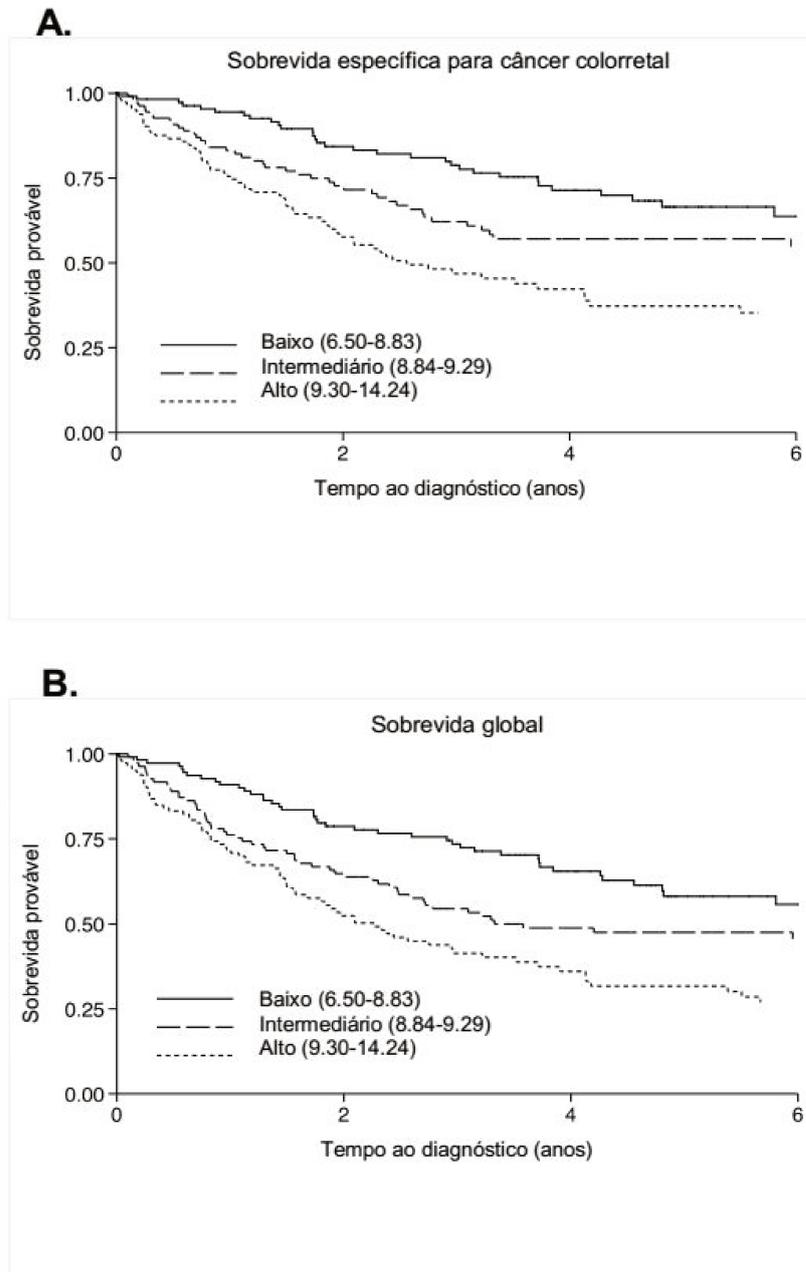


Figura 8. Curvas de *Kaplan-Meier* para sobrevida específica por câncer colorretal (A) e sobrevida global (B) pelos tercís de cálcio corrigido.

De modo complementar foi realizada uma análise utilizando a data do cálcio para calcular o tempo de sobrevivência e resultados semelhantes foram obtidos. As relações de cálcio corrigido e risco não foram lineares, assim foram empregadas as variáveis nos gráficos *Cubic Spline* (Figura 9).

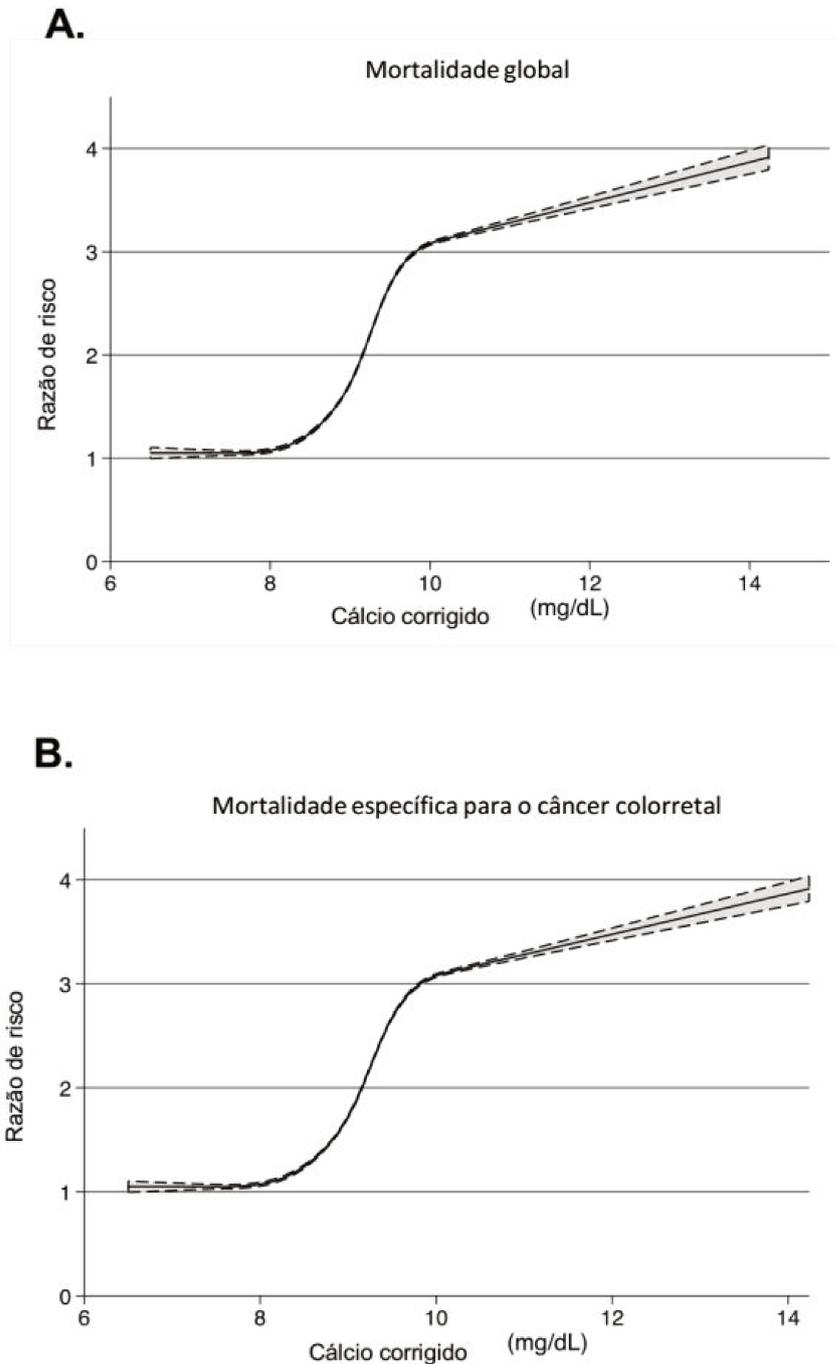


Figura 9. Relação de risco para a associação do cálcio corrigido com mortalidade específica por câncer colorretal (A) e mortalidade global (B) no modelo ajustado *Cubic Spline*.

Analizamos a possibilidade de variação da causalidade com análise de sensibilidade. Após exclusão de 17 pacientes com morte em período inferior a 3 meses as análises mantiveram-se estatisticamente significantes para mortalidade geral e específica por CCR (Ptrend = 0,0221 e 0,0116, respectivamente). Do mesmo modo quando removidos os pacientes com morte inferior a 6 meses (34 pacientes) e os resultados foram mantidos (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de sensibilidade excluindo óbitos precoces.

Análise com exclusão de pacientes com óbitos inferior a 3 meses		Análise com exclusão de pacientes com óbitos inferior a 6 meses	
Mortalidade específica por câncer colorretal			
Não ajustada p = 0,0006	Ajustada p = 0,0221	Não ajustada p = 0,0014	Não ajustada p = 0,0532
Mortalidade Geral			
Não ajustada p = 0,0007	Ajustada p = 0,0116	Não ajustada p = 0,0037	Não ajustada p = 0,0445

Análise de Subgrupos

Nos subgrupos o cálcio corrigido não interagiu com as variáveis avaliadas (estágio, sítio tumoral grau histológico e idade ao diagnóstico). A Tabela 5 mostra relações dos níveis de cálcio com mortalidade e mortalidade por CCR em diferentes grupos de Cálcio, com as características da amostra, as análises foram ajustadas pela idade ao diagnóstico, sítio tumoral, diferenciação tumoral e estágio clínico.

Pacientes com cálcio corrigido no níveis intermediário e elevado no estágios clínicos iniciais ou mesmo avançados da doença apresentaram significância estatística para mortalidade específica para CCR, assim como no sítio tumoral, cólon ou reto. Também, pacientes com idade avançado ou jovem e as mulheres com níveis elevados de cálcio apresentaram maior risco para mortalidade específica por CCR, na regressão de Cox multivariada. Em relação a mortalidade global, a regressão de Cox manteve significância para estágio e sítio tumoral, também para o sexo feminino e para idade avançada (> 60 anos).

Para confirmação dos resultados foi realizada a análise com a data de coleta do cálcio (Tabela 6), para descartar possíveis efeitos em relação a variação da data de coleta dos exames. A regressão apresentou significância para mortalidade específica por CCR (HR: 1,81; IC 95%: 1,12-2,92 para os níveis intermediários e HR: 2,06; IC 95%: 1,32-3,20 para os níveis elevados, Ptrend = 0,0043) e mortalidade global (HR: 1,64; IC 95%: 1,10-2,45 para os níveis intermediários e HR: 1,93; IC 95%: 1,32-2,82 para os níveis elevados, Ptrend = 0,0026), mesmo após ajustes pela idade ao diagnóstico, sítio tumoral, diferenciação tumoral e estágio clínico.

Tabela 5. Análise de regressão de Cox multivariada entre os tercís de cálcio corrigido e sobrevida por características selecionadas.

	# eventos	Cálcio Corrigido [HR (95% IC)]			P
		Baixo (6.50-8.83)	Intermediário (8.84-9.29)	Alto (9.30-14.24)	
Mortalidade específica por Câncer Colorretal					
Estágio I-III (N = 184)	34	Referência	1.05 (0.42-2.61)	2.90 (1.29-6.48)	0.011
Estágio IV (N = 148)	104	Referência	2.17 (1.22-3.86)	1.71 (1.02-2.87)	0.025
Colon (N = 143)	72	Referência	3.10 (1.54-6.24)	1.87 (1.03-3.41)	0.006
Reto (N = 189)	66	Referência	1.20 (0.63- 2.29)	2.45 (1.29- 4.65)	0.009
Idade <60 anos (N = 164)	69	Referência	1.60 (0.80-3.20)	2.20 (1.18-4.09)	0.047
Idade ≥60 anos (N = 168)	69	Referência	1.97 (1.02-3.78)	1.82 (0.96-3.44)	0.092
Homem (N = 174)	73	Referência	1.18 (0.61-2.28)	1.45 (0.80-2.63)	0.477
Mulher (N = 158)	65	Referência	3.19 (1.45-6.99)	3.06 (1.50-6.26)	0.005
Mortalidade global					
Estágio I-III (N = 184)	69	Referência	1.23 (0.67-2.25)	2.21 (1.24-3.96)	0.019
Estágio IV (N = 148)	111	Referência	2.11 (1.20-3.68)	1.69 (1.03-2.77)	0.025
Colon (N = 143)	90	Referência	2.93 (1.58-5.45)	1.93 (1.11-3.67)	0.003
Reto (N = 189)	90	Referência	1.05 (0.61-1.80)	2.04 (1.20-3.35)	0.010
Idade <60 anos (N = 164)	84	Referência	1.37 (0.75-2.48)	1.91 (1.11-3.30)	0.065
Idade >60 anos (N = 168)	96	Referência	1.99 (1.15-3.45)	1.99 (1.16-3.41)	0.021
Homem (N = 174)	97	Referência	1.51 (0.94-2.43)	2.11 (1.29-3.45)	0.232
Mulher (N = 158)	83	Referência	2.15 (1.12-4.14)	2.31 (1.28-4.14)	0.016

Abreviaturas: IC, intervalo de confiança; HR, Hazard ratio.

^aModelo de Cox ajustado por estágio (I-III versus IV), grau de diferenciação (moderado ou baixo versus alto), sitio tumoral (colon versus reto) e idade no diagnóstico (contínua).

Tabela 6. Cálcio corrigido e sobrevida

	Cálcio Corrigido [HR (95% CI)]			<i>P</i>
	Baixo (6.50-8.83)	Intermediário (8.84-9.29)	Alto (9.30-14.24)	
Mortalidade específica por Câncer Colorretal				
# Eventos / risco	32/110	42/109	64/113	
Não ajustada	Referência	1.62 (1.02-2.57)	2.74 (1.78-4.23)	<0.0001
Ajustada ^a	Referência	1.81 (1.12-2.92)	2.06 (1.32-3.20)	0.0043
Mortalidade global				
# Eventos / risco	45/110	58/109	77/113	
Não ajustada	Referência	1.48(1.00-2.20)	2.34 (1.61-3.40)	<0.0001
Ajustada ^a	Referência	1.64 (1.10-2.45)	1.93 (1.32-2.82)	0.0026

Abreviaturas: IC, intervalo de confiança; HR, Hazard ratio.

^a Modelo de Cox ajustado por estágio (I-III versus IV), grau de diferenciação (moderado ou baixo versus alto), sitio tumoral (colon versus reto) e idade no diagnóstico (contínua).

DISCUSSÃO

Trata-se do primeiro estudo de nosso conhecimento que avaliou a associação do CCR com os níveis séricos de cálcio. Foi identificada a diminuição da sobrevida global e específica por CCR nos pacientes com valores de cálcio corrigido medianos ou no ultimo tercil estabelecido. Interessantemente essa associação foi independente do estágio tumoral, grau histológico e idade. A probabilidade de causalidade reversa foi reduzida com a análise de sensibilidade, onde pacientes com óbito precoce, três e seis meses após o diagnóstico, foram excluídos e os resultados permaneceram significantes.

Os níveis de cálcio acima do limite superior, hipercalcemia, representa um agravante ao prognóstico de pacientes com câncer (74, 75). A presença da hipercalcemia associada a doença neoplásica, hipercalcemia maligna, quando tratada mesmo em pacientes com doença avançada ocasiona melhora na qualidade de vida desses pacientes, sendo um tratamento importa no período paliativo (74). A amostra utilizada neste trabalho contém apenas pacientes com CCR, onde essa manifestação não é identificada comumente. Além disso, a análise de sensibilidade foi empregada para descartar a possibilidade pacientes com hipercalcemia presentes na amostra (seis pacientes) interferissem no resultado, demonstrando que outros mecanismos patológicos poderiam estar envolvidos para explicar os resultados encontrados com o cálcio corrigido.

Comparando os resultados encontrados com outros estudos, para o Carcinoma de Células Renais o ponto de corte frequentemente usando em estudos que associam o cálcio sérico a sobrevida dos pacientes é inferior ao determinado para hipercalcemia, ou seja dentro do limite de normalidade (61, 76). Na literatura, poucos trabalhos trazem a associação dos níveis séricos com o prognóstico de pacientes com CCR. Como já foi apresentado a maioria de estudos que avaliam os níveis séricos de cálcio abordam a HCM e nos pacientes com CCR a prevalência deste evento é muito baixa, neste trabalho foi identificado apenas 1,8% dos indivíduos com hipercalcemia.

Explicações biológicas para o efeito apresentado neste trabalho são escassas, uma possibilidade para justificar a associação do cálcio corrigido com o prognóstico do CCR seria os níveis de PTHrp, que poderia refletir nos níveis de

cálcio dentro do intervalo de normalidade. Os peptídeos relacionados ao PTH são expressos em tumores colorretais (90% dos tumores) (64). A quantidade de PTHrp produzido pelo tumor está relacionada a diferenciação, invasão e progressão da doença, relacionando-se a agressividade tumoral (64). Esta proteína na circulação age similarmente ao PTH e sinaliza para que ocorra reabsorção renal e óssea de cálcio, influenciando o níveis sérico do cálcio (63).

Recentemente, um estudo que analisou a perda ponderal associada com a presença do PTHrp sérico, também identificou dentre as análises secundárias uma associação dos níveis séricos do cálcio corrigido com a presença do PTHrp e a perda ponderal, ambas análises significativas. Neste estudo a amostra era composta por diferentes tipos tumorais, câncer de cabeça e pescoço, mama, tireoide, pulmão, gastroesofágico, hematológico, colorretal, entre outros, e a expressão do PTHrp não ocorreu na mesma proporção em todos os tipos de câncer (77).

Reconhecido como um marcador paraneoplásico para HCM, o PTHrp foi associado recentemente com a caquexia no câncer a partir de um estudo com animais, onde o anticorpo anti-PTHrp neutralizando as ações do mesmo reduziu alterações do tecido adiposo, tecido muscular e expressão de genes termogênicos, influenciando na caquexia do câncer (68). Outros estudos também mostraram associações do PTHrp com mudanças no peso corporal e tecido muscular de pacientes com diferentes tipos de câncer (63, 68). Assim, justificamos fisiologicamente que o cálcio sérico estaria refletindo os níveis de PTHrp e consequentemente associando-se ao pior prognóstico de pacientes com CCR.

O estudo apresenta algumas limitações inerentes a sua natureza, como todo trabalho retrospectivo não é possível controlar os critérios utilizados para a solicitação dos exames laboratoriais usados, levando a uma diminuição da amostra. Também por tratar-se de um estudo unicentrico com paciente assistidos pelo serviço de saúde público e com vulnerabilidade socioeconômica, o que influencia o tempo da procura a assistência médica e também o intervalo para diagnóstico e estadiamento da doença, dentre outros fatores associados ao sistema público de saúde e ao poder aquisitivo reduzido da população avaliada.

A análise com a data de coleta do cálcio foi realizada com objetivo de minimizar os possíveis efeitos do intervalo da coleta do cálcio sérico com resultados obtidos. A variação para solicitação e momento de coleta dos exames caracteriza

uma limitação da pesquisa retrospectiva. Porém, analisando as características em relação ao momento do cálcio utilizado, a amostra compunha-se de 184 pacientes em estadiamento de I a III da doença e destes apenas três apresentavam o cálcio após a cirurgia, habitualmente realizada no tratamento com intenção curativa.

Como postulado anteriormente mais estudos para análise dos efeitos do cálcio e o câncer colorretal são necessário. Atualmente é possível contar apenas com pontos de corte para determinação de hipercalcemia, a utilização do cálcio sérico como um biomarcador nos pacientes com CCR é desconhecida.

CONCLUSÃO

O cálcio corrigido foi relacionado a pior sobrevida global e a pior sobrevida específica por câncer nos pacientes com CCR. Após ajuste por idade ao diagnóstico, estágio, diferenciação e sítio tumoral os valores de cálcio corrigido permaneceram relacionado ao prognóstico desses pacientes. Com os testes de sensibilidade as associações de cálcio corrigido também se mantiveram. Trata-se do primeiro estudo de nosso conhecimento que avaliou a associação do CCR com os níveis séricos de cálcio, demonstrando força para indicar novas análises e estudos para melhor determinar a relação dos níveis de cálcio com o CCR.

REFERÊNCIAS

1. INCA. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil Rio de Janeiro, Ministério da Saúde: Coordenação de Prevenção e Vigilância; 2017 [
2. Lamprecht SA, Lipkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(8):601-14.
3. Stewart BW, Wild CP. *World Cancer Report: International Agency for Research on Cancer (IARC)*; 2014.
4. McCullough ML, Robertson AS, Rodriguez C, Jacobs EJ, Chao A, Carolyn J, et al. Calcium, vitamin D, dairy products, and risk of colorectal cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort (United States). *Cancer Causes Control*. 2003;14(1):1-12.
5. Baron JA, Beach M, Mandel JS, van Stolk RU, Haile RW, Sandler RS, et al. Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas. Calcium Polyp Prevention Study Group. *N Engl J Med*. 1999;340(2):101-7.
6. Wu K, Willett WC, Fuchs CS, Colditz GA, Giovannucci EL. Calcium intake and risk of colon cancer in women and men. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(6):437-46.
7. Han C, Shin A, Lee J, Park JW, Oh JH, Kim J. Dietary calcium intake and the risk of colorectal cancer: a case control study. *BMC Cancer*. 15. London2015.
8. Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5 Suppl 1:S23-30.
9. Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, Assaf AR, Brunner RL, O'Sullivan MJ, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2006;354(7):684-96.
10. Stewart BW, Wild CP. *World Cancer Report: 2014* 2014.
11. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
12. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. *Cancer statistics, 2016*. *CA Cancer J Clin*. 2016;66(1):7-30.
13. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990

- to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol.* 2017;3(4):524-48.
14. GLOBOCAN, 2012. International Agency for Research on Cancer: Cancer Today: World Health Organization; 2012. [
 15. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut.* 2017;66(4):683-91.
 16. INCA. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil Rio de Janeiro, Ministério da Saúde: Coordenação de Prevenção e Vigilância; 2017 [
 17. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
 18. AACR. CANCER PROGRESS REPORT: Harnessing Research Discoveries to Save Lives. Philadelphia: American Association for Cancer Research 2017. Available from: <http://www.cancerprogressreport.org/>.
 19. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010;140(6):883-99.
 20. O'Keefe SJ. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13(12):691-706.
 21. Nosho K, Sukawa Y, Adachi Y, Ito M, Mitsuhashi K, Kurihara H, et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2016;22(2):557-66.
 22. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2009;361(25):2449-60.
 23. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(6):1471-4.
 24. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, et al. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *Journal of Clinical Oncology.* 2017;35(13):1453-86.
 25. Hughes LAE, Simons C, van den Brandt PA, van Engeland M, Weijenberg MP. Lifestyle, Diet, and Colorectal Cancer Risk According to (Epi)genetic Instability:

Current Evidence and Future Directions of Molecular Pathological Epidemiology. *Curr Colorectal Cancer Rep.* 2017;13(6):455-69.

26. Mo A, Wu R, Grady JP, Hanley MP, Toro M, Swede H, et al. Associations of dietary fat with risk of early neoplasia in the proximal colon in a population-based case-control study. *Cancer Causes Control.* 2018;29(7):667-74.

27. Potter JD, Slattery ML, Bostick RM, Gapstur SM. Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiol Rev.* 1993;15(2):499-545.

28. Howe GR, Aronson KJ, Benito E, Castelleto R, Cornee J, Duffy S, et al. The relationship between dietary fat intake and risk of colorectal cancer: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *Cancer Causes Control.* 1997;8(2):215-28.

29. Liu L, Zhuang W, Wang RQ, Mukherjee R, Xiao SM, Chen Z, et al. Is dietary fat associated with the risk of colorectal cancer? A meta-analysis of 13 prospective cohort studies. *Eur J Nutr.* 2011;50(3):173-84.

30. Research. WCRFAIc. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR; 2007.

31. Ferrucci LM, Sinha R, Huang WY, Berndt SI, Katki HA, Schoen RE, et al. Meat consumption and the risk of incident distal colon and rectal adenoma. *Br J Cancer.* 2012;106(3):608-16.

32. Kabat GC, Miller AB, Jain M, Rohan TE. A cohort study of dietary iron and heme iron intake and risk of colorectal cancer in women. *Br J Cancer.* 2007;97(1):118-22.

33. Song M, Wu K, Meyerhardt JA, Ogino S, Wang M, Fuchs CS, et al. Fiber Intake and Survival After Colorectal Cancer Diagnosis. *JAMA Oncol.* 2018;4(1):71-9.

34. Keum N, Aune D, Greenwood DC, Ju W, Giovannucci EL. Calcium intake and colorectal cancer risk: dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *Int J Cancer.* 2014;135(8):1940-8.

35. Zhang X, Keum N, Wu K, Smith-Warner SA, Ogino S, Chan AT, et al. Calcium intake and colorectal cancer risk: Results from the nurses' health study and health professionals follow-up study. *Int J Cancer.* 2016;139(10):2232-42.

36. Pereira GAP, Genaro PS, Pinheiro MM, Szejnfeld VL, Martini LA. Cálcio dietético - estratégias para otimizar o consumo. *Revista Brasileira de Reumatologia [Internet].* 2009; 49:[164-80 pp.].

37. Balk EM, Adam GP, Langberg VN, Earley A, Clark P, Ebeling PR, et al. Global dietary calcium intake among adults: a systematic review. *Osteoporos Int.* 2017;28(12):3315-24.
38. Terry P, Baron JA, Bergkvist L, Holmberg L, Wolk A. Dietary calcium and vitamin D intake and risk of colorectal cancer: a prospective cohort study in women. *Nutr Cancer.* 2002;43(1):39-46.
39. Zheng W, Anderson KE, Kushi LH, Sellers TA, Greenstein J, Hong CP, et al. A prospective cohort study of intake of calcium, vitamin D, and other micronutrients in relation to incidence of rectal cancer among postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998;7(3):221-5.
40. Pietinen P, Malila N, Virtanen M, Hartman TJ, Tangrea JA, Albanes D, et al. Diet and risk of colorectal cancer in a cohort of Finnish men. *Cancer Causes Control.* 1999;10(5):387-96.
41. Bristow SM, Bolland MJ, MacLennan GS, Avenell A, Grey A, Gamble GD, et al. Calcium supplements and cancer risk: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr.* 2013;110(8):1384-93.
42. Park Y, Leitzmann MF, Subar AF, Hollenbeck A, Schatzkin A. Dairy food, calcium, and risk of cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med.* 2009;169(4):391-401.
43. Bonithon-Kopp C, Kronborg O, Giacosa A, R ath U, Faivre J. Calcium and fibre supplementation in prevention of colorectal adenoma recurrence: a randomised intervention trial. European Cancer Prevention Organisation Study Group. *Lancet.* 2000;356(9238):1300-6.
44. Yang W, Liu L, Masugi Y, Qian ZR, Nishihara R, Keum N, et al. Calcium intake and risk of colorectal cancer according to expression status of calcium-sensing receptor (CASR). *Gut.* 2017.
45. Aune D, Lau R, Chan DS, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, et al. Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Ann Oncol.* 2012;23(1):37-45.
46. Newmark HL, Wargovich MJ, Bruce WR. Colon cancer and dietary fat, phosphate, and calcium: a hypothesis. *J Natl Cancer Inst.* 1984;72(6):1323-5.
47. Goss KH, Groden J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. *J Clin Oncol.* 2000;18(9):1967-79.

48. Willert K, Nusse R. Beta-catenin: a key mediator of Wnt signaling. *Curr Opin Genet Dev.* 1998;8(1):95-102.
49. Willert K, Jones KA. Wnt signaling: is the party in the nucleus? *Genes Dev.* 2006;20(11):1394-404.
50. Chakrabarty S, Radjendirane V, Appelman H, Varani J. Extracellular calcium and calcium sensing receptor function in human colon carcinomas: promotion of E-cadherin expression and suppression of beta-catenin/TCF activation. *Cancer Res.* 2003;63(1):67-71.
51. Ahearn TU, Shaukat A, Flanders WD, Rutherford RE, Bostick RM. A randomized clinical trial of the effects of supplemental calcium and vitamin D3 on the APC/ β -catenin pathway in the normal mucosa of colorectal adenoma patients. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012;5(10):1247-56.
52. Crockett SD, Barry EL, Mott LA, Ahnen DJ, Robertson DJ, Anderson JC, et al. Calcium and vitamin D supplementation and increased risk of serrated polyps: results from a randomised clinical trial. *Gut.* 2018.
53. Mahan K, Escott-Stump S, Raymond J. Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 13^a ed. Rio de Janeiro,2013. 92,3,4 p.
54. Regulation of calcium and phosphate balance [Internet]. UpToDate. 2018.
55. Wulaningsih W, Michaelsson K, Garmo H, Hammar N, Jungner I, Walldius G, et al. Serum calcium and risk of gastrointestinal cancer in the Swedish AMORIS study. *BMC Public Health.* 2013;13:663.
56. Schwartz GG, Tretli S, Vos L, Robsahm TE. Prediagnostic serum calcium and albumin and ovarian cancer: A nested case-control study in the Norwegian Janus Serum Bank Cohort. *Cancer Epidemiol.* 2017;49:225-30.
57. Rosner MH, Dalkin AC. Onco-nephrology: the pathophysiology and treatment of malignancy-associated hypercalcemia. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(10):1722-9.
58. Mirrakhimov AE. Hypercalcemia of Malignancy: An Update on Pathogenesis and Management. *N Am J Med Sci.* 2015;7(11):483-93.
59. Gastanaga VM, Schwartzberg LS, Jain RK, Pirolli M, Quach D, Quigley JM, et al. Prevalence of hypercalcemia among cancer patients in the United States. *Cancer Med.* 2016;5(8):2091-100.
60. Hamilton F, Carroll R, Hamilton W, Salisbury C. The risk of cancer in primary care patients with hypercalcaemia: a cohort study using electronic records. *Br J Cancer.* 2014;111(7):1410-2.

61. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 1999;17(8):2530-40.
62. J HM. Hypercalcemia of malignancy: Mechanisms. 2018. <https://www.uptodate.com/contents/hypercalcemia-of-malignancy-mechanisms>: UpToDate.
63. Hong N, Yoon HJ, Lee YH, Kim HR, Lee BW, Rhee Y, et al. Serum PTHrP Predicts Weight Loss in Cancer Patients Independent of Hypercalcemia, Inflammation, and Tumor Burden. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(3):1207-14.
64. Nishihara M, Ito M, Tomioka T, Ohtsuru A, Taguchi T, Kanematsu T. Clinicopathological implications of parathyroid hormone-related protein in human colorectal tumours. *J Pathol*. 1999;187(2):217-22.
65. Stewart AF. Clinical practice. Hypercalcemia associated with cancer. *N Engl J Med*. 2005;352(4):373-9.
66. Nishihara M, Kanematsu T, Taguchi T, Razzaque MS. PTHrP and tumorigenesis: is there a role in prognosis? *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1117:385-92.
67. Bayne MC, Illidge TM. Hypercalcaemia, parathyroid hormone-related protein and malignancy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2001;13(5):372-7.
68. Kir S, White JP, Kleiner S, Kazak L, Cohen P, Baracos VE, et al. Tumour-derived PTH-related protein triggers adipose tissue browning and cancer cachexia. *Nature*. 2014;513(7516):100-4.
69. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *The Lancet Oncology*. 2011;12(5):489-95.
70. Hutchesson AC, Bundred NJ, Ratcliffe WA. Survival in hypercalcaemic patients with cancer and co-existing primary hyperparathyroidism. *Postgrad Med J*. 1995;71(831):28-31.
71. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research Electronic Data Capture (REDCap) - A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform*. 2009;42(2):377-81.
72. Bringhurst FR, Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM. Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL,

Jameson JL, Loscalzo J, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 1. 18 ed2008.

73. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Br Med J.* 1973;4(5893):643-6.

74. Ralston SH, Gallacher SJ, Patel U, Campbell J, Boyle IT. Cancer-associated hypercalcemia: morbidity and mortality. Clinical experience in 126 treated patients. *Ann Intern Med.* 1990;112(7):499-504.

75. Ramos REO, Perez Mak M, Alves MFS, Piotto GHM, Takahashi TK, Gomes da Fonseca L, et al. Malignancy-Related Hypercalcemia in Advanced Solid Tumors: Survival Outcomes. *J Glob Oncol.* 2017;3(6):728-33.

76. Manola J, Royston P, Elson P, McCormack JB, Mazumdar M, Negrier S, et al. Prognostic model for survival in patients with metastatic renal cell carcinoma: results from the international kidney cancer working group. *Clin Cancer Res.* 2011;17(16):5443-50.

77. Lee JY, Hong N, Kim HR, Lee BW, Kang ES, Cha BS, et al. Effects of Serum Albumin, Calcium Levels, Cancer Stage and Performance Status on Weight Loss in Parathyroid Hormone-Related Peptide Positive or Negative Patients with Cancer. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2018;33(1):97-104.

ANEXOS

Anexo 1. Parecer consubstancial do Comitê de Ética.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO CÁLCIO SÉRICO COMO FATOR PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL

Pesquisador: MARINA NOGUEIRA SILVEIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 84599318.7.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.580.016

Apresentação do Projeto:

"No Brasil, o câncer de colorretal (CCR) é um dos principais e mais incidentes tipos de câncer, sendo o segundo mais incidente em mulheres e o terceiro em homens. Estudos sugerem que a maior ingestão de cálcio, bem como os maiores níveis séricos de cálcio estão associados a diminuição do risco de desenvolvimento de CCR. Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos dos níveis séricos de cálcio durante o curso da doença, e se este

atuaria como um fator preditor de sobrevida global destes pacientes. Assim, o presente trabalho objetiva caracterizar a influência dos níveis de cálcio no prognóstico de pacientes com câncer colorretal, por meio de estudo retrospectivo com pacientes coletados por conveniência, acompanhados no ambulatório de oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP). Na coleta de dados, serão obtidas variáveis sócio demográficas e clínicas. Testes de Kaplan-Meier e log-rank serão usados para comparar a sobrevida entre os grupos. Para determinar o ponto de corte do cálcio corrigido será realizada a curva ROC e para a análise multivariada da relação entre variáveis clínicas e sobrevida global será utilizado o modelo de risco proporcional de Cox".

Objetivo da Pesquisa:

Caracterizar a influência dos níveis de cálcio no prognóstico de pacientes com câncer colorretal, por meio de estudo retrospectivo com pacientes coletados por conveniência, acompanhados no

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.580.016

ambulatório de oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Estudo retrospectivo com informações contidas nos prontuários dos pacientes; assim, foram identificados riscos associados com a garantia do anonimato dos participantes de pesquisa. A pesquisadora informa que “O método de pesquisa empregado garante o anonimato dos participantes, pois a pesquisa será realizada utilizando o número de identificação gerado no HC-Unicamp para os registros hospitalares. Os dados coletados serão armazenados em local restrito e serão acessados apenas pelos pesquisadores do trabalho”.

Benefícios: Não há benefícios aos participantes de pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa apresentada como trabalho de mestrado da pós-graduanda Mariana N Silveira (pesquisadora responsável), com orientação do Prof. Dr. José Barreto Campello Carvalheiro. Nesta pesquisa, pretende-se caracterizar a influência dos níveis de cálcio no prognóstico de pacientes com câncer colorretal, por meio de estudo retrospectivo com pacientes coletados por conveniência, acompanhados no ambulatório de oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP). Trata-se de um estudo retrospectivo que será realizado mediante a coleta de informações contidas nos prontuários dos pacientes atendidos no ambulatório de oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC-UNICAMP) no período de Janeiro de 2000 a 2018. Pretende-se incluir 1.167 participantes de pesquisa. Os pesquisadores propõe dispensa do TCLE, justificando: “O presente estudo será avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP, de acordo com a Resolução CNS n.º 466/12. Trata-se de uma pesquisa com dados retrospectivos, obtidos a partir de coleta em prontuário médico, no Serviço de Arquivo Médico – SAM do HC-UNICAMP e não envolverá participação de voluntários. O método de pesquisa empregado garante o anonimato dos participantes, pois a pesquisa será realizada utilizando o número de identificação gerado no HC-Unicamp para os registros hospitalares. Os dados coletados serão armazenados em local restrito”.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.580.016

1. Folha de rosto assinada pela pesquisadora responsável, Mariana Nogueira Silveira e por Antônio Gonçalves de Oliveira Filho, Coordenador de Assistência do Hospital de Clínicas da Unicamp, instituição indicada como proponente
2. Formulário da Plataforma Brasil com as informações básicas sobre o projeto.
3. Projeto completo.
4. Carteira estudantil confirmando o vínculo da pesquisadora com a instituição proponente.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. Não há pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.580.016

apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1077432.pdf	01/03/2018 11:50:07		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa.pdf	01/03/2018 11:48:55	MARINA NOGUEIRA SILVEIRA	Aceito
Outros	Carteira_Universitaria.pdf	01/03/2018 11:48:17	MARINA NOGUEIRA SILVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	01/03/2018 11:41:15	MARINA NOGUEIRA SILVEIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 04 de Abril de 2018

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br