UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

Marcio Paneghini

DOSAGEM DE MACRONUTRIENTES EM TECIDO MAMÁRIO NORMAL E TUMORAL

Ribeirão Preto
2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

DOSAGEM DE MACRONUTRIENTES EM TECIDO MAMÁRIO NORMAL E TUMORAL

Marcio Paneghini

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção ao Título de Mestre, pelo curso de Pós-Graduação em Medicina. Área de concentração: Mastologia e Oncologia tocoginecológica

Orientador: Prof. Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara

FMRP-USP

2016

Autorizo a reprodução e divulgação total e parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Paneghini, Marcio

Dosagem de macronutrientes em tecido mamário normal e tumoral.
Ribeirão Preto, 2016.
59p.:il col.;30cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – Área de concentração: Mastologia e Oncologia Tocoginecológica.

Orientador: Carrara, Hélio Humberto Angotti

1. Câncer. 2. Mama. 3. Proteína. 4. Gordura. 5. Água. 6. Concentração.

Folha de Aprovação

Marcio Paneghini

Dosagem de macronutrientes em tecido mamário normal e tumoral.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – Área de concentração: Mastologia e Oncologia Tocoginecológica

Aprovado em: _____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

À Terezinha, minha mãe, onde estiver, obrigado por me dar a vida...

Agradecimento especial

Ao mais que orientador e sim amigo Professor Doutor ***Hélio Humberto Angotti Carrara*** *pela perseverança e dedicação que teve e sempre norteando-me no decurso deste trabalho.*

Agradecimentos

Ao amigo e orientador Prof. Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara. Pelo incentivo constante e exemplar caráter ético e profissional.

Ao amigo e Prof. Dr. Júlio Sergio Marchini pelo incentivo que me foi dado.

Ao amigo Gilberto João Padovan, pela habilidade que me instruiu no laboratório.

À todos do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia que, de alguma forma, contribuíram para realização deste estudo.

À todas as pacientes que colaboraram fornecendo parte de sí, de corpo e alma.

Ao exemplar Hospital Regional Dr “Leopoldo Bevilacqua” que é parte de minha vida.

A minha família que entendeu meu empenho empreendido neste trabalho.

RESUMO

Paneghini, M. **Dosagem de macronutrientes em tecido mamário normal e tumoral. Ribeirão Preto**, 2016. 59f. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2016.

Introdução: O hábito alimentar da população mudou para alimentos mais industrializados, que são ricos em conservantes que por si só podem ser carcinogênicos. A alimentação é um importante fator epidemiológico e tem sido associado com o processo da tumorigênese, principalmente no câncer da mama. A literatura é pobre em estudos que estudaram a concentração de água, gorduras e proteínas de forma isolada e separadamente na composição do tecido mamário e do tumor de mama. Os achados descritos são apenas do indivíduo como um todo, somaticamente. **Objetivos:** este estudo visa a quantificação de água, gorduras e proteínas no tecido mamário normal e tecido mamário tumoral. **Metodologia**: Foram recrutadas 18 voluntárias portadoras de câncer de mama que foram submetidas a mastectomia como base de seu tratamento para o câncer e não terem recebido qualquer tipo de terapia antineoplásica previamente. De cada peça cirúrgica foi colhida duas amostras, sendo uma de tecido mamário normal e uma do tecido tumoral. As amostras foram armazenadas a -80°C. Primeiramente as amostras foram pesadas. Na sequencia foi feito a dosagem de água total pelo método de secagem em estufa. A gordura foi dosada pelo método de extração a frio utilizando clorofórmio e metanol. As proteínas foram dosadas por leitura por espectrofotometria de massa. **Resultados**: O grupo Tumor mostrou maior concentração de água que o grupo Controle, porém esta diferença não foi significante (p=0,14). Em relação ao conteúdo de gordura, este foi maior no grupo Controle, porém sem significância (p=0,09). Quanto ao conteúdo proteico, observou-se que foi maior também no grupo Controle, e do mesmo modo, não alcançou significância, com p=0,09. **Conclusões**: O estudo mostrou que não existe diferença significativa nas concentrações dos macronutrientes estudados no tecido mamário normal e no tecido tumoral, embora ocorra tendência de que o tecido mamário normal apresente menor concentração de água que o tecido tumoral. Observou-se também a tendência de que os percentuais de gordura e proteínas são maiores no tecido normal da mama.

Palavras-chaves: câncer; mama; proteína; gordura; água; concentração.

ABSTRACT

Paneghini, M. **Dosagem de macronutrientes em tecido mamário normal e tumoral. Ribeirão Preto**, 2016. 59f. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2016.

Introduction: The feeding habits of the population moved from natural to more industrialized foods that have higher concentration of preservatives, some of which may be carcinogenic themselves. Food is an important epidemiological factor and has been associated with the process of tumorigenesis, breast among them. The literature is poor in studies that show the percentages of water, proteins and fat in breast tumors. **Objectives**: This study aims to quantify proteins, fats and water in normal breast and breast tumor tissue. **Methodology**: Eighteen volunteers with breast cancer were recruited. They should have had not received any type of anticancer therapy and have had a mastectomy as treatment for breast cancer. From each surgical specimen a sample from normal breast tissue and a sample from the tumor were taken. These samples were stored at -80°C until the assays were performed. We first weighted the samples end proceed the assays determining total water through a kiln drying method. Fat was determined by the cold extraction method using chloroform and methanol and proteins were determined by mass spectrometry. **Results**: Although the Tumor group showed a higher concentration of water compared to Control group, it did not reached significance (p=0,14). The fat content analysis did not showed significance between the two groups either, in spite of the higher concentration seen in Control group (p=0,09). Also, the protein content in Control group was higher than in the Tumor group, but not sufficient to reach significance (p=0,09). **Conclusions**: The study showed a trend that a higher concentration of water is found in tumor breast tissue, whereas a trend that fat and proteins is found in higher concentration in normal breast tissue.

Keywords: cancer; breast; protein; fat; water; concentration.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

INCA – Instituto Nacional do Cancer.

WHO – World Health Organization.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

HRLB – Hospital Regional Dr. “LEOPOLDO BEVILACQUA”

HCRP – Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto

FMRP – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

TNM – Tumor Nódulo Metástase. Padrão internacional para estadiamento das neoplasias. Organização Mundial de Saúde.

Sumário

Folha de Aprovação IV
Dedicatória..... V
Agradecimento especial..... VI
Agradecimentos..... VII
Resumo..... VIII
Abstract..... IX
Lista de Abreviaturas e Siglas.....X
Introdução..... 13
Epidemiologia..... 14
Composição Química celular..... 19

Água..... 19
Minerais..... 22
Glicídios..... 22
Lipídios..... 22
Proteínas..... 23

Hipóteses..... 25
Objetivos..... 26
Metodologia e Casuística..... 27

Metodologia..... 28
Determinação de água total..... 29
Determinação do teor de gordura..... 29
Determinação de proteína total..... 30

Análise estatística..... 32
Resultados 33

Ensaio para obtenção da quantidade de água..... 34
Ensaio para obtenção da quantidade de gordura..... 34
Ensaio para obtenção da quantidade de proteínas..... 38

Discussão..... 43
Água..... 43
Gordura..... 46
Proteínas..... 48
Cinzas..... 50

Conclusão..... 52
Comentários..... 53
Tabelas, Quadros e Figuras
Tabela 1..... 20
Tabela 2..... 21
Tabela 3..... 21
Tabela 4..... 22
Tabela 5..... 35
Tabela 6..... 37
Tabela 7..... 38
Tabela 8..... 42

Quadro 1..... 31
Quadro 2..... 33

Figura 1..... 39
Figura 2..... 40
Figura 3 41
Figura 4..... 44
Figura 5..... 45
Figura 6..... 47
Figura 7..... 47
Figura 8..... 48
Figura 9..... 49
Figura 10. 50
Figura 11..... 51

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....57
Referências Bibliográficas..... 54
Apêndice..... 56

1. INTRODUÇÃO

Com a evolução da ciência hoje já se consegue, em todas as partes do mundo, a diminuição da incidência do câncer nas populações. Entretanto o que se nota é um aumento da prevalência da doença, explicável pelo fato que o câncer é uma doença predominante em idosos, ou seja, acima dos sessenta anos de idade (WHO, 1975).

Em todos os estudos sobre câncer são unânimes algumas hipóteses: hábitos alimentares, estilos de vida e fatores ambientais são fatores determinantes na gênese do câncer (INCA, 2014).

Quanto aos hábitos alimentares observa-se a mudança de preferência para uma dieta rica em substâncias com alto poder carcinogênico, como por exemplo, os defumados e os embutidos que possuem alto teor de nitritos e nitrosaminas.

Em relação ao estilo de vida vemos que indivíduos com hábito de tabagismo intenso, consumo excessivo de álcool e utilização de substâncias com efeitos alucinógenos são vítimas de maior incidência de neoplasias.

Os fatores ambientais como a exposição ocupacional (poluição, radiação ionizante), traços metálicos no solo e irradiação solar estão relacionados com o processo da carcinogênese (Gomes R., 1997).

Atualmente no estudo do câncer são investigados os hábitos alimentares, desde a sua forma encontrada no meio ambiente até a última transformação metabólica celular que eles sofrem no organismo humano.

2. EPIDEMIOLOGIA

No Brasil, desde a década de sessenta, começou-se a intensificar as preocupações em relação a doenças de natureza crônico-degenerativas. Em 1963 durante a III Jornada Brasileira de Cancerologia foram apresentados estudos de registros hospitalares de anatomia patológica em câncer (Gomes R., 1997). A partir daí começaram os primeiros dados de frequência relativa em relação às neoplasias.

Alguns dados estatísticos começaram a ser exibidos com base em registros hospitalares de câncer (Atlas de Mortalidade por Câncer no Brasil, 2002), e observou-se que no Rio Grande do Sul houve predomínio de câncer de esôfago, provavelmente relacionado ao grande consumo de bebidas em altas temperaturas (chimarrão, chás) (INCA, 2007), que causa inicialmente uma metaplasia no órgão, com progressão para neoplasia em seguida. Esse fator encontra-se estudado e esclarecido, portanto a explicação de sua continuidade de incidência é cultural. Nos estados do Pará, Ceará, Pernambuco, Alagoas, Bahia e Rio de Janeiro observou-se a alta frequência de câncer de pênis e do colo uterino, provavelmente relacionado à deficiência em assistência primária na saúde, como o rastreio citológico das neoplasias cervicais (INCA, 2007).

Para o câncer gástrico foi observada uma maior frequência nos estados do Sul e no Rio de Janeiro em relação aos dos estados do Norte e Nordeste; é disseminado na população dos estados do Sul o alto consumo de carnes defumadas e muito salgadas, hábito herdado na dieta, de culturas de colonização que persistem até hoje. (Moraes MF, 1997). Pode-se comprovar a manutenção de hábitos da cultura da origem. Um exemplo bastante concreto é que a mortalidade na população de origem japonesa no estado de São Paulo foi equivalente à dos japoneses no Japão e o dobro da frequência geral dos habitantes não japoneses em São Paulo (Moraes MF,1997; Potter, 2005).

Por outro lado, as características regionais podem determinar desenvolvimento de determinados tipos de tumores. Assim, nas regiões Norte e Nordeste ocorrem maior incidência de câncer de pele. A posição geográfica próxima da linha do equador determina uma alta incidência de raios ultravioleta decorrente da exposição à luz solar.

Quando observada a distribuição do câncer por gênero, percebe-se que a população masculina apresenta alta frequência de câncer de cabeça e pescoço (maior incidência de câncer na cavidade oral) devido ao intenso hábito tabagista associado ao consumo de bebidas de natureza etílicas que foi herdado das populações ancestrais de origem, e que, ao invés de diminuir a incidência frente ao conhecimento da carcinogenicidade deste, ocorreu aumento.

Nas últimas cinco décadas os perfis sociais e os modos de vida da população brasileira variaram para melhor, tendo observado que as estatísticas apontam que em futuro muito próximo as doenças degenerativas alcançarão a primeira causa de óbito (INCA, 2014).

Os hábitos alimentares são de extrema importância quanto à gênese de substâncias com potencial carcinogênico no organismo. A relação entre o consumo de alimentos e o risco de câncer mostram evidências que as substâncias utilizadas para a conservação desses possam desempenhar papel relevante na carcinogênese. Este fator epidemiológico (alimentação) tem sido associado com o processo de tumorigênese, principalmente câncer de mama, cólon (intestino grosso), reto, próstata, esôfago e estômago (INCA, 2006).

Alguns tipos de alimentos, se consumidos regularmente durante longos períodos de tempo, parecem propiciar ou induzir um ambiente apropriado para uma célula cancerosa desenvolver, se multiplicar, invadir e se disseminar. Esses alimentos devem ser evitados. Entre estes estão incluídos os alimentos ricos em gorduras de origem animal (Vannuchi *et al*, 1998), principalmente as gorduras insaturadas, embora em relação ao câncer de mama, este tipo de produto de origem animal parece afetar subgrupos específicos de mulheres (Smith-Warner, Spiegelman *et al*. 2001; Potter, 2005). Estudo recente mostrou que a alimentação rica em gorduras saturadas, polinsaturadas e trans durante a adolescência pode estar associada a risco pouco maior de câncer de mama em mulheres na pré-menopausa (Linos, Willett *et al,* 2010).

Existem também os alimentos que contêm níveis significativos de agentes cancerígenos. Por exemplo, os nitritos e nitratos utilizados como conservantes em alguns tipos de alimentos, se transformam em nitrosaminas no estômago (Modena, Meirelles *et al*, 2009). As nitrosaminas, que têm ação carcinogênica potente, são responsáveis pelos altos índices de câncer de estômago

observados em populações que consomem alimentos com estas características de forma abundante e frequente.

Já os defumados e churrascos podem ser impregnados pelo alcatrão proveniente da fumaça de carvão de forma semelhante ao encontrado na fumaça do cigarro e que tem ação carcinogênica conhecida.

Os alimentos preservados em sal, também estão relacionados ao desenvolvimento de câncer de estômago em regiões onde é comum o consumo desses alimentos, como no Rio Grande do Sul.

Estudos demonstram que uma alimentação pobre em fibras, com altos teores de gorduras e altos níveis calóricos, está relacionada a um maior risco para o desenvolvimento de câncer de cólon e de reto (Franco *et al*., 1997. Robbins *et al*., 1989), possivelmente porque sem a ingestão de fibras, o ritmo intestinal desacelera, favorecendo uma exposição mais demorada da mucosa intestinal aos agentes cancerígenos encontrados no conteúdo intestinal.

Em relação a cânceres de mama e próstata, a ingestão de gordura pode alterar os níveis de hormônio no sangue, aumentando o risco da doença (Potter, 2005; Kuhajda, 2006). Há vários outros estudos epidemiológicos que sugerem a associação de dieta rica em gordura, principalmente as de cadeias de carbonos saturada, com um maior risco de se desenvolver neoplasias da mama e do sistema digestório; (Potter, 2005).

Esses tipos de câncer são mais incidentes em regiões desenvolvidas, principalmente em países do Ocidente, onde o consumo de alimentos ricos em gordura são altos. Já em particular em alguns países do Oriente e em regiões pobres onde não há meios adequados de conservação dos alimentos (geladeira), câncer do sistema digestório ocorre não só por ingestão de alimentos gordurosos, mas também por hábitos de conservação desses alimentos, tais como defumados para os orientais e adição de outras substâncias definidas como conservantes em populações mais pobres da região asiática e africanas por motivos de cultura e tradições em elaborações de conservas.

Atenção especial deve ser dada aos grãos e cereais. Se armazenados em locais inadequados e úmidos, esses alimentos podem ser contaminados pelo fungo *Aspergillus flavus*, o qual produz a aflatoxina, substância cancerígena. Essa toxina está relacionada ao desenvolvimento de câncer hepático.

Algumas mudanças nos nossos hábitos alimentares podem ajudar a reduzir os riscos de desenvolvermos câncer. Frutas, verduras, legumes e cereais integrais contêm nutrientes tais como vitaminas, substâncias antioxidantes, fibras e outros compostos, que auxiliam as defesas naturais do corpo a destruírem os carcinógenos antes que eles causem sérios danos às células. Esses tipos de alimentos também podem bloquear ou reverter os estágios iniciais do processo de carcinogênese. Hoje já está estabelecido que uma alimentação rica nesses alimentos ajuda a diminuir o risco de câncer. As fibras, apesar de não serem digeridas pelo organismo, ajudam a reduzir a formação de substâncias cancerígenas no intestino grosso e a diminuir a absorção de gorduras (Potter, 2005).

Evidências epidemiológicas têm demonstrado que existe uma relação entre o consumo de frutas frescas e vegetais e a menor incidência de cânceres originários em epitélios de revestimento (de cavidade bucal, de esôfago, de estômago e de pulmão) (INCA, 2006).

Tem se evidenciado que a vitamina A protege contra o câncer da cavidade bucal, faringe, laringe e pulmão, e é possível que a vitamina E diminua o risco de se desenvolver o câncer. Embora a vitamina C bloqueie a formação endógena de nitrosaminas no trato gastrintestinal, não há evidências científicas de que a ingestão maior dessa vitamina possa prevenir o câncer intestinal (Vannucchi, H *et al*, 1998).

Analisando dados estatísticos no Brasil, observa-se que os tipos de câncer que se relacionam aos hábitos alimentares estão entre as seis primeiras causas de mortalidade por câncer (IBGE, 2014; INCA, 2014). O perfil de consumo de alimentos que contêm fatores de proteção está abaixo do recomendado em diversas regiões do país. A ingestão de fibras também é baixa no Brasil, onde se observa coincidentemente, uma significativa frequência de câncer de cólon e reto. O consumo de gorduras saturadas é elevado nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, onde ocorrem as maiores incidências de câncer de mama no país. O câncer de estômago ocupa o primeiro lugar em mortalidade entre homens no Brasil, sendo São Paulo, Fortaleza e Belém as cidades onde este tipo de câncer atinge os mais altos níveis de frequência do mundo.

A Tabela 1 mostra maneiras que uma boa alimentação pode ajudar a evitar o desenvolvimento de neoplasias.

A Tabela 2 mostra as estimativas para incidência das neoplasias mais frequentes na população brasileira, consolidada, por sexo, para o ano de 2014.

3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA CELULAR.

Para avaliarmos as alterações de qualquer natureza da célula, devemos nos lembrar da composição celular original. A Tabela 3 mostra seus componentes e porcentuais costumeiramente observados em uma célula.

ÁGUA: É o componente universal para a existência da vida. É o solvente padrão. E nela que ocorrem a maioria absoluta das reações químicas do metabolismo celular. Evita desequilíbrios bruscos de temperatura, auxilia no transporte de substâncias, bem como na eliminação de excretas metabólicas. Quanto maior o metabolismo de uma determinada célula (ou ainda, de um ser vivo) maior será o seu teor hídrico. Sua concentração é inversamente proporcional à idade: menor a idade maior a quantidade de água na célula.

A água nos seres vivos está distribuída em dois grandes espaços compartimentais: o ambiente extracelular e o ambiente intracelular. A água do espaço intracelular corresponde a cerca de 40% do peso total de um indivíduo. No sexo masculino essa taxa é 10% maior que no sexo feminino (Lehninger, Bioquímica.1984). A água se desloca ativa e passivamente através da membrana celular, regulada por uma concentração de substâncias que compõe o gradiente osmótico deste líquido. O plasma de um organismo e o espaço intersticial trocam água através das membranas celulares. As proteínas do plasma são um importante regulador da quantidade da distribuição de água, em virtude da pressão oncótica exercida pelas macromoléculas proteicas.

TABELA 1. Mecanismos de interações dos nutrientes de uma alimentação saudável nos processos neoplásicos.

- **Inibindo danos genéticos causados por substâncias de produção exógena ou endógena:**

1. inibindo o início da atividade carcinogênica.
2. retardando o início da atividade carcinogênica.
3. acelerando a excreção de substâncias para fora da célula.
4. reduzindo radicais oxigenados
5. evitando quebras de moléculas do DNA.

- **Influenciando e agindo diretamente no reparo ao dano do DNA.**

1. acelerando o reparo endógeno do DNA.
2. interagindo diretamente no processo de metilação.

- **Eliminando danos provocados a clones na reprodução celular:**

1. desacelerando a proliferação celular.
2. retardando o processo de angiogênese.
3. diminuindo a eficiência do processo de metástases.

Fonte: Evans P, Halliwell B. Micronutrients: Britsh Journal Nutrition, 2001; 85 (Suppl 2)

TABELA 2 - Estimativas para o ano 2014 das taxas brutas de incidência por 100.000 habitantes e do número de casos novos por câncer, em homens, e mulheres segundo localização topográfica primária.

Localização primária	Estimativas de casos novos		
Tipo de neoplasia	**Masculino**	**Feminino**	**Total**
Pele	98420	83710	182130
Mama feminina		57120	57120
Próstata	68800		68800
Colo de útero		15590	15590
Traquéia, brônquios e pulmão	16400	10930	27330
Estômago	12870	7520	20390
Cólons e reto	15070	17530	32600
Cavidade oral	11280	4010	15290
Esôfago	8010	2770	10780
Leucemias	5050	4320	9370
Melanoma	2960	2930	5900
Outras localizações	37520	35350	72870
TOTAL	**276390**	**241780**	**518170**

Fonte: Ministério da Saúde – Instituto Nacional do Câncer. 2014.

Tabela 3. Composição química habitual de uma célula.

Água	60,0%
Minerais	4,3%
Glicídios	6,2%
Lipídios	11,7%
Proteínas	17,8%

Fonte: Ucko, David A. Química para Ciências da Saúde. 1ª edição. 1992.

O volume de um compartimento líquido do organismo como o líquido intersticial, pode ser medido pela introdução de substâncias que se dispersam uniformemente pelo compartimento (Lehninger, 1984). O grau de diluição da substância permite calcular o volume total do compartimento.

MINERAIS: Fazem parte da composição estrutural celular, bem como podem figurar como substratos, catalisadores, condução elétrica. Os líquidos orgânicos têm uma composição semelhante, sob o ponto de vista da atividade química e das pressões osmóticas.

A Tabela 4 demonstra a comparação da composição eletrolítica dos principais fluídos orgânicos, o intravascular, o intersticial e o intracelular.

Tabela 4. Composição eletrolítica do plasma, líquido intersticial e do líquido intracelular.

Substância*	Plasma	Intersticial	Intracelular
Sódio (Na^+)	142	147	15
Potássio (K^+)	5	4	150
Cálcio (Ca^{++})	5	2,5	2
Magnésio (Mg^{++})	2	1	27
Cloro (Cl^-)	105	114	1
Bicarbonato (HCO_3^-)	24	30	10
Fosfato (PO_4^-)	2	2	100
Sulfato (SO_4^-)	1	1	20
Ácidos orgânicos	6	7,5	-
Proteínas	16	-	63

*Concentrações em Meq/l.

Fonte: Ucko David A. Fisiologia da água e eletrólitos – vol. 1.1989.

GLICÍDIOS: são os sacarídeos ou carboidratos. Substâncias orgânicas compostas de Carbono, Hidrogênio e Oxigênio (Lehninger, 1984).

Os glicídios estão relacionados como fonte de energia (combustível celular) para as atividades do metabolismo celular. Podem também exibirem-se como substâncias básicas para organização estrutural de componentes celulares.

LIPÍDIOS: substância orgânica com propriedade estrutural de serem insolúveis na água. Porém são solúveis em solventes orgânicos. Encontramos dois grandes grupos de substâncias que são estruturadas por lipídios: as **gorduras** (substância composta por lipídios, que na temperatura ambiente (25°C) apresentam-

se na forma sólida); os **óleos** (substância composta por lipídios que na temperatura ambiente (25°C) apresentam-se na forma líquida) (Lehninger, 1984).

São fontes de energia e quando do processo de oxidação, fazem parte da estrutura química das proteínas. Pela sua síntese podem ser obtidos os hormônios, são constituintes da membrana plasmática (revestimento) celular.

No processo inicial da digestão os lipídios são degradados em ácidos graxos e glicerol. Para a cadeia de catabolismo dos lipídios, o próximo passo é a digestão intracelular onde os ácidos graxos serão convertidos em uma estrutura molecular menor, de 2 átomos de carbonos, denominados acetil-coenzima A, ou simplesmente acetil-CoA.

A seguir, o acetil-CoA entra para o ciclo do ácido cítrico, onde será oxidado e tendo como resultado CO_2, água e energia, sendo que este processo ocorre na matriz mitocondrial. Nesta reação são liberadas substâncias, que alcançam o citoplasma, tornam-se disponíveis, são intensamente reativas ao oxigênio e podem interagir com outras substâncias, com o *p*H, radicais orgânicos e inorgânicos, podendo causar danos a estruturas nobres como a sequencia do DNA, capaz de desencadear o desenvolvimento do processo de neoplasias.

PROTEÍNAS: são macromoléculas orgânicas formadas pela união de outras estruturas, os aminoácidos. A ligação peptídica constitui a união destas estruturas dando origem à proteína, que por sua vez é o elemento básico da constituição das estruturas de uma célula. Formam as fibras dos tecidos e são catalisadores de reações químicas do metabolismo celular (enzimas).

As proteínas são obtidas através da alimentação. Como são estruturas complexas, o processo de digestão começa no meio extracelular (lúmem intestinal) através de enzimas digestivas. A hidrólise é o processo básico para que esta digestão promova a chegada das proteínas até o intracelular.

Em tecidos acometidos por neoplasias existe a formação de uma massa tumoral propriamente dita. Adjacente a esta massa tumoral existe um processo inflamatório circunscrito. Ocorre a neovascularização e deposição de células de defesa imunitária em etapas sequenciais. Um halo de edema, com concentração de líquido adjacente ao tumor, mas não no interior da massa tumoral é descrito (De Vita, 2015).

Entretanto, a literatura é carente em informações a respeito da composição molecular das células tumorais. As descrições na literatura quantificam o organismo como um todo.

Os tumores afetam o organismo dos hospedeiros de forma bastante agressiva, com diminuição das proteínas, desidratação e também a distribuição global da gordura corporal. Mas não são relatadas se estas alterações estão também presentes nas células tumorais, ou seja, se estas células apresentam concentrações semelhantes ou diferentes destas substâncias quando comparadas ao mesmo tecido em condições sadias.

Não há esclarecimentos suficientes na literatura para definir qual é a composição de uma célula tumoral. O estudo se justifica, pois havendo diferença na concentração destas substâncias, a possibilidade de terapias específicas baseadas nestas diferenças pode ser testada.

4. HIPÓTESES

H_0: a concentração de água, gordura e proteínas do tecido tumoral mamário é semelhante à concentração destas substâncias do tecido normal da mama.

H_1: a concentração de água, gordura e proteínas do tecido tumoral mamário é diferente da concentração destas substâncias do tecido normal da mama.

5. OBJETIVOS:

a) verificar a concentração de água, gorduras e proteínas do tecido epitelial normal da mama;

b) verificar a concentração de água, gorduras e proteínas do tecido tumoral epitelial da mama.

c) comparar as concentrações destas substâncias no tecido epitelial mamário normal e tumoral.

6. METODOLOGIA E CASUÍSTICA

Trata-se de trabalho observacional, em que as amostras de tecido mamário normal serviram como controle das amostras de tecidos tumorais. As amostras que formaram o Grupo Controle foram obtidas do local mais distante possível do tumor mamário, de onde foram obtidas amostras que formaram o Grupo Estudo. Este cuidado foi importante afim de que não ocorresse contaminação entre as amostras.

As amostras foram obtidas a partir de peças cirúrgicas de pacientes portadoras de câncer mamário atendidas no Ambulatório de Mastologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade São Paulo (HCRP-FMRP-USP) e Departamento de Cancerologia do Hospital Regional "Doutor Leopoldo Bevilacqua" (HRLB) – Secretaria Estadual de Saúde do Estado de São Paulo.

As coletas das amostras não provocaram nenhum desconforto para o sujeito da pesquisa ou impacto em seu tratamento.

Para poder fazer parte do estudo, os sujeitos da pesquisa deveriam preencher os seguintes critérios de inclusão:

a) ter diagnóstico histológico de carcinoma ductal invasor de mama;
b) ser tumor primário de mama
c) ter a doença com estádio clínico definido;
d) não ter recebido qualquer tipo de terapia antineoplásica antes do tratamento cirúrgico;
e) ter sido submetida a cirurgia prévia como parte do tratamento do câncer da mama, exceto a biópsia para diagnóstico;

Os seguintes critérios para **exclusão** foram observados:

a) ser portadora de carcinoma *"in situ"*;
b) ter sido submetida a cirurgia "conservadora" da mama como parte do tratamento atual;
c) ter diagnóstico de carcinoma inflamatório da mama;
d) apresentar outra patologia mamária associada;
e) apresentar recidiva local do câncer de mama.

As voluntarias recrutadas ainda foram organizadas de acordo com os dados epidemiológicos bem como estadiamento clínico, histologia do tumor, expressão para receptores hormonais e superexpressão para o fator de crescimento epidérmico (HER-2).

Estes e alguns outros dados como estadiamento pelo TNM (WHO, 2015), grau de diferenciação celular podem ser observados no Quadro 2.

METODOLOGIA

As pacientes recrutadas para o estudo foram informadas abertamente, em linguagem clara e objetiva e aquelas que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1). As voluntárias tiveram garantia de que a sua identidade e a confidencialidade dos dados foram totalmente preservados e que os dados coletados foram e serão usados exclusivamente nesta pesquisa.

Todo o material foi coletado e manipulado somente em ambiente hospitalar. De cada espécime foi coletado fragmentos com aproximadamente 0,5cm cúbicos do parênquima mamário normal e do nódulo tumoral, necessários para o estudo da composição química. Este material foi separado e identificado de acordo com sua origem e tipo (tecido normal ou tumoral).

Foram recrutadas inicialmente dezoito voluntárias, visto que não existe na literatura trabalhos desta natureza e que permitam definir o tamanho (n) da amostra (Weyne, 2004). Os dados obtidos após a análise destes dados poderão servir de base para calcular o tamanho da amostra em futuros projetos nesta linha de pesquisa.

Todo material destinado ao estudo foi colhido pela mesma pessoa após a retirada da peça cirúrgica. Os fragmentos foram pesados em balança de precisão imediatamente após serem coletadas e, posteriormente, estocadas em freezer a uma temperatura de – 80ºC. Este procedimento não implicou em nenhum prejuízo na rotina de processamento da peça cirúrgica pelo Serviço de Patologia do HCRP-FMRP-USP e HRLB-SES, não interferindo, deste modo, nos diagnósticos histológicos habituais.

O material foi recolhido sem contato manual, sendo feito através de pinças metálicas estéreis e imediatamente acondicionado à fresco em tubos tipo eppendorf sendo hermeticamente fechado após a pesagem.

As amostras ficaram armazenadas até atingir o número desejado (n=18) indicado no projeto da pesquisa. Esse tempo de armazenamento não interferiu nas propriedades do material, uma vez que estiveram hermeticamente fechados e mantidos congelados.

Todo o material foi processado e analisado em um único ensaio.

DETERMINAÇÃO DA ÁGUA TOTAL:

A amostra foi inicialmente avaliada pela determinação de sua massa através do seu peso em balança eletrônica de precisão, sendo obtido um valor com fração milesimal (0,0001g). Este valor foi lançado em um banco de dados. A seguir este material foi levado para o interior de uma estufa ventilada e foi mantido à temperatura de 100°C por um período de 16 horas.

Decorrido este prazo a amostra teve seu peso novamente aferido na mesma balança e seu valor anotado. Este valor foi lançado no banco de dados. A diferença entre o peso inicial e o peso após a secagem forneceu diretamente a quantidade de água que o tecido possuía (Tabela 5).

A determinação de porcentagem da amostra em água ou seu valor percentual em água é calculado pela fórmula: o módulo do valor da diferença entre o peso seco e o peso "*in natura*" dividido pelo valor do peso seco resultará em um valor, que multiplicado por 100 apresentará como resultado o teor de água em porcentagem da amostra (quantidade de água = (peso "in natura") – (peso seco) / (peso seco) x 100).

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA:

Esta etapa da análise é feita com a amostra desidratada e triturada mecanicamente por processo de fricção até ser obtido um conteúdo fino e homogêneo. Após, a amostra homogeneizada é ressuspendida em uma suspensão com 0,8ml de água destilada, ressuspendida em seguida acrescentado 2ml de metanol e 1ml de clorofórmio, levando à agitação em Vortex® por 10 segundos.

Em seguida foi adicionado 1ml de água destilada e 1ml de clorofórmio. Seguido de nova agitação desta vez, por 1 minuto.

Na sequencia o material foi centrifugado a 1000rpm por 2 minutos para separação das camadas de clorofórmio (sobrenadante) e a aquosa (inferior).

Próxima etapa foi transferir uma alíquota de 0,5ml da fase de clorofórmio livre de água para um tubo de ensaio de 10ml previamente pesado.

Este tubo foi colocado em estufa com circulação forçada de ar com temperatura de 45°C.

As amostras foram mantidas em estufa até a evaporação total do clorofórmio, quando observou-se a formação de pequeno precipitado no fundo do tubo. Na sequencia foi pesado em balança de precisão.

O cálculo da gordura foi feito pela diferença de pesagem da fase inicial com clorofórmio. A proporção da titulação é obtida pela multiplicação da diluição. O resultado final é a quantidade de gordura na amostra estudada.

DETERMINAÇÃO DA PROTEÍNA TOTAL

A determinação da proteína total consiste basicamente na dosagem da quantidade total de nitrogênio constante na amostra. Íons de cobre em meio alcalino (Reagente de Biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando cor púrpura, que tem absorbância máxima em 545ηm, proporcional à concentração das proteínas na amostra.

O método para determinação das proteínas totais é apresentado no quadro a seguir (Quadro 1).

Os seguintes reagentes e suas concentrações foram utilizados:

1. Reagente de Biureto.
2. Padrão a 4,0 g/dl.

Procedimento de calibração, Padrão e preparo da amostra:

Quadro 1 – método de dosagem de proteínas totais em uma amostra.

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder:			
	BRANCO	TESTE	PADRÃO
Amostra	-	0,02ml	-
Padrão (nº2)	-	-	0,02ml
Água destilada	0,02ml	-	-
Reagente Biureto	1ml	1ml	1ml

Depois de misturados, as amostras foram incubadas à 37°C durante 10 minutos. E, após, determinou-se as absorbâncias do teste e do padrão em 545ηm (530-550), acertando o zero com o branco. A cor foi estável por aproximadamente uma hora.

O cálculo das proteínas totais na amostra é obtido através da seguinte equação:

P%=[(leitura do espectrofotômetro x 100) x 100 / (peso do material seco x 0,20ml reagente LabTest)] dividido pelo volume da diluição da amostra.

Os resultados obtidos foram apresentados em tabelas, quadros e gráficos.

7. Análise Estatística

Os dados obtidos foram transcritos em tabelas do Excel (*Office Software*, *Microsoft*) e a análise estatística foi realizada com o programa MedCalc Statistical Software version 16.2.0, e os resultados expressos em tabelas e gráficos. Para as análises comparativas entre as médias da quantidade de água, de gordura e de proteínas foi utilizado o teste *t* para amostras pareadas com distribuição normal e teste de Wilcoxon para amostras pareadas com distribuição não paramétricas. Os resultados foram considerados significantes quando $p < 0,05$.

8. RESULTADOS:

As características epidemiológicas da população recrutada e que fizeram parte do estudo pode ser observado no Quadro 2. A idade variou de 33 a 88 anos com mediana de 56 anos. Os estádios clínicos iniciais (I e II) representaram 66,6% dos casos. O carcinoma ductal infiltrante foi o tipo histológico observado em 100% dos sujeitos. Quanto ao grau histológico, 66,6% dos tumores eram grau I ou II. Verificou-se ainda que apenas 55,5% dos tumores expressavam o receptor de estrogênio, e que 44,4% expressavam o receptor de progesterona, valores que estão abaixo do que se verifica na literatura. O HER-2 foi negativo em 72,2% dos tumores, o que está de acordo com a literatura. O número de gânglios comprometidos variou de zero a dezesseis, sendo que doze sujeitos apresentaram até três gânglios positivos.

Quadro 2. Dados clínicos e epidemiológicos das pacientes recrutadas:

amostra	*registro*	*iniciais*	*idade*	*EC*	*HISTOLOGIA*	*BLS*	*G*	*RE*	*RP*	*HER-2*	*GANGLIO*	*CISH*	*TNM*
1	0343223 K	CFG	47	I	CDI	NEG	I	+	+	NEG	0	NEG	pT2pN0
2	1189847 F	HBG	84	III	CDI	NR	III	-	-	3+	10/16	NR	pT2pN2
3	1204651 F	MAS	88	III	CDI	NR	III	-	-	2+	3/5	NR	pT2pN1
4	0797040 D	RMCS	41	II	CDI	NEG	III	-	-	2+	0	NEG	pT2pN0
5	0607506 G	MFA	51	II	CDI	NEG	III	-	-	2+	0	NR	pT2pN0
6	1207454 G	VGS	71	I	CDI	NEG	II	-	-	1+	0	POS	pT1cpN0
7	0781391 A	GJLS	43	II	CDI	NEG	II	+	-	2+	0	NEG	T2N0
8	0285177 B	SCG	59	III	CDI	POS	II	+	+	1+	3/20	NR	pT2pN2
9	0407641J	MS	46	II	CDI	NEG	II	+	+	3+	0	NR	pT2pN0
10	277218 PA	MM	64	II	CDI	POS	II	+	-	1+	3/16	NR	pT2pN1
11	99169 PA	VRV	60	II	CDI	POS	III	-	-	1+	7/16	NR	pT2pN1
12	131161 PA	ON	52	II	CDI	NEG	II	+	+	1+	0	NR	pT2pN0
13	315110 IT	CTLO	69	II	CDI	POS	I	+	+	3+	4/16	NR	pT2pN1
14	10923 IT	JMS	33	III	CDI	POS	II	+	-	1+	16/16	NR	pT2pN2
15	263754 PA	DBF	42	II	CDI	POS	III	-	-	NEG	3/18	NR	pT2pN1
16	137148 PA	MLSS	82	III	CDI	NR	II	+	+	NR	0	NR	pT3pN0
17	58174 PA	COF	53	III	CDI	POS	II	+	+	3+	5/16	NR	pT2pN2
18	123943 PA	ZR	66	II	CDI	POS	II	-	+	2+	4/16	NR	pT2pN1

ENSAIO PARA OBTENÇÃO DA QUANTIDADE DE ÁGUA:

No laboratório de espectrofotometria de massa as amostras foram transferidas para um recipiente que suportasse temperatura de 100°C por no mínimo 16 horas.

Foram então colocadas em tubos de ensaio de vidro, devidamente numeradas e identificadas. Os dados obtidos podem ser observados na Tabela 5.

O conteúdo esperado após a secagem seria de um precipitado ou uma emulsão "seca" após a evaporação completa da água tecidual.

No entanto, após a secagem do material, observou-se a formação de duas fases bem distintas em todas as amostras: uma sólida e outra oleosa. Este fato não estava previsto, e foi necessário outro passo para a separação entre a fase sólida e a fase oleosa, o que foi feito por decantação.

Todas as amostras foram imediatamente pesadas após a retirada da estufa.

Na separação da fase oleosa da fase sólida, todas as amostras foram pesadas em balança de precisão e identificadas conforme a Tabela 6.

ENSAIO PARA OBTENÇÃO DA QUANTIDADE DE GORDURA:

A amostra destinada à obtenção de gordura foi totalmente desidratada e triturada manualmente por processo de fricção até ser obtido um pó fino e homogêneo. Após a amostra foi ressuspendida em uma suspensão com 0,8ml de água destilada e em seguida acrescentado 2ml de metanol e 1ml de clorofórmio. Na sequencia foi submetida a agitação em Vortex® por 10 segundos.

Em seguida adicionado 1ml de água destilada e 1ml de clorofórmio. Nova agitação desta vez, por 1 minuto. A seguir foi levado à centrífuga à 1000rpm por 2 minutos para separação das camadas de clorofórmio (sobrenadante) e a aquosa (inferior).

A etapa seguinte constou da transferência de uma alíquota de 0,5ml da fase de clorofórmio livre de água para um tubo de ensaio de 10ml previamente pesado.

Este tubo foi então colocado em estufa com circulação forçada de ar com temperatura de 45°C.

Tabela 5. Resultados após evaporação completa de água tecidual.

Amostra	Paciente	Idade	Peso "in natura"	Peso desidratada	Teor de água (%)
1A	0343223 K	47	0,3927	0,2798	28,75%
1B	0343223 K	47	0,7664	0,5403	29,50%
2A	1189847 F	84	0,8424	0,5160	38,75%
2B	1189847 F	84	0,6524	0,4640	28,88%
3A	01204651 F	88	0,0749	0,0352	53,00%
3B	01204651 F	88	0,6101	0,3774	38,14%
4A	0797040 D	41	0,2463	0,1209	50,91%
4B	0797040 D	41	0,2786	0,1736	37,69%
5A	0607506 G	51	0,2321	0,1189	48,77%
5B	0607506 G	51	0,6391	0,3565	44,22%
6A	1207454 G	71	0,2380	0,1193	49,87%
6B	1207454 G	71	0,9399	0,6021	35,94%
7A	0781391 A	43	0,0341	0,0187	45,16%
7B	0781391 A	43	0,3110	0,1922	38,20%
8A	0285177 B	59	0,3542	0,1906	46,19%
8B	0285177 B	59	0,2418	0,1159	52,07%
9A	0407641 J	46	0,0933	0,0641	31,30%
9B	0407641 J	46	0,4042	0,2529	37,43%
10A	277218 PA	64	0,1185	0,0682	42,45%
10B	277218 PA	64	1,1225	0,4611	58,92%
11A	99169 PA	60	0,1880	0,0924	50,85%
11B	99169 PA	60	0,2024	0,1129	44,22%
12A	131161 PA	52	0,1854	0,0853	53,99%
12B	131161 PA	52	0,1411	0,0761	46,07%
13A	315110 IT	69	0,7626	0,2584	66,12%
13B	315110 IT	69	0,8439	0,3646	56,80%
14A	10923 IT	33	0,8979	0,3033	66,22%
14B	10923 IT	33	0,9273	0,3443	62,87%
15A	263754 PA	42	0,9199	0,4390	52,28%
15B	263754 PA	42	0,7498	0,3249	56,67%
16A	137148 PA	82	0,0860	0,0512	40,47%
16B	137148 PA	82	0,7941	0,4342	45,32%
17A	58174 PA	53	0,6259	0,2229	64,39%
17B	58174 PA	53	1,3297	0,5147	61,29%
18A	123943 PA	66	0,2771	0,1306	52,87%
18B	123943 PA	66	0,7183	0,3274	54,42%

O tubo foi mantido em estufa até a evaporação total do clorofórmio, quando observou-se a formação de pequeno precipitado no fundo do tubo. A seguir este precipitado foi pesado em balança de precisão.

O cálculo da gordura foi obtido pela diferença entre a pesagem da fase inicial com clorofórmio com a fase pós evaporação de todo o clorofórmio. A proporção da titulação foi obtida pela multiplicação pela constante da diluição realizada. O resultado obtido é a quantidade de gordura na amostra estudada. Os valores de cada etapa podem ser encontrados na Tabela 6.

Tabela 6: Ensaio para obtenção de gordura total da amostra. Síntese dos valores encontrados.

* IDENT	Tubo vazio	Pós evap.clorofor	gord pós clorof	Óleo pós secagem	Fase sólida	Peso total da amostra desidr.	Vol. da amostra total (ml)	Total de gord. da amostra em g	Gordura em 100g	% óleo	% óleo pós clorof	% total
201A	3,6054	3,6283	0,0229	0,1387	0,1411	0,3027	2,0000	0,1616	**53,39%**	45,82	16,23	62,05
201B	5,5488	5,5627	0,0139	0,3198	0,2205	0,5542	2,0000	0,3337	**60,21%**	57,70	6,30	64,01
202A	3,5190	3,5495	0,0305	0,1445	0,3715	0,5465	2,0000	0,1750	**32,02%**	26,44	8,21	34,65
202B	5,4672	5,4810	0,0138	0,2180	0,2460	0,4778	2,0000	0,2318	**48,51%**	45,63	5,61	51,24
203A	3,4890	3,4913	0,0023	0,0214	0,0138	0,1052	2,0000	0,0237	**22,53%**	20,34	16,67	37,01
203B	5,1799	5,1876	0,0077	0,1934	0,1840	0,3851	2,0000	0,2011	**52,22%**	50,22	4,18	54,41
204A	5,8429	5,8697	0,0268	0,0028	0,1181	0,1477	2,0000	0,0296	**20,04%**	1,90	22,69	24,59
204B	3,5587	3,5639	0,0052	0,0718	0,1018	0,1788	2,0000	0,0770	**43,06%**	40,16	5,11	45,26
205A	4,6346	4,6468	0,0122	0,0268	0,0921	0,1311	2,0000	0,0390	**29,75%**	20,44	13,25	33,69
205B	3,5444	3,5650	0,0206	0,0961	0,2604	0,3771	2,0000	0,1167	**30,95%**	25,48	7,91	33,39
206A	4,8057	4,8440	0,0383	0,0089	0,1104	0,1576	2,0000	0,0472	**29,95%**	5,65	34,69	40,34
206B	5,3838	5,4006	0,0168	0,2706	0,3315	0,6189	2,0000	0,2874	**46,44%**	43,72	5,07	48,79
207A	3,5330	3,5370	0,0040	0,0032	0,0155	0,0227	2,0000	0,0072	**31,72%**	14,10	25,81	39,90
207B	3,4855	3,4875	0,0020	0,0810	0,1112	0,1942	2,0000	0,0830	**42,74%**	41,71	1,80	43,51
208A	3,5652	3,5676	0,0024	0,0908	0,0998	0,1930	2,0000	0,0932	**48,29%**	47,05	2,40	49,45
208B	5,2689	5,2729	0,0040	0,0398	0,0761	0,1199	2,0000	0,0438	**36,53%**	33,19	5,26	38,45
209A	3,8306	3,8316	0,0010	0,0370	0,0271	0,0651	2,0000	0,0380	**58,37%**	56,84	3,69	60,53
209B	3,4563	3,4705	0,0142	0,1195	0,1334	0,2671	2,0000	0,1337	**50,05%**	44,74	10,62	55,37
210A	5,2050	5,2079	0,0029	0,0314	0,0368	0,0711	2,0000	0,0343	**48,24%**	44,16	7,88	52,04
210B	5,5516	5,5607	0,0091	0,1323	0,3288	0,4702	2,0000	0,1414	**30,07%**	28,14	2,77	30,90
211A	5,5489	5,5676	0,0187	0,0184	0,0740	0,1111	2,0000	0,0371	**33,39%**	16,56	25,27	41,83
211B	3,5882	3,5935	0,0053	0,0453	0,0676	0,1182	2,0000	0,0506	**42,81%**	38,32	7,84	46,17
212A	3,4939	3,5051	0,0112	0,0182	0,0671	0,0965	2,0000	0,0294	**30,47%**	18,86	16,69	35,55
212B	5,1740	5,1759	0,0019	0,0261	0,0500	0,0780	2,0000	0,0280	**35,90%**	33,46	3,80	37,26
213A	4,6460	4,6880	0,0420	0,0280	0,2304	0,3004	2,0000	0,0700	**23,30%**	9,32	18,23	27,55
213B	5,3484	5,3596	0,0112	0,1302	0,2344	0,3758	2,0000	0,1414	**37,63%**	34,65	4,78	39,42
214A	3,5707	3,5852	0,0145	0,0430	0,2603	0,3178	2,0000	0,0575	**18,09%**	13,53	5,57	19,10
214B	5,5712	5,5862	0,0150	0,0740	0,2703	0,3593	2,0000	0,0890	**24,77%**	20,60	5,55	26,14
215A	3,8035	3,8413	0,0378	0,0580	0,3810	0,4768	2,0000	0,0958	**20,09%**	12,16	9,92	22,09
215B	3,5184	3,5260	0,0331	0,0331	0,2918	0,3580	2,0000	0,0662	**18,49%**	9,25	11,34	20,59
216A	4,9094	4,9298	0,0204	0,0052	0,0460	0,0716	2,0000	0,0256	**35,75%**	7,26	44,35	51,61
216B	5,6714	5,6831	0,0117	0,1420	0,2922	0,4459	2,0000	0,1537	**34,47%**	31,85	4,00	35,85
217A	5,5797	5,5942	0,0145	0,0300	0,1929	0,2374	2,0000	0,0445	**18,74%**	12,64	7,52	20,15
217B	5,2416	5,2472	0,0056	0,0587	0,4560	0,5203	2,0000	0,0643	**12,36%**	11,28	1,23	12,51
218A	5,2587	5,2802	0,0215	0,0320	0,0986	0,1521	2,0000	0,0535	**35,17%**	21,04	21,81	42,84
218B	3,5329	3,5449	0,0120	0,1070	0,2204	0,3394	2,0000	0,1190	**35,06%**	31,53	5,44	36,97

* Notar que na coluna identificação a nomenclatura “A” corresponde ao grupo tumor e a nomenclatura “B” corresponde ao grupo Controle. Todos os valores inerentes a peso, estão expressos em gramas (g).

ENSAIO PÁRA OBTENÇÃO DA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS:

Os resultados encontrados após as reações para a quantificação do conteúdo de proteínas nas amostras são demonstrados na Tabela 7.

Tabela 7: Ensaio para dosagem de proteínas na amostra. Valores encontrados.

Ident.	Peso da amostra (g)	Padrão g/dl	fator	Volume total da diluição (ml)	Volume utilizado para leitura (ml)	Leitura do espectofo tometro	G de prot no material seco em g%	Gramas de proteínas em 0,20ml	Gramas de proteínas na amostra	% proteínas Na amostra estudada
1A	0,3573	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0831	1,40	0,000280	0,028	**7,83%**
1B	0,0693	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0575	0,97	0,000194	0,019	**5,42%**
2A	0,2811	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,2522	4,25	0,000849	0,085	**23,77%**
2B	0,1278	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,2101	3,54	0,000707	0,071	**19,80%**
3A	0,0211	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0785	1,32	0,000264	0,026	**7,40%**
3B	0,0834	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0690	1,16	0,000232	0,023	**6,50%**
4A	0,0727	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,2417	4,07	0,000814	0,081	**22,78%**
4B	0,0729	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1715	2,89	0,000577	0,058	**16,16%**
5A	0,0311	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1388	2,34	0,000467	0,047	**13,08%**
5B	0,0542	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,2176	3,66	0,000733	0,073	**20,51%**
6A	0,0479	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0799	1,35	0,000269	0,027	**7,53%**
6B	0,1366	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1581	2,66	0,000532	0,053	**14,90%**
7A	0,0151	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1397	2,35	0,000470	0,047	**13,16%**
7B	0,0884	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1810	3,05	0,000609	0,061	**17,06%**
8A	0,0699	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0385	0,65	0,000130	0,013	**3,63%**
8B	0,0710	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1003	1,69	0,000338	0,034	**9,45%**
9A	0,0880	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0854	1,44	0,000288	0,029	**8,05%**
9B	0,0422	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0688	1,16	0,000232	0,023	**6,48%**
10A	0,0621	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0344	0,58	0,000116	0,012	**3,24%**
10B	0,0215	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1006	1,69	0,000339	0,034	**9,48%**
11A	0,0162	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0505	0,85	0,000170	0,017	**4,76%**
11B	0,0365	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0816	1,37	0,000275	0,027	**7,69%**
12A	0,0254	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0941	1,58	0,000317	0,032	**8,87%**
12B	0,0193	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1764	2,97	0,000594	0,059	**16,62%**
13A	0,0231	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0361	0,61	0,000122	0,012	**3,40%**
13B	0,0516	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0350	0,59	0,000118	0,012	**3,30%**
14A	0,0770	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1590	2,68	0,000434	0,043	**12,16%**
14B	0,0881	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0951	1,60	0,000320	0,032	**8,96%**
15A	0,0118	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,2474	4,17	0,000833	0,083	**23,31%**
15B	0,0131	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1792	3,02	0,000603	0,060	**16,89%**
16A	0,0025	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0731	1,23	0,000246	0,025	**6,89%**
16B	0,5300	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1801	3,03	0,000606	0,061	**16,97%**
17A	0,0132	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,1027	1,73	0,000346	0,035	**9,68%**
17B	0,0258	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,2057	3,46	0,000693	0,069	**19,38%**
18A	0,0123	4,0	16,84	2,0	1,0200	0,0148	0,25	0,000050	0,005	**1,39%**
18B	0,0261	4,0	16,84	2,25	1,0200	0,0871	1,47	0,000293	0,029	**8,21%**

Notar que na coluna identificação a nomenclatura “A” corresponde ao grupo tumor e a nomenclatura “B” corresponde ao grupo Controle

Na Tabela 8 pode-se ver a síntese consolidada dos resultados obtidos após o processamento das amostras.

Após a determinação dos valores de cada variável nas amostras do grupo Controle e do grupo Tumor, procedeu-se a análise comparativa entre as suas médias.

A análise do percentual de água nas amostras do grupo Controle foi menor quando comparadas ao grupo Tumor, porém a diferença entre suas médias não alcançou significância, com *p*=0,14 (Figura 1).

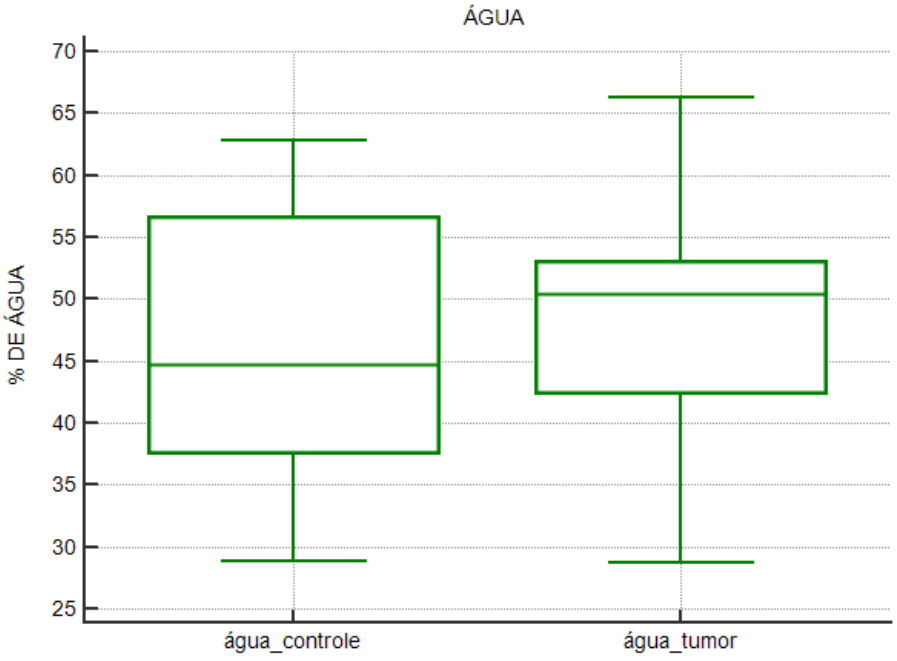

Figura 1: Médias, primeiro e terceiro quartis e DP da concentração de água nos dois grupos estudados.

Quando se comparou as médias do conteúdo de gordura entre os dois grupos, verificou-se que o grupo Controle foi mais rico neste elemento que o grupo Tumor, mas a diferença também estatisticamente não foi significante, sendo o *p*= 0,09 (Figura 2).

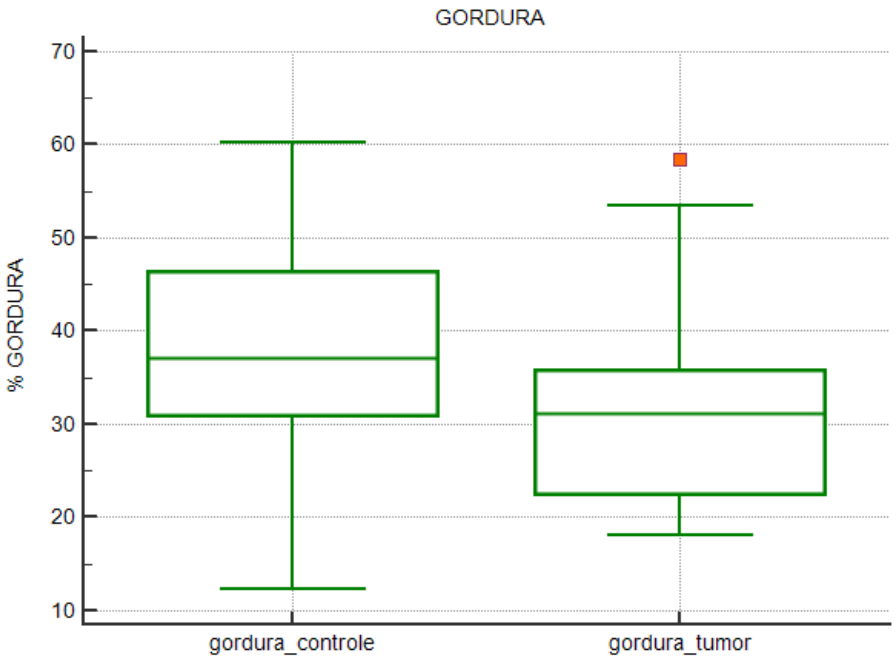

Figura 2: Médias, primeiro e terceiro quartis e DP da concentração de gordura nos dois grupos estudados.

Da mesma forma, o conteúdo de proteínas mostrou-se maior no grupo Controle quando da comparação com o grupo Tumor, mas novamente esta diferença não foi significante, com *p*=0,09 (Figura 3).

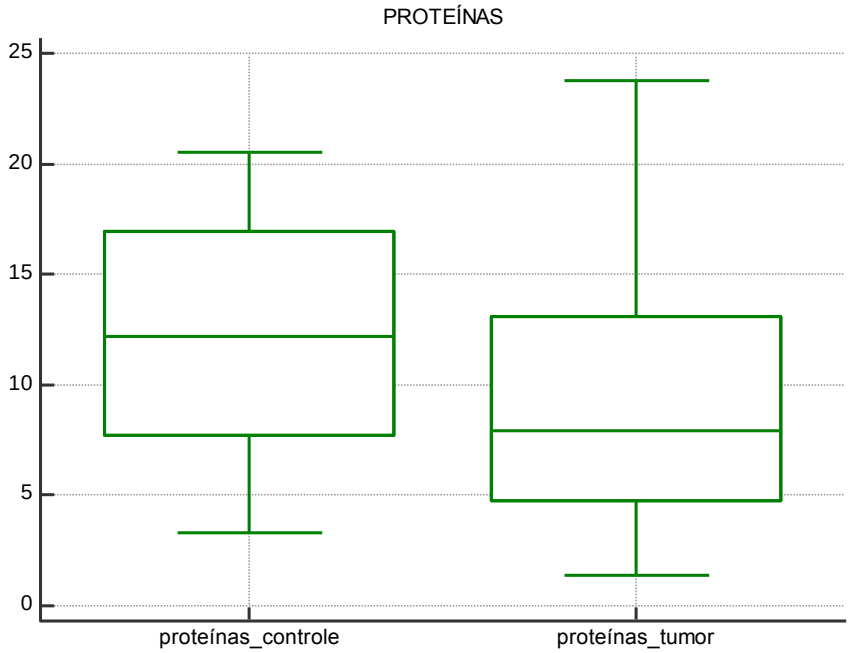

Figura 3: Médias, primeiro e terceiro quartis e DP da concentração de proteína nos dois grupos estudados.

Tabela 8: Síntese dos resultados.

		controle				tumor			
identificação	idade	% água	% gordura	% proteínas	total	% água	% gordura	% proteínas	total
0343223 K	47	29,50	60,21	5,42	95,13	28,75	53,39	7,83	89,97
1189847 F	84	28,88	48,51	19,80	97,19	38,75	32,02	23,77	94,54
1204651 F	88	38,14	52,22	6,50	96,86	53,00	22,53	7,40	82,93
0797040 D	41	37,69	43,06	16,16	96,91	50,91	20,04	22,78	93,73
0607506 G	51	44,22	30,95	20,51	95,68	48,77	29,75	13,08	91,60
1207454 G	71	35,94	46,44	14,90	97,28	49,87	29,95	7,53	87,35
0781391 A	43	38,20	42,74	17,06	98,11	45,16	31,72	13,16	90,04
0285177 B	59	52,07	36,53	9,45	98,05	46,19	48,29	3,63	98,11
0407641J	46	37,43	50,05	6,48	93,96	31,30	58,37	8,05	97,72
277218 PA	64	58,92	30,07	9,48	98,47	42,45	48,24	3,24	93,93
99169 PA	60	44,22	42,81	7,69	94,72	50,85	33,39	4,76	89,00
131161 PA	52	46,07	35,90	16,62	98,59	53,99	30,47	8,87	93,33
315110 IT	69	56,80	37,63	3,30	97,73	66,12	23,3	3,40	92,82
10923 IT	33	62,87	24,77	8,96	96,60	66,22	18,09	12,16	96,47
263754 PA	42	56,67	18,49	16,89	92,05	52,80	20,09	23,31	95,68
137148 PA	82	45,32	34,47	16,97	96,76	40,47	35,75	6,89	83,11
58174 PA	53	61,29	12,36	19,38	93,03	64,39	18,74	9,68	92,81
123943 PA	66	54,42	35,06	8,21	97,69	52,87	35,17	1,39	89,43

9. DISCUSSÃO

O intervalo de idade dos sujeitos estudados variou entre 33 a 88 anos de idade. Estes limites de intervalos foram plenamente compatíveis com a população brasileira (INCA, 2014). A mediana de idade foi 56 anos, o que condiz com a literatura clássica. Para o ano de 2016 o INCA calcula um risco de desenvolver neoplasia de mama, na população brasileira de 56 mulheres a cada 100.000 habitantes. Quanto maior a idade maior a possibilidade de desenvolvimento de neoplasia. Na anamnese dirigida quando interrogado o fator familiar, pode-se perceber a genética como fator importante na possível etiologia da neoplasia (De Vita, 2015) (Robbins, 2014). Além de ser considerado um tipo de câncer multifatorial, envolvendo fatores biológicos-endócrinos, vida reprodutiva, envelhecimento, fatores relacionados à vida da mulher tais como uso de hormônios de origem exógena.

A predominância de estadios clínicos iniciais (I e II) foi observada em 66,6% da amostra sendo compatível com o observado na literatura (INCA, 2014). O carcinoma ductal infiltrante foi o encontrado em 100% das amostras e também é o mais incidente em neoplasia da mama. De todos os tipos histológicos de neoplasia de mama o carcinoma ductal infiltrante é encontrado em cerca de 80% de todos os indivíduos diagnosticados. A literatura (INCA, 2014) corrobora este fato.

O fator de crescimento (HER-2) foi negativo em 72,2% das amostras, o que também reafirma o descrito na literatura.

AGUA

A análise do ensaio para água nos permitiu observar que a maioria das amostras, 11 delas (61,1%) correspondentes ao grupo Tumor, tem maior porcentagem de água, do que as 7 (38,9%) amostras do grupo Controle. Fato visto na figura 5.

Para análises comparativas entre as médias da quantidade de água, de gordura e de proteínas foi utilizado o teste *t* para amostras pareadas com distribuição normal. Na figura notar o eixo das abscissas representando os sujeitos

pesquisados. O eixo das ordenadas sendo a percentagem de água nos tecidos estudados.

Para determinação estatística foi utilizado o teste de Wilcoxon test, com p = 0,129.

Esta variação estatística não excedeu 5% de diferença entre as dosagens dos grupos controle e tumor, o que pelo teste Wilcoxon não a torna estatisticamente significativa.

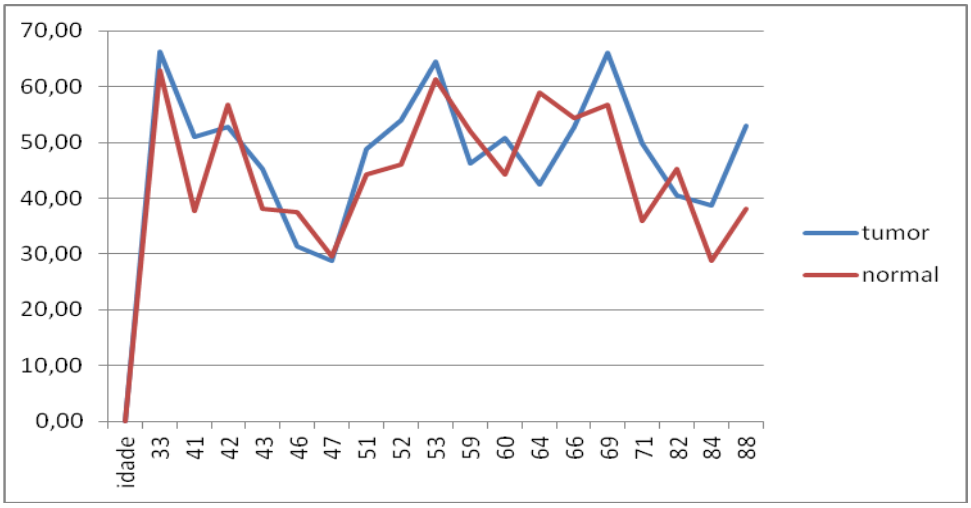

Figura 4. Pareamento de dados. Porcentagem de água e idade.

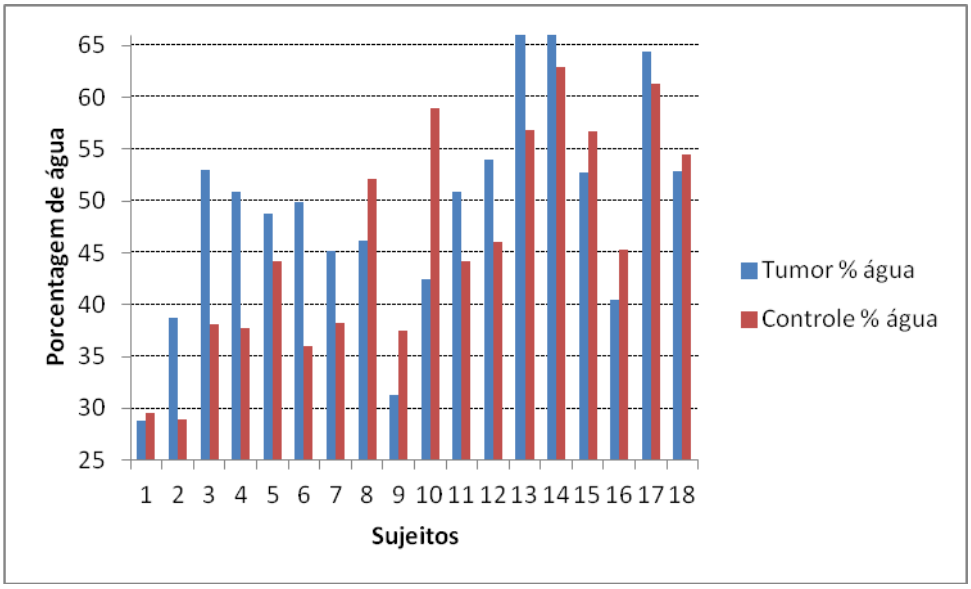

Figura 5. Pareamento de dados. Porcentagem de água no grupo tumor e grupo controle. Valores em porcentagem.

Na literatura (De Vita, 2015), as concentrações de água também foram aumentadas em qualquer tecido quando na presença de alguma alteração de metabolismo (Lehninger, 2014). Para todo o tecido humano quando está presente algum tipo de "desvio" de metabolismo, a quantidade de água tende a ser maior devido ao comportamento das reações químicas em andamento, sejam elas por aumento da atividade e velocidade do metabolismo, da necrose, da inflamação e vascularização (Bozzetti, 2008). Ressalta-se que as concentrações de água no decorrer da vida comportam-se de maneira inversa em relação à idade, ou seja, sua concentração diminui com o aumento da idade. Assim, a fisiologia exibe que quanto maior a idade de um indivíduo, menores as quantidades de água corporal total do mesmo.

Desta forma, como o metabolismo do tumor é diferente em relação ao tecido normal, podemos observar que existiu a “quebra” da homeostase fisiológica neste tecido, fato este que determina alteração das concentrações de íons e sais minerais que provocam uma alteração na fisiologia da osmose e difusão no citoplasma celular e ainda no interstício celular (Lehninger, 2014), que culmina com o acumulo maior de água no tecido. Este fato foi esperado, o que mostrou concordância entre o observado e com a descrição da literatura fisiológica.

GORDURA

A bibliografia utilizada como base faz saber que na mama feminina, durante o processo de "envelhecimento", que ocorre uma lipossubstituição no tecido mamário (De Vita, 2015); (Gomes, 1997). A idade de maior intensidade do processo de lipossubstituição ocorre entre os 40 e 50 anos de idade e se estende por mais alguns anos pós a menopausa.

Fato relevante na epidemiologia da mulher brasileira é o padrão com tendencia para obesidade. (IBGE, 2014; INCA,2014). Além do processo de lipossubistituição fisiológica soma-se o acúmulo gorduroso pelo processo de obesidade. Esta relação é esperada e justifica a maior concentração de gorduras no grupo Controle. O metabolismo fisiolólogico está em homeostase e a deposição de gordura se fundamenta.

Adjunto ao raciocínio e tomando como exemplo o fato da concentração fisiológica da água ser menor no idoso, quando comparado à pessoas mais jovens, é possivel entender que há uma relação de proporcionalidade das concentrações de água e gordura no grupo Controle.

Observando as figuras 6 e 7 vemos que elas correlacionam a quantidade de gordura encontrada nas amostras.

A quantidade de gordura encontrada nas amostras de tecidos normais comparada a quantidade encontrada no tecido tumoral nos sujeitos da pesquisa quando comparados entre sí não mostraram diferença significativa ($p>0,05$). A média no ensaio ficou maior para o grupo Controle e menor para o grupo Tumor.

Boer *et al*, (2015) em um estudo piloto para avaliação de densidade radiológica como método de diagnóstico de cancer de mama por ressonância magnética, tambem encontrou descrição semelhante em relação a lipossubistituição com inversão de proporcionalidade entre gordura e água.

Em contrapartida quando isoladas e pareadas para serem comparadas, as concentrações de gordura com o teor de água, podemos perceber uma razão de inversão de proporcionalidade: quanto maior o teor de água em valor absoluto, na amostra, menor o teor de gordura. Isto no mesmo sujeito, conforme pode ser visto nas Figuras 7 e 8. Por conseguinte, este fato foi uma observação esperada, explicada pela teoria do envelhecimento, lipossubstituição e declinio fisiológico de

água (De Vita, 2015) mas insuficiente para caracterizar uma regra no tecido tumoral do normal devido a este percentual não ser significante.

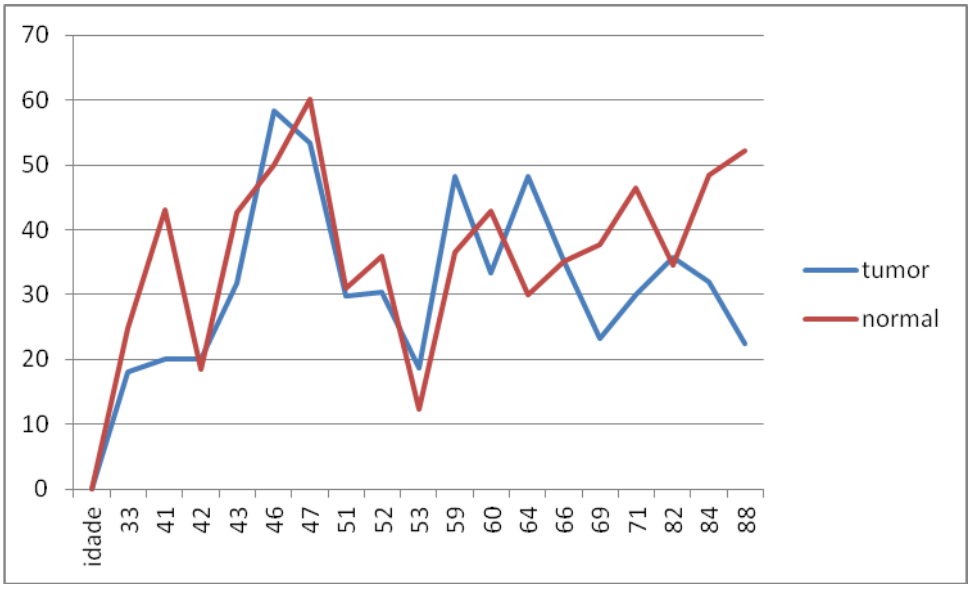

Figura 6. Pareamento de dados. Porcentagem de gordura no decorrer da idade.

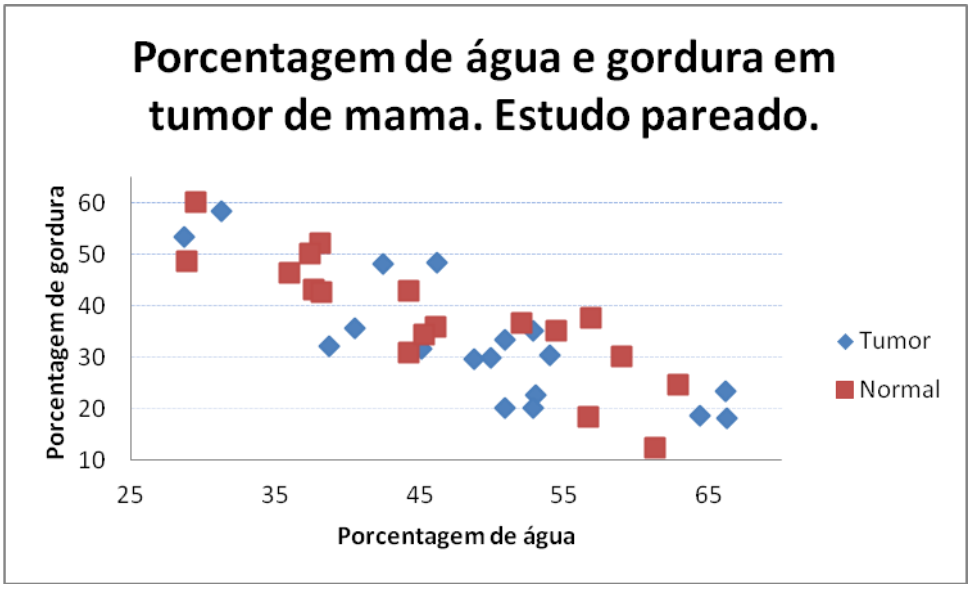

Figura 7. Estudo pareado de agua contracenando com gordura.

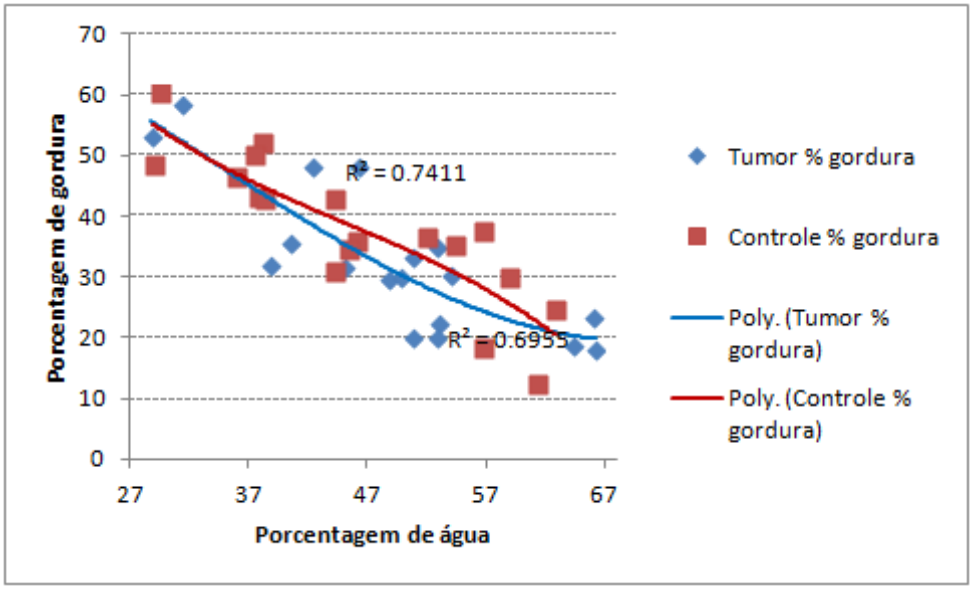

Figura 8. Curva com dispersão de dados. Porcentagem de gordura e água.

PROTEÍNAS

A revisão da literatura nos permite dizer que o organismo quando em condições metabólicas normais consegue obter as proteínas necessárias à sua subsistência, sejam elas as essenciais (obtidas através da alimentação) ou as naturais (o próprio organismo sintetiza) (Lenhninger, 2014). Desviado este metabolismo, o que acontece durante o processo da tumorigênese (De Vita, 2015), a homeostase fisiológica é quebrada. Desta forma, a absorção e síntese de proteínas não se concretizam e culminam em direção ao catabolismo.

O processo do envelhecimento também determina uma redução no metabolismo com quedas de índices de massa corpórea frente ao avançar da idade (Nourissat *et al*, 2007). A situação de síndrome consuptiva é claramente notada nos pacientes que estão com processo de neoplasia em andamento.

A relação de concentração mais baixa de proteínas no grupo Tumor com valor menor que o grupo Controle foi verificada, o que pode ser explicada pela teoria da quebra de homeostase descrita na literatura.

Na interpretação dos resultados obtidos após a analise dos valores encontrados, observamos que dos 18 sujeitos avaliados, apena 8 sujeitos do grupo

Tumor (44,5%) tinham maior concentração de proteínas que o grupo Controle que, por sua vez apresentou 10 sujeitos (55,5%) com concentração de proteínas superior aos sujeitos do grupo Tumor. Este fato foi o esperado (Ucko, 1992; Lehninger, 2014; Robbins, 2014).

A figura 8 nos permite visualizar a correlação e pareamento dos dados.

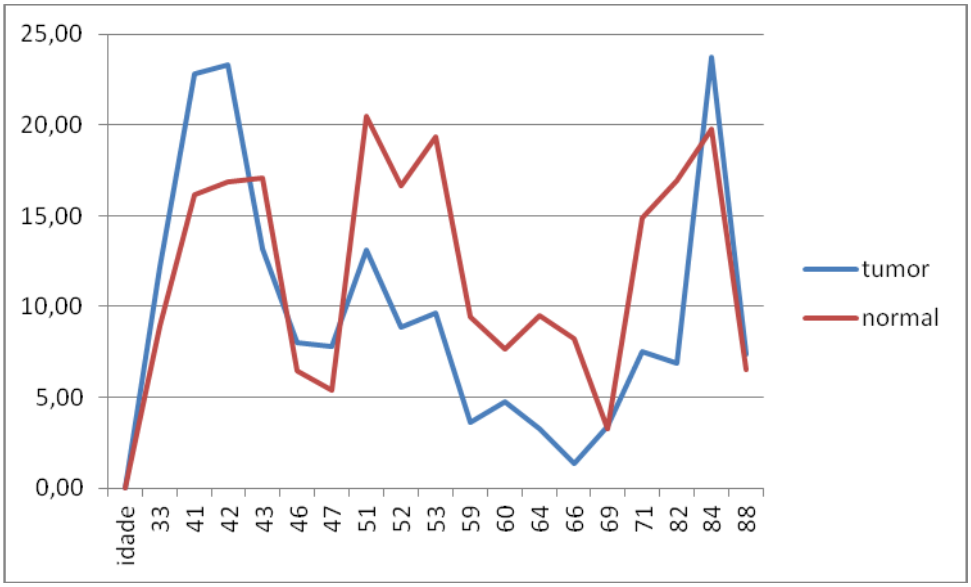

Figura 9 – Pareamento de dados. Porcentagem de proteínas e idade.

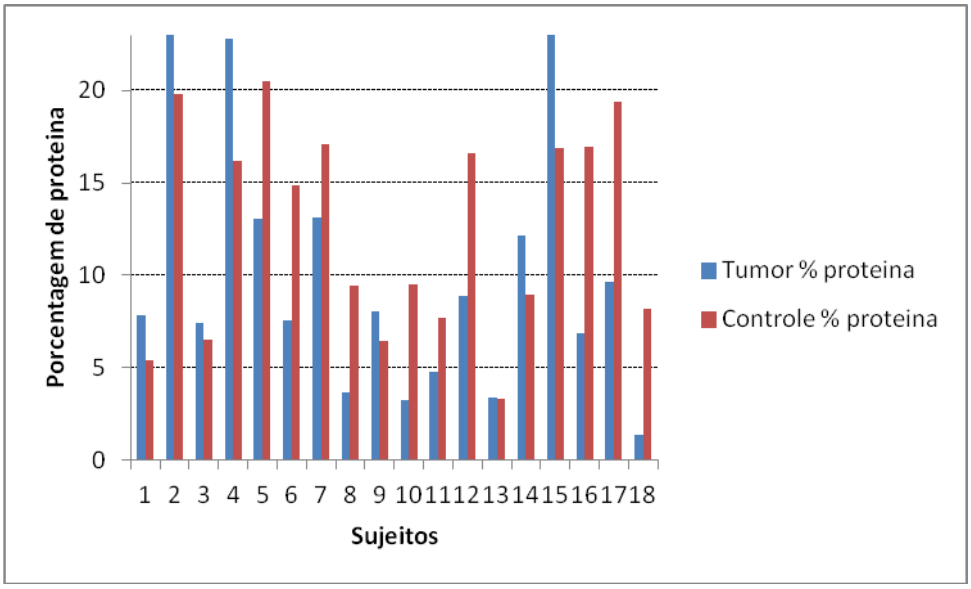

Figura 10. Dosagem total de proteínas no tumor e no controle, nos sujeitos.

CINZAS

Das variáveis pesquisadas, ao final da realização do ensaio, houve um remanescente de material que denominamos “cinzas”. Tomando por base o material “in natura”, depois de extraída toda a água, toda gordura e toda a proteína do material, houve um remanescente que contém outras substâncias como, por exemplo, os minerais e os glicídios.

O cálculo da quantidade deste material é feito segundo a equação: Teor de Cinzas = Peso total da amostra – teor total de água – teor total de gorduras – teor total de proteínas.

Um dado relevante a estes achados diz respeito ao grupo Tumor. Podemos observar na Figura 11, que quanto maior a idade do paciente, maior é o teor de cinzas encontrado após o processamento do material. Este fato não foi observado no grupo Controle. No entanto, este achado não foi objetivo deste estudo, sendo apenas um dado observacional, não sendo possível se correlacionar com alguma característica ou propriedade das amostras.

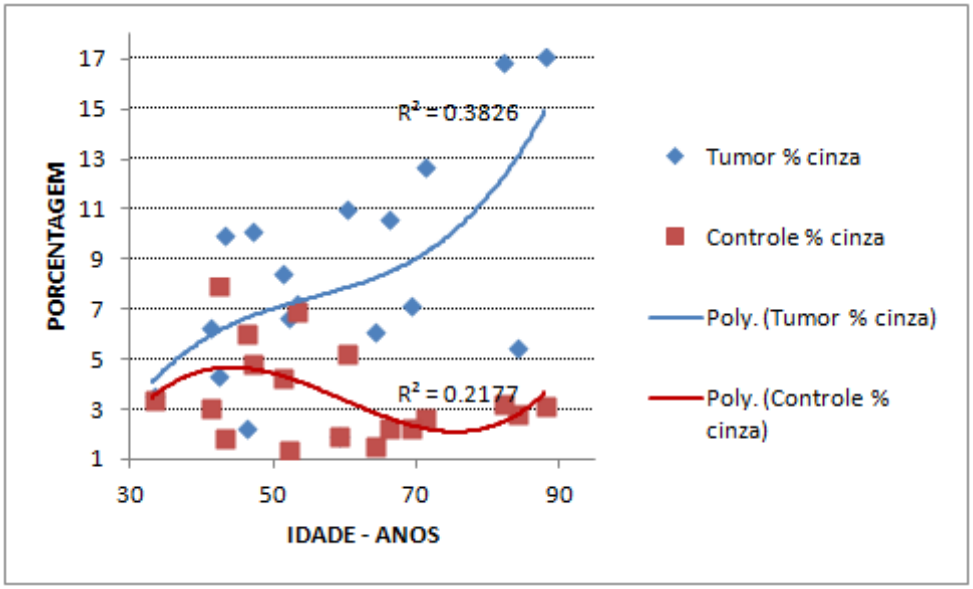

Figura 11. porcentagem de resíduos pós ensaio pareado com a idade.

10. CONCLUSÕES:

A concentração de água no grupo Controle foi menor que a concentração de água no grupo Tumor.

A concentração de gordura no grupo Controle foi maior que no grupo Tumor.

A concentração de proteínas no grupo Controle foi maior de que no grupo Tumor.

Na análise comparativa, de uma maneira consolidada, observou-se que o grupo Tumor apresentou tendência a maior concentração de água e menor concentração de gordura e proteínas que o grupo Controle. No entanto, as diferenças encontradas não alcançaram significância. Portando, o estudo nos permite concluir que as concentrações de água, proteínas e gordura no tecido normal são semelhantes ao tecido tumoral na população estudada.

11. COMENTÁRIOS

Um fato observado ao interpretar os resultados obtidos após a conclusão dos ensaios, foi que ao se parear os dados das concentrações de gordura e água e correlacionando-as, é possível observar uma inversão de proporcionalidade, ou seja, nas amostras estudadas, quanto maior o teor de água menor teor de gordura. Isto foi observado tanto no grupo Controle como no grupo Tumor o que pode ser visto nas Figuras 6, 7 e 8. Ainda assim, à análise destes dados não é suficiente para determinar e/ou diagnosticar se uma amostra é tumor ou tecido mamário normal. Este achado caracteriza apenas um dado observacional.

Outro dado observado foi o teor de Cinzas pós processamento dos ensaios. Observou-se que no grupo tumor, quanto maior a idade do sujeito, maior o teor de cinzas. Este fato não visto no grupo Controle, conforme ilustrado na Figura 11. E no grupo Controle, em nenhum dos sujeitos o teor de cinzas foi inferior a 9%. Nada podemos concluir a este respeito, mas foi um dado observado na interpretação dos resultados, o que pode ser explorado em outro estudo.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Modena, S. F., L. R. Meirelles, et al. (2009). "Role of nitrites in the genesis of adenocarcinoma associated with Barrett's esophagus." In Vivo 23(6): 919-923.

Brasil. INCA. Ministério da Saúde. Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil, 2006.

Brasil. INCA. Ministério da Saúde. Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Atlas de mortalidade por câncer no Brasil 1979-1999. - Rio de Janeiro: INCA, 2002.

Cibeira, G H. Guaragna, R M. Lipídio: fator de risco e prevenção do câncer de mama. Revista Nutrição de Campinas, 19(1):65-75, Jan/Fev, 2006.

FRANCO, Eduardo L. - Epidemiology in the Study of Cancer. McGill University and Armand-Frappier Institute, Montreal, Canada. 1997.

Gomes, R. Epidemiologia do Câncer.Oncologia Básica. 1ª edição. Rio de Janeiro RJ. RevinteR. 1997.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. Ano de 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. Ano de 2014.

INCA - Ministério da Saúde. Revista Brasileira de Cancerologia - Volume 43 n°3 Jul/Ago/Set 1997.Copyright © 1996-2002.

INCA. Ministério da Saúde. Hábitos alimentares da população brasileira, 2006. Disponível em http//:www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=13. Acessado em 07 de outubro de 2007.

Lehninger, Albert Lester, Princípios da Bioquímica. 3ª edição. Sarvier. 1984.

Lehninger, Albert Lester, Princípios da Bioquímica. 6ª edição. Sarvier. 2014.

Moraes, MF. Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil. Revista Brasileira de Cancerologia – Volume 43, número 3. 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - Classificação Internacional de Doenças, Lesões e Causas de óbitos. 9ª revisão, 1.975. OMS/ Centro Colaborador da OMS para Classificação de Doenças em Português/MS/USP/OPAS. São Paulo. 1.985.

Steinhart, H, Rickert R, Winkler K. trans fatty acids (TFA): analysis, ocurrence, intake and clinical relevance. European Journal Med Res. 2003; 8(8): 358-62.

Vannucchi, H et al. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. Medicina, Ribeirão Preto, 31: 31-44, Jan/Mar. 1998.

De Vita VT, Hellmans S, Rosenberg SA. Cancer: Principles & Pratice of Oncology. Lippincott-Raven. 5th edition. 1995.

De Vita VT, Hellmans S, Rosenberg SA. Cancer: Principles & Pratice of Oncology. Lippincott/Wolters Kluwer Healht. 10th edition. 2015.

Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1989.

Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathology Basis of Disease. New York. Saunders Company. 9th edition. 2014.

Ucko, David A. Química para ciências da Saúde. 1ª edição. São Paulo. Manole. 1992.

Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. Br J Nutr 2001; 85 (Suppl 2):S67-74.

Weyne GRS. Determinação do tamanho da amostra em pesquisas experimentais na área da saúde. Arquivos Médicos da Faculdade de Medicina do ABC, volume 29, número 2. Julho-Dezembro 2004.

Blackburn GL, Bistrian BR, Maini BS, Schlamm HT, Smith MF. Nutritional and metabolic assessment of the hospitalized patient. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 1977;1(1):11-22.

Kuhajda, F. P. (2006). "Fatty acid synthase and cancer: new application of an old pathway." Cancer Res 66(12): 5977-5980.

Linos, E., W. C. Willett, et al. (2010). "Adolescent diet in relation to breast cancer risk among premenopausal women." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(3): 689-696.

Modena, S. F., L. R. Meirelles, et al. (2009). "Role of nitrites in the genesis of adenocarcinoma associated with Barrett's esophagus." In Vivo 23(6): 919-923.

Potter, J. D. (2005). "Vegetables, fruit, and cancer." Lancet 366(9485): 527-530.

Smith-Warner, S. A., D. Spiegelman, et al. (2001). "Types of dietary fat and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies." Int J Cancer 92(5): 767-774.

Boer L.L., Molenkamp B.G. et al. "Fat/water ratios meansured with diffuse reflectance spectroscopy to detect breast tumor boundaries." Breast Cancer Res Treat. 152:509-418. 2015.

Bozzetti F. Screening the nutritional status in oncology: a preliminary report on 1,000 outpatients. Support Care Cancer 2008 Jun 26.

Nourissat A, Mille D, Delaroche G, Jacquin JP, Vergnon JM, Fournel P, Seffert P, Porcheron J, Michaud P, Merrouche Y, Chauvin F. Estimation of the risk for nutritional state degradation in patients with cancer: development of a screening tool based on results from a cross-sectional survey. Annals of Oncology: official journal of European Society for Medical Oncology/ESMO 2007 Nov; 18(11): 1882-1886.

Boer *et al*. Fat/water ratios measured with reflectance spectroscopy to detect breast tumor boundaries. Breast Cancer Res Treat (2015) 152: 509-518.

12. APENDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: **DOSAGEM DE MACRONUTRIENTES EM TECIDO MAMÁRIO NORMAL E TUMORAL**

O câncer é uma doença que há muito tempo é estudada com o objetivo de encontrar formas de prevenção, tratamento e cura. Até hoje, as informações sobre esta doença ainda não são suficientes para esclarecer todas as dúvidas sobre o câncer. Por isso são realizadas pesquisas em busca de novas informações.

CONVITE.

Você está sendo convidada a participar desta pesquisa intitulada "DOSAGEM DE MACRONUTRIENTES EM TECIDO MAMÁRIO NORMAL E TUMORAL". Este projeto tem como objetivo comparar a quantidade de água, proteínas e gorduras no tumor da mama e no tecido mamário normal em pacientes com diagnóstico definitivo de câncer de mama e que necessitem mastectomia como parte de seu tratamento. Para este estudo será retirado uma pequena amostra do tumor e também do tecido mamário normal após a RETIRADA CIRÚRGICA DA MAMA, ou seja, após a cirurgia. Desta forma, a pesquisa não interferirá no seu tratamento cirúrgico e nos resultados da análise do material enviado para a patologia e, desta forma, você não será submetida a nenhum procedimento a mais que o estabelecido pela equipe médica que a acompanha. A obtenção dos fragmentos para este estudo é inócua, feita APÓS a cirurgia, na peça cirúrgica e NÃO oferece riscos para sua saúde ou à moral ou à sua integridade. Da mesma forma, esta coleta não beneficia ou prejudica seu tratamento de nenhuma forma.

Caso você concorde em participar deste estudo, antes da cirurgia, será feito um exame quando deveremos calcular o seu Índice de Massa Corporal (que fornece informações se a relação entre o seu peso e a sua altura está adequado, ou não) e também a sua composição corporal, ou seja, o quanto seu corpo possui de massa magra (músculos) e massa gorda (gordura). Eventualmente estas medidas poderão provocar algum desconforto mínimo.

Você poderá concordar ou não em participar da pesquisa, sem sofrer qualquer restrição ou prejuízo em seu tratamento, sendo sua participação TOTALMENTE VOLUNTÁRIA.

Caso resolva participar da pesquisa e, posteriormente decida interromper sua participação, garantimos a você a possibilidade de retirar seu consentimento em qualquer momento da pesquisa, sem que isto acarrete qualquer prejuízo ao seu tratamento neste

hospital. Você tem ainda a garantia de que suas informações serão tratadas com absoluto sigilo por parte dos investigadores e que os dados coletados nesta pesquisa serão utilizados apenas neste estudo. Não haverá qualquer custo adicional ou compensação financeira pelo fato de você participar da pesquisa.

Você poderá obter informações ou esclarecimentos a respeito da pesquisa a qualquer momento no Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP-FMRP-USP através do telefone (16) 3602-2228 ou com os responsáveis pela pesquisa, Dr. MARCIO PANEGHINI, nos telefones (16) 3663-4318 ou Prof. Dr. HELIO HUMBERTO ANGOTTI CARRARA nos telefones (16) 3602 2589 e (16) 3602 2804.

Informamos ainda que os resultados obtidos na pesquisa poderão ser publicados em periódicos especializados, sendo mantidos em sigilo identidade dos pacientes e os procedimentos durante a cirurgia.

Eu, ...,
Rg. Número ....., expedida pela ....., APÓS TER LIDO E ENTENDIDO, INFORMO QUE ESTOU CIENTE E DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES DESTE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO E CONCORDO EM PARTICIPAR DA PESQUISA "DOSAGEM DE MACRONUTRIENTES EM TECIDO MAMÁRIO NORMAL E TUMORAL".

Ribeirão Preto, ___ de _____ de 201__.

.....
Assinatura da Participante ou Responsável legal.

.....
Dr. Marcio Paneghini
Pesquisador.

Identificação e organização das amostras levadas ao ensaio.

amostra	identificação	Tara normal	Peso normal	Tara tumoral	Peso tumoral
1	03432223 K	1,0074g	1,3864g	1,0098g	1,1208g
2	01189847 F	0,9909g	1,3641g	1,0190g	1,2299g
3	01204651 F	0,9905g	1,6929g	1,0235g	1,3045g
4	0797040 D	0,9837g	1,2923g	1,0240g	1,1503g
5	0607506 G	1,0068g	1,1719g	0,9884g	1,2205g
6	1207454 G	1,0157g	1,5631g	1,0295g	1,1278g
7	0781391 A	0,9835g	1,1032g	1,0131g	1,0512g
8	0285177 B	1,0056g	1,3264g	0,9754g	1,0996g
9	0407641 J	0,9954g	1,1423g	0,9825g	1,1528g
10	277218 PA	0,9855g	2,1780g	1,0075g	1,0960g
11	99169 PA	0,8956g 7B	1,1680g 7B	0,8870g 7A	0,9750g 7A
12	131161 PA	1,0006g 8B	1,2577g 8B	0,9865g 8A	1,0341g 8A
13	315110 IT	0,8936g 1B	1,7975g 1B	0,9315g 1A	1,7711g 1A
14	10923 IT	0,8708g 2B	2,3951g 2B	0,9046g 2A	2,0335g 2A
15	263754 PA	0,9140g 4B	1,4968g 4B	0,9342g 4A	1,6751g 4A
16	137148 PA	0,9292g 3B	1,7353g 3B	0,9052g 3A	0,9752g 3A
17	58174 PA	0,8918g 6B	2,2215g 6B	0,8954g 6A	1,5913g 6A
18	123943 PA	0,9272g 5B	1,8605g 5B	08849g 5A	1,1620g 5A