Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Obesidade abdominal e concentração de
biomarcadores de oxidação e adipocitocinas na
neoplasia maligna da mama**

Sara Maria Moreira Lima Verde

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação Nutrição em Saúde Pública para
obtenção do título de Doutor em Ciências.**

**Área de concentração: Nutrição em Saúde
Pública**

Orientador (a):

**Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira
Damasceno**

São Paulo

2014

**Obesidade abdominal e concentração de
biomarcadores de oxidação e adipocitocinas na
neoplasia maligna da mama**

Sara Maria Moreira Lima Verde

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação Nutrição em Saúde Pública para
obtenção do título de Doutor em Ciências.**

**Área de concentração: Nutrição em Saúde
Pública**

Orientador (a):

**Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira
Damasceno**

São Paulo

2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Dedicatória

Aos meus amores Renato, Tiago e Murilo. Minha maior motivação!

À minha mãe, Maria Joselila Carvalho de Sousa (*in memoriam*) que se foi, mas deixou em mim o legado para ser uma mulher forte, independente e com coragem para viver. Obrigada Mãe! Sei que nesse momento estás em mim, pois me destes meu dom mais precioso, a vida!

Agradecimentos

Agradeço a presença de Deus em minha vida e em meus pensamentos. Essa certeza me fez forte e capaz de começar e finalizar o desafio desse doutorado.

À minha orientadora Profa. Nágila Raquel Teixeira Damasceno, pela confiança dispensada ao meu trabalho, pela compreensão, conversas informais e discussões científicas. Tenho grande admiração pelo seu trabalho e levo seu exemplo para minha construção como profissional.

Ao meu esposo Renato. Incentivador dos meus sonhos. Obrigada por ter sido companheiro, compreensivo e cúmplice desse projeto. Obrigada pelo apoio, pelo incentivo, por sua presença paterna na vida do Tiago, que me permitiu ser ausente em diversos momentos. Amo muito você.

Aos meus pais Elmas e Joselila (*in memoriam*) por indicarem, em sua simplicidade, o caminho da responsabilidade, do respeito e da fé. Me orgulho por ser fruto do amor de vocês.

Aos meus queridos João Victor, Ana Paula, João Pedro e Mariana, por me mostrarem a maravilha de uma família construída com base no amor e no respeito.

Aos meus queridos Reginaldo e Wanda, por serem presentes em nossas vidas, por terem cuidado do Tiago e do Renato em vários momentos da minha ausência e nos terem dado amor sempre.

Agradeço em especial à minha querida amiga Karin Sarkis Sedó, meu lar em São Paulo. Obrigada pela acolhida, pelas conversas, pela força, por receber minha família, por me ensinar a simplicidade da vida. Todas as entrelinhas dessa tese foram construídas graças à você.

A todos que fazem o grupo Cardionutri, em especial Diana Estevez, Augusto Carioca e Laura Fantazinni por me ajudarem nas análises, na organização das amostras, nos ensinamentos de estatísticas, pelos cafés e conversas informais que confortaram meu coração e me ajudaram a seguir em frente.

Às minhas queridas companheiras de trabalho da Universidade de Fortaleza, em especial Fátima Antunes, Daniele Oliveira, Clarice Vergara e Maria Pinho Pessoa por me ajudarem com as turmas, com os compromissos firmados, por me substituírem e assim tornarem possível esse meu trabalho.

Às minhas queridas alunas (Ádila Silva, Camilla Oliveira, Paula Theophilo, Lara Saraiva, Maria Cristina e Natássia Ellen) pela imensa ajuda no contato com as pacientes, coleta dos dados, transporte do material, discussões científicas e muitas risadas. Vocês tornaram essa jornada mais leve.

À Universidade de Fortaleza (UNIFOR), em especial à Profa. Ana Cristina Moreira, pelo apoio na armazenagem do material.

Ao Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP), na pessoa da Prof^a. Dr^a. Dulcíneia S. Parra Abdalla, que gentilmente doou os anticorpos utilizados nas análises bioquímicas.

Aos profissionais do Departamento de Mastologia do Hospital Geral de Fortaleza, em especial Dr. Elvís Lopes, Dr. Flávio Ximenes, Dr. Francisco Pimentel, Dr. Marcelo e Dr. Antônio Nasser pela disponibilidade em nos ajudar na triagem das pacientes e nos deixar à vontade para a realização do trabalho.

Às pacientes dos Departamentos de Mastologia e Ginecologia do Hospital Geral de Fortaleza, por sua participação voluntária nesse trabalho.

À FAPESP, pelo apoio financeiro.

Quando desejamos algo puro, do fundo das nossas almas, o universo estará lá, conspirando para que nosso sucesso seja inevitável. E vivo assim... acreditando que tudo está escrito e que apesar do livre arbítrio, sempre chegamos ao encontro do que nos foi destinado.

RESUMO

Verde SMML. Obesidade abdominal e concentração de marcadores oxidativos e adipocitocinas na neoplasia maligna da mama [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2014.

Introdução: A neoplasia maligna da mama é a mais frequentes entre as mulheres, respondendo, no Brasil, por 26,3% de todos os cânceres no sexo feminino e por 14% dos óbitos. Sabe-se que a obesidade é também uma doença crônica, que apresenta um panorama epidemiológico crescente, capaz de modificar as concentrações de hormônios esteroides, hormônios do crescimento, que envolve processos inflamatórios crônicos e de baixa intensidade os quais favorecem a proliferação celular e redução da apoptose. Portanto, é plausível que mulheres com câncer de mama que tenham excesso de peso e adiposidade apresentem maior risco para um prognóstico clínico menos favorável.

Objetivo: Avaliar o papel da adiposidade sobre a oxidação e as adipocitocinas na neoplasia mamária. **Material e Métodos:** Estudo observacional do tipo caso-controle, com 101 mulheres com tumor de mama (Caso) e 100 mulheres sem câncer (Controle), selecionadas no Hospital Geral de Fortaleza (Fortaleza-CE), nos anos de 2011 e 2012. Realizou-se avaliações socioeconômicas, clínica (estado de menopausa, uso de terapia de reposição hormonal-TRH, história reprodutiva, amamentação, tabagismo, sedentarismo e história familiar de câncer; estadiamento clínico (EC), tamanho do tumor e presença de linfonodos comprometidos), antropométrica (peso, índice de massa corporal -IMC, circunferência da cintura - CC) e de composição corporal (%Massa Gorda - %MG; %Massa Magra - %MM; Ângulo de fase - AF) por impedância bioelétrica. Após jejum de 12h obteve-se alíquotas de sangue e a partir do plasma analisou-se marcadores de estresse oxidativo [TBARS; LDL(-); anti-LDL(-); 8-OHdG; vitaminas antioxidantes] e adipocitocinas (leptina e adiponectina). Comparação entre os grupos Caso e Controle total e segundo excesso de peso e obesidade foram realizadas por meio dos testes t-Student e Man-Whitney. Modelos de regressão linear simples e múltipla, assim como análises logísticas foram testadas entre variáveis brutas e ajustadas visando identificar associações entre adiposidade e marcadores bioquímicos de estresse oxidativo e adipocitocinas. Todos os testes estatísticos foram realizados no programa estatístico SPSS versão 20.0, onde considerou-se $p < 0,05$, como nível de significância. **Resultados:** Os grupos Caso e Controle se mostraram semelhantes em relação aos aspectos socioeconômicos e clínicos. Entre as variáveis antropométricas e de composição corporal apenas a CC ($p=0,002$) foi maior nas mulheres com tumor de mama. Com relação aos marcadores oxidativos e adipocitocinas, independente da adiposidade e do excesso de peso, o grupo Caso apresentou perfil menos favorável com maiores concentrações plasmáticas de TBARS ($p<0,001$), LDL(-) ($p=0,026$), auto-anticorpo anti-LDL(-) ($p<0,001$) e 8OHdG ($p=0,021$) e adiponectina ($p<0,001$) em menores concentrações. Entre as pacientes com tumor de mama, as com excesso de peso mostraram menores concentrações de adiponectina ($p=0,018$) e maiores de 8OHdG ($p=0,02$) e leptina ($p=0,01$), sendo essa adipocitocina

associada de modo positivo com CC ($p=0,012$) e %MG ($p=0,001$). Os nutrientes antioxidantes não se alteraram em função da presença do tumor e tão pouco pelo peso e adiposidade. Entretanto no câncer de mama, retinol e β -caroteno, estiveram inversamente associados com linfonodos comprometidos ($p=0,034$) e EC III e IV ($p=0,014$), respectivamente. O risco de câncer de mama foi maior nos maiores tercís de CC, (OR=2,69; IC=1,33-5,47) TBARS (OR=6,99; IC=2,99-16,32) e Anti-LDL(-) (OR=10,28; IC=4,11-25,75) e nos menores tercís de adiponectina (OR=0,44; IC=0,22-0,91). **Conclusão:** A adiposidade intensificou as alterações oxidativas e de adipocitocinas promovidas pela neoplasia da mama. A obesidade abdominal aumentou o risco de câncer de mama, bem como as maiores concentrações plasmáticas de marcadores oxidativos, sugerindo prognóstico menos favorável.

Descritores: câncer de mama, adiposidade, estresse oxidativo, leptina, adiponectina

ABSTRACT

Verde SMML. Abdominal obesity and concentration of oxidative markers and adipokines in breast malignant neoplasm. [Thesis]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2014.

Introduction: Breast malignant neoplasm is more frequent among women. In Brazil, it corresponds to 26, 3% of all cancers in the female gender and to 14% of the causes of death. It is well known that obesity is also a chronic disease, which presents an increasing epidemiological panorama, capable of modifying the concentrations of steroids hormones, the growth hormones, which involves chronic and low-intensity inflammatory processes, enabling cellular proliferation and the reduction of apoptosis. Therefore, it is plausible that women with breast cancer who are overweight and have adiposity present a higher risk of a less favorable clinical prognosis. **Objective:** To evaluate the role of adiposity over oxidation and the adipokines on breast neoplasia. **Material and Methods:** It was an observational study of the case-control type, with 101 women with a breast tumor (Case) and 100 women without cancer (Control), selected at Hospital Geral de Fortaleza (Fortaleza-CE), in the years of 2011 and 2012. Socio-economic evaluations were accomplished, clinic (menopause, use of Hormone Replacement Therapy (HRT), reproductive history, breastfeeding, smoking, sedentarism and family-history of cancer; clinic staging (CS), size of the tumor and presence of affected lymph nodes), anthropometrics (weight, body mass index – BMI, waist circumference - WC) and of body composition (% Fat Mass - % FM; % Lean Mass - % LM; Phase Angle - PA) by bioelectrical impedance. After a 12-hour-fasting, blood aliquots were obtained and markers of oxidative stress were analyzed from the plasma [TBARS; LDL(-); ANTI-LDL (-); 8-OHdG, antioxidant vitamins] and adipokines (leptin and adiponectin). The comparison between the groups Case and total Control and according to overweight and obesity were accomplished through the tests t-Student and Man-Whitney. Models of simple and multiple linear regression, as well as logistical analyses were tested among gross and adjusted variables aiming at identifying association between adiposity and biochemical markers of oxidative stress and adipokines. All the statistic tests were accomplished on the statistic program SPSS version 20.0, in which $p < 0,05$ was considered as a level of significance. **Results:** The groups Case and Control were similar with relation to the socioeconomic and clinic aspects. Among the anthropometric and body composition variables, only CC ($p = 0,002$) was higher in women with breast tumor. With relation to oxidative markers and adipokines, independently from adiposity and overweight, the Case group presented a less favorable profile, with higher plasmatic concentrations of TBARS ($p < 0,001$), LDL (-) ($p = 0,026$), auto-antibody, anti-LDL(-) ($p < 0,001$) and 8OHdG ($p = 0,021$) and adiponectin ($p < 0,001$) in lower concentrations. Among the patients with breast tumor, the overweight ones showed lower concentrations of adiponectin ($p = 0,018$) and higher of 8OHdG ($p = 0,02$) and leptin ($p = 0,01$). This adipokine was associated in a positive way to CC ($p = 0,012$) and FM ($p = 0,001$). The antioxidant nutrients did not alter due to the presence of the tumor or due to weight and

adiposity. However, in breast cancer, retinol and beta carotene were inversely associated to affected lymph nodes ($p=0,034$) and CS III and IV ($p=0,014$), respectively. The risk of breast cancer was higher in the bigger WC tertiles, (OR=2,69; IC=1,33-5,47) TBARS (OR=6,99; IC=2,99-16,32) and Anti-LDL(-) (OR=10,28; IC=4,11-25,75) and in the smaller adiponectin tertiles (OR=0,44; IC=0,22-0,91). **Conclusion:** Adiposity intensified oxidative and adipokines alterations promoted by breast neoplasia. Abdominal obesity increased the risk of breast cancer, as well as higher plasmatic concentrations of oxidative markers, suggesting a less favorable prognosis.

Descriptors: breast neoplasms, adiposity, oxidative stress, leptin, adiponectin

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1.EPIDEMIOLOGIA DA NEOPLASIA MALIGNA DA MAMA	22
1.2 FISIOLOGIA E CARCINOGENESE MAMÁRIA	24
1.3 EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE	29
1.4 FISIOPATOLOGIA DA OBESIDADE	32
1.5 OBESIDADE E ONCOGENESE DO TUMOR DE MAMA	35
2. JUSTIFICATIVA	42
3. OBJETIVO	44
4. METODOLOGIA	46
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	46
4.2 CÁLCULO AMOSTRAL E SELEÇÃO DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO	47
4.2.1 Critérios de Inclusão	50
4.2.2 Critérios de Não Inclusão	50
4.3 COLETA DE DADOS	51
4.3.1 Perfil Socioeconômico e Clínico	51
4.3.2 Parâmetros Antropométricos	52
4.3.3 Obtenção do Sangue	53
4.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	54
4.4.1. Detecção de Biomarcadores de Estresse Oxidativo	54
4.4.2 Detecção de Leptina	58
4.4.3 Detecção de Adiponectina	59
4.5. ESTATÍSTICAS	59
5. RESULTADOS	62
6. DISCUSSÃO	78
7. CONCLUSÕES	92
8.REFERÊNCIAS	94
APÊNDICES	101

ANEXOS	108
CURRÍCULO LATTES	112
ARTIGOS	115

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Panorama nacional de incidência e mortalidade por câncer. A – número estimado de casos de câncer em ambos os sexos (320.995); B – número estimado de casos de câncer em mulheres (160.377); C – número estimado de mortes por câncer em ambos os sexos (190.014); D – número estimado de mortes por câncer em mulheres (87.781). Adaptado de *Global Cancer – GLOBOCAN*, 2008 (IARC, 2014).

Figura 2. Síntese e mecanismos de ação do estrógeno na pré e pós menopausa. E: estrógeno; A: andrógeno; Lp: leptina. Adaptado de MACCIÒ e MADDEDU (2011).

Figura 3. Eventos genéticos na carcinogênese do tumor da mama. BRCA: oncogene BRCA; MAPk: proteína quinase ativada por mitógeno; PI3/AkT: *Phosphatidylinositol 3-Kinases/ AkT protein*; VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular; IL-8: interleucina – 8; NF-kB: fator nuclear *kappa B*.

Figura 4. Mortalidade total em todas as idades, 2010. *NCD Country Profile*, (OMS, 2011).

Figura 5. Tecido adiposo na obesidade, infiltrado com células imunes pró-inflamatórias (vermelhas) as quais produzem elevadas quantidades de citocinas pró-inflamatórias. IL – 4: interleucina 4; IL – 13: interleucina 13; IL – 10: interleucina 10; IL - 1 β : interleucina 1 β ; IL – 6 : interleucina 6; IFN - γ : interferon gamma; FFA: ácidos graxos livres. Adaptada de HAN e LEVINGS, 2013.

Figura 6. Possíveis mecanismos de ação da obesidade sobre o desenvolvimento da neoplasia maligna mamária. TNF α : fator de necrose tumoral alfa; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6; IGF 1: fator de crescimento semelhante a insulina; IGFBP: proteínas

ligantes do fator de crescimento semelhante a insulina; SHBG: globulina ligante a hormônios sexuais; EROS: espécies reativas de oxigênio.

Figura 7. Distribuição das pacientes entre os grupos Caso e Controle

Figura 8. Fluxograma de seleção das pacientes dos grupos Caso e Controle.

Figura 9. Fluxograma de coleta, armazenagem e transporte das amostras. UNIFOR: Universidade de Fortaleza; FSP/USP: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Figura 10. Distribuição dos vetores individuais no gráfico Z-escore. A – grupo Caso; B- grupo Controle.

Figura 11. Plotagem da média dos vetores de impedância bioelétrica, no limite de confiança de 95%, dos grupos Caso e Controle e população de referência. População de referência – Mulheres americanas mexicanas, com IMC 25 – 30 kg/m², idade de 49 – 59 anos. R: resistência; Xc: reactância; H: altura; IMC: índice de massa corporal (PICOLLI e PASTORI, 2002).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição do perfil socioeconômico das pacientes, segundo diagnóstico de neoplasia maligna da mama.

Tabela 2. Descrição do perfil clínico das pacientes, segundo grupos Caso e Controle.

Tabela 3. Descrição das pacientes do grupo Caso segundo as características do tumor.

Tabela 4. Descrição do perfil antropométrico e de composição corporal das pacientes, segundo grupos Caso e Controle.

Tabela 5. Descrição do perfil antropométrico e de composição corporal das pacientes com excesso de peso e obesidade, segundo grupos Caso e Controle.

Tabela 6. Descrição do perfil bioquímico das pacientes, segundo grupos Caso e Controle.

Tabela 7. Descrição do perfil bioquímico das pacientes com excesso de peso e obesidade, segundo grupo Caso e Controle.

Tabela 8. Influência da adiposidade sobre os marcadores oxidativos e adipocitocinas nos grupos Caso e Controle.

Tabela 9. Associação do estado nutricional e adiposidade com parâmetros oxidativos e adipocitocinas nas mulheres com neoplasia maligna da mama (grupo Caso).

Tabela 10. Associação dos marcadores de estresse oxidativo e adipocitocinas com as características tumorais.

Tabela 11. Influência dos marcadores bioquímicos sobre o risco de neoplasia maligna da mama

Tabela 12. Influência dos parâmetros antropométricos sobre o risco de neoplasia maligna da mama

SIGLAS E ABREVIATURAS

%MG – Percentual de massa gorda

%MM – Percentual de massa magra

8OHdG – 8-hydroxi-2'-desoxiguanosina

AF – Ângulo de fase

BHT – Hidroxitolueno butilado

BIA – Impedância bioelétrica

BIVA – Análise vetorial de impedância bioelétrica

BRCA – Oncogene BRCA

CAT – Catalase

CC- Circunferência da cintura

CdK4 – Quinase ciclina-dependente 4

CNS – Conselho Nacional de Saúde

E – Estrógeno

E1 – Estrona

E2 - 17 β estradiol

E3 – Estriol

EC – Estadiamento clínico

EDTA – Ácido diaminotetraacético

ELISA – Imunoensaio enzimático

ER – Receptor de estrógeno

ERO – Espécies reativas de oxigênio

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FCF/ USP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

FSH – Hormônio folículo estimulante

FSP/ USP – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

GLOBOCAN – Estatística mundial de câncer

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

H₂SO₄ – Ácido sulfúrico

HGF – Hospital Geral de Fortaleza

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

IARC – Agência internacional para pesquisa em câncer

IATA – Associação de transporte aéreo internacional

IDF – Federação internacional de diabetes

INF_γ – Interferon gama

IGF 1 – Fator de crescimento semelhante a insulina

IGFBP 1 e 2 – Proteínas 1 e 2 ligadoras do fator de crescimento semelhante a insulina

IL – Interleucina

IMC – Índice de massa corporal

INCA – Instituto Nacional do Câncer

LDL(-) - Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa

LH – Hormônio luteinizante

Lp – Leptina

MAB – Anticorpo monoclonal

MAPk – Proteína quinase ativada por mitógeno

MDA - Malondialdeído

MS – Ministério da Saúde

NCD – Doenças não comunicáveis

NF-kB – Fator nuclear kappa B

AF – Ângulo de fase

O₂ – Ânion superóxido

OH• – Radical hidroxila

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPD – Ortofenilenediamina

PA – Peso atual

PCR – Proteína C reativa

PBS – Tampão fosfato salina

PI3/AkT – Phosphatidilinositol 3-quinases/ Proteína AkT

PMSF – Fluoreto de fenilmetilsufonila

R – Resistência

ROS – Espécies reativas de oxigênio

SBH – Sociedade Brasileira de Hipertensão

SHBG – Globulina ligante a hormônios sexuais

SM – Salários mínimos

SOD – Superóxido dismutase

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TEP – Tetraetilpirazina

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa

TRH – Terapia de reposição hormonal

UNIFOR – Universidade de Fortaleza

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

VIGITEL – Vigilância para fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquéritos telefônicos

Xc – Reactância

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. EPIDEMIOLOGIA DA NEOPLASIA MALIGNA DA MAMA

A neoplasia maligna da mama é o segundo tipo mais comum de câncer na população mundial adulta, com prevalência de 10,9% e se apresentando de forma semelhante entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento (Agência Internacional para Pesquisa em Câncer - IARC, 2014). No Brasil os dados referentes aos registros de incidência no ano de 2008 mostraram que em ambos os sexos, o tumor da mama foi responsável por 13,3% de todos os tipos de câncer. Entre as mulheres, é o mais frequente, respondendo por 23% de todos os tumores malignos no sexo feminino. Ao nível mundial foi observada a ocorrência de 1,4 milhões casos novos de câncer de mama em 2008 (IARC, 2014).

No sexo feminino o panorama epidemiológico no Brasil é semelhante ao mundial, com o câncer de mama sendo o de maior incidência (26,3%) (IARC, 2014). As estimativas de novos casos para o ano de 2014 seguem o documento do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014), onde são esperados 56 casos para cada 100 mil mulheres em todo o país. Na região Nordeste esta proporção será de 37 casos para cada 100 mil mulheres.

Apesar da elevada incidência, a sobrevida em cinco anos é maior em pacientes com tumor da mama e a mortalidade, menor, quando comparada a outros tipos de neoplasias. Porém, essa neoplasia maligna é ainda responsável por 7% de todas as mortes por câncer no mundo e 6,6% no Brasil, independente do sexo. Entre as mulheres esse percentual apresenta-se mais elevado, sendo a neoplasia maligna da mama responsável por 14% dos óbitos no Brasil (IARC, 2014) (**Figura 1**).

Figura 1. Panorama nacional de incidência e mortalidade por câncer. A – número estimado de casos de câncer em ambos os sexos (320.995); B – número estimado de casos de câncer em mulheres (160.377); C – número estimado de mortes por câncer em ambos os sexos (190.014); D – número estimado de mortes por câncer em mulheres (87.781). Adaptado de *Global Cancer – GLOBOCAN, 2008 (IARC, 2014)*.

Estudos epidemiológicos e pesquisas clínicas têm descrito inúmeras condições que podem predispor mulheres ao desenvolvimento do câncer de mama. Entre os fatores de risco para neoplasia mamária podemos citar: história familiar e reprodutiva (menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade, primeira gestação tardia), além da hereditariedade (WINER et al., 2001). Fatores ambientais também contribuem para o desenvolvimento de neoplasia mamária, como alimentação, composição corporal e o excesso de peso (PINHO e COUTINHO, 2005; SCHLIENGER et al., 2009).

1.2 FISIOLOGIA E CARCINOGENESE MAMÁRIA

A glândula mamária exibe notável diferenciação ao longo da vida reprodutiva sendo influenciada pela modulação uterina, puberdade, ciclos menstruais, gravidez, lactação, desmame e menopausa. Todo o processo de desenvolvimento da glândula mamária se inicia após o nascimento. Entretanto, o período que se estende do nascimento até a puberdade é visto como fase de quiescência da evolução, sem mamogênese (crescimento da mama). Na puberdade esse crescimento é ativado e caracterizado pela rápida extensão e ramificação do sistema de ductos, onde, sobre a influência dos hormônios, se expande dentro do ambiente do estroma. Com repetidos ciclos menstruais e durante a gravidez, a complexidade do sistema ductal aumenta. Finalmente, entre o meio e o final da gravidez, alvéolos formam-se sobre o sistema ductal. Este processo dinâmico é submetido a um controle hormonal rigoroso (PELEKANOU e LECLERCQ, 2011). Envolvidos na regulação de todo esse processo e no desenvolvimento da glândula destacam-se o estrógeno e a progesterona, sendo o papel desses dois hormônios reconhecido e inquestionável. Sabe-se ainda que esses hormônios participam não apenas no controle da mamogênese, mas também no processo de involução da glândula (PELEKANOU e LECLERCQ, 2011).

Deve ser destacado que a mama é formada por ductos e alvéolos (lóbulos), os quais são compostos por dois grandes compartimentos celulares: I. Epitélio: altamente dinâmico, que sofre ciclos de proliferação, diferenciação e apoptose em resposta aos sinais endócrinos e locais; e II. Estroma subjacente: contendo fibroblastos, células endoteliais e adipócitos, os quais, coletivamente, formam a camada de gordura. O epitélio da glândula mamária é composto de linhagens de células luminas e basais/mioepiteliais (PELEKANOU e LECLERCQ, 2011).

Fisiologicamente, encontramos no ambiente da célula mamária estrógenos E1 (estrone), E2 (17 β -estradiol) e E3 (estriol). Na pré-menopausa os E1 e E2 são produzidos pelos ovários, que estimulados pelos hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH), secretam andrógenos, os quais, por ação da aromatase são convertidos a estrógenos. Nesse período, a quantidade de estrógeno advinda do tecido adiposo é mínima. O E3 é secretado pela placenta somente durante a gestação (MACCIÒ e MADDEDU, 2011; LIANG e SHANG, 2013) (**Figura 2**)

Na pós-menopausa o mediador da biossíntese do estrógeno continua sendo a aromatase, entretanto ela passa a ser produzida no tecido adiposo. Os andrógenos são provenientes da adrenal e, posteriormente, são convertidos em estrógenos no tecido adiposo por ação da aromatase. Nesse período, o tecido adiposo torna-se o principal sítio de biossíntese do estrógeno (MACCIÒ e MADDEDU, 2011; LIANG e SHANG, 2013) (**Figura 2**).

Figura 2. Síntese e atuação do estrógeno na pré e pós menopausa. E: estrógeno; A: andrógeno; Lp: leptina; IL-6: interleucina 6; TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa; IGFs: Fator de crescimento semelhante à insulina. Adaptado de MACCIÒ E MADDEDU (2011).

Após sua síntese, os estrógenos agem na elongação dos ductos, bem como no desenvolvimento dos lóbulos (avéolos), exercendo efeitos nos tecidos alvo por meio da ligação com receptores de estrógenos específicos α e β (ER α e ER β). O complexo ER-estrógeno ativado, em especial o ER α , regula numerosos genes que codificam proteínas envolvidas na proliferação celular, apoptose, angiogênese e capacidade de adesão (LIANG e SHANG, 2013).

Assim, os estrógenos, por meio da sua ligação aos ER, são reguladores chave do crescimento e diferenciação normal das células epiteliais da glândula mamária e desempenham papel crítico na transformação maligna. Desse modo, a carcinogênese acontece a partir do descontrole das vias regulatórias do crescimento normal das células epiteliais, devido a mutações genéticas e modificações epigenéticas nos genes supressores de tumor, genes de reparo do DNA e oncogenes (PELEKANOU e LECLERCQ, 2011).

No tumor da mama, a transformação da célula normal em maligna é um processo de múltiplas etapas que abrange mudanças na atividade dos genes envolvidos com o ciclo

celular, as quais se dão por predisposição genética herdada ou adquirida (esporádica). A primeira acontece pela alteração nos oncogenes específicos para o câncer de mama, BRCA-1, BRCA-2, em função da perda da heterozigose. Já a adquirida acontece por ativação, super expressão ou amplificação dos numerosos genes codificadores de proteínas envolvidas com proliferação e apoptose celular, angiogênese e invasão tecidual, sendo as atividades desses genes, direta ou indiretamente, reguladas pelos estrógenos (MESTER e REDEUILH, 2008; PELEKANOU e LECLERCQ, 2011).

A célula mutada apresenta assim características distintas da célula normal, onde se destacam: I. proliferação e diferenciação celular desreguladas; II. resistência à apoptose; III. indução à neovascularização ou angiogênese; IV. invasão de tecidos vizinhos (MESTER e REDEUILH, 2008). Para a proliferação celular ser desencadeada é necessária a ativação do complexo estrógeno com seu receptor (estrógeno-ER), dos proto-oncogenes que codificam as proteínas c-Myc e ciclina D1, que ativam a *Cyclin-dependent kinase-4* (Cdk4). Com relação à apoptose, o complexo estrógeno-ER também atua na ativação dos sinalizadores celulares proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e *Phosphatidylinositol 3-Kinases/ Akt protein* (PI3/Akt), os quais são classicamente associados à sobrevivência celular. No processo da angiogênese, o E2 estimula a secreção de interleucina-8 (IL-8) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que são potentes indutores da neovascularização. Para o processo de metástase, o estrógeno inibe a síntese de uma subunidade de *Nuclear Factor-kappa B* (NF-kB), que reprime a expressão das E-caderinas e promove invasão de tecidos vizinhos e migração celular por perda da capacidade de adesão (MESTER e REDEUILH, 2008; LIANG e SHANG, 2013) (**Figura 3**).

Figura 3. Eventos genéticos na carcinogênese do tumor da mama. BRCA: oncogene BRCA; MAPk: proteína quinase ativada por mitógeno; PI3/AkT: *Phosphatidylinositol 3-Kinases/ Akt protein*; VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular; IL-8: interleucina – 8; NF-kB: fator nuclear *kappa B*.

O complexo estrógeno-ER, a maior concentração de leptina e marcadores inflamatórios, como $\text{TNF-}\alpha$, fator de crescimento semelhante à insulina -1 (IGF-1) e a hiperinsulinemia, característicos da obesidade e do excesso de tecido adiposo agem como gatilhos para alterações genéticas adquiridas por ação direta ou indireta, permitindo que a hiperestimulação do ciclo celular seja desencadeada (MACCIÒ e MADDEDU, 2011).

1.3 EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE

A obesidade é um dos mais sérios problemas de saúde pública mundial, e sua prevalência tem aumentado dramaticamente nas últimas décadas, levando essa doença à proporções epidêmicas (VULCENIL E STAINS, 2012). O acelerado aumento da obesidade no mundo tem sido chamado de “globesity”, com variações consideráveis entre e dentro de países, sendo a maioria dos casos dependente do estilo de vida. Essa condição patológica atinge ambos os sexos e todas as idades, sendo na América Latina mais prevalente entre mulheres, especialmente entre aquelas com baixo nível socioeconômico. Os fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade envolvem aspectos genéticos e múltiplos componentes ambientais (ABLLAY, 2013)

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007), indivíduos com valores de índice de massa corporal (IMC) maiores ou iguais a 25kg/m^2 são considerados com sobrepeso; e aqueles com IMC maior ou igual a 30kg/m^2 são obesos. A obesidade é uma epidemia mundial que atinge diferentes faixas etárias. Nos Estados Unidos, no ano de 2008, 66% dos adultos tinham IMC $>25\text{kg/m}^2$ e metade desses apresentavam IMC $>30\text{kg/m}^2$. Além disso, 43 milhões de crianças, menores de 5 anos, estavam com sobrepeso no ano de 2010 (VULCENIL E STAINS, 2012).

No mesmo período, no Brasil, de acordo com a OMS (2011) foi estimado que 51,7% da população brasileira estavam com excesso de peso e 18,8% com obesidade. Em 2013, o estudo de vigilância para fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquéritos telefônicos (VIGITEL) mostrou que 50,8% da população brasileira apresentavam excesso de peso e 17,5% era obesas. Entre as mulheres, 47,4% tinham excesso de peso e 17,5% obesidade. Neste mesmo documento, a população da cidade de Fortaleza apresentou a quinta maior prevalência de excesso de peso (51%) e a quarta maior de obesidade (18%), independente do sexo (Ministério da Saúde - MS, 2014).

Excesso de peso e obesidade são os mais evidentes fatores de risco para as doenças cardiovasculares, diabetes, osteoartrites, desordens musculoesqueléticas, psicológicas e problemas sociais, sendo relacionados com aumento da morbidade e mortalidade (VULCENIL e STAINS, 2013). No ano de 2008, de todas as mortes registradas, 63%, ou seja, 57 milhões foram causadas por doenças crônicas não-transmissíveis. Dessas, 36 milhões foram atribuídas às doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (OMS, 2011). As mortes prematuras, abaixo de 60 anos, tiveram maior prevalência entre os países de baixa renda (OMS, 2011) **(Figura 4).**

Figura 4. Mortalidade total em todas as idades, 2010. Doenças não comunicáveis - *NCD Country Profile*, (OMS, 2011).

O aumento no peso corporal tem sido associado ao maior número de mortes por todos os tipos de câncer ou por neoplasias em sítios específicos (VULCENIL e STAINS, 2013). Estudo prospectivo que acompanhou por 7,8 anos, aproximadamente 14 mil mulheres com câncer de mama, identificou que as obesas apresentaram 1,81 (IC95%;

1,42-2,32) maior risco de morte por todas as causas que aquelas com IMC normal. Essas mulheres também apresentaram maior risco de recidiva e morte por câncer de mama (KWAN et al., 2012).

Mulheres pós-menopausadas com quadro de sobrepeso e obesidade exibem risco aumentado para o desenvolvimento do câncer de mama quando comparadas aquelas com peso normal. De acordo com a Sociedade Americana de Câncer, em 2002, mais de 60 mil novos casos de câncer de mama foram associados à obesidade e excesso de tecido adiposo. Assim, desde 1960, a obesidade tem sido reconhecida como fator de risco para o câncer de mama e os mecanismos associados a essa relação continuam sendo investigados (BULUN, MOY, BROOKS e ZHAO, 2012).

Em revisão, que verificou a relação entre obesidade e câncer de mama, dos 17 estudos de coorte incluídos, 13 mostraram associação positiva entre mortalidade por todas as causas e índice de massa corporal. Em 6 estudos a mortalidade específica por câncer de mama também apresentou associação com elevados valores de IMC. Além disso, em 7 estudos que avaliaram o estado de menopausa os autores encontraram associação positiva entre IMC ao diagnóstico e mortalidade não somente em mulheres pós-menopausadas, mas também entre as pré-menopausadas. Isso representa evidência convincente para a associação entre obesidade e mortalidade por todas as causas e também entre a obesidade e a mortalidade específica por câncer de mama (HAUNER et al., 2011).

Além dos maiores valores de IMC, o sobrepeso e o ganho de peso durante a vida adulta parecem aumentar a incidência da neoplasia mamária e por isso são considerados preditores da doença. A gordura corporal é aceita como fator de risco convincente para o desenvolvimento de câncer de mama. Existem hipóteses que sugerem que o excesso de peso poderia levar a ciclos anovulatórios mais frequentes e, assim, reduzir o tempo de exposição à progesterona endógena (PATTERSON et al., 2010; INUMARU, SILVEIRA e NAVES, 2011).

Apesar da obesidade e o câncer apresentarem relação bem definida, os mecanismos fundamentais que explicam essa associação são complexos e permanecem sendo alvo de investigações. Eles envolvem hormônios relacionados à obesidade, fatores de

crescimento, múltiplas vias de sinalização, processos inflamatórios, todos modulando a promoção e progressão celular (MACCIÒ e MADDEDU, 2011; VULCENIL e STAINS, 2013).

1.4 FISIOPATOLOGIA DA OBESIDADE

A obesidade tem sido descrita como uma doença inflamatória crônica de pouca intensidade, que se instala em um ambiente fisiológico, livre de infecção ou lesão tecidual clinicamente detectável (CILDIR, AKINCILAR e TERGAONKAR, 2013; SUGANAMI e OGAWA, 2013). Está bem estabelecido que quando há aumento na quantidade de tecido adiposo, observado na obesidade, há uma resposta inflamatória acompanhada pela desregulação nas adipocitocinas, que leva ao quadro de inflamação crônica subclínica, bem como à resistência à insulina (PIYA, MCTERNAN e KUMAR, 2013).

Essa inflamação é atribuída à liberação de adipocitocinas pró-inflamatórias (TNF- α , interleucina 6 – IL6, leptina, vistatina, resistina e angiotensina II) (PIYA, MCTERNAN e KUMAR, 2013), as quais têm como fonte celular os macrófagos infiltrados no excesso de tecido adiposo desenvolvido nessa condição. Essas células de defesa com características pró-inflamatórias são do tipo M1 e apresentam-se no tecido adiposo dos indivíduos obesos (SUGANAMI e OGAWA, 2013; HAN e LEVINGS, 2013). Condição inversa é observada no tecido adiposo de um indivíduo magro, onde também são encontrados macrófagos, mas do tipo M2, considerados anti-inflamatórios (HAN E LEVINGS, 2013) (**Figura 5**)

Figura 5. Tecido adiposo na obesidade, infiltrado com células imunes pró-inflamatórias (vermelhas) as quais produzem elevadas quantidades de citocinas pró-inflamatórias. IL – 4: interleucina 4; IL – 13: interleucina 13; IL – 10: interleucina 10; IL – 1β: interleucina 1β; IL – 6: interleucina 6; IFN – γ: interferon gamma; FFA: ácidos graxos livres. Adaptada de HAN e LEVINGS, 2013.

Entre os marcadores pró-inflamatórios o TNF-α foi a primeira citocina identificada como produto dos adipócitos. Sua expressão está aumentada na obesidade, e positivamente correlacionada com a quantidade de tecido adiposo presente. As ações do TNF-α no tecido adiposo podem ser autócrinas ou parácrinas e influenciam uma série de processos que incluem apoptose e síntese de outras citocinas e adipocitocinas. Interessantemente, o TNF-α também regula a síntese de IL-6 e a expressão da aromatase no tecido adiposo, aumentando, portanto, a produção de estrógeno (MACCIÓ Ee MADEDDU, 2011).

Similar ao TNF-α, a IL-6 é também uma citocina inflamatória produzida por macrófagos ativados e que está envolvida em várias funções da resposta imune, além de atividades metabólicas e endócrinas (MACCIÓ e MADEDDU, 2011). Suas funções

envolvem indução do crescimento e diferenciação de células imunes, produção e expressão de outras citocinas, bem como síntese de proteínas de fase aguda (Proteína C Reativa – PCR) (SLATTERY et al. 2007; RAVISHANKARAN e KARUNANITHI, 2011).

A leptina foi a primeira proteína identificada como sendo secretada pelo tecido adiposo. Apresenta elevada atividade biológica e sua concentração e expressão estão diretamente relacionadas com o grau de obesidade e são influenciadas pelos níveis de insulina (ARCIDIACONO et al., 2012). A ação pró-inflamatória da leptina se dá pela ativação de linfócitos T, monócitos e células B promovendo a secreção de TNF- α , IL-6 e IL-10 (PIYA, MCTERNAN e KUMAR, 2013).

Sabe-se que a inflamação do tecido adiposo, causada pela infiltração de células imunes inflamatórias, promove mudanças que levam a uma variedade de vias estimulatórias que não somente sustentam o quadro de inflamação crônica, mas também contribuem para o desenvolvimento da resistência à insulina (HAN e LEVINGS, 2013). Essa condição patológica de resistência à insulina acontece quando a ação desse hormônio é inibida nos tecidos alvo periféricos, tais como músculo esquelético, fígado e tecido adiposo e então se instala um quadro de hiperinsulinemia que estimula diferentes cascatas metabólicas com o objetivo de compensar a resistência e manter a euglicemia. Fatores genéticos e ambientais são colocados como agentes etiológicos da resistência à insulina, sendo a hiperalimentação e o sedentarismo inseridos entre eles, pois culminam com a obesidade. Pacientes que apresentam resistência à insulina mostram aumento na morbidade e mortalidade atribuídas à doenças cardiovascular e diabetes melitus 2 (ARCIDIACONO et al., 2012).

A insulina, por sua vez, estimula a bioatividade do IGF – 1 por aumentar sua síntese hepática e por reduzir a produção da proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGFBP-1) e 2 (IGFBP-2).

Desse modo, o tecido adiposo atua como um órgão endócrino e lança várias adipocinas com função hormonal, que participam do processo pró-inflamatório da obesidade e perpetuam esse estado. Assim, o papel patológico dessas adipocinas, em

especial leptina, TNF- α e IL-6, em diferentes tipos de neoplasias têm sido bastante discutido (ISKANDER et al., 2013).

O estado pró-inflamatório no qual se encontram os indivíduos obesos favorece o desequilíbrio do estado redox a favor das vias pró-oxidativas. É provável que a inflamação não só intensifique o estresse oxidativo, mas também os produtos citotóxicos gerados pela ação dos radicais livres contribuam para manter esse quadro pró-inflamatório (ARCIDIACONO, 2012).

1.5 OBESIDADE E ONCOGÊNESE DO TUMOR DE MAMA

O processo inflamatório crônico e as alterações hormonais, característicos da obesidade, agem como sinalizadores para o estímulo proliferativo celular e inibição da apoptose (CILDIR, AKINCILAR e TERGAONKAR, 2013). Em função disso, a afinidade entre obesidade e câncer de mama tem sido amplamente discutida na literatura sendo demonstrada forte relação (LU et al. 2011; CONROY et al. 2011; CHEN et al. 2012; NIEMAN et al., 2013)

Embora os mecanismos que associam o câncer de mama e a obesidade não sejam totalmente esclarecidos, algumas hipóteses têm sido propostas I – O quadro de inflamação crônica, com elevadas concentrações de citocinas inflamatórias, estimula a proliferação celular e reduz apoptose; II – o tecido adiposo funciona como fonte de aromatase que atua na conversão de andrógeno em estrógeno aumentando os níveis desse hormônio; III - A secreção hepática de globulina ligante à hormônios sexuais (SHBG) encontra-se inibida na obesidade em função da hiperinsulinemia e esse aspecto contribui positivamente para maior disponibilidade do estradiol e; IV - A obesidade promove aumento na

disponibilidade do IGF-1, que age estimulando a proliferação celular e inibição da apoptose (**Figura 6**) (PISCHON, NOTHLINGS e BOEING, 2008).

Figura 6. Possíveis mecanismos de ação da obesidade sobre o desenvolvimento da neoplasia maligna mamária. TNF α : fator de necrose tumoral alfa; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6; IGF 1: fator de crescimento semelhante a insulina; IGFBP: proteínas ligantes do fator de crescimento semelhante a insulina; SHBG: globulina ligante a hormônios sexuais; EROS: espécies reativas de oxigênio.

Considerando os mecanismos envolvidos na carcinogênese relacionados à obesidade, se observa que as concentrações aumentadas de TNF- α , IL-6 e interleucina – 1 (IL-1) promovem desequilíbrio oxidativo, culminando com dano ao DNA (**Figura 6**). Além disso, elevados níveis de TNF- α circulante parecem favorecer o crescimento do tumor através da síntese de IL-6 e consequente síntese de estrógeno (MACCIÓ e MADEDDU, 2011). O aumento de TNF- α e IL-6, associados com a obesidade, promovem

a transformação de células e ativação de fatores transcritores que estimulam a proliferação celular (JENKS, 2010).

A IL-6 age também como um regulador da expressão e atividade da aromatase e na síntese de estrógeno, tanto do tecido adiposo, como do tecido neoplásico da mama, contribuindo também para a progressão do tumor; exercendo papel chave na aquisição das características invasivas das células tumorais. Ao mesmo tempo, atua como fator antiapoptótico inibindo a diferenciação de células dendríticas e facilitando o processo metastático (MACCIÓ e MADEDDU 2011). Adicionalmente, a IL-6 tem ainda a habilidade de induzir o RNAm do VEGF, contribuindo para a angiogênese. Assim, agrupando todos esses fatores, elevados níveis de IL-6 caracterizam comportamento mais agressivo do tumor (RAVISHANKARAN e KARUNANITHI, 2011)

De modo semelhante ao TNF- α e à IL-6, as elevadas concentrações de leptina podem constituir um possível link entre a obesidade e o câncer de mama, pois tem sido demonstrado que essa adipocitocina influencia mensageiros celulares secundários que atuam como ativadores de transcrição de sinais positivos de proliferação e sobrevivência celular (ARCIDIACONO, 2012). Ainda, a leptina age na conversão da androstenediona em estrona no tecido adiposo, levando a maiores concentrações de estrógeno livre. Previamente foi descrito que a leptina é importante indutor e mantenedor do câncer de mama, no momento em que estimula proliferação e multiplicação celular. Elevadas concentrações de leptina têm sido associadas com aumento no risco de câncer de mama e doença avançada no momento do diagnóstico (VONA-DAVIS e ROSE, 2009).

Segundo CARTER e CHURCH (2009) em indivíduos obesos a leptina tem sua expressão aumentada, além da relação direta com a motilidade celular e diminuição da apoptose no câncer de mama. Essa mesma adipocitocina é um potente mitógeno para células endoteliais vasculares, contribuindo para o processo de angiogênese, no qual uma nova rede vascular é formada a partir de vasos sanguíneos pré-existentes. Essa etapa é considerada crítica no desenvolvimento do tumor e na sua habilidade para metástase (VONA-DAVIS e ROSE, 2009). A hiperleptinemia age ainda como importante regulador

inflamatório, pois seu aumento estimula a expressão de IL-6 e TNF- α , já descritos como marcadores inflamatórios presentes na obesidade e no câncer.

De modo contrário, a adiponectina parece ser a mais abundante adipocitocina com efeitos anti-inflamatórios e, portanto percorre um caminho inverso ao da leptina na promoção da carcinogênese. Baixas concentrações dessa adipocitocina têm sido associadas com elevada incidência e pior prognóstico do câncer, independente do receptor hormonal (ARCIDIACONO, 2012). De modo semelhante, baixas concentrações observadas na obesidade promovem indiretamente o desenvolvimento tumoral, pois agravam a resistência à insulina e causam hiperinsulinemia compensatória (LEITE, ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009; MACCIÒ et al., 2010). A adiponectina tem ainda papel na ativação do PPAR γ , que age estimulando a expressão do BRCA1. Portanto, em condições de baixa disponibilidade de adiponectina, como na obesidade, há redução na expressão do BRCA1 e consequente diminuição de funções de reparo ao DNA (ARCIDIACONO, 2012).

Segundo BRANKENHIELM et al. (2004) elevadas concentrações de adiponectina inibem, *in vitro*, o crescimento de células endoteliais de microvasos por um mecanismo que envolve a ativação das vias de transdução mediadas pelas caspases. A ativação dessas vias tem papel importante na apoptose e também inibe a estimulação do VEGF. Em indivíduos com excesso de peso, embora clinicamente saudáveis, o desequilíbrio entre as adipocitocinas é um forte indicador de inflamação crônica de baixa intensidade e na presença do câncer, essa desarmonia pode manter importante relação com a manutenção das células tumorais, metástases e com a recorrência da doença (MACCIÒ e MADDEDU, 2011)

O IGF também tem papel no desenvolvimento do câncer de mama, pois exerce ação moduladora nas cadeias que transformam células fenotipicamente normais em células com características neoplásicas. O IGF é composto por ligantes secretados (insulina, IGF-1 e IGF2-2), receptores de superfície celular (receptor de insulina e IGF1R) e proteínas ligantes de IGF (IGFPB). O IGF1R é considerado fator chave no desenvolvimento do câncer no momento em que media a ação dos IGF-1 e IGF-2. A rede

IGF interage com vários fatores genéticos e ambientais que têm sido ligados ao desenvolvimento do câncer de mama (WERNER e BRUCHIN, 2012).

Somando-se aos fatores descritos, decorrentes do excesso de peso e adiposidade, a presença das espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânion superóxido ($O_2^{\bullet}$) e o radical hidroxila ($\bullet OH$), resultantes da exposição à carcinógenos, pode favorecer o desenvolvimento do câncer e outras doenças degenerativas (McELIGOT et al., 2005). As ROS são geradas nas células através de vários mecanismos e favorecem o estado oxidado intracelular, promovendo peroxidação lipídica e danos no DNA. Segundo THOMSOM et al. (2005) sem o adequado reparo, o dano no DNA tem associação direta com o desenvolvimento do câncer.

O processo de oxidação, com aumento na produção das ROS, por fatores exógenos (alimentação e fumo) ou endógenos (estrógenos), pode levar à redução dos mecanismos antioxidantes, favorecendo o quadro de estresse oxidativo (DAI et al., 2009). A peroxidação lipídica, resultante da oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados, tem sido associada ao desenvolvimento do câncer de mama (OSÓRIO-COSTA et al., 2009). Diante disso, metabólitos da peroxidação lipídica, como o malondialdeído (MDA), têm sido identificados entre as pacientes com neoplasia mamária. VAL CARNEIRO et al. (2009), em um estudo caso-controle verificaram maior concentração de malondialdeído (MDA) entre mulheres com câncer de mama, quando comparadas ao controle. Em outro estudo, MDA, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) foram avaliados em 30 pacientes com câncer de mama e 20 controles, onde a concentração de MDA aumentou, conforme o estadiamento clínico (EC) do tumor e o conteúdo de SOD e CAT apresentaram-se menores nas mulheres com câncer de mama (SINHA et al. 2009).

Diante disso e com o objetivo de reduzir os danos promovidos pelas espécies reativas de oxigênio, as células utilizam sistemas antioxidantes extrínsecos (antioxidantes naturais ou sintéticos) e intrínsecos (enzimas antioxidantes – catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase) que mantêm o meio intracelular em equilíbrio metabólico (McELIGOT et al., 2005). Esses sistemas têm a capacidade de converter compostos altamente reativos em estruturas não tóxicas ou menos reativas e dessa forma

protegem o organismo dos efeitos deletérios dos radicais livres sobre as biomoléculas (SENER et al., 2006).

Justificativa

2. JUSTIFICATIVA

De acordo com as evidências epidemiológicas a neoplasia maligna da mama é um importante e atual problema de saúde pública mundial e o desenvolvimento desse tipo de câncer tem sido associado a fatores genéticos, mas também, de modo convincente, aos fatores ambientais, relacionados ao estilo de vida, como excesso de peso e adiposidade. Somando-se a esse cenário, cresce como epidemia o panorama da obesidade mundial, nacional e regional, independente do desenvolvimento socioeconômico do país e da população. No Brasil, aproximadamente 50% da população tem excesso de peso, segundo VIGITEL (2012) e quase 20% dela apresenta obesidade.

A interface entre o tumor da mama e os excessos de peso e adiposidade tem sido amplamente estudada nas últimas décadas. Diferentes mecanismos são propostos para explicar a influência da obesidade sobre a proliferação celular e desenvolvimento da neoplasia maligna da mama. Vários dessas vias envolvem os processos inflamatórios e oxidativos das doenças crônicas, como o excesso de peso, estimulando a proliferação celular e reduzindo a apoptose.

Apesar da existência de diversos trabalhos que envolvem essa relação entre o tumor da mama e a obesidade, no Brasil e, particularmente na região do Nordeste brasileiro os estudos são modestos. Nessa região o perfil da população se destaca pelo baixo nível socioeconômico, pouco acesso à informação, prevalência crescente do excesso de peso e estimativas importantes de novos casos de câncer de mama. Portanto, avaliar a possível relação entre neoplasia maligna da mama e excesso de peso por meio da avaliação de marcadores oxidativos e adipocitocinas (leptina e adiponectina), pode ampliar os conhecimentos nessa área.

Objetivo

3. OBJETIVO

Avaliar o papel da adiposidade sobre biomarcadores de oxidação e adipocitocinas na neoplasia maligna da mama.

Metodología

4. METODOLOGIA

O presente estudo recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Auxílio Regular à Pesquisa: 2010/19207-6), sendo a coleta de dados realizada na cidade de Fortaleza-Ce. O projeto teve o envolvimento de Docente, alunos de Doutorado, Mestrado e Iniciação Científica da Faculdade de Saúde Pública/USP, bem como de profissionais enfermeiros e médicos do Hospital Geral de Fortaleza (HGF), docentes e alunos de Iniciação Científica da Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo observacional do tipo caso-controle, descritivo e analítico, realizado com pacientes com câncer de mama (grupo Caso) atendidas do ambulatório de Mastologia do Hospital Geral de Fortaleza – HGF (Fortaleza, Ceará). Participaram como controles (grupo Controle), mulheres sem diagnóstico de câncer, atendidas no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da mesma instituição.

A coleta de dados deu-se no período de maio de 2011 a agosto de 2012, com a armazenagem inicial do material biológico sendo realizada no Laboratório de Desenvolvimento de Fármacos da Universidade de Fortaleza (UNIFOR) (Fortaleza-Ce). Após a finalização da coleta de dados, se iniciou a etapa de transporte das amostras para o Laboratório de Nutrição Humana da FSP/USP (São Paulo-SP), onde foram realizadas todas as análises bioquímicas.

4.2 CÁLCULO AMOSTRAL E SELEÇÃO DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO

Para o cálculo amostral foram considerados os resultados apresentados por MACCIO et al (2010) e também todas as variáveis de interesse com o intuito de observar diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, com um nível de significância de 5% e um poder de 95%, supondo distribuição normal das variáveis. Dos valores observados para a variável leptina foi obtido o maior número de pacientes necessários para observar diferenças entre todas variáveis de interesse. Assim o valor estimado da amostra foi de 96 mulheres (Caso) e 96 mulheres (Controle). Considerando possíveis perdas incluiu-se 100 mulheres em cada um dos grupos, totalizando 201 pacientes no estudo (**Figura 7**).

Figura 7. Descrição da distribuição das pacientes entre os grupos Caso e Controle.

A seleção da amostra deu-se por conveniência, de forma não-probabilística e consecutiva. Para essa etapa, a equipe de pesquisadores (doutoranda e alunas de iniciação científica) esteve presente em todos os horários de atendimento dos ambulatórios de Mastologia e Ginecologia e Obstetrícia do HGF, os quais aconteciam em 5 períodos da semana.

Pacientes do ambulatório de Mastologia em primeiro atendimento e com lesão clínica suspeita para neoplasia maligna da mama, e pacientes do ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia acompanhadas para exames de rotina e prevenção, foram

orientadas pelos médicos a conversarem com os pesquisadores. A conversa era realizada individualmente, com cada paciente, em consultório disponível para esse momento, sendo esclarecido o objetivo do estudo e feito o convite para participação. A entrevistada deveria manifestar voluntariamente o seu interesse.

Aquelas que demonstraram interesse em participar do estudo foram questionadas com relação aos critérios de não inclusão apresentados no item 4.2.2, sendo as informações posteriormente confirmadas em prontuário médico. De rotina, as pacientes do ambulatório de Mastologia, elegíveis nesse primeiro contato, seguiam para biópsia e com o resultado positivo para tumor da mama, eram inseridas no grupo Caso, seguindo os critérios de inclusão descritos nos itens 4.2.1. Ressalta-se que no primeiro contato com as participantes do grupo Caso, os pesquisadores desconheciam o seu diagnóstico de neoplasia maligna da mama, sendo confirmado apenas após exames de estadiamento e biópsia.

Após a confirmação da elegibilidade para os grupos Caso e Controle, se agendou a data para tomada das informações, de acordo com a disponibilidade das voluntárias e necessidades específicas para a realização do exame de bioimpedância e coleta do material biológico (**Figura 8**), como apresentado nos itens 4.3.2 e 4.3.3.

As pacientes que não preencheram os requisitos de inclusão para a pesquisa, receberam explicações detalhadas sobre os motivos da não inclusão.

O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do HGF (050507/10) e da FSP/USP (425/10- 2162) (**Anexo 1**), sendo a coleta de dados realizada após obtenção da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelas pacientes (**Apêndice 1**). Todos os procedimentos para obtenção e divulgação de informações seguiram as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde, item de Ética em Pesquisas com Humanos (CNS, 1996).

Figura 8. Fluxograma de seleção das pacientes dos grupos Caso e Controle.

4.2.1 Critérios de Inclusão

GRUPO CASO - Foram consideradas elegíveis as mulheres com recém diagnóstico clínico e anátomo-patológico de neoplasia maligna da mama, estadiamento clínico (EC) I, II, III e IV, sem doença metastática, sem neoplasias associadas, sem tratamento antineoplásico prévio e com índice de *Karnofsky* acima de 70 (**Anexo 2**).

O índice de *Karnofsky* é uma escala que classifica o paciente de acordo com o grau das suas inaptidões ou deficiências funcionais, sendo amplamente utilizado como “padrão-ouro” na avaliação de pacientes oncológicos (KARNOFSKY et al., 1948). Se caracteriza por uma avaliação subjetiva que segue uma escala que varia de 0 (zero) a 100 (cem), onde valores de 0 – 40 indicam que o paciente está inapto para cuidar de si mesmo; de 50 – 70 inapto para trabalhar e, de 80 – 100 indicam que o paciente está apto para atividades rotineiras e cuidar de si mesmo.

GRUPO CONTROLE - Foram elegíveis pacientes sem diagnóstico de tumor da mama ou qualquer outra neoplasia, avaliadas por meio da história do prontuário e de exame clínico realizado por médico colaborador do estudo (EBS).

4.2.2 Critérios de Não Inclusão

GRUPOS CASO E CONTROLE: Não foram incluídas no estudo, pacientes com doenças crônicas não transmissíveis não controladas ou transmissíveis (portadoras do vírus da imunodeficiência humana - HIV), que estivessem recebendo orientação

nutricional ou sob uso de terapia farmacológica para controle de peso, com problemas neurológicos ou psiquiátricos.

Essas informações foram obtidas por meio de avaliação clínica realizada pela equipe de pesquisadores e análise dos prontuários das pacientes.

4.3 COLETA DE DADOS

4.3.1 Perfil Socioeconômico e Clínico

O perfil socioeconômico das pacientes foi avaliado por meio de questionário estruturado contendo itens como idade, estado civil, etnia, escolaridade e renda familiar *per capita* em salários mínimos (SM).

Coletou-se informações sobre as variáveis clínicas referentes ao estado de menopausa, uso de terapia de reposição hormonal (TRH), história reprodutiva, amamentação, tabagismo (fuma, fumou, nunca fumou), alcoolismo (>15g de etanol/dia) (Sociedade Brasileira de Hipertensão – SBH, 2006) e história familiar de câncer, consideradas como fatores de risco para câncer de mama e utilizadas para o pareamento dos grupos.

Entre as pacientes com diagnóstico clínico e anátomo-patológico de tumor da mama (grupo Caso) coletou-se, por pesquisa aos prontuários, informações sobre estadiamento clínico (EC), tamanho do tumor, presença de linfonodos comprometidos e grau histopatológico (**Apêndice 2**).

4.3.2 Parâmetros Antropométricos

A avaliação antropométrica deu-se por aferição do peso atual (PA), altura (m), circunferência da cintura (CC) e composição corporal, realizada por profissional treinado.

O PA foi aferido em balança digital Control (Plenna®, São Paulo, Brasil), com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g. Para medição da altura utilizou-se estadiômetro do modelo AlturaExata® (TBW, São Paulo, Brasil) com limite de 2,10 m e precisão de 1 mm. O protocolo para obtenção das medidas de PA e altura seguiu a metodologia descrita por DUARTE e CASTELLANI (2002). Após cálculo do IMC ($\text{peso atual} / \text{altura}^2$ (kg/m^2), a classificação do estado nutricional seguiu as recomendações da OMS (2000).

Para aferição da CC utilizou-se fita métrica inelástica, com a medição realizada sobre a cicatriz umbilical. Definiu-se obesidade abdominal seguindo o valor estabelecido pela *International Diabetes Federation* (IDF, 2006) para mulheres brancas de origem europeia, que tem como ponto de corte $CC \geq 80$ cm.

A obtenção dos parâmetros bioelétricos de resistência (R), reactância (Xc) e ângulo de fase (AF) e dados de composição corporal (% massa gorda - %MG, % massa magra - %MM) deu-se por impedância bioelétrica (BIA), com o uso do aparelho tetrapolar Bioimpedância Biodynamics®, modelo 450 (TBW, São Paulo, Brasil), através da aplicação de uma corrente de 800 μA e frequência de 50 KHz, seguindo o protocolo recomendado pela Biodynamics®.

Utilizou-se a Análise Vetorial de Bioimpedância (BIVA), proposta por PICCOLI E PASTORI (2002) para a avaliação dos parâmetros bioelétricos. Além disso, os parâmetros para ângulo de fase foram avaliados, conforme proposto por BARBOSA-SILVA (2002) e os resultados de % MG foram classificados, segundo LOHMAN (1992).

4.3.3 Obtenção do Sangue

Após jejum de 12 h coletou-se, de cada participante, uma alíquota de sangue (20 ml) em tubos *vacutainer* contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (1 mg/ml), utilizado como anticoagulante e antioxidante, sendo essa alíquota mantida em gelo e protegida da luz até a obtenção do plasma.

Profissional capacitado (auxiliar de enfermagem) realizou a coleta de sangue em local reservado e equipado de modo a conferir segurança laboratorial ao indivíduo doador e coletor. Todo material necessário foi utilizado pela primeira vez para este fim e teve seu descarte efetuado dentro dos padrões de segurança laboratorial. Ressalta-se o uso das amostras coletadas exclusivamente para os fins descritos neste estudo.

Ao plasma acrescentou-se os inibidores de proteases: aprotinina (2 µg/ml), benzamidina (2 mM) e fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) (1 mM), além do antioxidante hidroxitolueno butilado (BHT) (20 mM), sendo então aliquotado e armazenado a -80 °C no Laboratório de Desenvolvimento de Fármacos da UNIFOR, até o momento das análises.

Para análises, se efetuou o transporte do plasma de Fortaleza para São Paulo, seguindo as normas da *International Air Transport Association (IATA)*, categoria B (material biológico não infeccioso).

Independentemente do local onde as amostras foram analisadas, todo material biológico excedente foi devolvido para o Laboratório de Nutrição Humana da FSP/USP, onde permanecerá armazenado a -80 °C por um período de 5 anos. Após esse período o material será descartado, segundo as normas de Biossegurança (autoclavagem, seguida de descarte) (**Figura 9**).

Figura 9. Fluxograma de coleta, armazenagem e transporte das amostras. UNIFOR: Universidade de Fortaleza; FSP/USP: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

4.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.4.1. Detecção de Biomarcadores de Estresse Oxidativo

4.4.1.1 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs)

Em 50µl de plasma adicionou-se 1 ml da solução de ácidos tiobarbitúrico (0,046 M), ácido tricloroacético (0,92 M) e ácido clorídrico (0,25 M), e levou-se para incubação em banho-maria fervente (100 °C) por 30 minutos. Em seguida, foram levados para

centrifugação a 8000 x g, por 15 minutos, à 4 °C. O sobrenadante (200 µl) foi removido, sendo os produtos reativos monitorados em espectrofotômetro a 535 nm.

A quantificação foi realizada aplicando a média das duplicatas na curva padrão de tetraetilpirazina (TEP) construída no intervalo de 0,2 a 0,4 µmol de TBARs/L de plasma. Os valores foram expressos em µmol de TBARs/mg de proteínas. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

4.4.1.2 Detecção de LDL(-) no Plasma

Para a detecção da LDL(-) utilizou-se *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sanduiche e seguiu-se o protocolo padronizado por nosso grupo de pesquisa.

As placas (Costar®, modelo 3690, Corning, USA) foram sensibilizadas com Anticorpo Monoclonal Anti-LDL(-) (MAb-1A3) (0,5 µg/mL, 50 µL/poço), diluído em tampão Carbonato-Bicarbonato, (0,25 M, pH 9,6), sendo então incubadas overnight (16h) a 4°C. Após esse período, as placas foram lavadas 3 vezes, por imersão em tampão fosfato salina (PBS) - Tween 0,05%. Então, os sítios livres foram bloqueados com leite desnatado (Molico®, Nestlé, São Paulo, Brasil), diluído a 2 % em PBS-Tween 0,01% e incubados a 37 °C por 2 horas.

Depois da incubação, as placas foram lavadas, por imersão, 3 vezes, com PBS-Tween 0,05%, sendo então adicionados 50 µL/poço do plasma das pacientes diluído 1:1000 em leite desnatado (Molico®, Nestlé, São Paulo, Brasil), preparado a 1% em PBS-Tween 0,01%, seguindo com incubação a 37 °C por 1h 30. A placa foi então lavada, por imersão, 3 vezes, com PBS-Tween 0,05%.

Em seguida, foram adicionados 50 µL/poço de anticorpo monoclonal anti-LDL(-) biotinilado (Ac-2C7b) (10 µg/mL), diluído em leite desnatado (Molico®, Nestlé,

São Paulo, Brasil), preparado a 1% em PBS-Tween 0,01%. As placas seguiram para incubação por 1 h, a 37 °C, sendo então lavadas por imersão, 3 vezes, com PBS-Tween 0,05%.

Após essa etapa, foi adicionada estreptoavidina-peroxidase (1:40000), diluída em leite desnatado (Molico[®], Nestlé, São Paulo, Brasil), preparado a 1% em PBS-Tween 0,01% (50 µL/poço), sendo as placas incubadas por 1 h, a 37 °C e, em seguida lavadas, 4 vezes, por imersão, com PBS-Tween 0,05%.

Seguiu-se com a adição de 50 µL/poço da solução de ortofenilenediamina (OPD) diluída em tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 4,2) e H₂O₂ (30%) (250/12/10, µL/mL/µL). Após incubação de 5 minutos a reação de cor foi bloqueada com 50 µL/poço de ácido sulfúrico (H₂SO₄) (2 M) e a absorbância monitorada em 450 nm.

Os resultados foram expressos a partir da média das absorbâncias das amostras menos o *background* e, posteriormente, aplicados à curva padrão e multiplicados pela respectiva diluição, sendo os resultados expressos em U/L.

4.4.1.3. Detecção de Auto-anticorpos anti-LDL(-) no Plasma

Avaliou-se a concentração de auto-anticorpos anti-LDL(-) por ELISA de captura de anticorpo, onde a LDL(-), isolada por FPLC, foi diluída em tampão Carbonato-Bicarbonato (0,25 M, pH 9,6) até concentração final de 1 µg/ml, pipetada na placa (Costar[®], modelo 3690, Corning, USA) e incubada overnight a 4 °C, para sensibilização. Os espaços livres foram bloqueados com leite desnatado, diluído à 5 % em tampão Fosfato-Salina 0,01mol/L (PBS - pH 7,4) e incubados à 37 °C por 2 h. Após a incubação, lavou-se a placa 4 vezes, por imersão, com PBS-Tween (0,05%).

Em seguida, se diluiu as amostras (1:500) em PBS, as quais foram pipetadas (50 µl/ poço) na placa sensibilizada com LDL(-), seguido de incubação por 2 h à 37 °C. Em seguida, a placa foi lavada, conforme descrito acima e adicionados 50 µl/poço de anti-IgG humana marcada com peroxidase (1:5000) diluída em PBS. A placa seguiu para incubação, por 1 hora e 30 min, à 37 °C, e posterior lavagem, conforme descrito acima.

Para avaliar a reatividade adicionou-se o substrato composto por 3,3',5,5'-tetrametilbenzina (TMB), tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 4,2) e H₂O₂ (30%) (250/12/10, µL/mL/µL), sendo a placa incubada por 15 minutos, à 37 °C, sob proteção da luz. A reação de cor foi bloqueada com H₂SO₄ (2,0 M) (50 µl/poço) sendo a absorbância monitorada em 450 nm.

Os resultados foram determinados aplicando-se a média das absorbâncias das duplicatas das amostras - *background* à equação da curva-padrão de MAb (MAb-1A3) (0.004–0.125 mU/L).

4.4.1.4. Avaliação de Dano Oxidativo ao DNA

O dano oxidativo ao DNA foi avaliado por meio da detecção e quantificação da 8-hydroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) presente no plasma das pacientes incluídas no estudo. Para tanto utilizou-se o kit de dano ao DNA (*Enzo Life Sciences*®), que é um ELISA competitivo e colorimétrico. Os resultados foram expressos em ng/ml.

4.4.1.5. Vitaminas Antioxidantes (Retinol, α -Tocoferol, β -Caroteno)

Mensurou-se a concentração dos antioxidantes lipossolúveis utilizando o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e o protocolo descrito por FORTIS E FAVER (1991). Pipetou-se 200 μ l do plasma das pacientes e adicionou-se 200 μ l de etanol, seguida de homogeneização em vortex por 5 segundos. Em seguida, se adicionou 500 μ l de hexano, retornando ao vortex para homogeneização por mais 2 minutos, cronometrados. Posteriormente, essa solução foi centrifugada a 4 °C, em 3000 rpm, por 5 minutos. Então, se retirou o sobrenadante, sendo transferido para tubos de ensaio e levados para secagem no Tubovap, por 15 minutos.

As amostras secas foram resuspendidas em 200 μ l de fase móvel (acetonitrila – 70 %; metanol – 20 %; 10 % de diclorometano, numa solução final de 100 ml), sendo essa solução homogeneizada rapidamente no vortex e filtrada em unidade filtrante HV em PE com membrana durapore (0,45 μ m de poro 13 mm, não estéril). Após filtragem realizou injeção de 50 μ l da solução no aparelho HPLC.

Realizou-se a leitura dos picos de cada antioxidante, sendo apresentados na seguinte ordem: retinol, α -tocoferol e β -caroteno. A partir dessa leitura calculou-se os resultados usando a razão entre a área do pico da amostra e as do padrão, sendo os resultados apresentados em μ mol/L.

4.4.2 Detecção de Leptina

A determinação quantitativa da leptina no plasma das pacientes foi realizada com o uso do kit ELISA (*Enzo Life Sciences*®), que se trata de um imunensaio competitivo e

colorimétrico. Os resultados foram expressos em ng/ml, seguindo protocolo estabelecido pelo fabricante.

4.4.3 Detecção de Adiponectina

A determinação quantitativa da adiponectina no plasma das pacientes foi realizada com o uso do kit ELISA (*Adipogen*[®]), que se trata de um imunoenensaio competitivo e colorimétrico. Os resultados foram expressos em µg/ml, seguindo protocolo estabelecido pelo fabricante.

4.5. ESTATÍSTICAS

Inicialmente realizou-se o estudo das variáveis, onde as qualitativas foram descritas em números absolutos e frequências simples. As variáveis quantitativas, tiveram seu comportamento em relação à curva normal avaliado pela construção de histogramas, além da realização do teste de *Kolmogorov-Smirnof* ($p>0,05$).

A partir desses resultados, foram realizados os testes de *t-Student* e *Mann-Whitney*, para variáveis paramétricas e não-paramétricas, respectivamente, a fim de avaliar as diferenças de médias ou medianas entre os grupos Caso e Controle. De modo específico realizou-se a categorização do IMC em excesso de peso ($\geq 24,9$ kg/m²) e obesidade (≥ 30 kg/m²), sendo avaliada a diferença de médias entre essas duas categorias nos grupos Caso e Controle. Adotou-se nível de significância de 5%.

Seguiu-se a análise estatística, onde a partir dos resultados iniciais, foram construídos modelos apropriados de regressão linear e regressão logística múltipla, sendo estudada a relação entre as variáveis antropométricas e de composição corporal (independentes) e as variáveis oxidativas e adipocitocinas (variáveis dependentes), a fim de conservar a existência de interações entre elas.

Para a regressão linear foram adotadas as variáveis com distribuição normal e que apresentassem correlação entre si, com nível de significância de 0,20 sendo tidas como independentes: IMC, CC e %MG; e como dependentes: α -tocoferol, β -caroteno, TBARS e leptina. Os modelos testados foram: I. o bruto (modelo 1) e o II. ajustado pela idade, menopausa, uso de TRH, fumo e álcool (modelo 2). Adotou-se nível de significância de 5%.

Para a regressão logística múltipla as variáveis foram categorizadas pelos tercís de controle e verificada a associação entre elas através do teste qui-quadrado, sendo adotado o nível de significância de 0,20. Os modelos testados foram: I. o bruto (modelo 1), II. ajustado pela idade (modelo 2) e III. ajustado pela idade, menopausa, uso de TRH, fumo e álcool (modelo 3). Adotou-se nível de significância de 5%.

Todos os procedimentos estatísticos foram avaliados no programa SPSS (20.0).

Resultados

5. RESULTADOS

As pacientes avaliadas apresentaram idade média de 50,3 (11,3) anos (grupo Caso) e 48,2 (12,9) anos (grupo Controle). Com relação aos dados socioeconômicos, observou-se maior prevalência de mulheres casadas (55,4% e 41%), etnia parda (52,2% e 74%), com menos de 9 anos de estudos (48,5% e 49%) e renda familiar *per capita* inferior a 1 salário mínimo (SM) (61,4% e 57%), em ambos os grupos, respectivamente (**Tabela 1**).

Tabela 1. Descrição do perfil socioeconômico das pacientes, segundo diagnóstico de neoplasia maligna da mama.

Variáveis socioeconômicas	Casos (n=101)	Controles (n=100)	χ^2
	n (%)	n (%)	
Estado Civil			
Casada	56 (55,4)	41 (41,0)	p=0,06
Solteira	25 (24,8)	36 (36,0)	
Outros*	20 (19,8)	23 (23,0)	
Etnia			
Branca	26 (25,7)	16 (16,0)	p=0,12
Parda	53 (52,5)	74 (74,0)	
Outros**	22 (21,8)	10 (10,0)	
Escolaridade (Anos de Estudo)			
≤ 9 anos	49 (48,5)	49 (49,0)	p=0,94
10 – 12 anos	31 (30,7)	34 (34,0)	
≥ 12 anos	21 (20,8)	17 (17,0)	
Renda familiar			
≤ 1 SM***	61 (61,4)	57 (57,0)	p=0,72
2-6 SM	37 (36,0)	42 (42,0)	
≥ 10 SM	3 (0,9)	1 (1,0)	

*Divorciada, viúva e outros; **Amarela, negra e indígena; ***Valor do salário mínimo (SM): R\$648 (equivalente a U\$ 300). Diferença entre os grupo foi avaliada pelo teste χ^2 com nível de significância de $p < 0,05$.

Na **Tabela 2** são apresentados os dados da caracterização clínica da população avaliada. Com relação ao estado de menopausa, houve maior frequência das mulheres na

pós-menopausa (50,5%) no grupo Caso e na pré-menopausa (58%) no grupo Controle, mas sem diferenças significativas entre eles ($p=0,286$). Para as demais variáveis clínicas, os grupos Caso e Controle, quando comparados, se apresentaram semelhantes, com maior prevalência de mulheres sem uso de terapia de reposição hormonal - TRH (92,1% e 94%), multíparas (82% e 79%), que amamentaram (68% e 63%), não fumantes (57,4% e 65%), não etilistas (57% e 55%) e com antecedentes familiares de câncer de mama (69,3% e 44%), respectivamente.

Tabela 2. Descrição do perfil clínico das pacientes, segundo grupos Caso e Controle.

Perfil Clínico	Casos (n=101)	Controles (n=100)	χ^2
	n (%)	n (%)	
Estado de Menopausa			
Pré-menopausa	50 (49,5)	58 (58,0)	$p = 0,286$
Pós-menopausa	51 (50,5)	42 (42,0)	
TRH			
Sim	8 (7,9)	6 (6,0)	$p = 0,796$
Não	93 (92,1)	94 (94,0)	
Nuliparidade			
Sim	19 (18,8)	21 (21,0)	$p = 0,832$
Não	82 (81,2)	79 (79,0)	
Amamentação*			
Sim	68 (82,9)	63 (80,8)	$p = 0,881$
Não	14 (17,1)	15 (19,2)	
Tabagismo			
Fumante	9 (8,9)	8 (8,0)	$p = 0,338$
Ex-fumante	34 (33,7)	27 (27,0)	
Não fumante	58 (57,4)	65 (65,0)	
Etilismo			
Etilista	18 (17,8)	20 (20,0)	$p = 0,949$
Ex-etilista	26 (25,7)	25 (25,0)	
Não etilista	57 (56,4)	55 (55,0)	
Antecedentes familiares			
Câncer de mama	70 (69,3)	44 (44,0)	$p = 0,850$
Outros cânceres	31 (30,7)	22 (22,0)	

Resultados apresentados em número absoluto e frequência simples. Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste χ^2 ; Nível de significância adotado $p < 0,05$. TRH: Terapia de reposição hormonal. *Amamentação (Caso n=82; Controle n=78).

Entre as pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna da mama (n=101), a análise das características do tumor mostrou que 74 % delas tinham tumores localizados nos ductos, 32,7 % estavam em estadiamento clínico II (ECII), 33,7 % dos tumores tinham < 2 cm (T1) e 53 % das mulheres não apresentavam linfonodos comprometidos. Destaca-se ainda que 96 % das mulheres avaliadas estavam com índice de Karnofsky de 100, indicando que elas se encontravam aptas a cuidarem de si próprias (**Tabela 3**).

Tabela 3. Descrição das pacientes do grupo Caso, segundo as características do tumor.

Características tumorais	n	%
Subtipo		
Ductal	74	83,1
Lobular	15	16,9
Estadiamento Clínico		
0	4	4,6
I	29	33,7
II	33	38,4
III	19	22,1
IV	1	1,2
Tamanho do tumor		
Tis	2	2,5
T1 (até 2 cm)	34	43,0
T2 (2 a 5 cm)	20	25,4
T3 (≥ 5 cm)	10	12,6
T4	13	16,5
Linfonodos comprometidos		
N-	53	67,1
N+	26	32,9
Índice de Karnofsky		
100	97	96,0
90	2	2,0
80	1	1,0
70	1	1,0

Resultados apresentados em número absoluto e frequência simples. Subtipo (n=89); Estadiamento clínico (n=86); Tamanho do tumor (n=79); Linfonodos comprometidos (n=79); Índice de Karnofsky (n=101).

A **Tabela 4** mostra o perfil antropométrico dos grupos Caso e Controle, onde ambos apresentaram IMC de sobrepeso (27,8 kg/m² e 27,1 kg/m², respectivamente). As medidas de CC mostraram obesidade abdominal (96,1 cm e 91,2 cm, respectivamente), sendo os valores apresentados pelo grupo Caso maiores que os observados nas mulheres

do grupo Controle ($p=0,002$). Quando se mediu o %MG verificou-se que as mulheres dos dois grupos apresentavam valores médios acima da normalidade (35,3 % e 34,5 %, respectivamente).

Tabela 4. Descrição do perfil antropométrico e de composição corporal das pacientes, segundo grupos Caso e Controle.

Variáveis Antropométricas	Caso (n=101)	Controle (n=100)	p
Peso atual (kg)	67,5 (11,2)	65,7 (11,1)	0,264
IMC (kg/m^2)	27,8 (4,6)	27,1 (4,4)	0,226
CC (cm)	96,1 (10,7)	91,2 (10,1)	0,002
% MG	35,3 (4,8)	34,5 (4,7)	0,246
% MM	64,7 (4,8)	65,5 (4,7)	0,251
Resistência (R)	572,7 (100,8)	586,3 (78,3)	0,293
Reactância (Xc)	63,8 (10,1)	64,6 (10,0)	0,558
Ângulo de fase	6,2	6,2	0,953

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* (variáveis não paramétricas); Nível de significância adotado $p<0,05$. IMC: índice de massa corporal, CC: circunferência da cintura, % MG: percentual de massa gorda, %MM: percentual de massa magra.

Na **Tabela 5** são apresentadas as diferenças entre os grupos Caso e Controle das médias das variáveis antropométricas, segundo excesso de peso (sobrepeso + obesidade) e obesidade, onde apenas a CC mostrou-se maior nas pacientes com tumor de mama que estavam com excesso de peso quando comparadas aos controles com mesmo diagnóstico nutricional.

Tabela 5. Descrição do perfil antropométrico e da composição corporal das pacientes com excesso de peso e obesidade, segundo grupos Caso e Controle.

Variáveis Antropométricas	EXCESSO DE PESO			OBESIDADE		
	Caso (n=73)	Controle (n=64)	p	Caso (n=34)	Controle (n=25)	p
CC (cm)	99,7 (8,5)	95,1 (9,2)	<0,01	105,4 (7,4)	102,0 (6,2)	0,08
%MG	36,5 (4,5)	36,4 (3,7)	0,83	38,9 (4,1)	38,9 (3,4)	0,984
%MM	63,5 (4,5)	63,5 (3,8)	0,891	61,1 (4,0)	61,0 (3,4)	0,985
Resistência (R)	551,3 (77,5)	552,2 (64,3)	0,941	515,7 (69,4)	512,2 (62,0)	0,841
Reactância (Xc)	61,8 (9,5)	61,0 (8,8)	0,62	59,8 (9,1)	57,4 (9,3)	0,326
Ângulo de fase	6,4 (0,8)	6,3 (0,7)	0,498	6,6 (0,8)	6,4 (0,8)	0,357

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* (variáveis não paramétricas); Nível de significância adotado $p < 0,05$. CC: circunferência da cintura, % MG: percentual de massa gorda, %MM: percentual de massa magra. Excesso de peso – $IMC \geq 24,9$ kg/m^2 e Obesidade – $IMC \geq 29,9$ kg/m^2 .

Avaliando os vetores de impedância bioelétrica no gráfico Z-escore (**Figura 10**) a maioria dos vetores dos dois grupos (Caso e Controle) está localizada abaixo do eixo longo e abaixo do eixo curto, indicando reduzida massa celular corporal e retenção hídrica, respectivamente. Numa análise individual, 15 pacientes do grupo Caso e 7 pacientes do grupo Controle estão localizadas fora da elipse de tolerância de 95th, sendo considerado resultado fora do padrão de hidratação e quantidade de massa celular corporal.

Figura 10. Distribuição dos vetores individuais no gráfico Z-escore. A – grupo Caso; B- grupo Controle.

Houve deslocamento significativo do vetor médio de impedância das pacientes com tumor de mama quando comparadas com a população de referência ($T^2=33,1$; $p<0,001$). Entretanto, quando comparado ao grupo Controle, o deslocamento não variou significativamente ($T^2=0,9$; $p=0,639$). (**Figura 11**).

Figura 11. Plotagem da média dos vetores de impedância bioelétrica, no limite de confiança de 95%, dos grupos Caso e Controle e população de referência. População de referência – Mulheres americanas mexicanas, com IMC 25 – 30 kg/m², idade de 49 – 59 anos. R: resistência; Xc: reactância; H: altura. IMC: índice de massa corporal (PICOLLI e PASTORI, 2002).

Com relação aos aspectos bioquímicos, as pacientes com tumor de mama mostraram piores perfis para os marcadores oxidativos TBARS ($p<0,001$), LDL(-) ($p=0,026$), auto anticorpos anti-LDL(-) ($p<0,001$) e 8-OHdG ($p=0,021$), bem como reduzida concentração de adiponectina ($P<0,001$). Vitaminas antioxidantes e leptina apresentaram-se semelhantes entre os grupos Caso e Controle (**Tabela 6**).

Tabela 6. Descrição do perfil bioquímico das pacientes, segundo grupos Caso e Controle.

Variáveis Bioquímicas	Caso (n=101)	Controle (n=100)	p
TBARS ($\mu\text{mol/L}$)	6,0 (1,6)	4,7 (1,1)	<0,001
LDL(-) (U/L)	4,2 (5,4)	2,5 (2,0)	0,026
Anti-LDL(-) (mU/L)	4,5 (3,0)	2,8 (2,3)	<0,001
8-OHdG (ng/ml)	18,2 (5,9)	16,3 (4,7)	0,021
Retinol ($\mu\text{mol/L}$)	1,6 (0,5)	1,7 (0,5)	0,854
β -caroteno ($\mu\text{mol/L}$)	0,47 (0,4)	0,49 (0,5)	0,773
α -tocoferol ($\mu\text{mol/L}$)	11,2 (2,8)	11,5 (3,5)	0,552
Leptina (ng/ml)	29,3 (17,3)	29,9 (17,5)	0,231
Adiponectina ($\mu\text{g/ml}$)	8,8 (5,3)	11,7 (6,6)	<0,001

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* (variáveis não paramétricas); Nível de significância adotado $p < 0,05$.

Ao serem categorizadas pelo estado nutricional de acordo com o IMC (excesso de peso – $\text{IMC} \geq 24,9 \text{ kg/m}^2$ e Obesidade – $\text{IMC} \geq 29,9 \text{ kg/m}^2$) e comparadas aos controles, as mulheres com tumor de mama mostraram maiores concentrações de TBARS e anticorpos anti-LDL(-). Entre as pacientes com excesso de peso, aquelas com diagnóstico de neoplasia maligna da mama apresentaram maiores concentrações de 8-OHdG e menores concentrações de adiponectina. Os valores de LDL(-), retinol, β -caroteno, α -tocoferol e leptina não variaram significativamente entre os grupos Caso e Controle em função do diagnóstico nutricional (**Tabela 7**).

Tabela 7. Descrição do perfil bioquímico das pacientes com excesso de peso e obesidade, segundo grupo Caso e Controle.

Variáveis Bioquímicas	EXCESSO DE PESO			OBESIDADE		
	Caso (n=73)	Controle (n=64)	P	Caso (n=34)	Controle (n=25)	P
TBARS (μmol/L)	6,0 (1,3)	4,6 (1,1)	<0,01	6,0 (1,3)	5,0 (1,1)	<0,01
LDL(-) (U/L)	3,5 (3,1)	2,5 (2,0)	0,073	3,4 (3,3)	2,0 (2,1)	0,759
Anti-LDL (-) (mU/L)	4,6 (3,3)	3,0 (2,7)	<0,01	4,9 (3,0)	3,2 (1,7)	0,018
8-OHdG (ng/ml)	19,1 (5,9)	17,3 (4,4)	0,054	19,3 (6,5)	18,2 (4,4)	0,476
Retinol (μmol/L)	1,6 (0,5)	1,6 (0,5)	0,883	1,6 (0,6)	1,7 (0,5)	0,686
β-caroteno (μmol/L)	0,44 (0,35)	0,45 (0,33)	0,572	0,42 (0,28)	0,53 (0,44)	0,539
α-tocoferol (μmol/L)	11,4 (2,9)	11,8 (3,8)	0,52	11,2 (2,9)	12,4 (4,2)	0,57
Leptina (ng/ml)	33,4 (17,6)	35,9 (17,1)	0,457	37,8 (19,5)	44,1 (18,9)	0,295
Adiponectina (μg/ml)	8,2 (4,7)	10,6 (4,7)	0,03	7,0 (4,0)	9,5 (5,6)	0,07

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre os grupos avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* (variáveis não paramétricas); Nível de significância adotado $p < 0,05$. Excesso de peso – $IMC \geq 24,9 \text{ kg/m}^2$ e Obesidade – $IMC \geq 29,9 \text{ kg/m}^2$).

Na **Tabela 8** são apresentadas as análises da influência da adiposidade sobre os marcadores oxidativos e adipocitocinas nos grupos Caso e Controle, onde se observa que as concentrações de α -tocoferol e adiponectina entre as pacientes com tumor na mama foram influenciadas pelos valores de CC tanto no modelo bruto ($p = 0,01$; $p = 0,001$, respectivamente), quanto no modelo ajustado ($p = 0,05$; $p = 0,007$, respectivamente). As demais variáveis relacionadas à adiposidade modificaram os marcadores oxidativos (8-OHdG) e influenciaram as concentrações de leptina e adiponectina nos grupos Caso e Controle, em ambos os modelos (bruto e ajustado).

Tabela 8. Influência da adiposidade sobre os marcadores oxidativos e adipocitocinas nos grupos Caso e Controle.

VARIÁVEIS		CASO						CONTROLE					
Adiposidade	Marcadores Bioquímicos	Modelo 1			Modelo 2			Modelo 1			Modelo 2		
		β	IC	p	β	IC	p	β	IC	p	β	IC	p
IMC	8-OHdG (ng/ml)	0,36	0,08-0,63	0,03	0,35	0,07-0,63	0,01	0,30	0,09-0,51	0,005	0,30	0,08-0,52	0,006
	α -tocoferol(μ mol/L)	0,06	-0,05-0,18	0,29	0,05	-0,07-0,17	0,41	0,08	-0,08-0,24	0,33	0,08	-0,08-0,24	0,34
	Leptina(ng/ml)	1,63	0,86-2,41	<0,001	1,58	0,79-2,39	<0,001	2,32	1,59-3,06	<0,001	2,33	1,56-3,09	<0,001
	Adiponectina(μ g/ml)	-0,04	-0,06-(-0,02)	0,001	-0,03	-0,05-(-0,01)	0,007	-0,04	-0,06-(-0,01)	0,003	-0,04	-0,06-(-0,01)	0,004
CC	TBARS(μ mol/L)	-0,00	-0,04-0,03	0,73	0,00	-0,03-0,03	0,93	0,01	-0,01-0,03	0,34	0,01	-0,01-0,03	0,39
	8-OHdG (ng/ml)	0,17	0,05-0,28	0,006	0,16	0,03-0,28	0,012	0,14	0,05-0,24	0,003	0,15	0,06-0,25	0,002
	α -tocoferol(μ mol/L)	0,07	0,01-0,12	0,01	0,05	-0,00-0,10	0,05	0,03	-0,05-0,11	0,44	0,03	-0,05-0,11	0,45
	Leptina(ng/ml)	0,49	0,14-0,84	0,006	0,52	0,17-0,87	0,004	0,61	0,23-0,98	0,002	0,64	0,25-1,03	0,002
	Adiponectina(μ g/ml)	-0,02	-0,03-(-0,00)	0,001	-0,01	-0,02-(0,00)	0,007	-0,01	-0,02-0,00	0,08	-0,01	-0,02-0,00	0,08
MG (%)	TBARS(μ mol/L)	0,03	-0,04-0,09	0,43	0,04	-0,03-0,10	0,29	0,04	-0,00-0,08	0,09	0,03	-0,01-0,08	0,16
	8-OHdG (ng/ml)	0,25	-0,01-0,51	0,06	0,25	-0,02-0,52	0,07	0,19	-0,01-0,40	0,06	0,22	0,00-0,44	0,04
	Leptina(μ g/ml)	1,45	0,63-2,27	0,001	1,41	0,57-2,25	0,001	2,22	1,55-2,89	<0,001	2,46	1,74-3,18	<0,001

Regressão linear (modelo 1 - bruto; modelo 2 - ajustado pela idade, menopausa, uso de TRH, fumo e álcool). Nível de significância adotado $p < 0,05$. IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; MG: massa gorda.

A **Tabela 9** mostra, entre o grupo Caso, a associação da adiposidade, avaliada pelo IMC, CC e %MG, com os parâmetros oxidativos e adipocitocinas. A LDL(-), anticorpos anti-LDL(-) e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) não apresentaram variação em função da adiposidade. Entretanto, a avaliação do dano ao DNA mostrou que mulheres com excesso de peso ($\text{IMC} \geq 24,9 \text{ kg/m}^2$) apresentaram maiores concentrações de 8-OHdG que aquelas com $\text{IMC} < 24,9 \text{ kg/m}^2$.

As vitaminas antioxidantes α -tocoferol, β -caroteno e retinol não foram associadas à adiposidade.

A concentração da leptina aumentou em função do IMC, CC e %MG. Enquanto que o conteúdo de adiponectina foi inversamente proporcional ao IMC.

Tabela 9. Associação do estado nutricional e adiposidade com os parâmetros oxidativos e adipocitocinas nas mulheres com neoplasia maligna da mama (grupo Caso).

VARIÁVEIS	LDL(- (U/L)	p	Anti- LDL(- (mU/L)	p	TBARS (μmol/L)	p	8-OHdG (ng/ml)	p	α- Tocoferol (μmol/L)	p	β-caroteno (μmol/L)	p	Retinol (μmol/L)	p	Leptina (ng/ml)	p	Adiponectina (μ/ml)	p
IMC (kg/m²)																		
< 24,9	6,2 (9,1)	0,766	4,3 (2,0)	0,697	6,1 (2,1)	0,791	15,7 (5,3)	0,02	10,7 (2,3)	0,244	0,5 (0,4)	0,17	1,7 (0,4)	0,541	19,8 (12,4)	0,001	11,0 (6,4)	0,018
≥ 24,9	3,6 (3,1)		4,6 (3,3)		6,0 (1,3)		19,1 (5,9)		11,4 (3,0)		0,44 (0,3)		1,6 (0,5)		33,4 (17,5)		8,2 (4,7)	
CC (cm)																		
< 80cm	8,9 (9,9)	0,42	5,6 (2,6)	0,188	5,8 (1,4)	0,782	14,6 (6,6)	0,101	9,3 (2,7)	0,073	0,5 (0,4)	0,78	1,3 (0,4)	0,056	12,8 (7,9)	0,012	13,4 (8,3)	0,066
≥ 80cm	3,6 (3,5)		4,5 (3,1)		6,1 (1,6)		18,9 (5,8)		11,4 (2,8)		0,4 (0,3)		1,6 (0,5)		30,4 (16,5)		8,3 (4,5)	
% MG																		
< 32%	5,9 (7,7)	0,177	4,2 (2,2)	0,959	5,8 (1,2)	0,627	16,5 (5,5)	0,183	10,8 (2,1)	0,435	0,5 (0,3)	0,27	1,5 (0,3)	0,197	18,8 (7,9)	0,001	9,9 (6,0)	0,184
≥ 32%	3,7 (4,3)		4,6 (3,2)		6,1 (1,7)		18,7 (6,0)		11,4 (3,0)		0,4 (0,4)		1,7 (0,5)		33,1 (18,2)		8,3 (4,5)	

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* ou *Wilcoxon* (variáveis não paramétricas); Nível de significância adotado $p < 0,05$. IMC: índice de massa corporal, CC: circunferência da cintura, % MG: percentual de massa gorda.

Tabela 10 apresenta a avaliação da associação dos marcadores de oxidação e adipocitocinas sobre os parâmetros clínicos relacionados à presença do tumor. Observa-se que a LDL(-) não apresentou variação significativa em função da localização, tamanho e estadiamento tumoral, assim como em relação ao comprometimento linfonodal. Entretanto, quando se avaliou os anticorpos anti-LDL(-) observou-se que mulheres com maior conteúdo de anticorpos não apresentaram linfonodos comprometidos.

A avaliação do dano ao DNA mostrou que mulheres com maiores valores de 8-OHdG tinham preferencialmente tumor localizado nos ductos mamários.

Menores concentrações de β -caroteno e retinol estiveram associadas a tumores em EC III e IV e presença de linfonodos positivos, respectivamente. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e conteúdo de α -tocoferol não apresentaram variação em função da classificação tumoral.

A leptina e a adiponectina não apresentaram associação com as características tumorais de tamanho, localização, estadiamento e comprometimento linfonodal.

A partir das análises de regressão logística univariada e múltipla verificou-se que o risco para neoplasia maligna da mama é maior entre as pacientes com maiores concentrações de auto anticorpos Anti-LDL(-) e de substância reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), tanto no modelo bruto, quanto nos modelos ajustados para idade, menopausa, TRH, fumo e álcool. Igualmente, observou-se que maiores concentrações de adiponectina estão associadas com menor risco para tumor da mama, tanto no modelo bruto quanto nos modelos ajustados (**Tabela 11**). Verificou-se ainda que no segundo tercil de CC há risco aumentado para tumor da mama tanto no modelo bruto quanto nos modelos ajustados (**Tabela 12**).

Tabela 10. Associação dos marcadores de estresse oxidativo e adipocitocinas com as características tumorais.

Variáveis Clínicas	LDL(-) (U/L)	P	Anti-LDL(-) (mU/L)	P	TBARS (µmol/L)	P	8-OHdG (ng/ml)	P	α-Tocoferol (µmol/L)	P	β-caroteno (µmol/L)	P	Retinol (µmol/L)	P	Leptina (ng/ml)	P	Adiponectina (µg/ml)	P
SUBTIPO																		
Ductal	2,3 (6,2)	1	4,7 (3,0)	0,693	6,7(1,5)	0,123	23,2(5,9)	0,004	11,9(3,0)	0,345	0,43(0,4)	0,741	1,6(0,4)	0,939	25,3(14,5)	0,312	9,2 (5,5)	0,811
Lobular	2,4 (2,4)		4,2 (3,6)		6,0(1,6)		17,9(5,6)		11,1(2,9)		0,46(0,3)		1,7(0,5)		30,6(17,8)		8,9 (5,7)	
LINFONODOS																		
N-	2,3 (4,3)	0,890	3,9 (2,3)	0,048	5,8(1,6)	0,191	17,3(5,6)	0,230	11,6(2,8)	0,178	0,5(0,4)	0,303	1,7(0,5)	0,034	27,6(17,5)	0,391	9,0 (5,7)	0,832
N+	3 (5,3)		3,8 (1,8)		6,2(1,3)		19,0(5,3)		10,6(2,7)		0,4(0,3)		1,5(0,3)		31,9(19,7)		9,4 (5,7)	
TAMANHO DO TUMOR																		
<2cm	3,2 (5,4)	0,308	3,4 (1,8)	0,540	5,7(1,1)	0,330	18,3(5,2)	0,494	11,6(2,8)	0,353	0,5(0,4)	0,746	1,7(0,5)	0,203	25,8(16,3)	0,191	10,1 (6,3)	0,559
≥2cm	2,1 (4,8)		4,4 (2,6)		6,1(1,7)		17,4(5,8)		11,0(2,7)		0,5(0,4)		1,6(0,5)		32,0(19,7)		8,5 (5,1)	
EC																		
I e II	2,3 (4,7)	0,952	3,9 (3,5)	0,444	5,8(1,5)	0,071	17,7(5,4)	0,666	11,4(2,7)	0,227	0,5(0,4)	0,014	1,7(0,5)	0,201	30,3(17,0)	0,797	9,1 (5,6)	0,619
III e IV	2,8 (3,9)		4,4 (2,0)		6,6(1,3)		18,3(6,0)		10,6(2,7)		0,3(0,2)		1,5(0,3)		28,9(21,5)		8,5 (5,5)	

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre as variáveis clínicas foram avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* (variáveis não paramétricas). Nível de significância adotado $p < 0,05$. IMC: índice de massa corporal, EC: estadiamento clínico.

Tabela 11. Influência dos marcadores bioquímicos sobre o risco de neoplasia maligna da mama

VARIÁVEL	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
	OR (IC)	OR (IC)	OR (IC)
LDL(-)(U/L)			
≤ 1,37	1 0,19 (0,23 - 1,70)	1 0,18 (0,02 - 1,61)	1 0,20 (0,02 - 1,89)
1,37 – 2,52	1,73 (0,96 - 3,09)	1,72 (0,96 - 3,08)	1,76 (0,97 - 3,21)
≥ 2,52			
Anti LDL (-)(mU/L)			
≤ 1,60	1 3,05 (1,14 - 8,12)	1 3,05 (1,14 - 8,15)	1 3,04 (1,12 - 8,23)
1,60 – 2,59	10,28 (4,11 - 25,75)	10,29 (4,10 - 25,81)	9,42 (3,70 - 23,95)
≥ 2,59			
TBARS(μmol/L)			
≤ 4,24	1 1,97 (0,78 - 4,95)	1 1,92 (0,75 - 4,90)	1 2,20 (0,83 - 5,82)
4,24 – 5,06	6,99 (2,99 - 16,32)	7,36 (3,09 - 17,50)	8,33 (3,391 - 20,46)
≥ 5,06			
8-OHdG(ng/ml)			
≤ 14,35	1 0,52 (0,24 - 1,16)	1 0,53 (0,24 - 1,19)	1 0,56 (0,25 - 1,28)
14,35 – 19,32	1,49 (0,76 - 2,96)	1,50 (0,76 - 2,97)	1,47 (0,72 - 3,00)
≥ 19,32			
Adiponectina (μg/ml)			
≤ 6,80	1 0,22 (0,11 - 0,47)	1 0,22 (0,11-0,47)	1 0,19 (0,09-0,45)
6,80 – 11,20	0,44 (0,22 - 0,91)	0,44 (0,22-0,91)	0,40 (0,18-0,91)
≥ 11,20			

Regressão logística (modelo 1 - bruto; modelo 2 - ajustado pela idade; modelo 3 ajustado pela idade, menopausa, uso de TRH, fumo, álcool, CC, IMC e %MG). OR: *Odds ratio*; IC – Intervalo de confiança de 95%; CC: circunferência da cintura; IMC: índice de massa corporal; %MG: percentual de massa gorda.

Tabela 12. Influência dos parâmetros antropométricos sobre o risco de neoplasia maligna da mama

VARIÁVEL	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
	OR (IC)	OR (IC)	OR (IC)
IMC (kg/m²)			
≤ 24,8	1 1,592	1 1,576	1 1,759
24,8 – 28,7	(0,798-3,175)	(0,788-3,151)	(0,857-3,607)
≥ 28,7	1,490 (0,733-3,031)	1,487 (0,731-3,025)	1,683 (0,808-3,503)
CC (cm)			
≤ 88	1 2,698	1 2,715	1 2,904
88 – 95,5	(1,330-5,476)	(1,308-5,637)	(1,360-6,200)
≥ 95,5	1,554 (0,712-3,393)	1,557 (0,712-3,403)	1,648 (0,733-3,705)
MG (%)			
≤ 32,8	1 1,339	1 1,317	1 1,440
32,8 – 36,3	(0,682-2,631)	(0,66-2,61)	(0,71-2,909)
≥ 36,3	1,170 (0,583-2,347)	1,16 (0,58-2,34)	1,252 (0,611-2,566)

Regressão logística (modelo 1 - bruto; modelo 2 - ajustado pela idade; modelo 3 ajustado pela idade, menopausa, uso de TRH, fumo e álcool). OR: *Odds ratio*; IC – Intervalo de confiança de 95%; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; MG: massa gorda.

Díscussão

6. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que o câncer de mama apresenta diversas vias oxidativas ativadas, sendo essas intensificadas pela presença da obesidade, conforme monitorada pelos parâmetros antropométricos e adipocitocinas.

Diversos trabalhos têm indicado que o desequilíbrio entre a geração de radicais livres e os sistemas antioxidantes intrínsecos e extrínsecos contribui para a instalação e manutenção do estresse oxidativo presente nas diversas etapas de desenvolvimento do câncer de mama (OSÓRIO-COSTA et al., 2009; VAL CARNEIRO et al. (2009); SINHA et al. 2009; LOFT et al. 2013). Além dos danos oxidativos ao DNA e proteínas serem descritos na literatura, as modificações lipídicas e, especialmente, a peroxidação lipídica também tem sido amplamente monitorada (DELIMARIS et al., 2007; RAJNEESH, 2008; VIEIRA et al., 2011; JEZIERSKA-DRUTEL et al., 2013). Nossos resultados confirmam que mulheres com câncer estão submetidas à peroxidação lipídica ao mostrarem maiores concentrações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no plasma.

De acordo com KARIHTALA et al., (2011) o estresse oxidativo favorece a ativação de diversas vias carcinogênicas. Particularmente em mulheres o envelhecimento e a maior exposição hormonal constituem elementos diretamente relacionados à geração excessiva de ROS (RAJNEESH, 2008; VIEIRA et al., 2011). No presente estudo a idade, estado de menopausa e terapia de reposição hormonal foram semelhantes entre os grupos Caso e Controle e, portanto, essas variáveis não influenciaram no aumento de TBARS observado nas mulheres com câncer de mama. Resultado semelhante foi encontrado por RAJNEESH (2008) que ao avaliar as concentrações de TBARS entre 40 pacientes com câncer de mama em EC II e III e comparar com seus controles verificou que os casos apresentavam valores significativamente maiores. De acordo com esses autores, maiores concentrações de peroxidação lipídica, indicam maior susceptibilidade do epitélio mamário à ação dos radicais livres, permitindo alterações celulares como ativação dos

fibroblastos, hiperplasia do epitélio mamário, atipia celular e consequente formação e manutenção do tumor de mama. Confirmando essas afirmações, o presente estudo mostrou risco aumento para neoplasia maligna da mama entre as pacientes com maiores concentrações de TBARS (OR=6,990; IC=2,993-16,325).

Além do elevado conteúdo de TBARS observado nas mulheres com câncer de mama, verificou-se também maior concentração de LDL(-) e seus auto-anticorpos plasmáticos reforçando a noção de que reações oxidativas estão envolvidas na neoplasia mamária. No estudo de DELIMARIS et al., (2007) os autores propuseram que a peroxidação lipídica contribui para a geração de partículas de LDL oxidadas (LDLox) e aumento do risco para câncer de mama (OR=1.02, 95% IC=1,001-1,031). A LDL(-) constitui uma subfração da LDL com origem complexa e múltipla (SANCHES-QUESADA et al., 2004), apresentam elevado conteúdo de colesterol oxidado e reduzida quantidade de α -tocoferol, aspectos que conferem características oxidativas a essa partícula (MELLO et al. 2011). Embora esse seja o primeiro estudo a avaliar o conteúdo de LDL(-) no contexto do câncer, estudos prévios têm mostrado que essa partícula lipoproteica modificada está aumentada em outras doenças crônicas como dislipidemia (DE QUEIROZ MELLO et al., 2010) e obesidade (SILVA et al., 2013).

Adicionalmente, o impacto do excesso de peso sobre o estresse oxidativo em mulheres com câncer de mama foi avaliado no presente estudo. Observou-se que as mulheres com câncer de mama e com excesso de peso ($IMC \geq 24,9 \text{ kg/m}^2$) tiveram maiores valores de TBARS e tendência a maior conteúdo de LDL(-), confirmando assim o impacto negativo da obesidade sobre o câncer de mama. Destacamos que esse perfil se manteve semelhante quando somente as mulheres obesas foram avaliadas. SILVA et al. (2013) em estudo transversal compararam adolescentes obesos e com sobrepeso com adolescentes eutróficos e encontraram maiores valores de LDL(-) entre aqueles com sobrepeso e obesidade reforçando a característica oxidativa do quadro de excesso de peso.

O desenvolvimento e manutenção da obesidade transcorrem com um processo inflamatório crônico e de baixa intensidade (CILDIR, AKINCILAR e TERGAONKAR, 2013; SUGANAMI e OGAWA, 2013), onde a geração de radicais livres e as modificações

da LDL estão inseridas (KHAIDAKOV e MEHTA, 2012; SILVA et al., 2013). Não foram verificadas diferenças na prevalência de obesidade entre os grupos Caso e Controle avaliados no presente trabalho, onde os IMC médios foram semelhantes. Porém, tanto o IMC, quanto o %MG estiveram elevados na maioria da amostra independentemente da presença de câncer. Esses parâmetros de adiposidade estiveram associados com um pior perfil oxidativo em ambos os grupos, sugerido o risco que mulheres com excesso de peso portadoras ou não de câncer de mama podem estar submetidas. Adicionalmente, as pacientes com câncer de mama tiveram CC mais elevadas que as Controle, indicando obesidade abdominal ou acúmulo de gordura visceral. De acordo com NIEMAN et al. (2013) a obesidade visceral é considerada o maior fator de risco para doenças metabólicas, incluindo o câncer, em especial nos indivíduos obesos, pois nesses o tecido adiposo apresenta características da inflamação crônica com infiltrado de macrófagos, produção excessiva de ROS e aumento na secreção de citocinas. Os mesmos autores reforçam que todas essas alterações decorrentes da obesidade somada ao acúmulo de gordura visceral, reforçam a hipótese da interface entre a adiposidade, a tumorigênese e a progressão do câncer.

A presença das reações oxidativas e a geração de LDL(-) no câncer de mama foram reforçados pelo elevado conteúdo de anticorpos anti-LDL(-) detectado no plasma das mulheres do grupo Caso. Esse perfil foi observado na população total e intensificado nas mulheres com excesso de peso e obesidade. De acordo com DELIMARIS et al. (2007) e KHAIDAKOV e MEHTA (2012) o estresse oxidativo parece estar envolvido na transformação oncogênica do epitélio mamário, sendo aceito como importante fator mitogênico independente, por promover dano ao DNA e inibir os mecanismos de reparo a esse dano, induzir à proliferação celular e aumentar a secreção de citocinas e fatores de crescimento os quais contribuem para o desenvolvimento e proliferação celular típicos do câncer. Desse modo, os resultados obtidos contribuem para o atual estado da arte ao mostrar por meio das análises da razão de chance que o risco para câncer de mama é significativamente maior em mulheres com maior conteúdo de anticorpos anti-LDL(-) (OR=10,28; IC=4,11 – 25,75).

O dano ao DNA mais importante induzido pelo estresse oxidativo e com potencial mutagênico é a oxidação da base guanina, que gera a 8-hydroxi-deoxiguanosina (8-OHdG) (LOFT et al. 2013; HIMMETOGLU et al., 2009). O presente estudo também avaliou o conteúdo de 8-OHdG em mulheres com câncer de mama e encontrou no grupo Caso valores médios maiores que no grupo Controle. Esse perfil foi semelhante aos resultados de HIMMETOGLU et al. (2009) e PANDE et al. (2012) os quais em estudos caso-controle observaram que as concentrações de 8-OHdG estavam aumentadas no grupo com tumor de mama quando comparado ao Controle. Previamente, KARIHTALA et al. (2006) em estudo com 138 lâminas de câncer de mama verificaram concentrações elevadas de 8-OHdG nos EC iniciais da neoplasia maligna da mama, indicando elevado estresse oxidativo com dano ao DNA nos estágios iniciais da carcinogênese mamária. Mais recentemente, LOFT et al (2013) acompanharam 24 mil mulheres pós-menopausadas por 3 a 7 anos e observaram associação positiva (RR=1,08; IC: 1 – 1,17) entre a geração de 8-OHdG e o risco de câncer de mama, reforçando a forte relação entre o estresse oxidativo, dano ao DNA e o risco do desenvolvimento do tumor de mama. Contraditoriamente, o presente trabalho não observou risco aumentado de tumor de mama nas mulheres no maior tercil de 8-OHdG.

Um aspecto importante observado no monitoramento desse marcador de dano oxidativo ao DNA foi a associação positiva que esse teve com o excesso de peso, onde verificou-se que mulheres com $IMC \geq 24,9 \text{ kg/m}^2$ apresentaram maiores valores de 8-OHdG que mulheres com câncer de mama eutróficas. Essa associação não foi confirmada quando a CC e %MG foram analisados.

HIMMETOGLU et al. (2009) compraram pacientes eutróficos com obesos mórbidos e encontraram, de forma contraditória aos achados do presente estudo, menores concentrações de 8-OHdG nos indivíduos obesos e também correlação negativa desse marcador com o IMC ($r=-0,51$; $p<0,05$). Semelhante ao presente trabalho, AL-AUBAIDY e JELINEK (2011) ao avaliarem pacientes diabéticos encontraram concentração sérica de 8-OHdG aumentada nos grupos com sobrepeso e obesidade, quando comparados aos eutróficos e correlação positiva com o IMC ($r=0,274$; $p=0,002$). No contexto do câncer de

mama, o excesso de peso e a obesidade parecem ser agravantes das reações oxidativas ao DNA, conforme observado pela maior geração de 8-OHdG.

No presente estudo verificamos associação positiva entre a 8-OHdG e carcinoma ductal. Entretanto, é provável que tal associação tenha adquirido poder estatístico pelo fato de 83,1% das mulheres incluídas no estudo terem câncer de origem ductal. Essa possibilidade foi reforçada pelo fato de não terem sido encontrados na literatura mecanismos específicos que justifiquem tal associação.

O câncer de mama envolve a ativação de diversas vias inflamatórias, sendo a maioria modulada pelo NF- κ B, um fator de transcrição que atua na expressão de genes que mediam a transformação, proliferação, invasão, angiogênese e metástase celular (PRASAD et al., 2010; ZUBARI e FRIERI, 2012). No contexto fisiológico o NF- κ B atua no controle do crescimento e replicação ou morte celular, mas em um ambiente de inflamação crônica, como na obesidade, há desregulação na ativação desse fator (PRASAD et al., 2010). Além do mais, a inflamação contribui para a geração de radicais livres, sendo os produtos de oxidação importantes na manutenção da resposta inflamatória (NIEMAN et al., 2013). No presente estudo não foram avaliados marcadores inflamatórios. Entretanto, POLAK et al., (2013) descreveram que a LDLox induz secreção de citocinas inflamatórias IL-6 e TNF- α , as quais promovem adesão, invasão e proliferação celular, além de contribuir para angiogênese, criando um ambiente inflamatório crônico favorável à manutenção do câncer. Portanto, as concentrações de LDL(-) e seus auto anticorpos observadas nas pacientes com câncer de mama apontam para um ambiente favorável ao aumento de citocinas inflamatórias e consequente agravamento do estresse oxidativo.

O estudo *in vitro* realizado por KHAIDAKOV e MEHTA, (2012) mostrou que células epiteliais mamárias MCF10A tratadas com 1-25 μ g/ml de LDLox e monitoradas por 2h e 24h apresentaram aumento na proliferação celular e na expressão do LOX-1 (receptor de LDLox), regulação positiva do NF- κ B, ativação do miR-21, PI3K/Akt e MAPK. A MAPK tem mostrado estar envolvida na perda dos receptores de estrógeno, contribuindo para um fenótipo mais agressivo. Além disso, o miR-21, um típico

oncongênico intimamente envolvido com a carcinogênese, também foi ativado pela presença da LDLox.

Contrapondo-se ao aumento dos marcadores de oxidação (TBARS, LDL(-), anticorpos anti-LDL(-) e 8-OHdG) nas mulheres com câncer de mama, o presente estudo não observou variação significativa dos antioxidantes lipossolúveis plasmáticos (retinol, α -tocoferol e β -caroteno) em função da presença do câncer de mama ou da obesidade. Resultado semelhante foi mostrado por EPPLEIN et al. (2009) que avaliaram a concentração sérica de carotenoides, retinol e α -tocoferol em 286 mulheres com câncer de mama e compararam com 535 controles e não observaram diferenças significativas. É importante destacar que não podemos discutir sobre consumo adequado desses nutrientes por não termos realizado essa avaliação. Entretanto, é imprescindível levantar a questão socioeconômica, onde, no presente estudo pode ser considerada delicada em função das baixas escolaridade e renda familiar, as quais interferem diretamente no acesso a alimentação e podem contribuir para o consumo inadequado de alimentos fonte de nutrientes antioxidantes.

Embora as comparações de médias entre os grupos Caso e Controle total e segundo excesso de peso e obesidade tenha indicado semelhança entre os grupos, é relevante mostrar as associações envolvendo esses antioxidantes. Os antioxidantes retinol e β -caroteno se associaram inversamente e, respectivamente, aos linfonodos positivos e tumores em estadiamento III e IV, indicando que mulheres com tumores mais agressivos têm menor disponibilidade de antioxidantes lipossolúveis no plasma. Apesar dos estudos epidemiológicos que avaliam a relação entre ingestão de antioxidantes e redução do risco de câncer de mama serem inconclusivos (NAGEL et al., 2010; ROSWALL et al. 2010), avaliações das concentrações plasmáticas desses nutrientes mostram efeito protetor dos antioxidantes e seus alimentos fonte (AUNE et al., 2012; ELIASSEN et al., 2012).

AUNE et al. (2012) em revisão sistemática e meta-análise de estudos prospectivos que avaliaram a ingestão dietética e concentração plasmática de carotenoides e o risco de câncer de mama encontraram maior ingestão e concentração sanguínea de β -caroteno associadas com menor risco do câncer de mama (RR: 0.95; IC: 0.91 - 0.99 e RR:0.74; IC:

0.57 - 0.97, respectivamente). ELIASSEN et al. (2012), também em uma meta-análise de 8 estudos de coorte os quais incluíram 3.055 casos de câncer de mama encontraram associações inversas entre as concentrações de α -caroteno, β -caroteno, luteína e licopeno e o risco de câncer de mama, sendo mais evidente entre mulheres magras e com ER-.

Vários mecanismos podem explicar o efeito protetor dos carotenoides no câncer de mama como no estudo experimental de GLORIA et al. (2014) onde células de câncer de mama tratadas com licopeno e β -caroteno (0,5-1 μ M) por até 96h apresentaram redução na sua viabilidade por controle do ciclo celular, e também aumento da apoptose quando comparadas com controles, mostrando a capacidade dos carotenoides em inibir a proliferação celular e funcionarem como agentes biológicos no controle ao câncer. De modo semelhante, o retinol, como metabólito ativo do α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina também pode agir na diminuição do risco do câncer por regular crescimento, diferenciação e apoptose celular via efeitos diretos e indiretos nas expressões gênicas (NAGEL et al., 2010; ELIASSEN et al., 2012). Somando-se a essa modulação genética, os carotenoides podem agir como antioxidantes, promovendo a varredura dos radicais livres e protegendo contra o dano ao DNA.

Assim, considerando esse papel protetor, as menores concentrações de retinol e β -caroteno encontradas nas pacientes com câncer poderiam estar associadas com características evidentes de maior agressividade (linfonodos positivos e estadiamentos clínicos mais avançados - III e IV).

O presente estudo monitorou o uso de suplementos vitamínicos e minerais entre as participantes do estudo. Entretanto, o consumo alimentar das pacientes não foi avaliado, fato que pode ser considerado uma limitação do estudo. Sabe-se que a dieta é uma variável de exposição importante, principalmente quando se estuda doenças crônicas não-transmissíveis, como câncer, as quais mantêm íntima relação com estilo de vida. A falta das informações de consumo foi intencional, pois a variável dieta envolve diversos erros sistemáticos e aleatórios que muitas vezes podem tornar as associações inexistentes ou estatisticamente fracas (MOLINA et al., 2013). Portanto, o uso de biomarcadores para

estimar o consumo de nutrientes antioxidantes evita que vieses como subestimação ou superestimação de relato não sejam aceitos como variáveis de confusão.

Apesar de nesse trabalho não ter sido investigada a ingestão das pacientes, em estudo prévio do nosso grupo OKANO et al. (2009) avaliaram o consumo alimentar de mulheres com tumor de mama e encontraram inadequação de 24% e 89% no consumo das vitamina C e E, respectivamente. Esse resultado contribui para reforçar a ideia de que além do consumo dos antioxidantes pelo quadro de estresse metabólico sob qual as pacientes se encontram há ainda a hipótese de que a ingestão de alimentos fonte desses nutrientes é insuficiente.

Independente das limitações relacionadas a outros marcadores de estresse oxidativo ou avaliação do consumo de nutrientes antioxidantes, se observa no presente estudo que as elevadas contrações de pró-oxidantes e reduzidos conteúdos de antioxidantes reforçam o panorama bioquímico desfavorável para o prognóstico clínico de mulheres, presente notadamente naquelas com excesso de peso e obesidade.

O estudo de LIANG, ZHANG e FU (2007) mostrou que a expressão do LOX-1 foi aumentada em indivíduos com maiores concentrações de TNF- α . Os autores avaliaram ainda a adesão de células de câncer de mama em células endoteliais e também a migração trans-endotelial das mesmas e observaram que na presença do anticorpo anti-LOX-1 há redução dessa adesão, sugerindo que o LOX-1 pode mediar a adesão das células neoplásicas em endotélios saudáveis contribuindo assim para o desenvolvimento da metástase. Considerando o marcador inflamatório TNF- α como promotor da expressão de LOX-1 reforça-se a interface entre o processo inflamatório crônico da obesidade e a carcinogênese. A expressão do receptor LOX-1 é estimulada pela presença de LDLox (LI et al., 2013) e, possivelmente, pela LDL(-). Esses aspectos reforçam o papel negativo das reações oxidativas na carcinogênese.

Reafirmando a interface entre a obesidade e o desenvolvimento da carcinogênese mamária, nos últimos anos, além do papel das citocinas inflamatórias nas modificações celulares, algumas adipocitocinas, tais como leptina e adiponectina, sintetizadas no tecido adiposo, têm mostrado potencial ação na carcinogênese (GNACIŃSKA et al., 2009;

MACCIÒ et al. 2010). De acordo com CHO et al. (2013) a leptina interfere não somente no desenvolvimento da neoplasia maligna da mama como também nas características de agressividade do tumor e no tempo de sobrevida livre da doença. Esses autores acompanharam por mais de 4 anos mulheres com câncer de mama e observaram maior incidência de recorrência entre aquelas com elevadas concentrações de IL-6, IL-8 e leptina, bem como menor tempo de sobrevida livre da doença.

A ação pró-carcinogênica da leptina no tumor de mama envolve vias que estimulam a expressão do VEGF e regulam positivamente a expressão dos ER α e da aromatase (GNACÍNSKA et al., 2009; MACCIÒ et al. 2010; MACCIÒ E MADDEDU, 2011; ROMERO-FIGUEROA et al. 2013). Associando esse perfil ao quadro de obesidade, onde a geração de leptina responde proporcionalmente a massa de adipócitos, pode-se inferir que mulheres com câncer de mama obesas estariam mais susceptíveis aos efeitos negativos da leptina na carcinogênese. Além disso, segundo CHO et al. (2013) as citocinas inflamatórias e as adipocitocinas podem ser usadas na predição do prognóstico e identificação de casos com alto risco para metástase. Os resultados apresentados neste estudo mostram que a concentração de leptina não variou significativamente entre os grupos Caso e Controle e que embora a leptina tenha potencial ação pró carcinogênese, não observou-se associação dessa adipocitocina com nenhuma das características tumorais monitoradas no presente estudo.

Porém, se destaca que os grupos apresentaram perfil semelhante quanto ao IMC e %MG, justificando a semelhança nos níveis de leptina. Entretanto, os valores médios do IMC e %MG foram indicativos de excesso de peso e de tecido adiposo, resultados que levam à ideia de que os dois grupos, independente do câncer, exibem adiposidade sugestiva da presença aumentada de leptina e, possivelmente, de outros marcadores inflamatórios, colocando os grupos Caso e Controle em um ambiente pró-carcinogênico positivo para o desenvolvimento ou recorrência da neoplasia da mama, respectivamente.

Recentemente, SANCHES et al. (2014) propuseram o ponto de corte de 24ng/ml para hiperleptinemia para adolescentes do sexo feminino. Adotando esse valor pode-se

inferir que a população avaliada nesse estudo apresenta quadro de hiperleptinemia estando submetida à todas as modificações inflamatórias envolvidas nessa condição.

De modo contraditório ao descrito por CHO et al. (2013), AL-DELAIFY et al (2011) em um caso-controle aninhado, a partir do estudo de *Women's Healthy Eating and Living –WHEL*, com mais de 500 casos de câncer de mama não encontraram risco aumentado de recorrência entre as mulheres com maiores níveis plasmáticos de leptina e menores de adiponectina. Porém, MACCIÒ et al. (2010) demonstraram que em pacientes pós-menopausadas a leptina, em análise multivariada, ajustada pelo IMC, apresentou positiva associação com o EC e tamanho do tumor. Somando-se a esses resultados ainda houve correlação da leptina com a quantidade de gordura e aumento da aromatase, o que destaca o papel dessa adipocitocina sobre a ativação dessa enzima e atuação indireta na conversão do andrógeno.

Apesar das mulheres com câncer de mama não terem apresentado conteúdo de leptina distinto do observado no grupo Controle total, e entre as mulheres com excesso de peso e obesidade, quando essas foram comparadas com mulheres com IMC, CC e %MG adequados, o conteúdo de leptina foi estatisticamente superior, reforçando o envolvimento do excesso de peso e adiposidade no agravamento da inflamação. Segundo CLEARY et al. (2010) e MACCIÒ e MADDEDU (2011) os mecanismos pelos quais a leptina estimula proliferação e inibe apoptose celular são ainda pouco estudados, mas mostram essa adipocitocina agindo sobre proteínas sinalizadoras como Ciclina D1, que estimulam mensageiros intracelulares secundários envolvidos nas diferentes fases do ciclo celular, tais como MAPK, cdk2 e PI3k.

Em paralelo com a leptina, a adiponectina é uma adipocitocina também produzida predominantemente pelo tecido adiposo (GNACIŃSKA et al., 2009; CLEARY et al., 2010) mas que apresenta redução na sua concentração plasmática na presença da obesidade (CLEARY et al., 2010). Diversos estudos têm descrito a adiponectina com ação anti-inflamatória e anti-carcinogênica (GNACIŃSKA et al., 2009; CLEARY et al., 2010; MACCIÒ e MADDEDU, 2011). No presente trabalho, os níveis plasmáticos da adiponectina mostraram-se significativamente menores nas mulheres com câncer de

mama e no grupo caso com excesso de peso e obesidade, quando comparado ao controle. De acordo com MACCIÒ e MADDEDU (2011) a adiponectina atua como anti-carcinogênica no momento em que se liga ao seu receptor e ativa PPAR- γ , o qual induz a transcrição de vários genes envolvidos na proliferação celular. Assim, o baixo conteúdo de adiponectina nas mulheres com câncer de mama total e, particularmente, também nesse grupo de pacientes, entre aquelas com IMC $\geq 24,9\text{kg/m}^2$, podem ser vistos como agravantes para a recorrência da doença.

É amplamente aceito na literatura que a obesidade e, particularmente, a adiposidade visceral são metabolicamente relevantes para o desenvolvimento de morbidades cardiovasculares tais como dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2 e câncer (BOSELLO e ZAMBONI, 2000; NIEMAN et al., 2013). Adipócitos presentes no tecido visceral são metabolicamente diferenciados daqueles presentes no tecido adiposo subcutâneo (TAS) e levam ao aumento da atividade inflamatória daquele tecido, o que seria um fator chave para a ativação das respostas sistêmicas associadas ao aumento da CC (TABUE et al., 2012; NIEMAN et al., 2013; GUENTHER et al., 2014). Este estudo confirma a associação da CC com os mecanismos inflamatórios ao mostrar que mulheres com câncer de mama apresentaram menor conteúdo de adiponectina. A adiponectina é a única adipocitocina conhecida com potencial antiinflamatório (TAUBE et al., 2012; GUENTHER et al., 2014). É importante observar que mesmo quando o excesso de peso e a obesidade foram considerados, mulheres com câncer de mama apresentaram menores valores de adiponectina. Segundo LIANG e SHANG, 2013 a cascata inflamatória presente no câncer de mama contribui para o desequilíbrio entre os componentes anti e pró-inflamatórios, favorecendo a baixa concentração de adiponectina, conforme monitorada no presente estudo.

Em meta-análise recente YE et al. (2014), descreveram 8 estudos que avaliaram a relação entre adiponectina circulante e câncer de mama. Com um total 1805 participantes, sendo 885 casos de tumor de mama, foi observado menor conteúdo de adiponectina nas pacientes caso. Os mesmos autores sugeriram que menores concentrações circulantes de adiponectina estão associadas com risco elevado para tumor de mama em mulheres na

pós-menopausa. Apesar não haver diferença significativa, o grupo Caso avaliado no presente trabalho, apresentou maior prevalência de mulheres na pós-menopausa que o grupo Controle. Esse achado pode ter influenciado o risco aumentado de câncer de mama nas mulheres caso que apresentaram os mais elevados tercís de adiponectinemia.

No presente estudo, a variação na adiponectina não se associou com perfil tumoral, mas foi significativamente superior em mulheres com câncer de mama com IMC normal. Houve ainda tendência das mulheres com menor CC terem maior conteúdo de adiponectina, quando comparadas com mulheres com câncer de mama e excesso peso. Os resultados de GUENTHER et al. (2014) mostraram que maior quantidade de TAS está associada com menores concentrações de adiponectina, enquanto que o tecido adiposo visceral (TAV) esteve associado com redução da adiponectina circulante.

Quando os modelos de regressão logística foram testados, observou-se que as pacientes nos maiores tercís de adiponectina (tercís 2 e 3) apresentaram aproximadamente 80 e 60% menor chance de desenvolverem câncer de mama. O impacto da adiponectina torna-se ainda mais relevante quando verifica-se que tais associações foram independente de idade, TRH, fumo álcool, estado de menopausa e parâmetros antropométricos (CC, IMC, %MG). Desse modo, pode-se inferir que a baixa concentração plasmática de adiponectina seria um potencial biomarcador de risco para câncer de mama. Esse perfil foi reforçado pela associação positiva entre o segundo tercil de CC e o risco de mulheres com câncer de mama. Portanto, mulheres com medida de CC elevada e baixa concentração de adiponectina tem risco maior de desenvolverem câncer de mama. Esse perfil torna-se particularmente negativo quando o conteúdo de produtos de oxidação [TBRAS e anticorpos anti-LDL(-)] forem maiores.

Esse estudo tem limitações. A principal de refere a falta do monitoramento de marcadores inflamatórios, que poderiam ter permitido aprofundar as potenciais vias metabólicas envolvidas na tríade inflamação – oxidação – adiposidade no contexto do câncer. Um outro importante aspecto que não foi monitorado se refere a avaliação de presença de receptores BRCA 1 e 2, que poderiam incorporar o papel da genética nas associações encontrada. Também a ausência de informações sobre os receptores de

estrógeno deixa uma lacuna de avaliações que poderiam explicar outros aspectos da relação entre os marcadores oxidativos e as adipocitocinas nessa neoplasia.

Assim, diante do exposto destacamos que entre as pacientes avaliadas, aquelas com tumor de mama apresentaram elevadas concentrações dos marcadores oxidativos (TBARS; LDL-; anti-LDL- e 8OHdG) e menor conteúdo da adiponectina quando comparadas aos controles; as com IMC $> 24,9\text{kg/m}^2$ apresentaram maiores concentrações de 8-OHdG e leptina e menores de adiponectina. Além disso, pacientes Caso com CC $\geq 80\text{cm}$ e %MG $\geq 32\%$ mostraram maiores concentrações de leptina. Maiores concentrações de anti-LDL(-), TBARS e menores de adiponectina associaram-se ao maior risco de câncer de mama, sendo esse risco também maior no segundo tercil de CC, indicando a obesidade abdominal como variável de risco para neoplasia maligna da mama.

Conclusões

7. CONCLUSÕES

A adiposidade intensificou as alterações oxidativas e de adipocitocinas promovidas pela neoplasia da mama e a obesidade abdominal aumentou o risco de câncer de mama, bem como as maiores concentrações plasmáticas de marcadores oxidativos, sugerindo prognóstico menos favorável entre as pacientes avaliadas.

Referências

8.REFERÊNCIAS

- AL-AUBAIDY, H. A.; JELINEK, H. F. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. **Eur J Endocrinol**, v. 164, n. 6, p. 899-904, Jun 2011.
- AL-DELAIFY, W. K. et al. IGF1 and risk of additional breast cancer in the WHEL study. **Endocr Relat Cancer**, v. 18, n. 2, p. 235-44, Apr 2011.
- ARCIDIACONO, B. et al. Insulin resistance and cancer risk: an overview of the pathogenetic mechanisms. **Exp Diabetes Res**, v. 2012, p. 789174, 2012.
- AUNE, D. et al. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. **Am J Clin Nutr**, v. 96, n. 2, p. 356-73, Aug 2012.
- BARBOSA-SILVA, M. C. et al. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. **Am J Clin Nutr**, v. 82, n. 1, p. 49-52, Jul 2005.
- BOSELLO, O.; ZAMBONI, M. Visceral obesity and metabolic syndrome. **Obes Rev**, v. 1, n. 1, p. 47-56, May 2000.
- BRANKENHIELM E, et al. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. **Proc Natl Aca Sci**. 2004; 101:2476-81.
- BULUN, S. E. et al. Aromatase, breast cancer and obesity: a complex interaction. **Trends Endocrinol Metab**, v. 23, n. 2, p. 83-9, Feb 2012.
- CARTER, J. C.; CHURCH, F. C. Obesity and breast cancer: the roles of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and plasminogen activator inhibitor-1. **PPAR Res**, v. 2009, p. 345320, 2009.
- CHEN, S. et al. Obesity or overweight is associated with worse pathological response to neoadjuvant chemotherapy among Chinese women with breast cancer. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e41380, 2012.
- CHO, Y. A. et al. Prognostic role of interleukin-6, interleukin-8, and leptin levels according to breast cancer subtype. **Cancer Res Treat**, v. 45, n. 3, p. 210-9, Sep 2013.
- CILDIR, G.; AKINCILAR, S. C.; TERGAONKAR, V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. **Trends Mol Med**, v. 19, n. 8, p. 487-500, Aug 2013.

CLEARY, M. P.; GROSSMANN, M. E.; RAY, A. Effect of obesity on breast cancer development. **Vet Pathol**, v. 47, n. 2, p. 202-13, Mar 2010.

CONROY, S. M. et al. Obesity and breast cancer survival in ethnically diverse postmenopausal women: the Multiethnic Cohort Study. **Breast Cancer Res Treat**, v. 129, n. 2, p. 565-74, Sep 2011.

DAI, Q. et al. Oxidative stress, obesity, and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 15, p. 2482-8, May 20 2009.

DE QUEIROZ MELLO, A. P. et al. Electronegative low-density lipoprotein is associated with dense low-density lipoprotein in subjects with different levels of cardiovascular risk. **Lipids**, v. 45, n. 7, p. 619-25, Jul 2010.

DELIMARIS, I. et al. Oxidized LDL, serum oxidizability and serum lipid levels in patients with breast or ovarian cancer. **Clin Biochem**, v. 40, n. 15, p. 1129-34, Oct 2007.

DUARTE AC, CASTELLANI FR. **Semiologia nutricional**. [s.ed.]. Rio de Janeiro: Axcel Books do Brasil Editora; 2002.

ELIASSEN, A. H. et al. Circulating carotenoids and risk of breast cancer: pooled analysis of eight prospective studies. **J Natl Cancer Inst**, v. 104, n. 24, p. 1905-16, Dec 19 2012. I

EPPLEIN, M. et al. Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and postmenopausal breast cancer risk in the Multiethnic Cohort Study: a nested case-control study. **Breast Cancer Res**, v. 11, n. 4, p. R49, 2009.

GLORIA, N. F. et al. Lycopene and beta-carotene induce cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cell lines. **Anticancer Res**, v. 34, n. 3, p. 1377-86, Mar 2014.

GNACINSKA, M. et al. Role of adipokines in complications related to obesity: a review. **Adv Med Sci**, v. 54, n. 2, p. 150-7, 2009.

HAN, J. M.; LEVINGS, M. K. Immune regulation in obesity-associated adipose inflammation. **J Immunol**, v. 191, n. 2, p. 527-32, Jul 15 2013.

HAUNER, D. et al. The effect of overweight and nutrition on prognosis in breast cancer. **Dtsch Arztebl Int**, v. 108, n. 47, p. 795-801, Nov 2011.

HIMMETOGLU, S. et al. DNA oxidation and antioxidant status in breast cancer. **J Investig Med**, v. 57, n. 6, p. 720-3, Aug 2009.

HIMMETOGLU, S. et al. Serum levels of fetuin A and 8-hydroxydeoxyguanosine in morbidly obese subjects. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 121, n. 8, p. 505-8, Aug 2013.

IARC – International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2008: cancer incidence and mortality worldwide. [relatório da internet]. França, 2014. [acesso em 28 de abril de 2014]. Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2010/globocan2008.php>.

IDF - . Clinical Guidelines Task Force. Global Guideline for Type 2 Diabetes: recommendations for standard, comprehensive, and minimal care. *Diabet Med*. 2006; 23: 579-93.

INUMARU, L. E.; SILVEIRA, E. A.; NAVES, M. M. [Risk and protective factors for breast cancer: a systematic review]. **Cad Saude Publica**, v. 27, n. 7, p. 1259-70, Jul 2011.

ISKANDER, K. et al. Obesity-related complications: few biochemical phenomena with reference to tumorigenesis. **Malays J Pathol**, v. 35, n. 1, p. 1-15, Jun 2013.

JENKS, S. Researchers explore mechanisms that may link obesity and cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 102, n. 8, p. 519-21, Apr 21 2010.

JEZIERSKA-DRUTEL, A.; ROSENZWEIG, S. A.; NEUMANN, C. A. Role of oxidative stress and the microenvironment in breast cancer development and progression. **Adv Cancer Res**, v. 119, p. 107-25, 2013.

KARIHTALA, P. et al. Divergent behaviour of oxidative stress markers 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) and 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) in breast carcinogenesis. **Histopathology**, v. 58, n. 6, p. 854-62, May 2011.

KARIHTALA, P. et al. Oxidative stress and counteracting mechanisms in hormone receptor positive, triple-negative and basal-like breast carcinomas. **BMC Cancer**, v. 11, p. 262, 2011.

KARNOFSKY DA et al. The use of nitrogen mustard in the palliative treatment of carcinoma. **Cancer** 1948,1:634-656.

KHAIDAKOV, M.; MEHTA, J. L. Oxidized LDL triggers pro-oncogenic signaling in human breast mammary epithelial cells partly via stimulation of MiR-21. **PLoS One**, v. 7, n. 10, p. e46973, 2012.

KWAN, M. L. et al. Pre-diagnosis body mass index and survival after breast cancer in the After Breast Cancer Pooling Project. **Breast Cancer Res Treat**, v. 132, n. 2, p. 729-

39, Apr 2012.

LI, H. et al. The variability of oxLDL-induced cytotoxicity on different types of cell lines. **Cell Biochem Biophys**, v. 67, n. 2, p. 635-44, Nov 2013.

LIANG, J.; SHANG, Y. Estrogen and cancer. **Annu Rev Physiol**, v. 75, p. 225-40, 2013.

LIANG, M.; ZHANG, P.; FU, J. Up-regulation of LOX-1 expression by TNF-alpha promotes trans-endothelial migration of MDA-MB-231 breast cancer cells. **Cancer Lett**, v. 258, n. 1, p. 31-7, Dec 8 2007.

LOFT, S. et al. Association between 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion and risk of postmenopausal breast cancer: nested case-control study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 22, n. 7, p. 1289-96, Jul 2013.

LOHMAN TG. Advances in body composition assessment. **Human Kinetics Publishers**, 1992.

LU, Y. et al. Obesity and survival among black women and white women 35 to 64 years of age at diagnosis with invasive breast cancer. **J Clin Oncol**, v. 29, n. 25, p. 3358-65, Sep 1 2011.

MACCIO, A.; MADEDDU, C. Obesity, inflammation, and postmenopausal breast cancer: therapeutic implications. **ScientificWorldJournal**, v. 11, p. 2020-36, 2011.

MACCIO, A. et al. Correlation of body mass index and leptin with tumor size and stage of disease in hormone-dependent postmenopausal breast cancer: preliminary results and therapeutic implications. **J Mol Med (Berl)**, v. 88, n. 7, p. 677-86, Jul 2010.

MCELIGOT, A. J.; YANG, S.; MEYSKENS, F. L., JR. Redox regulation by intrinsic species and extrinsic nutrients in normal and cancer cells. **Annu Rev Nutr**, v. 25, p. 261-95, 2005.

MELLO, A. P. et al. Electronegative low-density lipoprotein: origin and impact on health and disease. **Atherosclerosis**, v. 215, n. 2, p. 257-65, Apr 2011.

MESTER, J.; REDEUILH, G. Proliferation of breast cancer cells: regulation, mediators, targets for therapy. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 8, n. 8, p. 872-85, Dec 2008.

MOLINA MDEL, C. et al. [Reproducibility and relative validity of the Food Frequency Questionnaire used in the ELSA-Brasil]. **Cad Saude Publica**, v. 29, n. 2, p. 379-89, Feb 2013.

MS – Ministério da Saúde. VIGITEL 2013: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. [relatório da internet]. Brasília, DF, 2014. [acesso em 28 de abril de 2014]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/abril/30/Lancamento-Vigitel-28-04-ok.pdf>

MS – Ministério da Saúde. INCA – Instituto Nacional do Câncer: Estimativas 2014. [relatório da internet]. Rio de Janeiro, RJ, 2014. [acesso em 28 de abril de 2014]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>

NAGEL, G. et al. Dietary beta-carotene, vitamin C and E intake and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). **Breast Cancer Res Treat**, v. 119, n. 3, p. 753-65, Feb 2010.

NIEMAN, K. M. et al. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. **Biochim Biophys Acta**, v. 1831, n. 10, p. 1533-41, Oct 2013.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Obesity: preventing and managing the global epidemic – report of a WHO consultation on obesity 2000; Geneva World Health Organization.

OMS - Organização Mundial da Saúde. NCD Country Profile – report of a WHO 2011; Geneva World Health Organization.

OSORIO-COSTA, F. et al. Epidemiological and molecular mechanisms aspects linking obesity and cancer. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, n. 2, p. 213-26, Mar 2009.

PANDE, D. et al. Oxidative damage markers as possible discriminatory biomarkers in breast carcinoma. **Transl Res**, v. 160, n. 6, p. 411-8, Dec 2012.

PATTERSON, R. E. et al. Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: a review of the epidemiologic literature. **Maturitas**, v. 66, n. 1, p. 5-15, May 2010.

PELEKANOU, V. et al. The estrogen receptor alpha-derived peptide ERalpha17p (P(295)-T(311)) exerts pro-apoptotic actions in breast cancer cells in vitro and in vivo, independently from their ERalpha status. **Mol Oncol**, v. 5, n. 1, p. 36-47, Feb 2011.

PICCOLI A, PASTORI G. BIVA software. Department of Medical and Surgical Sciences, University of Padova, Italy; 2002

PINHO, V. F.; COUTINHO EDA, S. Risk factors for breast cancer: a systematic review of studies with female samples among the general population in Brazil. **Cad Saude**

Publica, v. 21, n. 2, p. 351-60, Mar-Apr 2005.

PISCHON, T.; NOTHLINGS, U.; BOEING, H. Obesity and cancer. **Proc Nutr Soc**, v. 67, n. 2, p. 128-45, May 2008.

PIYA, M. K.; MCTERNAN, P. G.; KUMAR, S. Adipokine inflammation and insulin resistance: the role of glucose, lipids and endotoxin. **J Endocrinol**, v. 216, n. 1, p. T1-T15, Jan 2013.

POLAK, G. et al. Low-density lipoproteins oxidation and endometriosis. **Mediators Inflamm**, v. 2013, p. 624540, 2013.

PRASAD, S.; RAVINDRAN, J.; AGGARWAL, B. B. NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. **Mol Cell Biochem**, v. 336, n. 1-2, p. 25-37, Mar 2010.

RAJNEESH, C. P. et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with breast cancer. **Singapore Med J**, v. 49, n. 8, p. 640-3, Aug 2008.

RAVISHANKARAN, P.; KARUNANITHI, R. Clinical significance of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in breast cancer patients. **World J Surg Oncol**, v. 9, p. 18, 2011.

ROMERO-FIGUEROA MDEL, S. et al. Insulin and leptin levels in obese patients with and without breast cancer. **Clin Breast Cancer**, v. 13, n. 6, p. 482-5, Dec 2013.

ROSWALL, N. et al. Micronutrient intake and breast cancer characteristics among postmenopausal women. **Eur J Cancer Prev**, v. 19, n. 5, p. 360-5, Sep 2010.

SANCHES, P. L. et al. Hyperleptinemia: implications on the inflammatory state and vascular protection in obese adolescents submitted to an interdisciplinary therapy. **Inflammation**, v. 37, n. 1, p. 35-43, Feb 2014. I

SANCHEZ-QUESADA, J. L.; BENITEZ, S.; ORDONEZ-LLANOS, J. Electronegative low-density lipoprotein. **Curr Opin Lipidol**, v. 15, n. 3, p. 329-35, Jun 2004. ISSN 0957-9672 (Print)

SENER DE, GÖNENÇ A, AKINCI M, TORUM M. Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer. **Cell Biochem Funct**. 2006.

SCHLIENGER, J. L. et al. [Obesity and cancer]. **Rev Med Interne**, v. 30, n. 9, p. 776-82, Sep 2009.

SILVA, I. T. et al. Is plasma alpha-tocopherol associated with electronegative LDL in obese adolescents? **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)**, v. 59, n. 2, p. 100-7, 2013.

- SINHA, R. J. et al. Implications of free radicals and antioxidant levels in carcinoma of the breast: a never-ending battle for survival. **Indian J Cancer**, v. 46, n. 2, p. 146-50, Apr-Jun 2009.
- SLATTERY, M. L. et al. IL6, aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and breast cancer risk in women living in the southwestern United States. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 16, n. 4, p. 747-55, Apr 2007.
- SUGANAMI, T.; OGAWA, Y. [Role of chronic inflammation in adipose tissue in the pathophysiology of obesity]. **Nihon Rinsho**, v. 71, n. 2, p. 225-30, Feb 2013.
- TAUBE, A. et al. Inflammation and metabolic dysfunction: links to cardiovascular diseases. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 302, n. 11, p. H2148-65, Jun 1 2012.
- THOMSON, C. A. et al. Diet and biomarkers of oxidative damage in women previously treated for breast cancer. **Nutr Cancer**, v. 51, n. 2, p. 146-54, 2005.
- VAL CARNEIRO JL et al. Plasma malondialdehyde levels and CXCR4 expression in peripheral blood cells of breast cancer patients. **J Cancer Res Clin Oncol**. 2009. 135(8):997-1004.
- VIEIRA, F. G. et al. Factors associated with oxidative stress in women with breast cancer. **Nutr Hosp**, v. 26, n. 3, p. 528-36, May-Jun 2011.
- VONA-DAVIS, L.; ROSE, D. P. Angiogenesis, adipokines and breast cancer. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 20, n. 3, p. 193-201, Jun 2009.
- VUCENIK, I.; STAINS, J. P. Obesity and cancer risk: evidence, mechanisms, and recommendations. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1271, p. 37-43, Oct 2012.
- WERNER, H.; BRUCHIM, I. IGF-1 and BRCA1 signalling pathways in familial cancer. **Lancet Oncol**, v. 13, n. 12, p. e537-44, Dec 2012.
- WINER EP et al. Malignant tumors of the breast. In: DeVita VTJ, Hellman S, Rosenberg SA. **Cancer: principles e practice of oncology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p.1651-1716.
- YE, J. et al. Circulating adiponectin levels and the risk of breast cancer: a meta-analysis. **Eur J Cancer Prev**, v. 23, n. 3, p. 158-65, May 2014.
- ZUBAIR, A.; FRIERI, M. Role of nuclear factor-kB in breast and colorectal cancer. **Curr Allergy Asthma Rep**, v. 13, n. 1, p. 44-9, Feb 2013.

Apêndices

APÊNDICE 1: Termo de consentimento livre e esclarecido

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública
Av. Dr. Arnaldo, 715 – CEP 01246-904 – São Paulo – Brasil

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa: **PAPEL DA ADIPOSIDADE SOBRE A INFLAMAÇÃO, OXIDAÇÃO E ADIPOCITOCINAS NA NEOPLASIA MAMÁRIA.**

O motivo que nos leva a estudar o problema da obesidade é o desenvolvimento do câncer de mama, o grande número de indivíduos com esse diagnóstico e sua relação com o excesso de peso. A pesquisa se justifica pela necessidade de avaliar quais fatores podem contribuir para o desenvolvimento dessa doença em mulheres com excesso de peso. Portanto, o objetivo desse projeto é identificar possíveis fatores presentes no excesso de peso e de gordura corporal que possam influenciar no desenvolvimento do câncer de mama. A coleta de material será da seguinte forma: será coletada uma amostra de sangue (20ml) e também será aplicado um questionário sobre seu nível socioeconômico, cultural e clínico.

Existem desconfortos e risco mínimo que envolvem enjôos em função do jejum e pequenos hematomas no local de punção, ambos relacionados a coleta de material. Os resultados obtidos através desse projeto trarão benefícios às pacientes sobreviventes de câncer de mama no momento em que mostrarem a obesidade como fator de risco e incentivarem políticas públicas de orientações sobre alimentação saudável, redução de peso e de gordura corporal.

Em caso de evidências de risco à saúde pelos resultados encontrados as participantes serão orientadas a procurar o atendimento de um nutricionista.

Você será esclarecida sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e recusar em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

Sua identidade será mantida em sigilo e sob a responsabilidade dos pesquisadores Os resultados dos exames serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e outra será fornecida a você.

A participação no estudo não acarretará custos e você também não será beneficiada com nenhuma compensação financeira.

Eu, _____ fui informada dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. A pesquisadora Sara Maria Moreira Lima Verde certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Também sei que todos os gastos estão inclusos no orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar a pesquisadora Sara Maria Moreira Lima Verde ou o(a) professor(a) orientador(a) Profa. Dra. Nagila Raquel Teixeira Damasceno no telefone (11) 3061-7865 ou os Comitês de Ética em Pesquisa (COEP) identificados abaixo:

1. COEP da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sito à Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira César – São Paulo, SP. Telefone: (11) 3061.7779.
2. COEP do Hospital Geral de Fortaleza, sito à Rua Ávila Goulart, 900, Papicu – Fortaleza, Ce. Telefone: (85).3101.7078.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e fui esclarecida sobre minhas dúvidas

Nome	Assinatura do Participante	Data
------	----------------------------	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

APÊNDICE 2: Formulário de coleta de informações

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA CULTURAL, CLÍNICA E

ANTROPOMÉTRICA

AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA CULTURAL, CLÍNICA E ANTROPOMÉTRICA		NÚMERO PRONTUÁRIO: _____ DATA DA COLETA: __/__/__	
1. <u>B1</u> AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA			
<u>B1.1</u> Nome:		<u>B1.2</u> Idade:	
Endereço:			
Telefone: Res -		Cel. - Trab. -	
<u>B1.3</u> Estado civil 1() Casada 2() Solteira 3() Viúva 4() Divorciada 5() Outros		<u>B1.4</u> Etnia* 1() Branco 2() Amarelo 3() Pardo 4() Negro 5() Indígena	
<u>B1.5</u> Escolaridade:			
1() Ensino fundamental incompleto – 4ª série 5() Superior incompleto 2() Ensino fundamental completo – 8ª série 6() Superior completo 3() Ensino médio incompleto 7() Outros 4() Ensino médio completo – 3º ano			
<u>B16</u> Renda familiar <i>per capita</i> : 1() < 1 SM 2() 2-6 SM 3() 7-10 SM 4() > 10 SM			

B1.7 Menarca: anos B1.8 Menopausa: anos B1.9 DUM: B1.10 TRH: () Não () Sim	
B1.11 Nuliparidade: () Não () Sim B1.12 Amamentação () Não () Sim	
B1.13 Fumo: 1() Não 2() Fuma (atual) Tempo:____ 3() Fumou (anterior) Tempo: _____	
B1.14 Álcool: 1() Não 2() Consome bebida alcoólica (atual) 3() Consumiu Quantidade: ____ * * >150ml para mulheres = consumo prejudicial à saúde (Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2006)	
B1.15 Antecedentes familiares de câncer: 1() Não 2() Sim B1.16 Localização 1() Mama 2 () Outros	
B1.17 Quem: <u>1</u> () Mãe <u>2</u> () Irmã <u>3</u> () Avó <u>4</u> () Tia	
2. B2 AVALIAÇÃO CLÍNICA	
Diagnóstico: Neoplasia mamária B2.1 SUBTIPO: <u>1</u> () Lobular <u>2</u> () Ductal	
B2.2 TNM: T____ N____ M____ B2.3 Estadiamento clínico(EC): <u>1</u> () EC I <u>2</u> () EC II <u>3</u> () EC III	
B2.4 Tamannho do tumor: ____ B2.5 Linfonodos comprometidos : 1.() N ⁻ 2. () N ⁺ Total: ____	
B2. 6 Metástase: 1. () M ⁻ 2. () M ⁺ B2.7 Grau histopatológico: _____	
B2.8 Informações importantes: B2.8.1 Faz uso de suplementos de vitaminas ou minerais? <u>1</u> .() Não <u>2</u> .() Sim Qual? _____ Dose diária: _____ Há quanto tempo? _____	
3. B3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	
B3.1 Peso atual(kg):	B3.2 Peso habitual(kg):

<u>B3.3</u> Altura(m):		<u>B3.4</u> IMC:	<u>B3.5</u> CC:
<u>B3.6</u> Reactância (Xc):		<u>B3.7</u> Resistência (R):	
<u>B3.8</u> % água:	<u>B3.9</u> % gordura:	<u>B3.10</u> % massa magra:	
<u>B3.11</u> Ângulo de fase:		<u>B3.12</u> TMB:	

*Fonte: IBGE, senso demográfico 2002

Anexos

ANEXO 1: Pareceres dos COEP (FSP/ USP e HGF)

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP
Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

OF.COEP/425/10

7 de dezembro de 2010.

Prezadas pesquisadora e orientadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - COEP analisou, em sua 10ª/10 Sessão Ordinária, realizada em 03/12/2010, de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde - CNS e suas complementares, o protocolo de pesquisa n.º 2152, intitulado "OBESIDADE E CÂNCER DE MAMA: AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO EXCESSO DE PESO E TECIDO ADIPOSE", área temática GRUPO III, sob responsabilidade da pesquisadora Sara Maria Moreira Lima Verde e orientação da Professora Nágila Raquel Teixeira Damasceno, considerando-o **APROVADO**.

Cabe lembrar que, conforme a Resolução CNS 196/96, são deveres do(a) pesquisador(a): 1. Comunicar de imediato qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste Comitê de Ética em Pesquisa para dar continuidade à pesquisa; 2. Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo COEP, no caso eventual auditoria; 3. Comunicar formalmente a este Comitê quando houver o encerramento da pesquisa; 4. Elaborar e apresentar relatórios parciais e finais; 5. Justificar perante o COEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Claudio Leone
 Professor Titular
 Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - FSP/USP

Atm.ª Sr.ª
 Prof.ª Dr.ª Nágila Raquel Teixeira Damasceno
 Departamento de Nutrição
 Faculdade de Saúde Pública da USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/HGF

Fortaleza, 06 de maio 2010.

Ilma. Sra.

Pesquisadora: Sara Maria Moreira Lima Verde

Projeto intitulado: Obesidade e câncer de mama: Avaliação dos fatores de risco associados ao excesso de peso e tecido adiposo

Área de conhecimento: Ciências da Saúde / Nutrição

Data de entrada no CEP: 13/04/10

Protocolo do CEP: 082807/10

O Comitê de Ética em Pesquisa do HGF em reunião ordinária no dia 05/05/10 analisou e considerou o referido projeto **APROVADO**, por estar de acordo com as recomendações da Resolução nº 196/96 do CNPq.

Entregue ao pesquisador o cumprimento da Resolução do CNS 196/96 na condução científica do seu projeto e ainda, o encaminhamento ao CEP do relatório da pesquisa bem como a divulgação dos resultados à comunidade.

Atenciosamente,

Dr. Maria Virani Oliveira Queiroz

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/HGF

Anexo 2: Índice de performance de *Karnofsky*.

ESCORE	DESCRIÇÃO
<u>1</u>	100 Normal
<u>2</u>	90 Capaz de realizar atividades normais. Sem sinais ou sintomas de doenças
<u>3</u>	80 Realiza atividades normais com proeza.
<u>4</u>	70 Cuida de si próprio, capaz de realizar atividades normais e trabalhar.
<u>5</u>	60 Requer assistência ocasional, mas é capaz de cuidar da maioria das suas próprias atividades.
<u>6</u>	50 Requer considerável assistência e cuidados médicos freqüentes
<u>7</u>	40 Incapaz, requer cuidados especiais e assistência.
<u>8</u>	30 Severamente incapaz, indicação de hospitalização em morte iminente.
<u>9</u>	20 Muito doente, hospitalização necessária, necessidade de tratamento de suporte ativo.

Curriculo Lattes

Sara Maria Moreira Lima Verde

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/8945083511498139>
Última atualização do currículo em 17/02/2014

Nutricionista (UECE), Especialista em Nutrição Clínica (UECE), Mestre em Saúde Pública (FSP/USP) e Doutoranda em Nutrição e Saúde Pública (FSP/USP). Atualmente é Docente do Curso de Nutrição (UNIFOR) e membro do Núcleo de Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da mesma universidade. Coordena o Grupo de Estudos em Nutrição Oncológica - GENO, desenvolvendo pesquisas na interface nutrição, excesso de peso e oncologia. Nos últimos anos tem dedicado seu atendimento aos pacientes oncológicos. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Sara Maria Moreira Lima Verde
Nome em citações bibliográficas	Verde, S. M. M. L.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de Fortaleza, Curso de Ciências da Nutrição. Av Washington Soares, 1321 Edson Queiroz 60811-905 - Fortaleza, CE - Brasil - Caixa-postal: 1258 Telefone: (85) 34773282
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2010	Doutorado em andamento em Saúde Pública (Conceito CAPES 5). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Obesidade e câncer de mama: avaliação dos fatores de risco associados ao excesso de peso e tecido adiposo, Orientador: Prof. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno. Palavras-chave: Câncer de mama; Obesidade; Dano oxidativo ao DNA; Marcadores inflamatórios; Antioxidante. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição. Setores de atividade: Saúde humana e serviços sociais.
2005 - 2007	Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 5). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Impacto do tratamento quimioterápico no estado nutricional e no comportamento alimentar de pacientes com neoplasia mamária, Ano de Obtenção: 2007. Orientador: Prof. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Palavras-chave: Câncer de mama; Quimioterapia; Estado nutricional; Aversão alimentar; Qualidade de vida.
2003 - 2005	Especialização em Nutrição Clínica. (Carga Horária: 360h). Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil. Título: Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA) para Pacientes com Câncer de Mama: Um Estudo de Calibração. Orientador: Prof. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno.
1999 - 2000	Especialização em Gestão de Qualidade em Serviço de Alimentação. (Carga Horária: 360h). Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil. Título: Avaliação da Cobertura Nutricional de Cálcio Através da Alimentação

Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/8729581028091781>
Última atualização do currículo em 26/04/2014

Possui Graduação em Nutrição pela Universidade Estadual do Ceará (1995), Mestrado (1997) e Doutorado (2001) em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo. Realizou estágios de Pós-doutoramento em Imunologia (USP, 2004) e Nutrição e Endocrinologia (Universidade de Barcelona, Espanha, 2010). Atualmente é professora associada da Universidade de São Paulo, vinculada ao Depto de Nutrição e diretora da Divisão de Nutrição e Dietética do Hospital Universitário da mesma universidade. Mantém colaboração com grupos e universidades nacionais e internacionais, visando à excelência na formação de mestres, doutores e pós-doutores na área de Nutrição. É membro do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-FCx), membro do conselho deliberativo do Núcleo de Apoio à Pesquisa de Fluidos Complexos (NAP-FCx), coordenadora do Programa de Cooperação Internacional Brasil - Suécia (STINT-CAPEP) e conselheira científica do Conselho Regional de Nutrição (CRN-3). Nos últimos anos tem coordenado pesquisas na área de Nutrição e Doenças Crônicas (DCV, Obesidade, Câncer), com ênfase em aspectos lipídicos, oxidativos e inflamatórios. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Nome em citações bibliográficas	DAMASCENO, N. R. T.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Av. Dr. Arnaldo, 715 Pacaembu 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (011) 30617865 Fax: (011) 30617701 URL da Homepage: http://www.usp.br
------------------------------	---

Formação acadêmica/titulação

2013	Livre-docênda. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Excesso de Peso na Adolescência: Uma Abordagem Nutricional e Metabólica de um Problema de Saúde Pública, Ano de obtenção: 2013.
2009 - 2010	Pós-Doutorado. Universidade de Barcelona. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Bioquímica da Nutrição.
2003 - 2004	Pós-Doutorado. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Bolsista do(a): Instituto Danone. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Bioquímica da Nutrição.
1997 - 2001	Doutorado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Influência das Isoflavonas Extraídas da Soja na Hipercolesterolemia e na Aterosclerose Experimental Induzida pela Caseína, Ano de obtenção: 2001. Orientador: Dulcineia Saes Parra Abdalla. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil. Palavras-chave: Isoflavonas; Caseína; Oxidação; Lipoproteínas; Anticorpos; Aterosclerose. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Cardiologia. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Alergologia e Imunologia Clínica. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Endocrinologia. Setores de atividade: Fabricação de Produtos Químicos; Fabricação de Produtos Farmacêuticos; Desenvolvimento de Produtos Tecnológicos Voltados Para A Saúde Humana.

Artigos

ARTIGO 1:” Influência do tratamento antineoplásico sobre os vetores de bioimpedância elétrica (BIVA) em pacientes com câncer de mama”

Artigo Original

Submetido à Revista de Nutrição

Influência do tratamento antineoplásico sobre os vetores de bioimpedância elétrica (BIVA) em pacientes com câncer de mama

Influence of antineoplastic treatment on bioelectrical impedance vector (BIVA) in women with malignant breast neoplasm.

Título Curto: Análise vetorial e câncer de mama
Vector analysis and breast cancer

Natássia Ellen Rodrigues Paiva Barros

Titulação: Nutricionista

Universidade de Fortaleza

Av. Washington Soares, Edson Queiroz, 60811-905, Fortaleza, CE, Brasil.

natassiabarros@gmail.com Telefone: (85) 87901953

Contribuição: Análise e interpretação dos dados

Maria Cristina Câmara Bernhard

Titulação: Nutricionista

Universidade de Fortaleza

Av. Washington Soares, Edson Queiroz, 60811-905, Fortaleza, CE, Brasil.

cristinabernhard@hotmail.com

Contribuição: Análise e interpretação dos dados

Antônio Augusto Carioca

Titulação: Mestre em Ciências (Faculdade de Saúde Pública/ Universidade de São Paulo)

Hospital Geral de Fortaleza

R. Ávila Goulart, 900, Papicu, 60175-295, Fortaleza, CE, Brasil.

aacf7@hotmail.com

Contribuição: Análise e interpretação dos dados

Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Titulação: Professora Assistente Faculdade de Saúde Pública/ Universidade de São Paulo

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.

Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira César, 01246-704, São Paulo, SP, Brasil.

nagila@usp.br

Contribuição: Concepção e desenho

Sara Maria Moreira Lima Verde

Titulação: Professora Mestre em Saúde Pública – Área de concentração em Nutrição
(Faculdade de Saúde Pública/ Universidade de São Paulo)

Universidade de Fortaleza, Departamento de Pesquisa.

Av. Washington Soares, Edson Queiroz, 60811-905, Fortaleza, CE, Brasil.

saram@unifor.br

Contribuição: Concepção e desenho

Autor para correspondência

Sara Maria Moreira Lima Verde

Telefones: Celular- (85)9924.3300/ Fone/ Fax -(85)3477.3282

Email: saram@unifor.br

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar a influência do tratamento antineoplásico sobre a composição corporal e vetores de impedância bioelétrica em mulheres com neoplasia da mama.

MÉTODOS: Estudo observacional, tipo antes e depois, realizado no período de Março de 2012 à Junho de 2013 no Hospital Geral de Fortaleza (Ceará, Brasil), com 30 mulheres com tumor na mama, avaliadas nos momentos 1 - após o diagnóstico e antes do tratamento antineoplásico (M1) e 2 - após o tratamento antineoplásico (M2). Coletou-se dados antropométricos, de composição corporal e valores de resistência (R) e reactância (Xc) para Análise Vetorial de Impedância Bioelétrica (BIVA). **RESULTADOS:**

Os percentuais de gordura corporal estiveram acima do recomendado nos dois momentos [M1= 35,6% (4,9) e M2= 35,3% (4,7)] e os valores de massa corporal magra foram, respectivamente, 64,3% (4,9) 64,6% (4,7), sem diferenças significativas. A Xc ($p=0,001$) e o ângulo de fase ($p=0,000$) apresentaram-se diminuídos no M2. Os vetores de impedância, quando se comparou M1 e M2 não mostraram deslocamento significativo ($p=0,053$). Entretanto, ao serem comparados com o vetor médio de uma população de referência, apresentaram deslocamento significativo antes ($T2=95,2$; $p=0,000$) e após ($T2=53,2$; $p=0,000$) o tratamento antineoplásico, indicando alterações nas propriedades elétricas dos tecidos, retenção hídrica e perda de massa celular. **CONCLUSÃO:** A composição corporal não se alterou após o tratamento antineoplásico. As modificações nos vetores de impedância foram sugestivas de alterações nas propriedades elétricas dos tecidos indicando pior prognóstico clínico. Sugere-se a ampliação do número de pacientes para melhor definição das modificações nos compartimentos corporais após a terapia antineoplásica.

Termos de Indexação: Neoplasias da mama, Composição Corporal, Impedância Elétrica.

ABSTRACT

OBJECTIVE: Evaluating the influence of the antineoplastic treatment on the body composition and bioelectrical impedance vectors in women with breast neoplasia.

METHODS: Observational study, of before-and-after type, accomplished from March, 2012 to June, 2013 at Hospital Geral de Fortaleza (Ceará, Brazil), on 30 women with

breast tumor, evaluated in moment1 - after the diagnosis and before the antineoplastic treatment (M1) and 2 - after the antineoplastic treatment (M2). Anthropometric data of body composition and resistance values (R) were collected for Bioelectrical Impedance Vector Analysis (BIVA).

RESULTS: The percentages of body fat were above the recommended in two moments [M1= 35,6% (4,9) and M2= 35,3% (4,7)] and the values of body lean body mass were, respectively, 64,3% (4,9) and 64,6% (4,7), with no significant differences. X_c ($p=0,001$) and the phase angle ($p=0,000$) presented decreased values in M2. The impedance vectors, when M1 and M2 were compared, did not present any significant displacement ($p=0,053$). However, when compared with the average vector of a reference population, presented a significant displacement before ($T2=95,2$; $p=0,000$) and after ($T2=53,2$; $p=0,000$) the antineoplastic treatment, indicating alterations in the electrical properties of the tissues, water retention and cell mass loss.

CONCLUSION: The body composition has not changed after the antineoplastic treatment. The modifications in the impedance vectors suggested electrical properties of the tissues indicating a worse clinical prognosis. The increase in the number of patients was suggested in order to define the modifications in the body compartments after the antineoplastic therapy.

Index Terms: Breast neoplasm, Body Composition, Electrical Impedance.

INTRODUÇÃO

A neoplasia maligna da mama é o principal tipo de câncer em incidência no sexo feminino, sendo responsável por 22,9% da doença entre as mulheres e respondendo por 13,7% dos óbitos por câncer nessa população¹. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o tumor da mama permanece como o segundo tipo mais frequente no Brasil, sendo estimados para 2014 mais de 57 mil novos casos, dos quais 2.060 no estado do Ceará e 850 em Fortaleza².

Apesar da elevada incidência, a eficácia das terapias antineoplásicas representa um avanço na cura e no controle da doença, tendo forte impacto no aumento da expectativa de vida. Apesar dos benefícios, o tratamento clínico para o tumor da mama vem acompanhado por importantes efeitos colaterais os quais parecem interferir de modo negativo na qualidade de vida das pacientes³.

Entre os diversos efeitos colaterais têm merecido destaque o ganho ponderal e a alteração na composição corporal, sendo essa última associada à retenção hídrica, redução da massa magra e aumento da quantidade de gordura⁴. Evidências mostram que após o tratamento antineoplásico para tumor da mama, o ganho de peso, que pode variar de 2,5 Kg a 5,2 Kg, acompanhado de alterações na composição corporal, leva a um pior prognóstico e risco aumentado da recorrência do tumor^{5,6}. Maior quantidade do tecido adiposo, refletida no elevado percentual de gordura corporal, está em conexão com mecanismos de aumento da proliferação celular e consequente desenvolvimento da carcinogênese⁷. Deste modo, a identificação precoce e o adequado controle dos efeitos colaterais visam melhorar a qualidade de vida das pacientes e podem contribuir, em longo prazo, para redução da recidiva da doença⁸.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do tratamento antineoplásico sobre a composição corporal e vetores de impedância bioelétrica em mulheres com neoplasia da mama.

MÉTODO

Realizou-se estudo observacional do tipo antes e depois, com mulheres com neoplasia maligna da mama (n=30), atendidas no Serviço de Mastologia do Hospital

Geral de Fortaleza (HGF), as quais foram avaliadas em dois momentos: M1 – imediatamente após o diagnóstico e antes do tratamento antineoplásico; M2 - após o tratamento antineoplásico. Entre os dois momentos houve perda amostral de 10 pacientes: 5 por não terem finalizado o tratamento até a data de encerramento da coleta dos dados e 5 por perda do contato ou recusa em fazer a segunda avaliação.

A seleção das participantes deu-se por conveniência, de forma consecutiva e não probabilística, sendo consideradas elegíveis aquelas que apresentaram idade superior a 20 anos e inferior a 80, sem tratamento antineoplásico prévio, sem diagnóstico de outras neoplasias malignas e, se portadoras de doenças crônicas não transmissíveis, estas deveriam estar controladas com medicação. O período da coleta estendeu-se de Março de 2012 à Junho de 2013.

Para o perfil socioeconômico e clínico realizou-se entrevista direta e pesquisa nos prontuários. Foram coletadas informações referentes à idade, nuliparidade, amamentação, consumo de bebida alcoólica, fumo, estadiamento clínico, tamanho do tumor, presença de metástase e de linfonodos comprometidos.

A avaliação antropométrica aconteceu com a aferição dos parâmetros de peso atual - PA (kg), estatura (m) e circunferência da cintura – CC (cm). Para aferição do peso e da estatura adotou-se o protocolo de Fontanive *et al.*⁹. A partir desses valores, calculou-se o Índice de Massa Corporal (IMC), sendo o diagnóstico nutricional definido pelos parâmetros da WHO¹⁰ e Lipschitz¹¹ para adultas e idosas, respectivamente. A circunferência da cintura foi aferida com fita métrica inelástica e flexível, sobre a cicatriz umbilical, sendo considerada acima da normalidade quando o valor obtido fosse superior a 80 cm, de acordo com o proposto pela WHO¹².

Estimou-se a composição corporal nos momentos M1 e M2 por meio de bioimpedância elétrica tetrapolar, utilizando o equipamento *Biodynamics* 450, com frequência de corrente elétrica de 800 μ A a 50 kHz e seguindo a metodologia proposta por Lukaski *et al.*¹³, onde os eletrodos foram posicionados nos membros inferiores e superiores do lado direito das pacientes em posição supina. A partir do exame, foram coletados os valores dos percentuais de massa gorda (%MG), massa magra (%MM) e água (%AC), ângulo de fase (AF), resistência (R) e reactância (Xc).

Com os valores de R e Xc realizou-se análise vetorial de impedância bioelétrica (BIVA), seguindo o método proposto por Piccoli *et al.*¹⁴, sendo R e Xc normalizados pela

estatura (H) dos indivíduos (R/H e Xc/H) e expressas em ohms por metro como um vetor bivariado em um gráfico RXC e em um nomograma.

O tratamento estatístico deu-se com auxílio do programa SPSS (versão 20.0), onde realizou-se inicialmente análise descritiva das variáveis, sendo as qualitativas apresentadas em frequências simples e percentuais e as quantitativas em médias e desvio-padrão.

Após verificação da normalidade das variáveis quantitativas pelo teste *Kolmogorov-smirnov* ($p > 0,05$), foi realizada a análise de comparação de médias entre M1 e M2 aplicando o teste *t-student* ou *Man-Whitney*, para variáveis com distribuição paramétrica ou não-paramétrica, respectivamente. Em todos os testes adotou-se nível de significância de 5% e Intervalo de confiança (IC) de 95%.

O presente estudo foi aprovado pelos comitês de Ética de Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Saúde Pública (USP) (425/10- 2162) e do Hospital Geral de Fortaleza (HGF) (050507/10) e o início da coleta das informações aconteceu após as participantes terem sido esclarecidas sobre o estudo e assinado o termo de consentimento livre e esclarecido.

RESULTADOS

A idade média das participantes foi de 51 (11,4) anos, 60% eram casadas ($n=12$), 60% apresentaram etnia parda ($n=12$) e 80% das participantes possuíam renda familiar inferior a 1 salário mínimo (**Tabela 1**). A análise do perfil clínico mostrou que 85% ($n=17$) tiveram filhos, 65% ($n=13$) amamentaram e 35% ($n=7$) das pacientes possuíam hábito de fumar. Em relação às características do tumor, 90% ($n=18$) foram do tipo ductal, 70% ($n=14$) sem comprometimento linfonodal e 50% ($n=10$) sem metástase. O tratamento antineoplásico prevalente foi cirurgia associada à quimioterapia e radioterapia 35% ($n=7$) (**Tabela 2**).

Avaliando o IMC e a CC observou-se que antes (M1) e após (M2) o tratamento as pacientes apresentaram IMC médio de 28,3 (5,1) kg/m² e 28,7 (5,1) kg/m², respectivamente, indicativo de sobrepeso e CC de 96,8 (10,8) cm e 99,2 (12,4) cm, sugestiva de risco de doença cardiovascular associada à obesidade. De modo semelhante, o percentual médio de gordura corporal no M1= 35,6% (4,9) e M2= 35,3% (4,7) estava acima do recomendado, porém não foram encontradas diferenças

significativas. Os valores de reactância ($p=0,001$) e ângulo de fase ($p<0,001$) reduziram após o tratamento antineoplásico (M2) (**Tabela 3**).

Na **Figura 1** são mostradas as distribuições dos vetores médios de impedância das pacientes nos momentos M1 e M2. Foi observada tendência de deslocamento desse vetor após o tratamento ($T2=6,5$; $p=0,053$) (**Figura 1A**). Quando comparados com o vetor médio de uma população de referência observou-se deslocamento significativo no M1 ($T2=95,2$; $p<0,001$) e M2 ($T2=53,2$; $p<0,001$).

Avaliando os vetores em plotagem individual no nomograma *point graph* (**Figura 2**) observou-se que as pacientes estavam localizadas abaixo do eixo curto antes e após o tratamento, o que sugere incremento na quantidade de água. Em relação ao eixo longo, nos dois momentos, as mulheres encontravam-se localizadas na parte inferior, o que sugere redução na quantidade da massa celular corporal, desnutrição.

Em uma avaliação individual verificou-se que antes do tratamento 7 pacientes estavam fora da elipse de tolerância 95th e no M2 esse número foi de 12 mulheres, posição considerada fora da normalidade. Dessas, 1 paciente estava localizada no quadrante inferior esquerdo no M1 e, depois do tratamento, esse número passou para 4, indicando presença de edema. O quadrante inferior direito indica decréscimo na massa celular corpórea, ou seja, desnutrição. Antes do tratamento 6 pacientes encontravam-se nessa posição e no M2 esse número foi de 8 (**Figura 2**).

DISCUSSÃO

O presente estudo trata-se do primeiro na região Nordeste, e provavelmente o primeiro do Brasil, a avaliar a influência do tratamento antineoplásico sobre a composição corporal e os vetores de impedância em mulheres com neoplasia maligna da mama. Observou-se que as pacientes já iniciaram a terapia com IMC indicativo de sobrepeso e CC que sugeria risco cardiovascular associado à obesidade, quadro que se manteve após o tratamento. Além disso, os valores de X_c e AF mostraram-se menores no segundo momento e os vetores de impedância indicaram uma população com alterações nas propriedades elétricas dos tecidos, retenção hídrica, perda de massa celular e consequente pior prognóstico clínico.

Sabe-se que a obesidade é considerada importante fator prognóstico negativo para a sobrevida das mulheres com câncer de mama e tem sido relacionada com a progressão ou recidiva da doença bem como com maior mortalidade. Mulheres com IMC $> 24,9\text{kg/m}^2$ apresentam tumores mais avançados no momento do diagnóstico e esse aspecto contribui para recorrência metastática, menor intervalo livre de doença e menor sobrevida global¹⁶. Elevados valores de IMC associados ao ganho de peso durante a vida adulta parecem aumentar a incidência da neoplasia mamária e por isso são considerados preditores dessa doença^{17,18}.

As pacientes avaliadas no presente estudo já apresentavam IMC indicando excesso de peso no momento do diagnóstico, resultados semelhante ao encontrado por por Ambrosi¹⁹, onde 69,8% das pacientes apresentavam IMC acima de 25 kg/m^2 no momento do diagnóstico e também aumento de peso e CC após o tratamento antineoplásico. O aumento do peso pode estar relacionado ao tratamento quimioterápico ou à quimioterapia combinada com radioterapia. Galvan²⁰ estudou a relação entre grupos de pacientes expostos e não expostos às terapias antineoplásicas e observou aumento significativo do peso corporal entre aquelas que foram expostas. De todas as participantes, 59% já apresentavam IMC indicando sobrepeso ou obesidade no momento do diagnóstico.

Além do aumento do peso e do IMC entre as pacientes com tumor da mama, têm sido amplamente discutido os maiores valores da quantidade de gordura corporal e seu papel no processo da carcinogênese. No presente estudo, assim como no estudo de Frenzel *et al.*⁶ a quantidade de tecido adiposo se mostrou semelhante antes e após o tratamento antineoplásico. Porém, nos dois momentos, os valores médios do %MG estavam acima do recomendado. Prévio estudo mostrou que maiores quantidades de tecido adiposo estão diretamente associadas com mecanismos de estímulo à proliferação celular e, portanto com o desenvolvimento da carcinogênese⁷.

Diferentes mecanismos buscam explicar as vias metabólicas que relacionam o tecido adiposo ao desenvolvimento do tumor da mama, sendo este tecido descrito como órgão endócrino complexo e metabolicamente ativo, estando completamente envolvido na modulação de vários processos biológicos²¹. Quando esse excesso se caracteriza por adiposidade visceral, medida pela CC, cria-se um ambiente mais favorável ao desenvolvimento do tumor, pois o tecido adiposo visceral se expande, tornando-se

infiltrado com células do sistema imunológico. As pacientes avaliadas apresentaram percentual de gordura corporal maior que o recomendado e CC acima dos limites de normalidades, sendo esses dois aspectos diretamente relacionados à inflamação crônica crônica que estimula a proliferação celular e redução da apoptose.

Entre os marcadores envolvidos no processo da carcinogênese merecem destaque a leptina e a adiponectina, alteradas na presença do excesso de peso²⁴. A leptina tem relação direta com o grau de obesidade, possui efeitos pró-inflamatórios e atua no sistema imune (SI) aumentando a produção de citocinas como o TNF- α , IL-6 e IL-12. Além disso, estimula maiores concentrações de estrógeno livre, o qual induz a proliferação das células do tecido mamário, aumentando potencialmente o risco de alterações genéticas²².

A adiponectina é a única adipocitocina com efeitos anti-inflamatórios e, portanto parece percorrer um caminho inverso ao da leptina na promoção da carcinogênese. Sua baixa concentração, observada na obesidade, promove indiretamente o desenvolvimento tumoral, pois agrava a resistência à insulina e causa hiperinsulinemia compensatória^{7,23}.

Além das alterações sobre a leptina e adiponectina, o processo de inflamação crônica promove aumento de biomarcadores inflamatórios como o TNF, IL-6 e proteína C reativa (PCR) e do quadro de hiperinsulinemia com aumento do IGF-1 circulante. Estas substâncias induzem à progressão do ciclo celular e à inibição da apoptose, aumentando assim, o risco de desenvolvimento do câncer e a superexpressão de oncogênese^{18,24}.

Somando-se ao quadro de alterações antropométricas e de composição corporal, as quais mostram relação com maiores quantidades de tecido adiposo e consequentes modificações metabólicas que contribuem positivamente para a carcinogênese mamária, foram observadas neste estudo reduções dos valores de Xc e consequentemente de AF, com manutenção do valor de resistência R após o tratamento.

A Xc é mensurada através do efeito resistivo produzido pelas interfaces de tecidos e de membranas celulares. O AF tem relação positiva com a Xc e resulta da queda da tensão da corrente elétrica²⁵. Assim, a partir dos valores de Xc e AF pode-se mensurar a integridade celular, e consequentemente, o estado nutricional. No presente

estudo a redução da Xc e do AF são sugestivos de pior integridade celular, podem estar associados à debilidade nutricional e indicar prognóstico clínico negativo.

O ângulo de fase tem sido apresentado como indicador de sobrevida, com a possibilidade de ser usado como ferramenta de rastreio na identificação de pacientes em risco nutricional ou funcional²⁶. Em estudo realizado com 259 pacientes com diagnóstico de câncer de mama o ângulo de fase foi mostrado como fator prognóstico independente, sendo avaliado pelo tempo de sobrevida das mulheres, onde aquelas com $AF < 5,6$ apresentaram sobrevida significativamente menor que as pacientes com $AF > 5,6$ ²⁷. As pacientes aqui avaliadas tiveram redução significativa no AF após a terapia antineoplásica, o que pode sugerir comprometimento nutricional que não consegue ser visto pelo IMC.

Malecka-Massalska *et al.*²⁸ relataram em uma população pré-cirúrgica de câncer de cabeça e pescoço onde os pacientes foram comparados com controles saudáveis e pareados por IMC e idade, menores valores de Xc e AF e, conseqüentemente, menor integridade de membranas celulares e interfaces do tecido. Essas modificações teciduais podem refletir profundas e complexas alterações sistêmicas induzidas pelo câncer, mais especificamente alterações na massa celular corporal, já que menores valores de Xc refletem as propriedades dielétricas de membranas celulares e de tecidos moles²⁹.

Neste estudo, essas alterações foram vistas quando os valores de R e Xc foram normalizados pela altura, expressos em um gráfico RXc e comparados com uma população de referência. A migração significativa lateral do vetor (Xc), resultante de menores valores de Xc, indica menor integridade de massa celular, ou seja, desnutrição. E o encurtamento significativo do vetor (R), devido a menor resistência, indica incremento na quantidade de água corpórea. Resultado semelhante foi expresso em análise individual no *point graph* mostrando, que após o tratamento, maior número de pacientes encontravam-se localizadas fora da elipse de tolerância 95th, no quadrante inferior esquerdo e direito, indicando edema e desnutrição, respectivamente.

Foram descritas alterações, com utilização da BIVA, em diversas desordens clínicas. Semelhante ao observado no presente estudo, pacientes com insuficiência cardíaca (IC) instável foram distribuídos na parte inferior do gráfico e tiveram menores

valores de ângulo de fase quando comparados com indivíduos com IC estável e com uma população de referência³⁰. Em estudo semelhante, com 519 pacientes com IC crônica estável, a caquexia foi identificada nos indivíduos que estavam fora do quadrante inferior direito da elipse de tolerância 95th no gráfico de BIVA, correspondeu a 196 indivíduos da população do estudo. O estado de caquexia é um risco independente para mortalidade em pacientes com IC crônica³¹.

A BIVA foi utilizada por Buffa *et al.*³² para avaliar 83 pacientes nas fases leve a moderada e 9 na fase grave de pacientes com doença de *Alzheimer* (DA). Foram utilizados pacientes controles pareados por idade. As características bioelétricas dos pacientes com DA leve e moderada foram significativamente diferentes dos controles, indicando menor massa corporal celular. As mulheres com DA grave apresentaram além de baixa massa celular, estado de desidratação. Em estudo realizado em 2009 esse mesmo autor sugeriu o uso da BIVA como indicador promissor do estado nutricional e adequado na utilização da prática clínica³³.

A análise realizada por BIVA em 28 indivíduos com diagnóstico de câncer de cabeça e pescoço que haviam recebido tratamento antineoplásico mostrou mudanças significativas nos vetores de impedância quando comparados com controles saudáveis. Houve diminuição da condução iônica (desidratação) e perda da massa celular dielétrica e dos tecidos moles (desnutrição) nesses pacientes²⁸. A desnutrição tem sido conhecida por estar associada a resultados adversos em pacientes com câncer, além disso, indivíduos que estiveram e / ou estão em tratamento de câncer de cabeça e pescoço tem estado nutricional mais comprometido e maior mortalidade ³⁴.

Em semelhança ao presente estudo Norman *et al.*³⁵ observaram que o estado de desnutrição está associado a uma mudança nos vetores bioelétricos, com alterações nos tecidos e estas não são detectadas pelas medidas de IMC. Uma desordem de hidratação dos tecidos moles não pode ser descartada nas pacientes desse estudo já que, quando comparadas com indivíduos saudáveis, a resistência apresentou menores valores por conta de incremento na quantidade de água nos dois momentos. Já foi documentado na literatura que os vetores de impedância apresentavam-se mais longos em situações de desidratação e encurtavam, quando ocorria reposição de líquidos, principalmente em pacientes renais¹⁴.

Apesar do crescente número de estudos que utilizam esse método para a avaliação das alterações nutricionais, a literatura ainda não traz dados consistentes em relação ao câncer de mama e o impacto do tratamento nesses pacientes. Sugere-se portanto a ampliação do número de pacientes avaliados, a fim de entender melhor o comportamento dos compartimentos corporais e também das variáveis de impedância bioelétrica sobre a influência da terapia antineoplásica, em especial a quimioterapia já que as alterações nas propriedades elétricas dos tecidos podem ser indicadores de prognóstico clínico.

CONCLUSÃO

A composição corporal não se alterou após o tratamento antineoplásico, mas antes e após o tratamento o IMC e a gordura corporal apresentaram-se acima da normalidade. As modificações nos vetores de impedância foram sugestivas de alterações nas propriedades elétricas dos tecidos indicando pior prognóstico clínico. A X_c e o AF reduziram de modo significativo após a terapia reforçando as modificações na integridade celular das pacientes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Serviço de Mastologia do HGF pela ajuda no contato com as pacientes e ao professor Antonio Piccoli, da Universidade de Pádua, na Itália, por gentilmente fornecer o *software* BIVA 2002.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. 2013.
2. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014, 124p.
3. Browall M, Ahlberg K, Karlsson, Danielson E, Persson LO, Gastón-Johansson F. Health-related quality of life during adjuvant treatment for breast cancer among postmenopausal women. Eur J Oncol Nurs 2008; 12 (3): 180-9.

4. Tartari RF, Busnello FM, Nunes CHA. Perfil Nutricional de pacientes em tratamento quimioterápico em um ambulatório especializado em quimioterapia. *Ver bras cancerol*. 2010; 56 (1): 43-50.
5. Pietro PF, Ambrosi C, Rockenbach C, Galvan D, Ceccato V, Cesa C, *etal*. Consumo energético e ganho de peso corporal durante o tratamento para o câncer de mama: fatores associados. *NutrireRevSocBrasAliment Nutr*. 2011; 36:270.
6. Frenzel AP, Pastore CA, González MC. The influence of body composition on quality of life of patients with breast cancer [internet]. *Nutr Hosp*. 2013 [acesso em 2013 nov28]; 28: 1475-82. Disponível em: <<http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6705.pdf>>. doi:10.3305/nh.2013.28.5.6705.
7. Macciò A, Madeddu C, Gramignano G, Mulas C, Floris C, Massa D, *et al*. Correlation of body mass index and leptin with tumor size and stage of disease in hormone-dependent postmenopausal breast cancer: preliminary results and therapeutic implication. *J Mol Med*. 2010; 88(7): 677-86. doi: 10.1007/s00109-010-0611-8.
8. Ministério da Saúde (Brasil), Secretaria Nacional de Assistência à Saúde, Instituto Nacional de Câncer, Coordenação de Programas de Controle de Câncer – Pro-Onco. Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil, 2012. Rio de Janeiro: Pro-Onco/Inca, 2011.
9. Fontanive R, Paula TP, Peres WAF. Avaliação da composição corporal de adultos. In: Duarte, ACG. Avaliação nutricional: Aspectos clínicos e laboratoriais. São Paulo: Atheneu; 2007.
10. World Health Organization (WHO). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Technical Report Series 894. Geneva: WHO; 2000.
11. Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Primary Care*. 1994; 21(1):55-67.
12. World Health Organization. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Preparation and use of food-based dietary guidelines. Geneva: WHO; 1998.
13. Lukaski HC, Bolonchuk WW, Hall CB, Siders WA. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Appl Physiol*. 1986; 60(4):1327-32.
14. Piccoli 11, 1994: Piccoli A, Rossi B, Pillon L, Bucciante G. A new method for

- monitoring body fluid variation by bioimpedance analysis: the RXc graph. *Kidney Int* 1994; 46: 534-539. doi:10.1038/ki.1994.305.
15. Piccoli A, Pastori G. BIVA software. Department of Medical and Surgical, University of Padova, Italy.
16. D2: Majed B, Moreau T, Senouci, K, Salmon RJ, Fourquet A, Asselain, B. Is obesity an independent factor in woman breast cancer ?. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Set; 111 (2): 329-42.
17. Rubin BA, Stein AT, Zelmanowicz AC, Rosa DD. Perfil antropométrico e conhecimento nutricional de mulheres sobreviventes de câncer de mama do Sul do Brasil. *Rer. Bras. de Cancerologia*. 2010; 56(3): 303-309.
18. Inumaru LM, Silveira EA, Naves MMV. Fatores de risco e proteção para câncer de mama: uma revisão sistemática. *Cad. Saúde Pública*. 2011; 27(7): 1259-1270.
19. Ambrosi, C. Alterações antropométricas e no consumo alimentar de frutas, legumes, verduras, leguminosas, energia, fibras e nutrientes em mulheres após o tratamento do câncer de mama. [dissertação] [internet]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2010 [acesso em 2013 nov 20]. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/94405/278461.pdf?sequence=1> >.
20. Galvan D. Efeito da quimioterapia sobre o peso corporal e o estresse oxidativo em mulheres com câncer de mama. [dissertação] [internet]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2011 [acesso em 2013 out 30]. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/95504/290697.pdf?sequence=1> >.
21. Alexandre D, Cebola M, Mendes L. Alimentação, composição corporal e câncer de mama. 2012. *Saúde & Tecnologia*. [internet]. 2013 [acesso em 2013 nov 27]; 9-12. Disponível em: <http://repositorio.ipl.pt/bitstream/10400.21/1887/1/Alimenta%C3%A7%C3%A3o.pdf> >.
22. Jardé T, Perrier S, Vasson MP, Caldefie-Chézet F. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *Eur J Cancer*. 2011; 47 (1): 33-43. doi: 10.1016/j.ejca.2010.09.005.
23. Viana AC, Montanha D. Incidência de fatores de risco em mulheres com câncer de mama. 2010. *Unilus Ensino e Pesquisa*. [internet]. 2013 [acesso em 2013 nov 28];

7(12): 17-25. Disponível

em <<http://revista.lusiada.br/index.php/ruep/article/view/49/u2010v7n12e49>>.

24. Leite LD, Rocha EDM, Brandão-Neto J. Obesidade: uma doença inflamatória.

2009. Revista Ciência e Saúde. [internet]. 2013 [acesso em 2013 dez 23]: 2(2):85-95.

Disponível em:

<<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/faenfi/article/viewFile/6238/5371>>.

25. WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC: American Institute for Cancer Research, 2007.

26. Norman K, Stobaus N, Pirlich M, Bosy-Westphal A. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis e Clinical relevance and applicability of impedance parameters. Clinical Nutrition. 2012; 1-8. doi:10.1016/j.clnu.2012.05.008.

27. Gupta D, Lammersfeld A, Vashi PG, Kiing J, Dahlk SL, Grutsch JF, *et al.*

Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic indicator in breast cancer. 2008.

BMC Cancer [internet]. 2013 [acesso 20 nov 2013]; 8: 249. Disponível em:

<<http://www.biomedcentral.com/1471-2407/8/249>>. doi:10.1186/1471-2407-8-249.

28. Malecka M, Smolwn A, Zubrzycki J, Lupa-Zatwarnicka K, Moershed K.

Bioimpedance vector pattern in head and neck squamous carcinoma. Journal of Physiology and Pharmacology. 2012; 63 (1): 101-104.

29. Toso S, Piccoli A, Gusella M, Menon D, Crepaldi G, Bononj A, *et al.* Bioimpedance vector pattern in cancer patients without disease versus locally advanced or disseminated disease. Nutrition. 2003; 19 (6): 510-514. 9

30. Gastelurrutia P, Nescolarde L, Rosell- Ferrer J, Domingo M, Ribas N, Bayes-Genis, A. Bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) in stable and non-stable heart failure patients: A pilot study. 2010; 262-264. doi:10.1016/j.ijcard.2010.10.072.

31. Castillo-Mart L, Colín-Ramírez E, Orea- Tejeda A, Islas D G G, Garcia W D R, Diaz C S *et al.* Cachexia assessed by bioimpedance vector analysis as a prognostic indicator in chronic stable heart failure patients. Nutrition. 2012; 28: 886-891. doi:10.1016/j.nut.2011.11.024.

32. Buffa R, Mereu RM, Putzu PF, Floris G, Marini E. Bioelectrical impedance vector analysis detects low body cell mass and dehydration in patients with Alzheimer's disease. J nutr Health Aging. 2010; 14 (10): 823-827.

33. Buffa R, Floris G, Marini E. Assessment of nutritional status in free-living elderly individuals by bioelectrical impedance vector analysis. *Nutrition*. 2009; 25 (1): 3-5. doi: 10.1016/j.nut.2008.07.014.
34. Chasen RM, Bhargava R. A descriptive review of the factors contributing to nutritional compromise in patients with head and neck cancer. *Support Care Cancer*. 2009; 17 (11): 1345-1351. doi: 10.1007/s00520-009-0684-5.
35. Norman K, Smoliner C, Kilbert A, Valentini L, Lochs H, Pirlich M. Disease-related malnutrition but not underweight by BMI is reflected by disturbed electric tissue properties in the bioelectrical impedance vector analysis. *Br J Nutr*. 2008; 100(3): 590-595. doi: 10.1017/S0007114508911545.

Localização: Página 7, após Primeiro parágrafo de RESULTADOS.

Tabela 1. Descrição do perfil demográfico e socioeconômico das pacientes. HGF. Fortaleza (CE), 2012-2013.

Variáveis socioeconômicas	N	%
Estado civil		
Casada	12	60
Solteira	3	15
Outros ^a	5	25
Etnia		
Branco	4	20
Negro	4	20
Pardo	12	60
Escolaridade		
Fundamental completo/incompleto	10	50
Médio completo/incompleto	8	40
Superior completo/incompleto	2	10
Renda familiar (SM)^b		
≤1	16	80
2-6	4	20

^aDivorciada, viúva e outros; ^bValor do salário mínimo (SM): R\$648 (equivalente a U\$ 300).

Localização: Página 7, abaixo da Tabela 1

Tabela 2 – Descrição do perfil clínico das pacientes. HGF. Fortaleza (CE), 2012-2013.

Perfil clínico	n	%
Menopausa		
Sim	10	50
Não	10	50
TRH		
Sim	1	5
Não	19	95
Nuliparidade		
Sim	3	15
Não	17	85
Amamentação		
Sim	13	65
Não	4	20
Tabagismo		
Fuma	4	20
Fumou	1	5
Nunca fumou	15	75
Etilismo		
Etilista	3	15
Ex-etilista	6	30
Não etilista	11	55
Antecedentes Familiares		
Sim	14	70
Não	6	30
Subtipo do tumor^a		
Lobular	1	5
Ductal	18	90
Estadiamento Clínico (EC)^b		
ECI	6	30
ECII	8	40
ECIII	1	5
Tamanho do tumor (cm)		
≤2	15	75
2-5	4	20
≥5	1	5
Linfonodos comprometidos^c		
Não	14	70
Sim	3	15
Metástase^d		
Sim	1	5
Não	10	50

TRH: Terapia de reposição hormonal. ^aSubtipo do tumor (n=19); ^bEstadiamento clínico (n=15); ^cLinfonodos comprometidos (n=17); ^dMetástase (n=11). Nas variáveis amamentação, estadiamento clínico (EC),

Localização: Página 7, após Segundo parágrafo de RESULTADOS.

Tabela 3. Descrição das características antropométricas e de composição corporal das pacientes antes (M1) e após (M2) do tratamento antineoplásico. HGF. Fortaleza (CE), 2012-2013.

Variáveis	M1	M2	P
Peso atual (kg)	69,5 (11,8)	70,3 (11,5)	0,308
IMC (kg/m²)	28,3 (5,1)	28,7 (5,1)	0,099
CC (cm)	96,8 (10,8)	99,2 (12,4)	0,507
Reactância (ohms)	61,1 (8,8)	54,6 (7,1)	0,001
Resistência (ohms)	570,9 (80,6)	548,7 (74,4)	0,060
Água Corporal (%)	48,1 (6,5)	47,5 (3,4)	0,560
Gordura corporal (%)	35,6 (4,9)	35,3 (4,7)	0,685
Massa magra (%)	64,3 (4,9)	64,6 (4,7)	0,685
AF (°)	6,2 (0,7)	5,7 (0,6)	<0,001

Resultados apresentados em média (desvio padrão). Diferenças entre as variáveis foram avaliadas pelos testes *t-Student* (variáveis com distribuição normal) e *Mann-Whitney* (variáveis não paramétricas). Nível de significância adotado $p < 0,05$. IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; AF: ângulo de fase.

Localização: Página 7, após Terceiro parágrafo de RESULTADOS.

Figura 1. Análise do deslocamento dos vetores de impedância bioelétrica entre os momentos M1 (Azul) e M2 (Vermelho) (1-A); entre o M1 e a população de referência (Verde)* (1-B); entre o M2 e a população de referência* (1-C).HGF. Fortaleza (CE), 2012-2013.

*População de referência: mulheres americanas brancas, com idade entre 40-49 anos e IMC entre 25 e 30kg/m². Referência: Piccoli e Pastori¹⁵.

Localização: Página 8, antes do tópico DISCUSSÃO.

Figura 2. Análise vetorial das pacientes nos momentos M1 (Grupo 1) e M2 (Grupo 2), segundo plotagem dos vetores de impedância X_c/H e R/H em pontos, seguindo elipses de tolerância (95%, 75% e 50%) da população de referência*. HGF. Fortaleza (CE), 2013.

*População de referência - Mulheres americanas entre 20-69anos com IMC entre 19 e 30 kg/m². Referência: Piccoli e Pastori¹⁴.