

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Daisy Galvan

EFEITO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE O PESO CORPORAL E O  
ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES COM CÂNCER DE  
MAMA

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Nutrição da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina como requisito parcial para  
obtenção do Grau de Mestre em  
Nutrição

Orientador: Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> Patrícia Faria  
Di Pietro

Florianópolis

2011

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

R696e Rodrigues, Alline Gouvea Martins  
Estado nutricional, indicadores sociodemográficos,  
comportamentais e de escolha alimentar de comensais em restaurante de  
bufê por peso [dissertação] / Alline Gouvea Martins Rodrigues ; orientadora,  
Rossana Pacheco da Costa Proença. - Florianópolis, SC, 2011.  
193 p.: il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de  
Ciências da Saúde. Programa de Pós- Graduação em Nutrição.

Inclui referências

1. Nutrição. 2. Sobrepeso. 3. Obesidade. 4. Hábitos alimentares. 5.  
Alimentos - Consumo. I. Proença, Rossana Pacheco da Costa. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em  
Nutrição. III. Título.

CDU 612.39

Daisy Galvan

**EFEITO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE O PESO CORPORAL E  
O ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES COM CÂNCER DE  
MAMA**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Nutrição, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Florianópolis, 22 de fevereiro de 2011.

---

Rossana Pacheco da Costa Proença, Dr.  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Banca Examinadora:

---

Patrícia Faria Di Pietro, Dr.  
Orientadora - Universidade Federal de Santa Catarina

---

Adriane Belló Klein, Dr.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Elisabeth Wazlawik, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Letícia Carina Ribeiro, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina



*Dedico este trabalho com carinho aos **meus pais**, Vilmar e Célia, ao meu **amor** Rafaelle, minha **filha**, Nicolle e, principalmente, ao meu **irmão** Guilherme (in memoriam), por todo carinho, amor, dedicação, pelo apoio e, sobretudo, por me fazerem acreditar que eu era capaz.*

*Amo vocês!*



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a **Deus**, que esteve sempre presente nos meus dias, pois sem Ele, nada disso seria possível.

Em especial à minha querida, divertida, amiga e orientadora **Patrícia**, pela oportunidade de participar do seu grupo, acreditar no meu trabalho e me acolher como filha, permanecendo ao meu lado nos momentos mais difíceis e confusos, representando uma verdadeira mãe quando a minha estava longe e uma vovó bastante coruja. Muito obrigada por todo ensinamento e por me inserir no mundo da pesquisa.

Ao professor **Édson** colaborador do projeto, sempre disposto a auxiliar, obrigada por me deixar fazer parte do seu laboratório e dividir um pouco do seu grande conhecimento.

Aos **professores** do Programa de Pós Graduação em Nutrição por todo aprendizado, em especial à professora **Rossana** pelo seu exemplo de responsabilidade, dedicação e esforço na coordenação, seu trabalho foi reconhecido, parabéns!

Às professoras **Beth** e **Letícia**, por aceitarem o convite de participar da banca de defesa, assim como a **Adriane**, vindo da minha cidade natal, Porto Alegre, para este momento tão especial.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES), pelo apoio financeiro concedendo a bolsa Reuni, possibilitando dedicação exclusiva e também pelo fomento contemplado no Edital Universal do CNPq, MCT/CNPq 14/2008.

Às **pacientes** com câncer de mama, que mesmo passando por um momento tão delicado, apresentaram-se fortes e dispostas, servindo de exemplo para todas nós.

A toda equipe de mastologia do **Crippa**, pelas parcerias e auxílio no projeto.

Às **nutricionistas**, às **enfermeiras** e a todos os **funcionários** da Maternidade Carmela Dutra, pelo apoio e incentivo à pesquisa, principalmente à **Roberta**, pela assistência na marcação das consultas de retorno e coleta sanguínea nas manhãs agitadas do ambulatório.

Ao **Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo** (GENEO), pelos momentos de aprendizado com cada colega. Às veteranas: **Fran, Gabi, Claudia e Brunna**, por dividirem comigo suas experiências e me orientarem pelo caminho. Às novatas **Cecília e Vanessa**, por me auxiliarem nas tarefas, pela dedicação e comprometimento com o grupo. Às bolsistas **Sheyla, Gabriela e Marina**, pelo apoio em todos os momentos. **Alyne e Cris**, pelas horas de análises no laboratório e pela disposição em ajudar até mesmo nas incansáveis buscas de dados em prontuários naqueles dias quentes. À nossa querida japa **Haruna, Ha**, sempre trazendo ideias inovadoras, desde uma nova planilha, a como se divertir em uma festa. Nunca me esquecerei de vocês, obrigada por toda dedicação!

Às duas colegas de laboratório com as quais dividi alguns momentos, **Fe e Lu**, mesmo sendo de outra área, eu aprendi muito com vocês.

Às minhas queridas colegas de turma que se tornaram grandes amigas, pois com certeza formamos a “*melhor turma de mestrado do sul do Brasil*”, apesar dos momentos de apreensão divididos entre todo o grupo. Nossas confraternizações inesquecíveis com milhões de fotos registradas na câmera da **Alline**, sua eficiência em mandá-las para a turma e sua adorável companhia. O amor de “*Felícia*” da **Bruna** com a Lola e o Kiver quando ele ainda era pequeno e nossos desabafos. A impressionante disposição da **Carla** em conciliar festas e dedicação ao mestrado. Pela força e garra da **Cris** em superar todos os problemas. As agradáveis conversas com a **Elenise**, regados de muito chimarrão. Os vários programas que a **Gabi** planejava, mas nem sempre puderam ser concretizados pela falta de tempo. Pelos momentos tão marcantes na vida de uma noiva que podemos sentir com a **Ju**. A pura dedicação e exemplo de força de vontade da **Isa**. Pelos momentos compartilhados no congresso onde pude conhecer melhor a **Marion**. A determinação e vontade da **Pammela**. A parceria tão agradável para todas as horas da **Suellen**. As divertidas e contagiantes risadas proporcionadas por toda alegria da **Vanessa** e seus contos. A **Carol**, que continuará sendo minha colega nesta nova fase, pois começamos o mestrado com quatorze meninas e acabamos com dezesseis, sejam bem vindas **Lara e Nicolle**!

Agradeço a minha mãe **Célia** e meu pai **Vilmar**, por toda educação e por acreditarem em mim, sempre apoiando e respeitando minhas decisões. Vocês são meus mestres! Pelo carinho de seus respectivos companheiros, meus “*pais emprestados*” **De e Neusa**.

Ao meu marido **Rafaelle**, por toda paciência, dedicação, amor, carinho, respeito, incentivo, sendo o principal responsável por esta realização, e principalmente por me proporcionar a chance mágica de ser mãe, gerando este pedacinho da nossa união chamada Nicolle, que chegará em 2011.

Ao meu *mano* **Gui** (*in memóriam*), que foi muito mais que um irmão, mas também um grande amigo e um modelo de homem. Apesar dos poucos anos que passamos juntos, aprendi contigo as mais importantes lições da vida que trarei sempre em meu coração. Quantas saudades...

Ao meu irmão **Luccas** que me alegrou vindo para Florianópolis nos períodos de férias, mesmo quando tinha que esperar a mana acabar um trabalho ou até “*passar rapidinho na universidade*”.

Aos meus filhos caninos **Lola** e **Kiver**, que sempre me esperam em casa com muita festa renovando-me com suas insaciáveis vontades de brincar.

À minha avó **Iba**, pelos “Santo anjo” rezados todas as noites e os desejos culinários realizados, ao avô **Afonso** pelas palavras sábias e aos avós **Eurides** e **Tacilo** por todo carinho e amor.

Aos meus amigos mais próximos: **Cássia, Ciça, Baptista, De, Paulinho, Re, Ceriotti, Minotto, Anselmi, Gio, Mari** e **Manu** (amiguinha da Nicole) que acompanharam minha trajetória de perto e muitas vezes entenderam quando não podia aceitar seus convites, pois precisava estudar.

Às amigas de Porto Alegre: **Karen, Thaís, Natália** e **Aninha** que, mesmo longe, sempre me deram apoio e estímulo para os estudos.

Ao meu primo e amigo **Tiago** que desbravou o caminho do mestrado na família.

Obrigada a todos, **familiares** e **amigos**, que de alguma forma me incentivaram, acreditaram e torceram para que eu alcançasse mais essa conquista.

Muito obrigada!!!



## RESUMO

GALVAN, Daisy. **Efeito da quimioterapia sobre o peso corporal e o estresse oxidativo em mulheres com câncer de mama.** Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

O tratamento quimioterápico para o câncer de mama tem sido associado a diferentes efeitos, entre eles o ganho de peso e o aumento do estresse oxidativo (EO). Este estudo teve como objetivo investigar as alterações no peso corporal e nos marcadores de estresse oxidativo antes do procedimento cirúrgico e depois tratamento adjuvante para o câncer de mama.

Caracterizou-se como um ensaio clínico não randomizado, realizado em duas etapas, com mulheres recém diagnosticadas cirurgicamente com o câncer de mama, atendidas na Maternidade Carmela Dutra em Florianópolis. Em ambas as avaliações foram coletados, através de entrevista, dados sociodemográficos, clínicos, antropométricos e amostra sanguínea para determinação bioquímica de parâmetros de estresse oxidativo: glutathiona reduzida (GSH), potencial antioxidante redutor férrico (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Potential*), substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS - *Thiobarbituric acid reactive substances*), hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e proteínas carboniladas (PC). Outros dados referentes ao tipo de protocolo quimioterápico administrado foram obtidos através de busca em prontuário nas respectivas unidades de tratamento.

Após o tratamento adjuvante para o câncer de mama, as mulheres expostas à quimioterapia apresentaram maior ganho de peso corporal ( $p < 0,001$ ) e um estado de estresse oxidativo através do TBARS ( $p < 0,05$ ), LOOH ( $p < 0,05$ ) e PC ( $p < 0,05$ ), entretanto nenhuma diferença significativa foi observada no grupo de mulheres não expostas a este tratamento.

Todas as pacientes expostas aos diferentes protocolos quimioterápicos (AC(T), FAC e CMF) aumentaram o peso corporal após o tratamento ( $p < 0,05$ ). O aumento da oxidação lipídica foi observado nas mulheres expostas aos protocolos antracíclicos: AC(T) ( $p < 0,001$ ) e FAC ( $p < 0,005$ ) através do LOOH e do TBARS respectivamente, o mesmo não foi observado com protocolo não antracíclico CMF. Além disso, as pacientes tratadas com FAC e o CMF aumentaram a oxidação protéica ( $p < 0,05$ ).

Observamos em nosso estudo que após o tratamento antineoplásico, as mulheres expostas à quimioterapia aumentaram o peso corporal e o estresse oxidativo. Todos os 3 protocolos quimioterápicos que as pacientes foram submetidas contribuíram no aumento do peso corporal. O tratamento com os protocolos antracíclicos AC(T) e FAC também resultaram em aumento da oxidação lipídica e os tratamentos com FAC e CMF interferiram no aumento da oxidação protéica.

**Palavras-chave:** Câncer de mama. Quimioterapia. Peso corporal. Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

GALVAN, Daisy. **Effect of chemotherapy on body weight and oxidative stress in women with breast cancer.** Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

Chemotherapy treatment for breast cancer has been associated with different effects, including weight gain and increased oxidative stress. This study aimed to investigate changes in body weight and markers of oxidative stress before surgery and after the primary adjuvant treatment for breast cancer.

Characterized as a non-randomized clinical trial was conducted two stages with surgery for women diagnosed early breast cancer, attending the Maternidade Carmela Dutra in Florianópolis. In both evaluations were collected through interviews sociodemographic, clinical, anthropometric and blood samples for determination of biochemical parameters of oxidative stress: reduced glutathione (GSH), ferric reducing antioxidant potential (FRAP), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), lipid hydroperoxide (LOOH) and protein carbonyl (PC). Other data regarding the type of chemotherapy protocol administered were obtained by searching records medical in the respective treatment units.

After treatment for breast cancer, women exposed to chemotherapy had higher body weight gain ( $p < 0.001$ ), and a state of oxidative stress across TBARS ( $p < 0.05$ ), LOOH ( $p < 0.05$ ) and PC ( $p < 0.05$ ) however, no significant difference was observed in the group of women not exposed to this treatment.

All patients exposed to different chemotherapy protocols (AC(T), FAC and CMF) increase body weight after treatment ( $p < 0.05$ ). The increase in lipid oxidation was observed in women to anthracyclines protocols: AC(T) and FAC ( $p < 0.005$ ) by LOOH and TBARS, respectively, the same was not observed with non-anthracycline CMF protocol. In addition, treated with FAC and CMF increase protein oxidation ( $p < 0.05$ ).

In our study that after their treatment, women exposed to chemotherapy increase body weight and oxidative stress. All three chemotherapy protocols that cancer patients were helped in increase in body weight.

Treatment protocols with anthracycline AC(T) and FAC also resulted in increased lipid oxidation and treatment with FAC and CMF interfered with increased protein oxidation.

Keywords

Breast cancer. Chemotherapy. Body weight. Oxidative stress.

## **LISTA DE QUADROS**

- Quadro 1 – Principais quimioterápicos agrupados com seus mecanismos de ação (modificado de BHOSLE e HALL, 2009).....35
- Quadro 2 – Pontos de corte do Índice de Massa Corporal (WHO, 2000).....46



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Características clínicas e gerais das pacientes com câncer de mama (n= 66), Florianópolis, SC.....71
- Tabela 2 – Mudanças entre o período AT e DT no peso corporal e nos marcadores de estresse oxidativo em mulheres expostas à quimioterapia para o câncer de mama (n=44), Florianópolis, SC.....72



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Alteração no peso corporal antes e depois do tratamento com diferentes protocolos quimioterápicos AC(T) (n=23), FAC (n=13) e CMF (n=8) para o câncer de mama.....73
- Figura 2 – Alteração nos antioxidantes antes e depois do tratamento com diferentes protocolos quimioterápicos AC(T) (n=23), FAC (n=13) e CMF (n=8) para o câncer de mama.....74
- Figura 3 – Alteração nos marcadores de oxidação antes e depois do tratamento com diferentes protocolos quimioterápicos AC(T) (n=23), FAC (n=13) e CMF (n=8) para o câncer de mama.....75



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Antes do Tratamento
ACS	<i>American Cancer Society</i> (Sociedade Americana de Câncer)
AC	Adriamicina e Ciclofosfamida
AI	<i>Aromatase Inhibitor</i> (Inibidores de Aromatase)
CAT	Catalase
CMF	Ciclofosfamida, Metotrexato e 5-Fluorouracil
DT	Depois do Tratamento
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucléico)
EDTA	Ácido Etileno diaminotetracético
EO	Estresse Oxidativo
ER	Espécies Reativas
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
FAC	5-Fluorouracil, Adriamicina e Ciclofosfamida
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (Órgão de Controle Governamental Americano)
Fe	Ferro
FOX	<i>Ferrous Oxidation-xylene Orange</i> (Oxidação do ferro com Alaranjado de Xilenol)
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Potential</i> (Potencial Antioxidante pela Redução do Ferro)
GENEO	Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione Reduzida
HER2	<i>Human Epidermal growth factor Receptor-type 2</i> (Receptor Tipo 2 do Fator de Crescimento Epidérmico Humano)
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (Vírus da Imunodeficiência Humana)
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrogênio
HO <sub>2</sub> •	Hidroperóxido
IARC	International Agency for Research on Cancer (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)
IMC	Índice de Massa Corporal

INCA	Instituto Nacional de Cancer
LPO	Lipoperoxidação
LOOH	Hidroperóxidos Lipídicos
MCD	Maternidade Carmela Dutra
NCI	<i>National Cancer Institute</i> (Instituto Nacional de Câncer)
NO·	Oxido Nítrico
NO <sub>2</sub> ·	Dioxido de Nitrogênio
O <sub>2</sub> ·-	Superóxido
OH·	Hidroxil
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
ONOOH	Peroxinitroso
RE+	Receptor Estrogênio Positivo
RL	Radicais Livres
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i> (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico)
TNM	Tumor Nodo Metástase
TRH	Terapia de Reposição Hormonal
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UICC	União Internacional Contra o Câncer (UICC) <i>Union Internationale Contre le Cancer</i>
<sup>1</sup> Δg	Oxigênio Singlet

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>25</b>
1.1	APRESENTAÇÃO.....25
1.2	OBJETIVOS.....27
<b>1.2.1</b>	<b>Objetivo Geral.....27</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....27</b>
<b>CAPÍTULO 2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>29</b>
2.1	CÂNCER DE MAMA.....29
2.2	TRATAMENTO DO CÂNCER DE MAMA.....30
<b>2.2.1</b>	<b>Radioterapia.....32</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Quimioterapia.....33</b>
2.3	ALTERAÇÕES DO PESO CORPORAL NO CÂNCER DE MAMA.....35
2.4	ESTRESSE OXIDATIVO.....37
<b>2.4.1</b>	<b>Estresse Oxidativo no Tratamento do Câncer de Mama.....41</b>
<b>CAPÍTULO 3 MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
3.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....43
3.2	POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO.....43
3.3	CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DA AMOSTRA.....44
3.4	INSERÇÃO DO ESTUDO.....45
3.5	VARIÁVEIS DO ESTUDO.....45
3.6	COLETA DE DADOS.....45
<b>3.6.1</b>	<b>Avaliação sociodemográfica, clínica e antropométrica.....45</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Avaliação do tratamento antineoplásico.....46</b>
<b>3.6.3</b>	<b>Avaliação bioquímica.....47</b>
3.6.3.1	Glutathiona reduzida.....48
3.6.3.2	Capacidade antioxidante.....48
3.6.3.3	Peroxidação lipídica.....49
3.6.3.4	Hidroperóxidos lipídicos.....49
3.6.3.5	Proteínas oxidadas (carbonilada).....50
3.7	ASPECTOS ÉTICOS.....51

<b>CAPÍTULO 4 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....</b>	<b>53</b>
<b>CAPÍTULO 5 ARTIGO ORIGINAL.....</b>	<b>55</b>
<b>CAPÍTULO 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>77</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>91</b>
APÊNDICE A – Protocolo para busca em prontuários.....	912
<b>ANEXOS .....</b>	<b>95</b>
ANEXO A - Questionário sócio-demográfico, clínico e antropométrico.	
ANEXO B - Questionário de retorno.....	98
ANEXO C - Parecer do comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Maternidade Carmela Dutra.....	100
ANEXO D - Parecer do comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.....	102
ANEXO E - Parecer do comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Centro de Pesquisas Oncológicas.....	103
ANEXO F - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	104

## CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 APRESENTAÇÃO

Na maioria dos países desenvolvidos, há um aumento na incidência do câncer de mama em mulheres, assim como uma redução nas taxas de mortalidade, o que está associado a uma detecção precoce e oferta de terapêutica adequada. No Brasil, o aumento da incidência tem sido acompanhado do aumento da mortalidade, o que pode ser atribuído principalmente a um diagnóstico tardio e tratamentos inadequados, tornando-se um dos maiores problemas de saúde pública (BRASIL, 2004; ACS, 2010).

O câncer de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres, o qual constitui a primeira causa de morte por câncer neste grupo. No Brasil, a região sudeste apresenta a maior taxa de incidência de câncer de mama entre o sexo feminino, sendo este o mais frequente depois do câncer de pele não melanoma (WCRF/AICR, 2007; BRASIL, 2009).

O tratamento para o câncer de mama deve ser abordado por uma equipe multidisciplinar no cuidado integral da saúde da mulher. É necessário considerar o tipo de tumor e estadiamento clínico da doença, sendo que as principais modalidades terapêuticas são: cirurgia, quimioterapia, radioterapia e hormonioterapia, podendo ser isoladas ou combinadas entre si (BRASIL, 2004; ACS, 2010).

Um dos efeitos que pode ser ocasionado devido ao tratamento do câncer de mama é o ganho de peso (KUTYNEC et al, 1999; KROENKE et al, 2005). Isso pode ocorrer por um desequilíbrio entre ingestão e o gasto energético; no entanto, as razões desse balanço positivo, durante e após a quimioterapia adjuvante, não estão bem estabelecidas (HARVIE et al, 2004; DEMARK-WAHNEFRIED et al, 2008). Entretanto, o tratamento quimioterápico foi encontrado como um forte preditor clínico para o ganho de peso em mulheres na fase inicial do câncer de mama, sendo independente da idade, do consumo energético, do estágio clínico e do IMC no momento do diagnóstico da doença (GOODWIN et al, 1999). Outros fatores de risco associados ao ganho de peso incluem o tipo de protocolo quimioterápico, bem como as doses e duração do tratamento (DEMARK-WAHNEFRIED et al; 1993; DEMARK-WAHNEFRIED et al; 1997).

A obesidade, além de estar associada ao maior risco de morbidade e mortalidade (ANJOS, 1992), também tem sido relacionada ao aumento do estresse oxidativo (EO) em mulheres sem câncer de mama (BRONW et al, 2009; VINCENT e TAYLOR, 2006). Sendo que o EO durante a terapia antineoplásica tem sido relacionado aos protocolos quimioterápicos utilizados, podendo promover um aumento de espécies reativas (ER), refletindo no comprometimento e eficácia do tratamento através do seu efeito tóxico e, ainda, interferir em diversas funções celulares nas quais fármacos exercem sua toxicidade (CONKLIN, 2004<sup>b</sup>; SHACTER et al, 2000).

Sendo assim, torna-se importante avaliar as mulheres com câncer de mama, submetidas ao tratamento quimioterápico, a fim de verificar as alterações do peso corporal e dos marcadores de estresse oxidativo, partindo do pressuposto de que ambas variáveis são alteradas durante o período terapêutico, podendo aumentar o risco de comorbidades como doenças cardiovasculares e diabetes e ainda piorar o prognóstico para o câncer de mama na progressão e recidiva da doença.

Com base no exposto acima, foi elaborada a seguinte pergunta de partida:

Qual o efeito da quimioterapia adjuvante sobre o peso corporal e o estresse oxidativo em mulheres com câncer de mama?

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da quimioterapia adjuvante sobre o peso corporal e o estresse oxidativo em pacientes cirúrgicas com câncer de mama.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Verificar o peso corporal antes e depois do tratamento antineoplásico adjuvante;
- b) Avaliar o efeito dos quimioterápicos sobre o peso corporal;
- c) Verificar os marcadores de estresse oxidativo antes e depois do tratamento antineoplásico adjuvante;
- d) Avaliar o efeito dos quimioterápicos sobre o estresse oxidativo;
- e) Avaliar os efeitos do peso corporal e da idade sobre o estresse oxidativo de pacientes submetidas ao tratamento quimioterápico adjuvante.



## CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CÂNCER DE MAMA

O câncer de mama é a neoplasia mais comum em mulheres no mundo todo e o principal tipo de câncer relacionado à morte neste grupo. A neoplasia corresponde em torno de 23% de todos os cânceres em mulheres, respondendo por aproximadamente 14% das mortes por câncer na população feminina (WCRF/AICR, 2007).

No Brasil, as estimativas para o ano de 2010 apontam 49.240 casos novos de câncer de mama, com um risco estimado de 49 casos a cada 100 mil mulheres. Depois dos tumores de pele não melanoma, o câncer de mama é a neoplasia mais frequente entre as mulheres sul brasileiras, com um risco estimado de 65 casos para cada 100 mil. Em Santa Catarina é esperada uma taxa bruta de 49,58/100.000, e na capital Florianópolis, esta taxa é de 62,90/100 mil mulheres (BRASIL, 2009).

A neoplasia de mama é bastante temida entre as mulheres, devido à sua alta frequência e por ser uma das principais causas de morte por câncer no sexo feminino, além de seus efeitos psicológicos, que afetam a percepção da sexualidade e a imagem pessoal. Em alguns países desenvolvidos, tem sido observado um aumento da incidência do câncer de mama acompanhado, porém, de uma redução nas taxas de mortalidade, o que está associado a um diagnóstico precoce por meio da introdução da mamografia para rastreamento e à oferta de tratamento adequado. No entanto, em outros países, como no caso do Brasil, o aumento da incidência está relacionado com o aumento da mortalidade, o que pode ser atribuído, principalmente, a um retardo do diagnóstico, detectando dessa forma, estádios mais avançados da doença, além da utilização de terapêutica inadequada (BRASIL, 2004; BRASIL, 2007; ACS, 2010).

Vários são os fatores de risco para o câncer de mama, entre eles podemos citar idade, sexo, fatores reprodutivos e comportamentais, sendo que a idade e o sexo são considerados os de maior importância. Foi verificado que ocorre um aumento das taxas de incidência e mortalidade de acordo com a idade das mulheres (BRASIL, 2007; ACS, 2010).

Dentre os fatores reprodutivos, a menarca precoce ( $\leq 12$  anos), menopausa tardia ( $\geq 55$  anos), uso de contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal (TRH), assim como nuliparidade ou a primeira

gestação após os 30 anos, aumentam o risco. Destacam-se, ainda, alguns fatores de risco potencialmente modificáveis, como o consumo de bebida alcoólica e o sobrepeso ou obesidade após a menopausa (ACS, 2010).

Segundo a *American Cancer Society* - ACS (2010) o histórico familiar de câncer de mama e heranças de mutações nos genes de susceptibilidade ao câncer de mama, como BRCA1 e BRCA2, são responsáveis por 75% dos tumores mamários malignos hereditários. Porém, somente cerca de 5 a 10% das neoplasias mamárias são de origem hereditária, consideradas raras por acometer menos de 1% da população em geral (FORD e EASTON, 1995).

Em contrapartida, alguns fatores protetores para o câncer de mama são: amamentação e atividade física moderada por um período de 7 horas semanais, podendo reduzir o risco em quase 20% (ACS, 2010; MONNINKHOF et al; 2007).

Quando o câncer de mama é diagnosticado e tratado oportunamente, melhora o prognóstico (BRASIL, 2007), sendo observada uma sobrevida média de 76,2% no estudo de Schneider e d'Orsi (2009) com mulheres tratadas no município de Florianópolis, cujos fatores associados que influenciaram o prognóstico da doença incluíram faixa etária, escolaridade e estadiamento clínico da doença.

## 2.2 TRATAMENTO DO CÂNCER DE MAMA

O câncer de mama deve ser abordado por uma equipe multidisciplinar visando ao tratamento integral da paciente. Para tanto é necessário levar em consideração o tipo de tumor e o estadiamento da doença. O estadiamento do câncer de mama é baseado na classificação dos Tumores Malignos TNM, proposta pela União Internacional Contra o Câncer (UICC 2002), conforme as características do tumor primário, onde T se refere ao tamanho do tumor, N, à avaliação do comprometimento dos linfonodos regionais e M, à presença ou ausência de metástase à distância. (BRASIL, 2004; ACS, 2010).

A terapia sistêmica adjuvante consiste em um tratamento complementar empregado após o tratamento principal, em geral a cirurgia, para eliminar micro metástases visando à redução da recidiva e a melhoria nas taxas de sobrevida global livre de doença (BENSON et al, 2009). Já a terapia sistêmica primária, também conhecida como tratamento neo-adjuvante ou tratamento pré-operatório, tem sido

utilizada com o objetivo de tratar micro metástases não visíveis em imagens convencionais e/ou reduzir o tamanho do tumor, permitindo um procedimento menos radical, como uma cirurgia conservadora da mama (WOLFF e DAVIDSON, 2000; BHOSLE e HALL, 2009). As modalidades terapêuticas disponíveis são as cirúrgicas, podendo ser conservadora, ou ainda, a cirurgia não-conservadora e o tratamento sistêmico pode envolver hormonioterapia, radioterapia e quimioterapia.

A cirurgia no câncer de mama pode ser realizada com a finalidade de remover a lesão na mama ou ainda avaliar o estágio clínico da doença (ACS, 2007). A cirurgia conservadora preenche os pré-requisitos que norteiam o tratamento cirúrgico do câncer de mama, que são: máximo controle loco-regional, estadiamento e prognóstico semelhante, porém com menor morbidade e mutilação. Este tipo de cirurgia pode ser utilizado nas mulheres com tumor de diâmetro  $\leq 3$  cm, sem comprometimento nodal clinicamente aparente. A setorectomia, tumorectomia e quadrantectomia são tipos de cirurgia conservadora da mama, em que o tumor, os gânglios axilares ou linfonodo sentinela são retirados para obter informações precisas sobre o estágio da doença. A realização da cirurgia conservadora da mama vai depender principalmente do tamanho do tumor (BRASIL, 2004).

Na mastectomia ou cirurgia não conservadora, ocorre a remoção de toda a mama. A mastectomia é um tratamento curativo em 98% dos casos, mas convém ressaltar que representa um procedimento excessivamente mutilante para a maioria das pacientes. Cirurgias não conservadoras da mama são indicadas para tumores  $> 3$  cm e quando não é possível assegurar a obtenção de margens livres em função da extensão ou multicentricidade do tumor. As técnicas modificadas que preservam um ou ambos os músculos do peito são as mais empregadas, pois além de assegurarem resultados semelhantes à mastectomia radical, facilitam a reconstrução da mama e reduzem a morbidade. A opção pela técnica depende dos achados intra-operatórios, das circunstâncias clínicas e da idade da paciente. Sempre que indicada uma mastectomia em pacientes com boas condições clínicas, também é considerada a possibilidade de se realizar a reconstrução mamária que inclui implante de silicone ou tecidos de outras partes do corpo (BRASIL, 2004).

A hormonioterapia somente é utilizada nos casos de pacientes com receptor estrogênio positivo (RE+). Nesses casos, o hormônio, que é produzido e regulado pelos ovários, é o promotor e responsável pelo crescimento do câncer de mama. Através da terapia hormonal por fármacos antiestrogênicos como tamoxifeno e inibidor da aromatase (Al do inglês - *Aromatase Inhibitor*), é possível inibir os efeitos do

estrogênio no crescimento tumoral. Recomenda-se, atualmente, a utilização por 5 anos de terapia hormonal, independente do estado menopausal, na qual a recorrência do câncer de mama é ainda mais reduzida quando se utiliza AI (CLARKE et al, 2005 in ACS, 2007). Os AI, letrozole, anastrozole e exemestane bloqueiam as enzimas, responsáveis pela síntese de estrogênio em mulheres menopausadas. Porém, não são efetivos na pré-menopausa, uma vez que não possuem a capacidade de inibir a produção ovariana de estrogênio (ACS, 2007).

Aproximadamente 15-30% dos tipos de câncer de mama podem ser resultados de um aumento da síntese de proteína do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2 do inglês - *Human Epidermal growth factor Receptor-type 2*). Esses tumores tendem a crescer mais rapidamente e geralmente estão envolvidos com recidivas, quando comparado a tumores com baixa concentração de HER2. Recentemente, o antibiótico monoclonal tratuzumab (Herceptin®) foi comprovado ser eficaz nos estágios iniciais desta neoplasia de mama específica (ACS, 2007). O tratamento com este novo fármaco biológico reduziu o risco de recorrência e mortalidade em 52 e 33%, respectivamente, quando comparado à utilização isolada de quimioterápicos (ROMOND et al, 2005). Por isso, o Food and Drug Administration (FDA) aprovou sua utilização para câncer de mama HER2 positivo. Sendo assim, todos os cânceres de mama invasivos devem ser testados para a proteína HER2, a fim de identificar as mulheres que se beneficiariam desta terapia (WOLFF et al, 2007).

### **2.2.1 Radioterapia**

A radioterapia tem como objetivo destruir as células remanescentes após a cirurgia ou reduzir o tamanho do tumor antes da cirurgia (BRASIL, 2004). Existem dois tipos de radioterapia, a radiação interna e a externa. A radiação interna utiliza uma substância radioativa selada dentro de agulhas ou cateteres que são colocados diretamente perto da lesão. Já a radiação externa, é mais comum para o tratamento do câncer de mama e consiste em uma máquina fora do corpo focalizada na área afetada pelo tumor. Geralmente inclui a mama inteira, mas pode incluir a área do tórax e axila dependendo da extensão do câncer sendo que a terapia por radiação depende do tipo e do estadio da doença (ACS, 2007-2010).

A radiação origina danos ao DNA pela absorção de raios gama nos tecidos levando a uma produção imediata de átomos ionizados. Estes, por sua vez, levam à formação de radicais livres de meia vida curta, que interagem com componentes celulares. O dano induzido pela radiação ionizante é letal à célula ou potencialmente letal, sendo que neste último caso, pode ocorrer à reparação parcial ou total da célula. A resposta à radiação depende da sensibilidade, da localização e da oxigenação do tumor, assim como o tempo de administração, qualidade e quantidade da radiação (FALK, 2009).

A radiação na mama, em geral, é recomendada após o procedimento cirúrgico, mesmo depois de uma mastectomia. Em certas circunstâncias, a radiação no tórax é recomendada para mulheres com 4 ou mais linfonodos positivos ou ainda no caso de tumores grandes. A terapia é realizada tipicamente por 5 a 7 semanas, sendo que nas últimas décadas, a precisão e direcionalidade da terapia de radiação têm demonstrado eficácia alcançando efeitos colaterais reduzidos (ACS, 2007).

### **2.2.2 Quimioterapia**

A quimioterapia refere-se aos fármacos utilizados para destruir ou inibir o crescimento das células cancerígenas. A maioria desses fármacos causa dano ao DNA ou impede a replicação cromossomal, o que leva a uma apoptose, ou seja, morte programada das células. Entretanto, esses agentes quimioterápicos agem tanto nas células normais quanto nas células cancerígenas; estas últimas, porém, são relativamente ineficientes para a reparação em comparação com as células normais (BHOSLE e HALL, 2009). Assim, a quimioterapia é administrada em ciclos, para que haja um tempo adequado de recuperação das células normais, podendo objetivar diversos propósitos, entre eles: tratamento paliativo, com o foco na melhoria da taxa de resposta e a sobrevida global, tratamento curativo, com intenção curativa de curto prazo, tratamento adjuvante, suplementando a terapia primária, ou ainda neoadjuvante, reduzindo o tamanho do tumor antes da terapia primária (ACS, 2007).

A quimioterapia adjuvante é rotineiramente utilizada no tratamento do câncer de mama. Ela tem a finalidade de aumentar a taxa de cura da paciente através de uma combinação de fármacos, por ser mais eficiente que quando administrados separadamente (WOLFF et al,

2007). Essa utilização simultânea de agentes quimioterápicos tem como objetivo melhorar o resultado do tratamento, maximizando a destruição das células tumorais, enquanto reduz o desenvolvimento de resistência aos fármacos. Muitos tumores podem responder a um único fármaco, mas raramente a quimioterapia é curativa, até mesmo nos casos de cânceres altamente sensíveis (BHOSLE e HALL, 2009). Sua eficácia é melhor quando a dose total e os ciclos são completados em tempo hábil e seus benefícios dependem também de múltiplos fatores, tais como: tamanho do tumor, linfonodos comprometidos, presença ou não de receptores de estrogênio ou progesterona e a quantidade de proteína HER2 envolvida nas células cancerosas (WOLFF et al, 2007).

Os fármacos quimioterápicos são agrupados de acordo com seus mecanismos de ação, sendo os comumente recomendados: agentes alquilantes, antimetabólitos, antibióticos antitumorais, inibidores mitóticos e inibidores da topoisomerase (Quadro 1). Dependendo da combinação dos fármacos que é utilizada, a quimioterapia adjuvante é prescrita geralmente de 3 a 6 meses, sendo que esses fármacos podem ser utilizados também com a função de diminuir metástases. Os protocolos utilizados para o câncer de mama são divididos entre antracíclicos, contendo antraciclina, e os não antracíclicos. Dentre os protocolos antracíclicos mais utilizados tem-se: AC (Doxorrubicina e Ciclofosfamida acompanhados ou não de Paclitaxel) e FAC (5-Fluorouracil, Doxorrubicina e Ciclofosfamida). E o protocolo não antracíclico CMF (Ciclofosfamida, Metotrexato e 5-Fluorouracil) (ACS, 2007; BHOSLE e HALL, 2009).

Agentes alquilantes	Complexos de platina ( <i>cisplatina</i> , <i>carboplatina</i> ) Derivados de mostarda nitrogenada ( <i>clorambucil</i> , <i>melfalano</i> ) Oxazafosforinas (ciclofosfamida, ifosfamida)
Antimetabólitos	Análogos da pirimidina (gemcitabina, 5-fluorouracil, capecitabina) Anti-Folatos (metotrexato, raltitrexed)
Antibióticos antitumorais	Antraciclinas (doxorrubicina, epirubicina), Bleomicina, Mitoxantrona
Inibidores mitóticos	Alcaloides da vinca (vincristina, vinorelbina) Taxanes (paclitaxel, docetaxel)
Inibidores da topoisomerase	Inibidores da Topoisomerase-I ( <i>irinotecano</i> , <i>topotecan</i> ) Inibidores da topoisomerase-II ( <i>etoposide</i> )

Quadro 1 – Principais quimioterápicos agrupados de acordo com seus mecanismos de ação (modificado de BHOSLE e HALL, 2009).

### 2.3 ALTERAÇÕES DO PESO CORPORAL NO CÂNCER DE MAMA

Após o diagnóstico de câncer de mama, percebe-se um ganho de peso nas pacientes devido a um desequilíbrio entre a ingestão energética e o gasto energético. As razões para esse balanço energético positivo, durante e após a quimioterapia adjuvante, ainda não foram bem estabelecidas (HARVIE et al, 2004; DEMARK-WAHNEFRIED et al, 2008). O aumento de peso é comum depois do diagnóstico devido tanto ao tratamento adjuvante quanto ao início da menopausa (GOODWIN et al, 1999).

De acordo com Goodwin e colaboradores (1999), a quimioterapia foi encontrada como um forte preditor clínico para o ganho de peso em mulheres na fase inicial do câncer de mama, sendo independente da idade, do consumo energético, bem como do estadiamento clínico e IMC no momento do diagnóstico da doença. Outros fatores de risco associados ao ganho de peso incluem o tipo de protocolo quimioterápico, bem como as doses e duração do tratamento

que diferem entre as pacientes do mesmo estudo (DEMARK-WAHNEFRIED et al; 1993; DEMARK-WAHNEFRIED et al; 1997).

O estudo de Freedman e colaboradores (2004) concluiu que comparados ao grupo controle, as pacientes com câncer de mama que receberam quimioterapia adjuvante não apresentaram mudanças significativas no peso no primeiro ano de tratamento, por outro lado, ocorreram mudanças na composição corporal, com aumento de gordura e redução de massa magra. Esses achados também foram encontrados no estudo utilizando predominantemente *doxorubicina e ciclofosfamida* (DC) não relacionando ganho de peso durante a quimioterapia, porém demonstrou perda de massa magra concomitante a um aumento da gordura corporal em mulheres com câncer de mama (DEMARK-WAHNEFRIED et al; 1997).

Mulheres tratadas com *ciclofosfamida, metotrexato e 5-fluorouracil* (CMF) apresentaram significativo ganho de peso corporal e massa gorda durante o tratamento (ASLANI et al, 1999; LANKESTER et al; 2002). O ganho de peso ocorre em 50-96% das pacientes com câncer de mama tratadas com quimioterapia adjuvante, sendo a média do ganho de peso entre 2,5 - 6,2 kg após o tratamento (DEMARK-WAHNEFRIED et al; 1997).

O ganho de peso está associado com a diminuição da qualidade de vida dessas pacientes e aumento do risco de várias comorbidades, tais como doenças cardiovasculares e diabetes (CHLEBOWSKI et al 2002), sendo a obesidade um fator de risco e está associada com um pior prognóstico para o câncer de mama (CARMICHAEL, 2006; WEITZEN et al, 2006). Tanto o excesso de peso quanto o ganho de peso na vida adulta estão relacionados a um maior risco para o desenvolvimento da doença, principalmente após a menopausa, por outro lado, uma perda de peso após a menopausa está associada com uma redução do risco para o câncer de mama (LINOS et al, 2007).

Kroenke e colaboradores (2005) concluíram que as pacientes com câncer de mama que ganharam mais de 0,5 kg/m<sup>2</sup> no IMC tinham significativamente maior probabilidade de ter recorrência da doença, morrer de câncer de mama, entre outras causas comparadas com aquelas que mantiveram o peso adequado. Esses dados corroboram o estudo de Vitolins e colaboradores (2008) que relaciona o aumento do IMC como fator importante para recorrência precoce e redução da sobrevida dessas pacientes.

No estudo de Demark-Wahnefried e colaboradores (2001), cujo objetivo foi avaliar o ganho de peso em pacientes no momento basal a três semanas do diagnóstico, e posteriormente a um ano do diagnóstico,

identificou-se que os dados não foram suficientes para afirmar que a quimioterapia fosse responsável pelo ganho de peso. Em contrapartida, sugere-se que a redução da atividade física em função da quimioterapia poderia induzir à obesidade sarcopênica, ou seja, mudanças na composição corporal com aumento de gordura e redução de massa magra, podendo manifestar-se após seis meses do diagnóstico.

O aumento de peso, após o tratamento para o câncer de mama, pode favorecer uma condição de EO. Alguns estudos encontraram associação positiva entre obesidade e EO com mulheres sem câncer de mama (BRONW et al, 2009; VINCENT e TAYLOR, 2006). Corroborando esses dados, Mittal e Kant (2009), em estudo com mulheres saudáveis em diferentes idades, observaram uma correlação entre o aumento do peso corporal e a idade com o aumento do EO. Sabe-se que o EO induz danos ao DNA e mutações genéticas encontradas no câncer de mama, sendo considerado um fator de risco para a doença (AMBROSONE, 2000; KANG, 2002).

## 2.4 ESTRESSE OXIDATIVO

As espécies reativas (ER) desempenham um importante papel fisiológico em diversos aspectos que envolvem a regulação e uma série de sistemas de sinalização celular, porém quando ocorre o rompimento da sinalização redox e as vias de controle denominamos estresse oxidativo (POLI, 2004; JONES, 2006). Este rompimento do estado estacionário em favor da condição pró-oxidante favorece a formação de lesões celulares, tendo como consequência danos às biomoléculas como DNA, lipídios, proteínas e carboidratos que podem estar relacionados com o desenvolvimento de doenças como câncer, aterosclerose, artrite e outras patologias (SIES, 1985; BERGER, 2005; VALKO et al, 2007).

Dentre as substâncias que compõem as ER incluem-se os radicais livres (RL), denominado qualquer átomo ou molécula com existência independente possuindo um ou mais elétrons desemparelhados em seus orbitais externos. Este desemparelhamento de elétrons pode conferir uma reatividade alta aos átomos e moléculas, possibilitando reações com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa e causando, com isso, reações de óxido redução (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

As ER podem ser derivadas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN). Elas são moléculas altamente instáveis com uma meia-vida curta

e muito reativas quimicamente. Em condições patológicas, essas ER são produzidas (BARREIROS et al, 2006). As EROs são formadas em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico, onde o oxigênio molecular consumido pelas células recebe quatro elétrons sendo reduzido à água ( $H_2O$ ). Durante este processo, quando a redução é univalente, são formados os intermediários reativos como: superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroperoxil ( $HO_2^{\bullet}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), e hidroxil ( $\bullet OH$ ) (VALKO et al, 2006).

O  $O_2$ , ao receber o primeiro elétron, forma o  $O_2^{\bullet-}$ , que é considerado um radical pouco reativo, entretanto pode estar associado a danos biológicos como a destruição de centros metálicos de proteínas, oxidação de cadeias laterais de aminoácidos e a formação de outras espécies oxidativas como o  $\bullet OH$  e peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; WINTERBOURN e KETTLE, 2003). A forma protonada do radical  $O_2^{\bullet-}$  é representada pelo  $HO_2^{\bullet}$  que pode ser considerado mais reativo em função da sua maior facilidade em iniciar a destruição de membranas biológicas (VALKO et al, 2006).

O  $O_2^{\bullet-}$  ao receber mais um elétron, forma o  $H_2O_2$ , que não é um RL, mas é reconhecido por ser um metabólito do  $O_2$  extremamente deletério. Possui uma vida longa, é capaz de atravessar camadas lipídicas podendo reagir com membranas eritrocitárias e com proteínas ligadas ao ferro (Fe), tornando-se extremamente tóxico para as células (FERREIRA e MATSUBARA, 1997, VALKO et al, 2006).

O  $\bullet OH$  é formado quando o  $H_2O_2$  recebe mais um elétron, possui alta reatividade, capaz de reagir com todas as biomoléculas e é considerado extremamente deletério ao organismo (YU, 1994; HALLIWELL, 2000). Além disso, o  $\bullet OH$  está associado a danos no DNA, RNA, proteínas, lipídios e membranas celulares do núcleo e da mitocôndria (VALKO et al, 2007).

Outra ER é o oxigênio *singlet* ( $^1\Delta g$ ), a forma mais reativa do oxigênio no organismo humano, não possui elétrons desemparelhados no orbital externo e representa a forma mais excitada do oxigênio molecular. Seus alvos preferenciais para as reações são ácidos graxos, proteínas e DNA (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990; DIPLOCK et al, 1998; THOMAS, 2003).

Destacam-se dentre as ERN o óxido nítrico ( $NO\bullet$ ), um gás inorgânico, eletricamente neutro com um elétron desemparelhado em sua última camada. Esse radical é muito reativo, pois pode interagir com o  $O_2^{\bullet-}$ , resultando como produto peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), onde em pH fisiológico este ânion é protonado, formando, assim, o ácido peroxinitroso ( $ONOOH$ ), que rapidamente se dissocia em dois potentes

radicais livres:  $\text{OH}^\bullet$  e o dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2^\bullet$ ). Uma produção exacerbada de ERNs pode levar ao estresse nitrosativo, desencadeando reações de nitrosilação que podem alterar a estrutura ou inibir a função normal de proteínas (BECKMAN, 1996; FREIDOVICH, 1999; VALKO et al, 2007).

Além da geração fisiológica e contínua do organismo de ER, elas também podem ser geradas por meio de fontes exógenas tais como: medicamentos, dieta, tabaco, poluentes ambientais e até mesmo pela radiação gama e ultravioleta (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

A membrana celular é o componente celular mais susceptível à ação deletéria de ER, em função da lipoperoxidação (LPO), que acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade, causando como consequência, perda de seletividade nas trocas iônicas. A membrana celular contém grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, tornando-os alvos para o ataque de RL. As reações de LPO envolvem a participação do  $\bullet\text{OH}$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{Fe}^{+2}$  que quando exacerbada é a maior fonte de produtos citotóxicos, como os aldeídos, produzidos pela decomposição de  $\text{HO}_2^\bullet$ , os quais podem desempenhar atividades mutagênicas (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; SEIFRIED et al, 2007). Para avaliação da peroxidação lipídica, investigando o estresse oxidativo *in vivo* e *in vitro*, destacam-se o malondialdeído (MDA), determinado pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (do inglês - *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) (ESTERBAUER e CHEESEMAN, 1990); os hidroperóxidos lipídicos, quantificados através da oxidação do ferro com alaranjado de xilenol (FOX – do inglês - *Fe+3 xylenol orange*) (JIANG, HUNT e WOLFF, 1992); e os dienos conjugados, pentano, etano e os F2-isoprostanos (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Alterações importantes podem ocorrer nas moléculas proteicas por meio da ação danosa das ER, desencadeando processos de oxidação dos aminoácidos e alterando a capacidade funcional das proteínas (LEVINE et al, 1990). Como marcadores propostos para análise da oxidação proteica, temos os grupos tióis proteicos e os grupos carbonilas plasmáticos (FIRUZZ et al, 2006).

Além disso, sabe-se que ER podem danificar o DNA, gerando mutações decorrentes da divisão celular não reparada. Caso ocorram alterações em genes críticos, como oncogênese e genes supressores tumorais podem resultar em uma iniciação ou até mesmo progressão de tumores (MEYDANI et al, 1986; VALKO et al, 2006). Dentre os produtos mais abundantes resultantes dessa oxidação e mais utilizados como marcadores do dano oxidativo ao DNA, citam-se 8-

hidroxideoxiguanosina, 5- OH-citosina, 8-OH-adenina e 8-OH-guanina (HALLIWELL, 2000).

Em contrapartida, o organismo apresenta mecanismos de defesa enzimáticos e não-enzimáticos denominados antioxidantes, que são responsáveis por limitar os radicais intracelulares e impedir a indução de danos causada pela produção contínua e excessiva de ER durante os processos metabólicos (SIES, 1993; VALKO et al, 2006). Os antioxidantes enzimáticos são produzidos pelo próprio organismo, dentre os principais a enzima superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase (GPx) e a catalase (CAT) (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; VALKO et al, 2006).

Uma das principais enzimas antioxidantes é a SOD. Ela está presente no organismo sob duas formas distintas: cobre/zinco-dependente (Cu/Zn-SOD) na qual sua atividade não é afetada pelo estresse, e ainda a forma de manganês-dependente (Mn-SOD) onde sua atividade aumenta com o EO. Ambas as formas de SOD catalisam a dismutação do radical  $O_2^{\cdot-}$  em  $O_2$  e  $H_2O_2$  (HALLIWELL, 1996a; DIPLOCK et al, 1998; VALKO et al, 2006).

A GPx é outro importante antioxidante de defesa que pode ser apresentada na forma dependente e independente de selênio. Ela é capaz de reagir com o  $H_2O_2$  sendo a principal fonte de proteção contra o EO (HALLIWELL, 1996a; FERREIRA e MATSUBARA, 1997; VALKO et al 2006).

A CAT é capaz de converter  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ . Ela controla os processos de oxidação em tecidos quando ocorre um aumento na concentração do  $H_2O_2$  celular e está presente em quase todos os organismos aeróbios e ainda em algumas células anaeróbias (HALLIWELL, 1996a; DIPLOCK et al, 1998; VALKO et al, 2006).

Os antioxidantes não enzimáticos podem ser absorvidos por meio de fontes dietéticas, tais como vitaminas A, C e E, minerais como: zinco, manganês e selênio, carotenoides e flavonoides e outros (SIES, 1993; HALLIWELL, 1996b; BIANCHI e ANTUNES, 1999; VALKO et al, 2006).

A avaliação do sistema de defesa pode ser realizada por meio da determinação da atividade enzimática antioxidante (atividade enzimática da catalase, da superóxido dismutase e da glutathiona peroxidase), ou através da avaliação das concentrações de micronutrientes antioxidantes no sangue (como vitamina E,  $\beta$ -caroteno e vitamina C) (FANG et al, 2002). Além da avaliação dos antioxidantes separadamente, a avaliação da capacidade antioxidante total dos fluidos biológicos, como a técnica FRAP (do inglês - *ferric reducing antioxidant potential*), em que a

capacidade antioxidante do plasma é verificada através do potencial antioxidante redutor férrico, também é utilizada. (BENZIE e STRAIN, 1996).

### **2.4.1 Estresse Oxidativo no Tratamento do Câncer de Mama**

Atualmente, questiona-se a eficácia do tratamento para o câncer quando administrados antioxidantes concomitantemente, tendo em vista que se deve levar em consideração as propriedades individuais dos antioxidantes e os mecanismos de ação do tratamento com antineoplásicos (CONKLIN, 2004<sup>a</sup>).

Na radioterapia, as células são danificadas por ionização direta do DNA e outros alvos celulares, e também pelo efeito indireto através das ER. A exposição à radiação produz RL derivados de oxigênio no tecido, que incluem  $\bullet\text{OH}$  e  $\text{O}_2\bullet^-$ . Além disso, radicais destrutivos são formados através de diferentes interações químicas. Cerca de 2/3 dos raios-X e raios-gama causam dano por ação indireta, partículas pesadas como nêutrons atuam principalmente por ionização direta. Embora eficaz na destruição das células tumorais, as ER produzidas pela radioterapia ameaçam a integridade e a sobrevivência das células normais circundantes. Atualmente, os dados disponíveis são escassos sobre a radiação e, portanto, discute-se a suplementação com antioxidantes durante o tratamento a fim de proteger as células normais das ERs; em contrapartida, teme-se que eles também possam fornecer os mesmos benefícios às células malignas, comprometendo assim a eficácia do tratamento (BOREK, 2004).

Além disso, diversos quimioterápicos são capazes de produzir ER em excesso durante o tratamento para o câncer, desenvolvendo uma condição de EO em sistemas biológicos. Esse EO interfere em muitas funções celulares importantes em que os agentes antineoplásicos exercem sua toxicidade, tais como progressão do ciclo celular e apoptose induzida pelos fármacos, podendo comprometer a habilidade dos agentes antineoplásicos na destruição de células cancerígenas (LEE e SHACTER, 1999; SHACTER et al, 2000; CONKLIN, 2004<sup>b</sup>).

O aumento do EO em pacientes que recebem agentes antineoplásicos durante a quimioterapia é evidente pela elevação de produtos da peroxidação lipídica e redução da capacidade antioxidante do plasma, a diminuição das concentrações de vitaminas E, C e betacaroteno, como também a redução da concentração de glutatona

tecidual (FABER et al, 1995; FAURE et al, 1996; WEIJL, 1998; KASAPOVIC et al, 2008).

Os agentes antineoplásicos com alta geração de ERO incluem as antraciclina, agentes alquilantes, e inibidores da topoisomerase. As antraciclina são responsáveis pelas mais altas concentrações de EO, devido à sua habilidade em desviar elétrons do sistema de transporte da mitocôndria cardíaca, resultando na formação de  $O_2^{\cdot-}$ , além de gerar outras ER (GILLE e NOHL, 1997; CONKLIN, 2004<sup>a</sup>). As outras classes de antineoplásicos, apesar de gerar concentrações mais baixas, também produzem RL que induzem as células cancerígenas a apoptose (KAUFMANN e EARNSHAW, 2000; CONKLIN, 2004<sup>b</sup>).

No entanto, pesquisas sobre os efeitos da quimioterapia sobre os antioxidantes, principalmente em pacientes com câncer de mama, são deficientes, sendo que o tratamento não antracíclico com ciclofosfamida, metotrexato e 5-fluorouracil (CMF) induziu a peroxidação lipídica pela inativação da atividade enzimática antioxidante eritrocitária (SUBRAMANIAM et al, 1994). Porém, a atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) no sangue total e os níveis de selênio sanguíneos e plasmáticos de pacientes com câncer de mama não foram significativamente alterados durante a quimioterapia com CMF (VERNIE et al, 1983).

Em seu estudo, Kasapović e colaboradores (2010) apresentaram o primeiro relato de aumento do EO e diminuição da atividade das enzimas antioxidantes e níveis de GSH, bem como a diminuição da expressão no citosol da enzima SOD em resposta ao protocolo antracíclico 5-fluorouracil, doxorubicina e ciclofosfamida (FAC), administrados em pacientes com câncer de mama.

## CAPÍTULO 3 MÉTODOS

### 3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um ensaio clínico não randomizado do tipo antes e depois, no qual mulheres com câncer de mama foram avaliadas antes e após o tratamento antineoplásico. Com a finalidade de responder aos propósitos da pesquisa, foram coletados dados clínicos, antropométricos e material biológico sanguíneo para determinação do estresse oxidativo em duas etapas: antes do tratamento - AT (período pré-cirúrgico) e depois do tratamento - DT (período considerado após o término dos principais tratamentos adjuvantes para o câncer de mama como quimioterapia e radioterapia).

Em ambas as etapas, os instrumentos para coleta de dados (ANEXO A) foram idênticos e coletados de maneira semelhante por nutricionistas mestrandas e estudantes de graduação em nutrição capacitados, com a finalidade de comparar os dados sobre possíveis diferenças entre AT e DT das mulheres. Depois do tratamento foi aplicado um segundo protocolo (ANEXO B) com informações sobre os períodos, tipos e duração dos tratamentos quimioterápicos e radioterápicos utilizados; além disso, as informações foram complementadas através de um terceiro protocolo (APÊNDICE A) com os dados de prontuário das pacientes nas respectivas unidades de tratamento. Pacientes tratadas em Florianópolis, no Centro de Pesquisas Oncológicas, CEPON e Hospital de Caridade, pacientes tratadas em Joaçaba, no Hospital Universitário Santa Terezinha, em Criciúma, no Hospital São José, em Blumenau, no Hospital Santa Isabel e em Joinville, no Hospital Municipal São José.

### 3.2 POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO

A população da pesquisa foi composta por mulheres residentes em Florianópolis e outras regiões do estado, usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS), da Maternidade Carmela Dutra (MCD), localizada no município de Florianópolis, a qual serve como referência em atendimento ginecológico no estado de Santa Catarina.

Participaram da etapa AT todas as mulheres internadas para tratamento cirúrgico do câncer de mama que preencheram os critérios de seleção. Na etapa DT, as mesmas pacientes foram contatadas por telefone para monitoramento do término do tratamento antineoplásico, e posterior agendamento da consulta de reavaliação clínica com a equipe de mastologia da MCD onde foi realizada nova coleta de dados clínicos e bioquímicos no ambulatório da mesma instituição.

### 3.3 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DA AMOSTRA

A amostra do presente estudo foi por conveniência, no qual participaram as mulheres que foram submetidas à cirurgia de câncer de mama de outubro de 2006 a maio de 2009. Na etapa DT, somente as pacientes que concluíram o tratamento adjuvante até maio de 2010 foram incluídas.

Foram excluídas, na etapa AT, as mulheres com história prévia de câncer ou que foram submetidas a qualquer procedimento cirúrgico em um tempo igual ou inferior a um ano; confirmação de tumores benignos sem suspeita de malignidade; gestantes e nutrízes; pacientes positivas para o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV – do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*) e as que realizaram tratamento antineoplásico neo-adjuvante. Já na etapa DT, foram excluídas as mulheres não localizadas, as que tiveram recidiva da doença, as que, por algum motivo, recusaram o convite ou ainda não compareceram após duas consultas de retorno marcadas. Sendo assim, participaram da amostra somente as pacientes que compareceram a ambas as etapas da pesquisa (AT e DT).

Com base nos critérios expostos acima, 105 mulheres participaram da etapa AT. Na etapa DT, 32 pacientes foram excluídas pelos seguintes motivos: 13 pacientes não haviam acabado o tratamento antineoplásico adjuvante, 12 não foram localizadas, 5 não compareceram nas consultas marcadas de retorno, uma teve recidiva e uma paciente foi a óbito. Com isso 73 mulheres participaram de ambas as etapas da pesquisa (AT e DT), porém houve uma perda amostral de 7 pacientes, sendo 5 por dados faltantes nas instituições de tratamento e 2 pacientes por limitada quantidade de material sanguíneo na etapa DT. Foi totalizada uma amostra final do estudo composta por 66 mulheres.

### 3.4 INSERÇÃO DO ESTUDO

Este projeto está interligado ao projeto maior intitulado “Influência do consumo alimentar no estresse oxidativo de mulheres com câncer de mama” desenvolvido pelo Grupo de Estudo em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO), coordenado pela professora Dra. Patrícia Faria Di Pietro, contemplado pelo Edital Universal do CNPq, MCT/CNPq 14/2008. O GENEO tem realizado pesquisas com a temática do câncer de mama e estresse oxidativo, além da sua relação com o consumo alimentar e antioxidantes, em estudos prévios em Joinville (MEDEIROS, 2004; DI PIETRO et al; 2007) e Florianópolis (VIEIRA et al; 2011 *in press*; ROCKENBACH et al; 2011 *in press*)

### 3.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Foram consideradas, para análise variáveis independentes à exposição à quimioterapia (expostos ou não expostos) e os tipos de protocolos administrados: AC(T) (Doxorrubicina + Ciclofosfamida (Paclitaxel), FAC (5-Fluorouracil + Doxorrubicina + Ciclofosfamida) ou CMF (Ciclofosfamida + Metotrexato + 5-Fluorouracil). Como variáveis dependentes, foi considerado o peso corporal (Kg), assim como os marcadores de estresse oxidativo GSH ( $\mu\text{mol/L}$ ), FRAP ( $\mu\text{mol/L}$ ), TBARS ( $\mu\text{mol/L}$ ), FOX ( $\mu\text{mol/L}$ ) e PC ( $\mu\text{mol/L}$ ).

### 3.6 COLETA DE DADOS

#### **3.6.1 Avaliação sociodemográfica, clínica e antropométrica**

Nas etapas AT e DT, foi aplicado um questionário sociodemográfico, clínico e antropométrico por uma equipe de nutricionistas e estudantes de nutrição devidamente treinados para identificar prováveis alterações após o tratamento. O mesmo contém questões de aspecto pessoal tais como: dados de identificação, história clínica e reprodutiva, questões sociodemográficas e antropométricas

(VIERA, 2008) (ANEXO A), adaptado do estudo de Di Pietro e colaboradores (2007).

Para a aferição de peso e da estatura foi utilizada uma balança mecânica com régua antropométrica da marca Filizola®. Para obtenção destas medidas, a paciente encontrava-se descalça ou com meias finas, vestindo poucas roupas, permanecendo com os pés unidos sobre a plataforma, e o peso igualmente distribuído em ambos os pés, os braços pendentes ao lado do corpo, colocando as superfícies posteriores dos calcânhares, as nádegas e a região occipital em contato com a escala de medida; a cabeça foi posicionada de modo que a linha da visão ficasse perpendicular ao corpo (WHO, 1995), de acordo com plano horizontal de Frankfurt (FRISANCHO, 1984). A paciente foi orientada a inspirar profundamente e manter-se nesta posição, quando a régua móvel foi trazida até o ponto mais alto da cabeça com uma pressão suficiente para comprimir o cabelo (WHO, 1995). As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo de IMC, no qual o peso expresso em kg foi dividido pela estatura em metros ao quadrado ( $m^2$ ). O IMC foi utilizado como indicador do estado nutricional, utilizando-se como parâmetro a classificação da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2000) (Quadro 2).

Classificação	IMC ( $kg/m^2$ )
Baixo Peso	< 18,5
Eutrofia	18,5 - 24,9
Sobrepeso (pré-obesidade)	25 – 29,9
Obesidade Grau I	30 – 34,9
Obesidade Grau II	35 – 39,9
Obesidade Grau III (mórbida)	> 40,0

Quadro 2 - Pontos de corte do Índice de Massa Corporal (WHO, 2000).

### 3.6.2 Avaliação do tratamento antineoplásico

Depois do tratamento foi aplicado um questionário contendo informação sobre o tratamento antineoplásico, utilizado por Rockenbach, 2009 (ANEXO B). Para informações complementares sobre tipos de fármacos administrados, doses, ciclos e duração, os

mesmos foram coletados do prontuário diretamente na unidade de tratamento de cada paciente (APÊNDICE A).

### 3.6.3 Avaliação bioquímica

O estado de EO foi determinado em ambas as etapas a partir da concentração dos marcadores antioxidantes: glutatona reduzida (GSH) e capacidade antioxidante (FRAP – do inglês - *ferric reducing antioxidant potential*), assim como os determinantes bioquímicos de oxidação como: substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS – do inglês - *thiobarbituric reactive substances*), hidroperóxidos lipídicos (FOX – do inglês - *Ferrous oxidation-xynlenol orange*) e proteínas oxidadas (carboniladas).

Foram coletadas amostras sanguíneas (15 mililitros) das mulheres nas etapas AT e DT, através de punção da veia intermédia do antebraço, realizada por uma pessoa treinada da área de enfermagem. As amostras de sangue foram coletadas inicialmente em dois tipos de tubos: tubo com separador de soro (soro gel), para determinação da concentração de FRAP e LOOH e tubos contendo solução anticoagulante (EDTA = ácido etilenodiaminotetracético), para determinação das demais análises de interesse. Todos os tubos foram devidamente identificados com as iniciais e os códigos de cada paciente. Em seguida, as amostras foram transportadas em recipiente térmico com gelo até o Laboratório de Pesquisa Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose da Universidade Federal de Santa Catarina, onde se realizou o preparo das amostras para posterior análise. Foi preparado extrato ácido a partir do sangue total coletado no tubo com EDTA para posterior análise de GSH. Em seguida, para obtenção do soro e do plasma os tubos foram centrifugados a 1000 x g por 10 min. Para preparo do extrato ácido, 300 µL de sangue e 300 µL de água deionizada gelada foram transferidos para tubos tipo Ependorf. Posteriormente, foram agitados em agitador tipo vortex e colocados em repouso no gelo por 10 min. Após este período, foram adicionados 150 µL de ácido tricloroacético (TCA) 20%, agitado novamente e centrifugado 12000 x g, a 4° C por 10 min. O sobrenadante límpido foi utilizado nas análises de GSH.

Posteriormente, as análises, alíquotas de soro e plasma foram armazenadas em tubos criogênicos devidamente identificados com os códigos de cada paciente e congelados a – 70° C. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

### 3.6.3.1 Glutathiona reduzida

A GSH foi determinada com as alíquotas de extrato ácido, através do método proposto por Beutler e colaboradores (1963), adicionando 50 µL de ácido 3-ditionitrobenzóico 10 mM (DTNB) em tubos contendo 800 µL de tampão fosfato 0,2 M e 50 µL de extrato ácido, após 3 min. Se obtém a máxima formação do ânion tiolato (TNB) de cor amarela, com absorvância máxima em 412 nanômetros (nm). O branco foi preparado substituindo o extrato ácido por água deionizada. A concentração de GSH foi calculada utilizando a equação da reta com os valores da concentração e da absorvância da curva-padrão preparada com diferentes concentrações de GSH (Sigma-Aldrich, St Louis – EUA) através da fórmula:  $GSH (\mu\text{mol/L}) = \text{Abs}_{\text{amostra}} - a / b$ . O resultado final foi multiplicado pelo fator de diluição (2,5) durante o procedimento de obtenção do extrato ácido. Os valores foram expressos em µmol/L.

### 3.6.3.2 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante sérica foi determinada através do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP – do inglês, *ferric reducing antioxidant potential*) de acordo com a técnica descrita por Benzie e Strain (1996). Neste ensaio, os antioxidantes presentes no soro foram avaliados como redutores do  $\text{Fe}^{+3}$  a  $\text{Fe}^{+2}$ , o qual é quelado pela 2,4,6-tri (2-pyridil)-s-triazina (TPTZ) para formar o complexo  $\text{Fe}^{+2}$ -TPTZ com absorvância máxima em 593 nm. Dez microlitros de plasma foram misturados a 1 mL de reagente ( $\text{FeCl}_3$  1,7 mM) preparado em acetato de sódio 300 mM, pH 3,6 e TPTZ 0,8 mM, preparado em ácido clorídrico (HCl) 40 mM). As amostras foram incubadas por 15 min a 37° C e posteriormente a absorvância foi lida em 593 nm contra o branco da reação.

O Trolox, um análogo hidrossolúvel da vitamina E, foi utilizado como padrão e a capacidade antioxidante foi expressa em equivalentes Trolox em µmol/L.

### 3.6.3.3 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica plasmática foi determinada através da detecção dos derivados dos produtos de oxidação, substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBA), destacando-se o malondialdeído (MDA), de acordo com o método descrito, por Esterbauer e Cheeseman (1990). A técnica se baseia na reação de uma molécula de MDA, com duas moléculas de TBA, resultando na eliminação de duas moléculas de água e a formação de um pigmento rosa. Alíquotas de 250  $\mu\text{L}$  de plasma foram misturadas com 0,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 20% em HCl 0,5 N e com 50  $\mu\text{L}$  de butil hidroxitolueno (BHT) 10 mM. TBA 1% (0,5 mL) adicionou-se e a mistura e foi incubada a 100°C em banho-maria por 1 hora. Após, foi realizado resfriamento em água, com gelo, e em seguida adicionou-se 2,5 mL de butanol. Os tubos foram agitados em agitador tipo vortex por 30 segundos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 1000 x g por 5 minutos. A absorbância do sobrenadante foi determinada em 532 nm, acertando o zero do espectrofotômetro com o branco da reação. Para o branco, a amostra foi substituída por água deionizada. A concentração de TBARS foi calculada pela diferença entre as concentrações e a absorbâncias da curva-padrão, preparada com diferentes concentrações de 1,1,3,3-tetramethoxypropano (TMP). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/L}$ .

### 3.6.3.4 Hidroperóxidos lipídicos

Os hidroperóxidos lipídicos (LOOH) presentes no soro foram determinados pelo método da oxidação do ferro com alaranjado de xilenol (FOX), conforme descrito por Jiang e colaboradores (1992). O princípio do método se baseia na rápida oxidação do  $\text{Fe}^{+2}$  a  $\text{Fe}^{+3}$  em meio ácido, mediada pelos peróxidos lipídicos. O  $\text{Fe}^{+3}$  na presença de alaranjado de xilenol forma um complexo ( $\text{Fe}^{+3}$ -alaranjado de xilenol) que é quantificado espectrofotometricamente em 560 nm. Foram separadas alíquotas de 90  $\mu\text{L}$  de soro e misturadas com 10  $\mu\text{L}$  de trifenílfosfina (TPP) 20 mM ou com 10  $\mu\text{L}$  de metanol (branco da amostra). Os tubos foram agitados em agitador tipo vortex e mantidos em temperatura ambiente, no escuro, por 30 min com agitações subsequentes a cada 10 min. Após este período, 1,0 mL de reagente de

trabalho, contendo alaranjado de xilenol 1 mM e sulfato de ferro e amônio 2,5 mM preparados em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  250 mM e BHT 4,4 mM preparado em metanol, foi adicionado aos tubos, os quais foram agitados em vortex e novamente mantidos em temperatura ambiente, no escuro, por 60 min, com agitações a cada 10 min. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 16000 x g por 10 min e as absorbâncias foram lidas em 560 nm contra um branco de água. A concentração de LOOH foi calculada pela diferença entre as absorbâncias das amostras incubadas com metanol (branco) e com TPP, e utilizando-se o  $\text{H}_2\text{O}_2$  como padrão. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/L}$ .

### 3.6.3.5 Proteínas oxidadas (carbonilada)

O conteúdo de proteínas modificadas oxidativamente foi quantificado através do método proposto por Levine e colaboradores (1990). O método consiste na reação da 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) com as carbonilas das proteínas formando hidrazonas que podem ser detectadas espectrofotometricamente. Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  de plasma foram misturadas com 600  $\mu\text{L}$  de DNPH 10 mM e 600  $\mu\text{L}$  de ácido clorídrico (HCl) 0,2 N (branco da amostra) e os tubos mantidos em temperatura ambiente no escuro por 60 min, com agitações regulares a cada 10 min. Em seguida, 600  $\mu\text{L}$  de TCA 20% foram adicionados aos tubos, os quais novamente foram agitados em vortex, mantidos em temperatura ambiente no escuro por 10 min e centrifugados a 11000 x g por 5 min a 4° C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado três vezes com 800  $\mu\text{L}$  de etanol-acetato de etila (1:1), com incubações intermediárias de 10 min a temperatura ambiente. Após este período, os tubos foram centrifugados a 15000 x g por 5 min a 4°C e a absorbância do sobrenadante foi lida em 360 nm, contra a solução de guanidina 6,0 M. Para a determinação da quantidade de proteínas totais, o sobrenadante do tubo branco foi lido em 280 nm, utilizando albumina sérica bovina como padrão. A concentração de proteínas carboniladas foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de  $22.000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/mg}$ .

### 3.7 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto está de acordo com os princípios éticos e já foi aprovado pelo Comitê de Ética da Maternidade Carmela Dutra na data de 06/05/2008 (ANEXO C), Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina em 13/05/2008, protocolo número 099/08 (ANEXO D) e ainda o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Oncológicas CEPON em 06/11/2009, protocolo número 015/2009 (ANEXO E).

As pacientes foram convidadas a participar do estudo sem qualquer constrangimento e em ambas as etapas da pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) segundo resolução do Conselho Nacional de Saúde, nº 196, de 10 de outubro de 1996 (CNS, 1996), mediante aceitação voluntária, em seguida foi realizado a entrevista bem como a coleta de dados (ANEXO F).



## CAPÍTULO 4. TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As variáveis categóricas foram expressas em frequências e porcentagem. A distribuição das variáveis contínuas foi analisada utilizando o teste de *Shapiro-Wilk* e a estatística descritiva foi apresentada na forma de média  $\pm$  desvio padrão (DP) para os dados paramétricos e em forma de mediana mínimo e máximo [mín-max] para os dados não paramétricos. Para verificar a semelhança da idade, escolaridade, IMC e estadiamento do tumor entre os grupos (exposto e não exposto), foi utilizado o teste *Qui Quadrado* para as variáveis categóricas e o teste *t* de *Student* para as variáveis contínuas.

Para comparar a diferença em cada grupo (exposto, não exposto, exposto ao tratamento AC(T), FAC ou CMF nos dois momentos antes do tratamento (AT) e depois do tratamento (DT), foi utilizado o teste *t* de *Student* pareado e para os dados não paramétricos, o teste de *Wilcoxon*.

Para a comparação das variáveis entre expostos e não expostos a quimioterapia, foi utilizado teste *t* de *Student* para amostras independentes e *Kruskal-Wallis* para os dados não paramétricos.

A variação entre os tempos de coleta de dados AT e DT foi dividida em tercil e analisada através da análise de variância (ANOVA) com cada variável estudada. Analisou-se também em tercil e pelo mesmo teste, o aumento de peso corporal e a idade com os marcadores de estresse oxidativo, (dados não demonstrados em tabelas).

Foi considerado um nível de significância de  $p < 0,05$  e o software utilizado foi o Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versão 17.0 para Windows (SPSS. Inc. 2008).



## CAPÍTULO 5. ARTIGO ORIGINAL

### Título

Aumento do peso corporal e estresse oxidativo após diferentes terapias antineoplásicas adjuvante para o câncer de mama

**Resumo:** Dentre os efeitos dos diferentes protocolos quimioterápicos para o câncer de mama destaca-se o ganho de peso, sendo poucos os estudos que relacionam os protocolos ao aumento do estresse oxidativo (EO). Este estudo teve como objetivo avaliar as alterações de peso corporal e dos marcadores de estresse oxidativo antes e após diferentes protocolos quimioterápicos para o câncer de mama.

**Material e método:** Participaram deste ensaio clínico não randomizado, 66 mulheres recém diagnosticadas cirurgicamente para o câncer de mama com estadiamento clínico entre I e III e idade média de  $53 \pm 11$  anos. Quarenta e quatro mulheres foram expostas à quimioterapia, sendo 2 protocolos antracíclicos - AC(T) (n=23) e FAC (n=13) e o não antracíclico - CMF (n= 8) e outras 22 mulheres realizaram outros tipos de tratamento. As avaliações foram realizadas antes do procedimento cirúrgico e depois do término do tratamento adjuvante. Em ambos os momentos foram coletados dados sociodemográficos, clínicos, antropométricos e amostra sanguínea para determinação bioquímica dos parâmetros de estresse oxidativo, sendo eles: glutatona reduzida (GSH), potencial antioxidante redutor férrico (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Potential*), substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS - *Thiobarbituric acid reactive substances*), hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e proteínas carboniladas (PC). Outros dados referentes ao tipo de protocolo quimioterápico administrado foram obtidos através de busca em prontuário nas respectivas unidades de tratamento.

**Resultados:** Após o tratamento adjuvante para o câncer de mama, as mulheres expostas à quimioterapia aumentaram significativamente o peso corporal ( $p < 0,001$ ), TBARS ( $p < 0,05$ ), LOOH ( $p < 0,05$ ) e PC ( $p < 0,05$ ), apresentando um estado de estresse oxidativo, entretanto nenhuma diferença significativa foi observada no grupo de mulheres não expostas a este tratamento. Todas as pacientes expostas aos diferentes protocolos quimioterápicos (AC(T), FAC e CMF) aumentaram o peso corporal após o tratamento ( $p < 0,05$ ). O aumento da oxidação lipídica foi observado nas mulheres expostas aos protocolos antracíclicos: AC(T) ( $p < 0,001$ ) e FAC ( $p < 0,005$ ) através do LOOH e do

TBARS respectivamente, o mesmo não foi observado com protocolo não antracíclico CMF. Além disso, as pacientes tratadas com FAC e o CMF aumentaram a oxidação protéica ( $p < 0,05$ ).

**Conclusão:** Observamos que após o tratamento antineoplásico, as mulheres expostas à quimioterapia aumentaram o peso corporal e o estresse oxidativo. Todos os protocolos quimioterápicos que as pacientes foram submetidas contribuíram no aumento do peso corporal. O tratamento com os protocolos antracíclicos AC(T) e FAC também resultaram em aumento da oxidação lipídica e os tratamentos com FAC e CMF interferiram no aumento da oxidação protéica.

**Palavras chave:** Câncer de mama, quimioterapia; peso corporal; estresse oxidativo;

## Introdução

O câncer de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres relacionada à primeira causa de morte por câncer no sexo feminino (WCRF/AICR, 2007). Após o diagnóstico do câncer de mama, percebe-se um ganho de peso, contudo as razões para esse aumento de peso, que pode ocorrer durante e após a quimioterapia adjuvante, ainda não foram bem estabelecidas (HARVIE et al, 2004; DEMARK-WAHNEFRIED, 2008). Entretanto, a quimioterapia foi encontrada como um forte preditor clínico para o ganho de peso em mulheres na fase inicial do câncer de mama, sendo independente da idade, do consumo energético, bem como do estadió clínico e Índice de Massa Corporal (IMC) no momento do diagnóstico da doença (GOODWIN et al, 1999). Dentre outros fatores de risco associados ao ganho de peso já relatado, estão incluídos os compostos quimioterápicos, bem como as doses e duração do tratamento que diferem entre as pacientes (DEMARK-WAHNEFRIED et al, 1993; DEMARK-WAHNEFRIED et al, 1997).

Além de alterações no peso corporal, alguns estudos apontam que os quimioterápicos também são capazes de produzir espécies reativas (ER) durante o tratamento para o câncer. O aumento das ER propicia o desenvolvimento do estresse oxidativo (EO) em sistemas biológicos nos quais os antioxidantes podem ser incapazes de evitar os efeitos adversos provocados pelo excesso das ER em processos críticos celulares, podendo interferir na eficácia do tratamento antineoplásico (LEE e SHACTER, 1999 ; SHACTER et al, 2000; CONKLIN, 2004b).

Os agentes antineoplásicos com alta geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) incluem as antraciclinas, agentes alquilantes, e inibidores da topoisomerase. As antraciclinas, protocolos que incluem adriamicina, são responsáveis pelas mais altas concentrações de EO, devido à sua habilidade em desviar elétrons do sistema de transporte da mitocôndria cardíaca, resultando na formação de  $O_2^{\bullet-}$ , além de gerar outras ER (GILLE e NOHL, 1997; CONKLIN, 2004a). As outras classes de antineoplásicos, apesar de gerar concentrações mais baixas, também produzem ER que induzem as células cancerígenas a apoptose (KAUFMANN e EARNSHAW, 2000; CONKLIN, 2004b).

O objetivo deste estudo foi avaliar o peso corporal e o estresse oxidativo das mulheres com câncer de mama expostas e não expostas aos diferentes protocolos quimioterápicos antracíclicos e não antracíclicos antes do tratamento (AT) e depois do tratamento (DT) antineoplásico adjuvante.

## **Método**

### *Sujeitos e desenho do estudo*

Este estudo caracteriza-se como um ensaio clínico não randomizado do tipo antes e depois. As pacientes foram selecionadas por conveniência no momento da internação pré-cirúrgica, entre outubro de 2006 a maio de 2010 na Maternidade Carmela Dutra (MCD), em Florianópolis, uma unidade do Sistema Único de Saúde (SUS) de referência em ginecologia e no Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON) no estado de Santa Catarina, Brasil.

O estudo foi caracterizado em duas etapas, antes do tratamento (AT) e depois do tratamento (DT). Foram excluídas, na etapa AT, as mulheres com história prévia de câncer ou que foram submetidas a qualquer procedimento cirúrgico em tempo igual ou inferior a um ano; confirmação de tumores benignos sem suspeita de malignidade; gestantes e nutrízes; pacientes positivas para o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV – do inglês, Human Immunodeficiency Virus) e as que realizaram tratamento antineoplásico neo-adjuvante. Já na etapa DT, foram excluídas as mulheres não localizadas, as que tiveram recidiva da doença, as que por algum motivo, recusaram o convite de participar ou ainda não compareceram após duas consultas de retorno marcadas. A amostra foi composta pelas pacientes que compareceram nas duas etapas da pesquisa (AT e DT),

sendo a média de tempo decorrente entre as duas etapas  $12,9 \pm 3,36$  meses.

Cento e cinco mulheres participaram da etapa AT. Na etapa DT, 32 pacientes foram excluídas pelos seguintes motivos: 13 pacientes não haviam acabado o tratamento antineoplásico adjuvante, 12 não foram localizadas, 5 não compareceram nas consultas marcadas de retorno, uma teve recidiva e uma paciente foi a óbito. Com isso, 73 mulheres participaram de ambas as etapas da pesquisa (AT e DT), porém 5 pacientes foram excluídas por dados faltantes nas instituições de tratamento e 2 pacientes por limitada quantidade de material sanguíneo na etapa DT, totalizando a amostra final do estudo composta por 66 mulheres.

### *Aspectos Éticos*

O estudo inclui todas as mulheres que aceitaram participar sem qualquer constrangimento e, nas duas etapas, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Maternidade Carmela Dutra e Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob protocolo 099/08 e pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Oncológicas CEPON, protocolo número 015/2009.

### *Dados pessoais, antropométricos e clínicos*

A coleta de dados foi realizada por uma equipe de nutricionistas e estudantes de nutrição devidamente treinados. Através de questionário adaptado do estudo Di Pietro et al (2007), foram coletadas as informações pessoais e história clínica das pacientes com câncer de mama.

Os dados de peso (kg) e estatura (m) foram obtidos em balança antropométrica mecânica da marca Filizola® (São Paulo, Brasil), com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g. Esses dados foram utilizados para posterior cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), classificado de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2000). A aferição do peso corporal e da estatura foi realizada conforme procedimento padrão (Frisancho, 1984; WHO, 1995).

Os dados clínicos de estadiamento do tumor foram pesquisados nos exames anatomopatológicos das pacientes e a classificação foi de acordo com a União Internacional Contra o Câncer (UICC, 2002). As informações de linfonodos comprometidos, procedimento cirúrgico realizado e receptor hormonal foram obtidos através de dados do prontuário.

Posteriormente à etapa DT, realizou-se ainda uma busca nos prontuários das pacientes em suas respectivas unidades de tratamento, com a finalidade de identificar o tipo de protocolo quimioterápico utilizado, dose administrada e duração total do tratamento assim como outras terapias associadas.

As 66 pacientes foram divididas em dois grupos, não expostas (n=22) e as expostas à quimioterapia (n=44). Das pacientes não expostas, 17 mulheres realizaram radioterapia associada ou não à hormonioterapia, e o grupo de pacientes expostas à quimioterapia, 29 receberam radioterapia complementar associada ou não à hormonioterapia. Em relação aos principais tipos de protocolos quimioterápicos utilizados foram: 36 (82%) mulheres a base de antraciclina, das quais 23 (52%) receberam AC(T) (Doxorrubicina 600 mg/m<sup>2</sup>, Ciclofosfamida 60 mg/m<sup>2</sup> acompanhados ou não de Paclitaxel 80 mg/m<sup>2</sup>) e 13 (30%) receberam FAC (5-Fluorouracil 500 mg/m<sup>2</sup>, Doxorrubicina 85 mg/m<sup>2</sup>, Ciclofosfamida 500 mg/m<sup>2</sup>). Outras 8 mulheres (18%) receberam tratamento a base de não antracíclico CMF (Ciclofosfamida 600 mg/m<sup>2</sup>, Metotrexato 40 mg/m<sup>2</sup> e 5-Fluorouracil 500 mg/m<sup>2</sup>). Os tratamentos foram administrados em 4 ou 6 ciclos com intervalos de 21 dias entre cada administração endovenosa.

### *Análises Bioquímicas*

Para a avaliação dos marcadores de estresse oxidativo, foram coletadas nas duas etapas amostras sanguíneas (15 ml) das participantes em jejum de 12 horas, através de punção da veia intermédica do braço em tubos com e sem EDTA para obter plasma e soro respectivamente. Em seguida, as amostras foram transportadas ao Laboratório de Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e centrifugadas (1000 xg/10 min). Uma alíquota de sangue total foi utilizada para a medição imediata da glutatona sanguínea reduzida (GSH). As avaliações da capacidade antioxidante do soro, os níveis de hidroperóxidos lipídicos séricos e as substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico no plasma foram realizadas imediatamente após a coleta da amostra, enquanto os níveis plasmáticos de carbonilas foram determinados em outro momento, sendo que as amostras foram armazenadas a -70 ° C por no máximo 30 dias. Os métodos foram realizados conforme descrito no estudo anterior desenvolvido em nosso laboratório (VIEIRA et al (2011)).

#### *Avaliação da Glutathiona Reduzida*

A concentração da glutathiona reduzida (GSH) foi determinada através de alíquota de sangue preparada em extrato ácido, pelo método proposto por Beutler, Duron e Kelly (1963), sendo que os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/L}$ .

#### *Avaliação da Capacidade Antioxidante Redutor Férrico*

A capacidade antioxidante foi determinada pelo potencial antioxidante redutor férrico (FRAP), de acordo com a técnica descrita por Benzie e Strain (1996), onde o trolox foi utilizado como padrão e a capacidade antioxidante foi expressa em equivalentes trolox em  $\mu\text{mol/L}$ .

#### *Avaliação das Substâncias que Reagem com o Ácido Tiobarbitúrico*

A peroxidação lipídica plasmática foi determinada através da detecção dos produtos derivados da oxidação pelas substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), destacando-se o malondialdeído (MDA) com base no método descrito por Esterbauer e Cheeseman (1990). O TBARS foi expresso em  $\mu\text{mol/L}$ .

#### *Avaliação dos Hidroperóxidos Lipídicos*

Os hidroperóxidos lipídicos (LOOH) foram quantificados pelo método de oxidação do ferro com alaranjado de xilenol, conforme proposto por Jiang, Hunt e Wolff (1992). A concentração de LOOH foi calculada pela diferença entre as absorbâncias das amostras incubadas com metanol (branco) e com trifetilfosfina (TEP), utilizando-se o  $\text{H}_2\text{O}_2$  como padrão e os resultados expressos em  $\mu\text{mol/L}$ .

#### *Avaliação das Proteínas Carboniladas*

A determinação das proteínas carboniladas (PC) no plasma foi realizada de acordo com o protocolo proposto por Levine et al. (1990). A concentração de PC foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar de  $22.000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/mg}$ .

## Análise Estatística

As variáveis categóricas foram expressas em frequências e porcentagem. A distribuição das variáveis contínuas foi analisada utilizando o teste de *Shapiro-Wilk* e a estatística descritiva foi apresentada na forma de média  $\pm$  desvio padrão (DP) ou mediana [mínimo e máximo]. Para verificar a semelhança da idade, escolaridade, IMC e estadiamento do tumor entre os grupos (exposto e não exposto), foi utilizado o teste *Qui Quadrado* para as variáveis categóricas e o teste *t* de *Student* para as variáveis contínuas.

Para comparar a diferença em cada grupo (exposto, não exposto, exposto ao tratamento AC(T), FAC ou CMF) antes do tratamento (AT) e depois do tratamento (DT), foi utilizado o teste *t* de *Student* pareado e para os dados não paramétricos, o teste de *Wilcoxon*.

Para a comparação das variáveis entre expostos e não expostos a quimioterapia, foi utilizado teste *t* de *Student* para amostras independentes e *Kruskal-Wallis* para os dados não paramétricos.

A variação entre os tempos de coleta de dados AT e DT foi dividida em tercil e analisada através da análise de variância (*ANOVA*) com cada variável estudada. Analisou-se também em tercil e pelo mesmo teste, o aumento de peso corporal e a idade com os marcadores de estresse oxidativo, (dados não demonstrados em tabelas).

Foi considerado um nível de significância de  $p < 0,05$  e o software utilizado foi o *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 17.0 para Windows (SPSS. Inc. 2008).

## Resultados

A população do estudo mostrou-se homogênea em relação às características gerais como idade, escolaridade e IMC, com diferença estatística apenas para o estadiamento clínico da doença, o que pode explicar a utilização do tratamento com quimioterapia nos estádios mais avançados. Das 66 participantes do estudo, 53% ( $n=35$ ) encontravam-se com idade  $< 53$  anos na etapa AT, sendo a idade mínima de 33 e a máxima de 77 anos. A escolaridade média foi de 3 [0-8] anos. Segundo classificação pela WHO (2000), 59% ( $n=44$ ) das pacientes já apresentavam IMC acima de  $25 \text{ kg/m}^2$  no momento do diagnóstico (AT), indicando um sobrepeso ou obesidade (Tabela 1).

Na tabela 2, observamos que o grupo de pacientes expostas a quimioterapia ( $n=44$ ) apresentaram aumento significativo no peso corporal e nos marcadores oxidantes (TBARS, LOOH e PC) após o

tratamento. Porém, o grupo de mulheres não expostas (n=22) não apresentou diferença significativa em nenhuma das variáveis estudadas após o tratamento (dados não demonstrados). Em contrapartida, quando avaliadas as variações nos grupos de pacientes expostas e não expostas à quimioterapia, percebe-se um aumento significativo apenas do peso corporal daquelas que foram expostas ao tratamento quimioterápico ( $p < 0,05$ ), não observando diferenças significativas nos parâmetros de estresse oxidativo entre os grupos (dados não demonstrados).

Na figura 1 podemos observar que independente do tipo de protocolo quimioterápico, as pacientes apresentaram aumento significativo do peso corporal após o tratamento ( $p < 0,05$ ). Em relação ao estresse oxidativo, não foram observadas alterações significativas nos marcadores antioxidantes (figura 2). Em contrapartida, o aumento da oxidação lipídica foi evidenciado nas pacientes expostas aos protocolos antracíclicos AC(T) e FAC, além disso, as pacientes tratadas com os protocolos FAC e o não antracíclico CMF apresentaram aumento da oxidação protéica após o tratamento antineoplásico (figura 3).

## **Discussão**

Este trabalho demonstrou que mulheres expostas à quimioterapia possuem um maior aumento de peso após o final do tratamento do que as pacientes que não foram expostas aos quimioterápicos. Corroborando nossos dados o estudo de Goodwin e colaboradores (1999), no qual a quimioterapia foi encontrada como um forte preditor clínico para o ganho de peso em mulheres na fase inicial do câncer de mama, sendo independente da idade, do consumo energético, bem como do estadiamento clínico e IMC no momento do diagnóstico da doença. Por outro lado, no estudo de Freedman e colaboradores (2004), concluiu-se que as pacientes com câncer de mama que receberam quimioterapia adjuvante não apresentaram mudanças significativas do peso corporal no primeiro ano de tratamento, porém ocorreram mudanças na composição corporal, com aumento de gordura e redução de massa magra.

Em relação ao estresse oxidativo observado em nosso estudo nas pacientes expostas à quimioterapia, foi evidenciado em outros estudos uma elevação de produtos da peroxidação lipídica e redução da capacidade antioxidante do plasma após o tratamento quimioterápico (FABER et al, 1995; FAURE et al, 1996; WEIJL, 1998).

Diversos quimioterápicos são capazes de produzir ER em excesso durante o tratamento antineoplásico, ocasionando EO em sistemas biológicos podendo resultar em mutações celulares malignas e no próprio desenvolvimento de câncer. No entanto, sob condição de EO, os antioxidantes podem não ser eficientes para evitar os efeitos desfavoráveis provocados pelas ER em processos críticos celulares, e esse aumento excessivo de ER gerados pelos fármacos pode interferir na eficácia do tratamento antineoplásico (LEE e SHACTER, 1999; SHACTER et al, 2000; CONKLIN, 2004b). Quando avaliados os marcadores antioxidantes em cada protocolo, não foi observada diminuição significativa, porém as pacientes tratadas com o antracíclico FAC apresentaram uma diminuição de 11,89% da glutatona reduzida e as pacientes expostas aos protocolos AC(T) e CMF diminuíram 5,42 e 21,22% respectivamente o potencial antioxidante redutor férrico. Vernie e colaboradores (1983) verificaram que a atividade da enzima glutatona peroxidase (GPx) no sangue total e os níveis de selênio sanguíneos e plasmáticos de pacientes com câncer de mama não foram significativamente alterados durante a quimioterapia com o não antracíclico CMF.

Em relação às substâncias que reagem ao TBA, foi observado um aumento de 73,62 e 50,98% nas pacientes tratadas com os protocolos AC(T) e CMF respectivamente, já as pacientes tratadas com o antracíclico FAC apresentaram aumento significativo de 125,27%. Foi observado também um aumento na peroxidação lipídica de 57,43 e 38,28% nas pacientes expostas ao protocolo FAC e CMF sendo que nas pacientes tratadas com o antracíclico AC(T) esse aumento de 170,75% foi significativo. As proteínas oxidadas aumentaram significativamente nas pacientes expostas aos protocolos FAC e CMF (49,40 e 47,67%), porém, o aumento de 35,34% correspondente ao protocolo AC(T) não foi significativo.

As pacientes expostas aos antracíclicos AC(T) e FAC apresentaram aumento significativo da oxidação lipídica, medidas pelo métodos FOX e TBARS respectivamente. As antraciclina são responsáveis pelas mais altas concentrações de EO, devido à sua habilidade em desviar elétrons do sistema de transporte da mitocôndria cardíaca, resultando na formação de  $O_2^{\bullet-}$ , além de originar outras ER (GILLE e NOHL, 1997; CONKLIN, 2004a). Os demais antineoplásicos também produzem RL em concentrações mais baixas, que podem induzir as células cancerígenas a apoptose (KAUFMANN e EARNSHAW, 2000; CONKLIN, 2004b). Em seu estudo, Kasapović e colaboradores (2010) apresentaram o primeiro relato de aumento do

estresse oxidativo e diminuição da atividade das enzimas antioxidantes e níveis de GSH, bem como a diminuição da expressão no citosol da enzima SOD em resposta ao protocolo antracíclico FAC, administrados em pacientes com câncer de mama. Em nosso estudo, observamos que o FAC foi o único protocolo que apesar de não alterar significativamente os marcadores antioxidantes, diminuiu 11,89% glutathiona reduzida e ainda aumentou significativamente tanto a oxidação lipídica quanto a protéica.

Todas as pacientes expostas aos protocolos AC(T), FAC e CMF apresentaram aumentos significativos de 3,02, 7,60 e 4,48% respectivamente do peso corporal após o tratamento. Já Demark-Wahnefried e colaboradores (1997), em seu estudo utilizando predominantemente doxorubicina e ciclofosfamida (DC), não relacionaram ganho de peso durante a quimioterapia, porém demonstraram perda de massa magra concomitante a um aumento da gordura corporal em mulheres com câncer de mama. Em contrapartida, outros estudos mostraram que mulheres tratadas com CMF apresentaram significativo ganho de peso corporal e massa gorda durante o tratamento (ASLANI et al, 1999; LANKESTER et al, 2002). Importante salientar que o ganho de peso está associado com a diminuição da qualidade de vida dessas pacientes e aumento do risco de várias comorbidades, tais como doenças cardiovasculares e diabetes (CHLEBOWSKI, 2002). Sugere-se que o ganho de peso ocorra em 50-96% das pacientes com câncer de mama tratadas com quimioterapia adjuvante, sendo a média do ganho de peso entre 2,5 - 6,2 kg após o tratamento (DEMARK-WAHNEFRIED et al, 1997), em nosso estudo a média do ganho de peso encontrado nas pacientes expostas a quimioterapia foi de 3,48 kg  $\pm$  4,82.

Esse aumento de peso após o tratamento para o câncer de mama pode favorecer uma condição de EO. Alguns estudos encontraram associação positiva entre obesidade e EO com mulheres sem câncer de mama (VINCENT e TAYLOR, 2006; BRONW et al, 2009). Mittal e Kant (2009), em estudo com mulheres saudáveis em diferentes idades, observaram uma correlação entre o aumento do peso corporal e a idade com o aumento do EO. Sabe-se que o EO induz danos ao DNA e mutações genéticas encontradas no câncer de mama, sendo considerado um fator de risco para a doença (AMBROSONE, 2000; KANG, 2002). Porém, em nosso estudo, essa relação com maior ganho de peso e aumento do estresse oxidativo não foi encontrada, assim como a relação do aumento da idade e o EO (dados não demonstrados), atribuindo o

aumento dos marcadores oxidantes aos tratamentos quimioterápicos. Talvez as associações não tenham sido encontradas pelo tamanho limitado da amostra.

Outra limitação do estudo foi a variação entre as duas etapas AT e DT, sendo a média de tempo decorrente de  $12,9 \pm 3,36$  meses. Contudo, a fim de avaliar as variações, foi realizada uma análise dos tempos decorrentes entre as duas avaliações, AT e DT. O teste estatístico de análise de variância (ANOVA) foi aplicado, dividindo os indivíduos do estudo em tercil de acordo com o tempo das avaliações para verificar possíveis alterações nos marcadores estudados, no entanto nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada (dados não demonstrados).

Em conclusão, nossos resultados evidenciam que, mesmo após o término do tratamento, percebe-se um aumento significativo no peso corporal e nos marcadores oxidantes TBARS, LOOH e PC nas mulheres que foram expostas à quimioterapia.

As mulheres tratadas com todos os protocolos quimioterápicos avaliados aumentaram o peso corporal. As pacientes expostas aos antracíclicos AC(T) e FAC apresentaram aumento da oxidação lipídica e as tratadas com FAC e o não antracíclico CMF aumentaram a oxidação protéica, favorecendo um estado de estresse oxidativo. Com isso, sugere-se que são necessários outros estudos para que se possam avaliar os benefícios e adversidades de cada protocolo quimioterápico, podendo estabelecer futuras intervenções nutricionais minimizando o ganho de peso e o aumento do EO ocasionados pelos diversos tratamentos antineoplásicos para o câncer de mama.

## REFERÊNCIAS

World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. **Food, Nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective.** Washington DC: AICR, p. 289, 2007.

HARVIE, M.N.; CAMPBELL, I.T.; BAILDAM, A.; HOWELL, A. Energy balance in early breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy **Breast Cancer Research and Treatment.**, v. 83, n. 3, p. 201-210, 2004.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; CASE, L.D.; BLACKWELL, K.; MARCOM, P.K.; KRAUS, W.; AZIZ, N.; SNYDER, D.C.; GIGUERE, J.K.; SHAW, E. Results of a diet/exercise feasibility trial to prevent adverse body composition change in breast cancer patients on adjuvant chemotherapy. **Clinical Breast Cancer**, v. 8, n. 1, p. 70-79, 2008.

GOODWIN, P.J.; ENNIS, M.; PRITCHARD, K.I.; MCCREADY, D.; KOO, J.; SIDLOFSKY, S.; TRUDEAU, M.; HOOD, N.; REDWOOD S. Adjuvant Treatment and Onset of Menopause Predict Weight Gain After Breast Cancer Diagnosis, **Journal of Clinical Oncology**, v. 17, n. 1, p. 120-129, 1999.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; WINER, E.P.; RIMER, B.K. Why women gain weight with adjuvant chemotherapy for breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v.11, n. 7, p. 1418-1429, 1993.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; RIMER, B.K.; WINER, E.P. Weight gain in women diagnosed with breast cancer. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 97, p. 519-526, 1997.

LEE, Y.J.; SHACTER, E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p.19792-19798, 1999.

SHACTER, E.; WILLIAMS, J.A.; HINSON, R.M.; SENTURKER, S.; LEE, Y-J. Oxidative stress interferes with cancer chemotherapy: inhibition of lymphoma cell apoptosis and phagocytosis. **Blood**, v. 96, p. 307-313, 2000.

CONKLIN, K.A. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. **Integrative Cancer Therapies**, v.3, n. 4, p.294-300, 2004a.

GILLE, L.; NOHL, H. Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 23, p. 775-782, 1997.

KAUFMANN, S.H.; EARNSHAW, W.C. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. **Experimental Cell Research**, v. 256, p. 42-49, 2000.

CONKLIN, K.A. Cancer chemotherapy and antioxidants. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3201-3204, 2004b.

DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N. I.; VIEIRA, F. G. K.; FAUSTO, M. A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, n. 5, p. 565-572, 2007.

WHO (World Health Organization). The problem of overweight and obesity. In: *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Geneva: WHO, 2000.

FRISANCHO, A. R. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 40, n. 4, p. 808-819, 1984.

WHO (World Health Organization). *Physical Status: the use and interpretation of anthropometry*. WHO technical report series 854. Geneva: WHO, 1995.

UICC International Union Against Cancer. **TNM Classification of Malignant Tumours**. 6<sup>a</sup> ed, 2002

BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 61, p. 882-90, 1963.

BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

ESTERBAUER, H., CHEESEMAN, K. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

JIANG, Z. Y.; HUNT, J. J.; WOLFF, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. **Analytical Biochemistry**, v. 202, p. 384-389, 1992.

LEVINE, R. L. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 464-478, 1990.

FREEDMAN, R.J.; AZIZ, N.; ALBANES, D.; HARTMAN, T.; DANFORTH, D.; HILL, S.; SEBRING, N.; REYNOLDS, J.C.; YANOVSKI, J.A. Weight and body composition changes during and after adjuvant chemotherapy in women with breast cancer. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 5, p. 2248-2253, 2004

FABER, M.; COUDRAY, C.; HIDA, H.; MOUSSEAU, M.; FAVIER, A. Lipid peroxidation products, and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy including adriamycin: a preliminary study. **Biological Trace Element Research**, v. 47, p. 117-123, 1995.

FAURE, H.; COUDRAY, C.; MOUSSEAU, M.; DUCROS, V.; DOUKI, T.; BIANCHINI, F.; CADET, J.; FAVIER, A. 5-hydroxymethyluracil excretion, plasma TBARS and plasma antioxidant vitamins in adriamycin-treated patients. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, p. 979-983, 1996.

WEIJL, N.I. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. **Annals of Oncology**, v.9, p.1331-1337, 1998.

SUBRAMANIAM, S.; SHYAMALA DEVI, C.S. Erythrocyte antioxidant enzyme activity in CMF treated breast cancer patients. **Cancer Biochem Biophys**, v. 14, p. 177–82, 1994.

VERNIE, L.N.; DE VRIES, M.; BENCKHUIJSEN, C.; DE GOEIJ, J.J.; ZEGERS, C. Selenium levels in blood and plasma, and glutathione peroxidase activity in blood of breast cancer patients during adjuvant treatment with cyclophosphamide, methotrexate and 5- fluorouracil. **Cancer Lett**, v. 18, p. 283–289, 1983.

VIEIRA, F. G. K. ; DI PIETRO, P. F. ; BOAVENTURA, B. C. B. ; AMBROSI, C. ; FAUSTO, M. A. ; CRIPPA, C. G. ; SILVA, E. L.; ROCKENBACH, G. Factors associated with oxidative stress in women with breast cancer. **Nutrición Hospitalaria**, 2011 (*in press*).

KASAPOVIĆ, J.; PEJIĆ, S.; STOJILJKOVIĆ, V.; TODOROVIĆ, A.; RADOŠEVIĆ-JELIĆ, L.; SAIČIĆ, Z. S.; PAJOVIĆ, S.B. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages after chemotherapy with 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide. **Clinical Biochemistry**, v. 43 p. 1287–1293, 2010.

ASLANI, A.; SMITH, R.C.; ALLEN, B.J.; PAVLAKIS, N.; LEVI, J.A. Changes in body composition during breast cancer chemotherapy with the CMF-regimen. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 57, p. 285–290, 1999.

LANKESTER, K.J.; PHILLIPS, J.E.; LAWTON, P.A. Weight gain during adjuvant and neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: an audit of 100 women receiving FEC or CMF chemotherapy. **Journal of Clinical Oncology**, v. 14, p. 64–67, 2002.

CHLEBOWSKI, R.T.; AIELLO, E.; MCTIERNAN, A. Weight loss in breast cancer patient management. **Journal of Clinical Oncology**, v.20, n. 4, p. 1128-1143, 2002.

BRONW, L.A.; KERR, C.J.; WHITING, P.; FINER, N.; McENENY, J.; ASHTON, T. Oxidant Stress in Healthy Normal-weight, Overweight, and Obese Individuals. **Obesity**, v. 173, p. 460-466, 2009.

VINCENT, H.K.; TAYLOR, A.G. Biomarkes and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International Journal of Obesity**, v. 30, n. 3, p. 400-418, 2006.

MITTAL, P.C., KANT, R. Correlation of increased oxidative stress to body weight in disease-free post menopause women. **Clinical Biochemistry**, v. 42, p. 1007-1011, 2009.

AMBROSONE, C.B. Oxidants and antioxidants in breast cancer. **Antioxid Redox Signal**, v. 2, n. 4, p. 903-917, 2000.

KANG, D.H. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. **AACN Clinical Issues**, v. 13, n. 4, p. 540-549, 2002.

**TABELA 1.** Características clínicas e gerais das pacientes com câncer de mama (n= 66), Florianópolis, SC.

Características	Não expostas n= 22 (%)	Expostas n= 44 (%)	<i>p</i>
Raça		6767	
Branco	20 (91)	42(95)	0,596 <sup>†</sup>
Não Branco	2 (9)	2 (5)	
Idade (Antes do Tratamento)			0,098 <sup>†</sup>
< 53 anos	8 (36)	27 (61)	
≥ 53 anos	14 (64)	17 (39)	
IMC <sup>1</sup> Antes do Tratamento (kg/m <sup>2</sup> )			0,064 <sup>†</sup>
<25	4 (18)	18 (41)	
25- 29,9	14 (64)	15 (34)	
>30	4 (18)	11 (25)	
Escolaridade (anos) média – intervalo	3 [2 - 7]	3 [0 - 8]	0,055 <sup>††</sup>
Menopausadas	11 (50)	26 (59)	0,661 <sup>†</sup>
Estadio do Tumor (UICC)			<i>p</i> <0,001 <sup>†</sup>
I	17 (77)	9 (20)	
II (A/B)	3 (14)	21 (48)	
III (A/B/C)	2 (9)	14 (32)	
Radioterapia	17 (77)	29 (66)	0,507 <sup>†</sup>
Receptor Hormonal Positivo	18 (82)	33 (75)	0,757 <sup>†</sup>
Hormonioterapia	15 (68)	27 (61)	0,786 <sup>†</sup>
Quimioterapia	22	44	
Antracíclico	-	36 (82)	
AC(T) <sup>2</sup>	-	23 (52)	
FAC <sup>3</sup>	-	13 (30)	
Não Antracíclico CMF <sup>4</sup>	-	8 (18)	

<sup>1</sup>IMC = Índice de Massa Corporal; <sup>2</sup>AC(T)= Doxorubicina + Ciclofosfamida (Paclitaxel);

<sup>3</sup>FAC= 5-Fluorouracil + Doxorubicina + Ciclofosfamida; <sup>4</sup>CMF= Ciclofosfamida + Metotrexato + 5-Fluororacil.

<sup>†</sup> valor de *p* para o teste qui quadrado; <sup>††</sup> valor de *p* para o teste *t* de Student.

**TABELA 2.** Mudanças entre o período AT e DT no peso corporal e nos marcadores de estresse oxidativo em mulheres expostas à quimioterapia para o câncer de mama (n=44), Florianópolis, SC.

	<b>AT<sup>1</sup></b> Média ± DP Mediana [mín-máx]	<b>DT<sup>2</sup></b> Média ± DP Mediana [mín-máx]	<i>p</i>	<b>Variação % Média</b>
<b>Peso</b> (kg)	66,40 [50,50-95,90]	74,00 [49,50-103,00]	<b>&lt;0,001<sup>††</sup></b>	4,64
<b>GSH</b> (µmol/L)	79,02 ± 20,48	79,60 ± 28,78	0,414 <sup>†</sup>	8,03
<b>FRAP</b> (µmol/L)	627,38 ± 150,58	573,60 ± 166,12	0,104 <sup>†</sup>	-3,68
<b>TBARS</b> (µmol/L)	5,09 [3,62-31,42]	8,99 [0,33-24,75]	<b>0,035<sup>††</sup></b>	84,76
<b>LOOH</b> (µmol/L)	4,11 [1,20-13,95]	7,39 [0,07-27,59]	<b>0,002<sup>††</sup></b>	113,18
<b>PC</b> (µmol/L)	0,74 [0,27-2,10]	0,95 [0,64-2,15]	<b>0,002<sup>††</sup></b>	41,73

<sup>1</sup>AT= Antes do Tratamento; <sup>2</sup>DT= Depois do Tratamento.

Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão ou mediana [mínimo – máximo].

† valor de *p* para o teste *t* de *Student* Pareado; †† valor de *p* para o teste não paramétrico *Wilcoxon*.

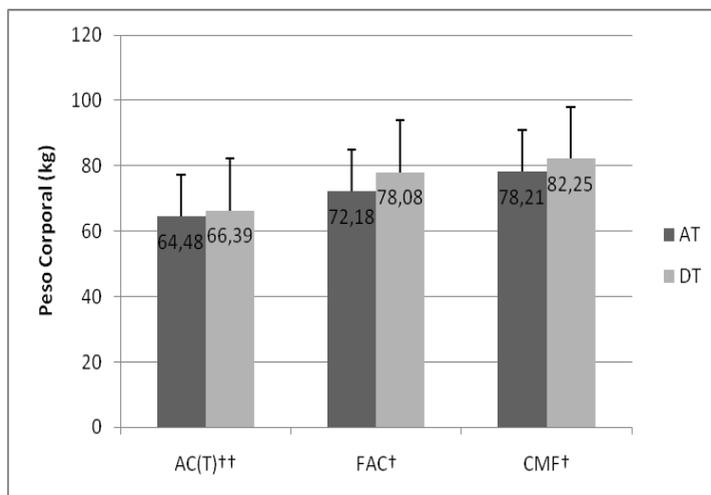


Figura 1. Alteração do peso corporal antes e depois do tratamento com diferentes protocolos quimioterápicos AC(T) (n=23), FAC (n=13) e CMF (n=8) para o câncer de mama.

AT= Antes do Tratamento; DT= Depois do Tratamento; AC(T)= Doxorubicina + Ciclofosfamida (Paclitaxel); FAC= 5-Fluorouracil + Doxorubicina + Ciclofosfamida; CMF= Ciclofosfamida + Metotrexato + 5-Fluorouracil.

<sup>†</sup> Valor de  $p < 0,005$  para o teste *t* de *Student* Pareado. <sup>††</sup> Valor de  $p < 0,05$  para o teste não paramétrico de *Wilcoxon*

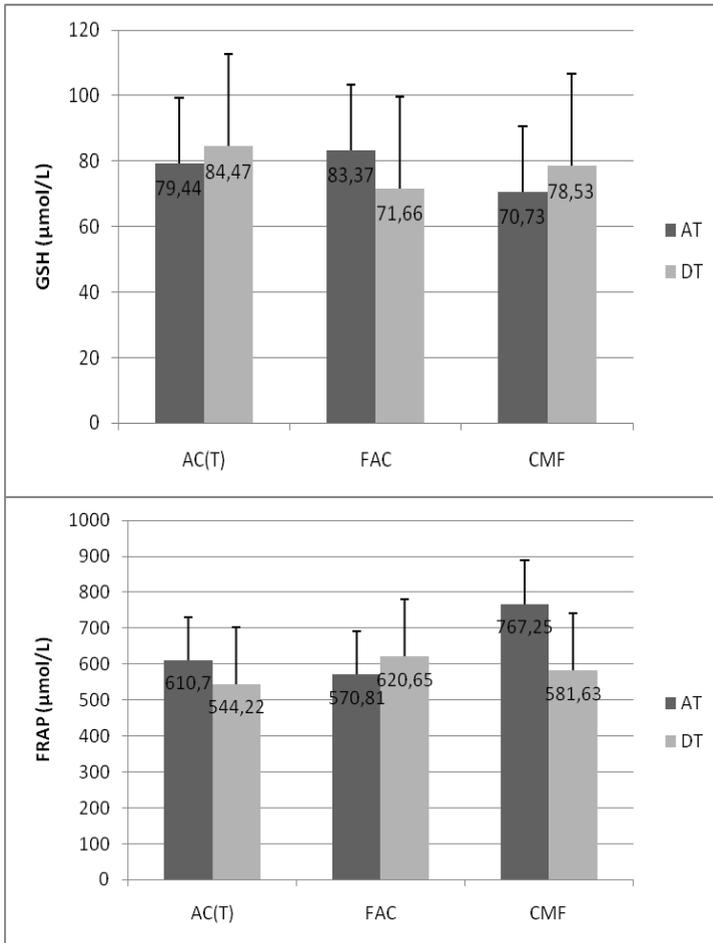


Figura 2. Alteração nos antioxidantes antes e depois do tratamento com diferentes protocolos quimioterápicos AC(T) (n=23), FAC (n=13) e CMF (n=8) para o câncer de mama.

AT= Antes do Tratamento; DT= Depois do Tratamento; AC(T)= Doxorubicina + Ciclofosfamida (Paclitaxel); FAC= 5-Fluorouracil + Doxorubicina + Ciclofosfamida; CMF= Ciclofosfamida + Metotrexato + 5-Fluorouracil.

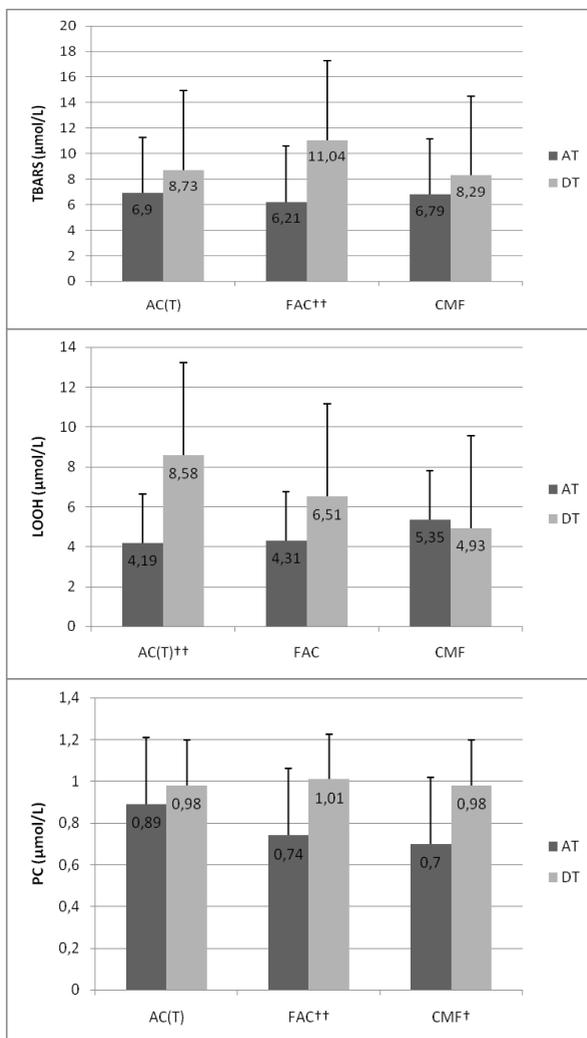


Figura 3. Alteração nos marcadores de oxidação antes e depois do tratamento com diferentes protocolos quimioterápicos AC(T) (n=23), FAC (n=13) e CMF (n=8) para o câncer de mama.

AT= Antes do Tratamento; DT= Depois do Tratamento; AC(T)= Doxorubicina + Ciclofosfamida (Paclitaxel); FAC= 5-Fluorouracil + Doxorubicina + Ciclofosfamida; CMF= Ciclofosfamida + Metotrexato + 5-Fluorouracil.

† Valor de  $p < 0,05$  para o teste *t* de Student Pareado. †† Valor de  $p < 0,05$  para o teste não paramétrico de Wilcoxon



## CAPÍTULO 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, foi possível confirmar a hipótese inicial de que a quimioterapia influenciou o ganho de peso e aumentou os marcadores oxidantes, desencadeando um estado de estresse oxidativo nas mulheres com câncer de mama. Em relação aos protocolos quimioterápicos estudados, verificou-se que as pacientes expostas a todos os protocolos avaliados aumentaram o peso corporal.

Em relação ao estresse oxidativo, as pacientes submetidas aos protocolos antracíclicos AC(T) e FAC apresentaram aumento da oxidação lipídica, e as mulheres tratadas com FAC e o não antracíclico CMF aumentaram a oxidação protéica, favorecendo assim um estado de estresse oxidativo.

O aumento do peso corporal e da idade, durante o tratamento para o câncer de mama, não foram relacionados com aumento do estresse oxidativo em nosso estudo, sendo assim, atribuímos esse achado principalmente à exposição da quimioterapia.

Ao desenvolver a pesquisa, percebeu-se uma receptividade e colaboração das pacientes, além das curiosidades sobre os aspectos nutricionais, uma vez que o ganho de peso foi comumente encontrado nas mulheres, porém mais pronunciado nas pacientes expostas à quimioterapia. A partir deste aumento do peso corporal, destacamos a importância de intervenções nutricionais neste grupo de mulheres, uma vez que o ganho de peso pode comprometer a eficácia do tratamento antineoplásico, assim como aumentar as chances de recidiva da doença e desencadear desordens secundárias.

Futuras pesquisas podem obter melhores resultados com maior número de mulheres avaliadas em cada protocolo quimioterápico. Destaca-se a importância de estudos mais amplos controlando o início e final da administração da quimioterapia, bem como avaliação de outros fatores que podem estar associados ao aumento do peso corporal e estresse oxidativo, dentre eles: medicamentos associados ao tratamento e até mesmo a hormonioterapia. Sendo assim, o desenvolvimento de um estudo com acompanhamento nutricional, tendo a finalidade de minimizar os efeitos do tratamento antineoplásico, torna-se de extrema importância para as mulheres em tratamento para câncer de mama.

Este trabalho apresentou dados importantes sobre o tratamento quimioterápico e ainda buscou evidenciar os efeitos dos diferentes tipos de protocolos utilizados pelas pacientes com câncer de mama. Servirá de subsídio para futuras pesquisas que buscam caracterizar os efeitos da quimioterapia e em projetos de intervenção nutricional com objetivo de minimizar os efeitos colaterais provocados pelos diferentes protocolos quimioterápicos.

## REFERÊNCIAS

ACS - AMERICAN CANCER SOCIETY. **Breast Câncer & Figures 2007-2008**. Atlanta: American Câncer Society, 2007.

ACS - AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer Facts & Figures 2010**. Atlanta: American Cancer Society, 2010.

AMBROSI, C. Fatores dietéticos e estado nutricional de mulheres submetidas ao tratamento de câncer de mama. [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

AMBROSONE, C.B. Oxidants and antioxidants in breast cancer. **Antioxid Redox Signal**, v. 2, n. 4, p. 903-917, 2000.

ANJOS, L.A. Índice de Massa Corporal (massa corporal. estatura<sup>2</sup>) como indicador do estado nutricional de adultos: revisão da literatura. **Revista de Saúde Pública**, v. 26, n. 6, p. 431-436, 1992.

ASLANI, A.; SMITH, R.C.; ALLEN, B.J.; PAVLAKIS, N.; LEVI, J.A. Changes in body composition during breast cancer chemotherapy with the CMF-regimen. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 57, p. 285-290, 1999.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.

BECKMAN, J. S. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. **Chemical Research in Toxicology**, v. 9, p. 836-844, 1996.

BENSON, J.R.; JATOI, I.; KEISCH, M.; ESTEVA, F.J.; MAKRIS, A.; JORDAN, V.C. Early breast cancer. **The Lancet**, v. 373, p. 1463–1479, 2009.

BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 61, p. 882-90, 1963.

BERGER, M.M. Can oxidative damage be treated nutritionally? **Clin Nutr**, v. 24, p. 172–183, 2005.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 123-130, 1999.

BOREK, C. Antioxidants and radiation therapy. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3207-3209, 2004.

BHOSLE, J.; HALL, G. Principles of cancer treatment by chemotherapy. **Surgery (Oxford)**, v. 27, n. 4, p. 173-177, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Controle de câncer de mama: Documento de consenso. Rio de Janeiro: INCA, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2010: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2009.

BRONW, L.A.; KERR, C.J.; WHITING, P.; FINER, N.; McENENY, J.; ASHTON, T. Oxidant Stress in Healthy Normal-weight, Overweight, and Obese Individuals. **Obesity**, v. 173, p. 460-466, 2009.

CARMICHAEL, A.R. Obesity as a risk factor for development and poor prognosis of breast cancer. **International Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 113, n. 10, p. 1160-1166, 2006.

CHLEBOWSKI, R.T.; AIELLO, E.; MCTIERNAN, A. Weight loss in breast cancer patient management. **Journal of Clinical Oncology**, v.20, n. 4, p. 1128-1143, 2002.

CLARKE, M.; COLLINS, R.; DARBY, S. et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival : an overview of the randomized trials. **The Lancet**, v. 366, p. 2087-2106, 2005.

CNS. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Resolução nº 196, de 10 de Outubro de 1996: aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 out. 1996.

CONKLIN, K.A. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. **Integrative Cancer Therapies**, v.3, n. 4, p.294-300, 2004a.

CONKLIN, K.A. Cancer chemotherapy an antioxidants. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3201-3204, 2004b.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; WINER, E.P.; RIMER, B.K. Why women gain weight with adjuvant chemotherapy for breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v.11, n. 7, p. 1418-1429, 1993.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; RIMER, B.K.; WINER, E.P. Weight gain in women diagnosed with breast cancer. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 97, p. 519–526, 1997.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; PETERSON, B.L. WINER, E.P. et al. Changes in Weight, Body Com,position, and Factors Influencing Energy Balance Among Premenopausal Breast Cancer Patients Receiving Adjuvant Chemotherapy. **Journal of Clinical Oncology**, v. 19, p. 2381-2389, 2001.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; CASE, L.D.; BLACKWELL, K.; MARCOM, P.K.; KRAUS, W.; AZIZ, N.; SNYDER, D.C.; GIGUERE, J.K.; SHAW, E. Results of a diet/exercise feasibility trial to prevent adverse body composition change in breast cancer patients on adjuvant chemotherapy. **Clinical Breast Cancer**, v. 8, n. 1, p. 70-79, 2008.

DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N. I.; VIEIRA, F. G. K.; FAUSTO, M. A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, n. 5, p. 565-572, 2007.

DIPLOCK, A.T.; CHARLEUX, J.L; CROZIER-WILLI, G.; KOK, F.J.; RICE-EVANS, C.; ROBERFROID, M.; et al. Functional food science and defense against reactive oxidative species. **The British Journal of Nutrition**, v. 80, p. 77-112, 1998.

ESTERBAUER, H., CHEESEMAN, K. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

FABER, M.; COUDRAY, C.; HIDA, H.; MOUSSEAU, M.; FAVIER, A. Lipid peroxidation products, and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy including adriamycin: a preliminary study. **Biological Trace Element Research**, v. 47, p. 117-123, 1995.

FALK, S. Principles of cancer treatment by radiotherapy. **Surgery (Oxford)**, v. 27, n. 4, p. 169-172; 2009.

FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872-879, 2002.

FAURE, H.; COUDRAY, C.; MOUSSEAU, M.; DUCROS, V.; DOUKI, T.; BIANCHINI, F.; CADET, J.; FAVIER, A. 5-hydroxymethyluracil excretion, plasma TBARS and plasma antioxidant vitamins in adriamycin-treated patients. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, p. 979-983, 1996.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FIRUZI, O.; MLADENKA, P.; RICCIERI, V.; SPADARO, A.; PETRUCCI, R.; MARROSU, G. Parameters of oxidative stress status in healthy subjects: their correlations and stability after sample collection. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 20, p. 139-148, 2006.

FORD, D.; EASTON, D.F. The genetics of breast and ovarian cancer. **British Journal of Cancer**, v. 72, n. 4, p. 805-812, 1995.

FREEDMAN, R.J.; AZIZ, N.; ALBANES, D.; HARTMAN, T.; DANFORTH, D.; HILL, S.; SEBRING, N.; REYNOLDS, J.C.; YANOVSKI, J.A. Weight and body composition changes during and after adjuvant chemotherapy in women with breast cancer. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 5, p. 2248-2253, 2004.

FREIDOVICH, I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 893, p. 13-18, 1999.

FRISANCHO, A. R. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 40, n. 4, p. 808-819, 1984.

GILLE, L.; NOHL, H. Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 23, p. 775-782, 1997.

GOODWIN, P.J.; ENNIS, M. ; pritchard, k.i. et al. Adjuvant Treatment and Onset of Menopause Predict Weight Gain After Breast Cancer Diagnosis, **Journal of Clinical Oncology**, v. 17, n. 1, p. 120-129, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 1-85, 1990.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996a.

HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radical Research**, v. 25, p. 57-74, 1996b.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 3 ed. Oxford: Oxford University Press, 1999.

HALLIWELL, B. Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 1082-1087, 2000.

HARVIE, M.N.; CAMPBELL, I.T.; BAILDAM, A.; HOWELL, A. Energy balance in early breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 83, n. 3, p. 201-210, 2004.

JIANG, Z. Y.; HUNT, J. J.; WOLFF, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. **Analytical Biochemistry**, v. 202, p. 384-389, 1992.

JONES, D. P. Redefining Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, p. 1865-1879, 2006.

KANG, D.H. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. **AACN Clinical Issues**, v. 13, n. 4, p. 540-549, 2002.

KASAPOVIĆ, J.; PEJIĆ, S.; STOJILJKOVIĆ, V.; TODOROVIĆ, A.; RADOŠEVIĆ-JELIĆ, L.; SAIČIĆ, Z. S.; PAJOVIĆ, S.B. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages after chemotherapy with 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide. **Clinical Biochemistry**, v. 43 p. 1287–1293, 2010.

KAUFMANN, S.H.; EARNSHAW, W.C. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. **Experimental Cell Research**, v. 256, p. 42-49, 2000.

KROENKE, C.H.; CHEN, W.Y.; ROSNER, B.; HOLMES, M.D. Weight, weight gain, and survival after breast cancer diagnosis. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 7, p. 1370-1378, 2005.

KUTYNEC, C.L.; MCCARGAR, L.; BARR, S.I.; HISLOP, T.G. Energy balance in women with breast cancer during adjuvant treatment. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 1222–1227, 1999.

LANKESTER, K.J.; PHILLIPS, J.E.; LAWTON, P.A. Weight gain during adjuvant and neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: an audit of 100 women receiving FEC or CMF chemotherapy. **Journal of Clinical Oncology**, v. 14, p. 64–67, 2002.

LEE, Y.J.; SHACTER, E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 19792-19798, 1999.

LEVINE, R. L. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 464-478, 1990.

LINOS, E.; HOLMES, M.D.; WILLETT, W.C. Diet and breast cancer. **Curr Oncology Reports**, v. 9, n. 1, p. 31-41, 2007.

MEDEIROS, N.I. Consumo alimentar e níveis de antioxidantes em mulheres com câncer de mama atendidas na rede pública municipal de Joinville. [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

MEYDANI, M. et al. The effect of long term dietary supplementation with antioxidants. In: MILLER, A. B.; BULBROOK, R. D. UICC multidisciplinary project on breast cancer: the epidemiology, aetiology and prevention of breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 37, p. 173-177, 1986.

MITTAL, P.C., KANT, R. Correlation of increased oxidative stress to body weight in disease-free post menopause women. **Clinical Biochemistry**, v. 42, p. 1007-1011, 2009.

MONNINKHOF, E.M.; ELIAS, S.G.; VLEMS, F.A.; et al. Physical activity and breast cancer: a systematic review. **Epidemiology**, v. 18, p. 137–57, 2007.

POLI, G.; LEONARDUZZI, G.; BIASI, F.; CHIARPOTTO, E.  
Oxidative stress and cell signalling, **Current Medicinal Chemistry**, v. 11 p. 1163–1182, 2004.

ROCKENBACH, G.; DI PIETRO, P.F.; AMBROSI, C.;  
BOAVENTURA, B.C.B.; VIEIRA, F.G.K.; CRIPPA, C.G.; DA  
SILVA, E.L.; FAUSTO, M.A. . Dietary intake and oxidative stress in  
breast cancer: before and after treatments. **Nutrición Hospitalaria**,  
2011 (*in press*).

ROCKENBACH, G. Alteração no consumo alimentar e no estresse  
oxidativo no período de tratamento antineoplásico. [Dissertação].  
Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

ROMOND, E.H.; PERZ, E.A.; BRYANT, J. et al. Trastuzumab plus  
adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. **The  
New England Journal of Medicine**, v. 20, n. 16, p. 1673-1684, 2005.

SCHNEIDER, I.J.C.; D'ORSI, E. Sobrevida em cinco anos e fatores  
prognósticos em mulheres com câncer de mama em Santa Catarina,  
Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 25, p. 1285-1296, 2009.

SEIFRIED, H.E.; ANDERSON, D.E.; FISHER, E.I.; MILNER, J.A. A  
review of the interaction among dietary antioxidants and reactive  
oxygen species. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 18, p. 567-  
579, 2007.

SHACTER, E.; WILLIAMS, J.A.; HINSON, R.M.; SENTURKER, S.;  
LEE, Y-J. Oxidative stress interferes with cancer chemotherapy:  
inhibition of lymphoma cell apoptosis and phagocytosis. **Blood**, v. 96, p.  
307-313, 2000.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks. In.: SIES, H.  
**Oxidative stress**. Florida: Academic Press, p. 1-10, 1985.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

STOHS, S. J. The role free radicals in toxicity and disease. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 6, p. 205-28, 1996.

SUBRAMANIAM, S.; SHYAMALA DEVI, C.S. Erythrocyte antioxidant enzyme activity in CMF treated breast cancer patients. **Cancer Biochem Biophys**, v. 14, p. 177-82, 1994.

THOMAS, J.A. Estresse oxidativo e defesa contra antioxidantes. In.: SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. v. 1, 9 ed, São Paulo: Manole, 2003.

UICC International Union Against Cancer. **TNM Classification of Malignant Tumours**. 6<sup>a</sup> ed, 2002.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p.1-40, 2006.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007.

VERNIE, L.N.; DE VRIES, M.; BENCKHUIJSEN, C.; DE GOEIJ, J.J.; ZEGERS, C. Selenium levels in blood and plasma, and glutathione peroxidase activity in blood of breast cancer patients during adjuvant treatment with cyclophosphamide, methotrexate and 5- fluorouracil. **Cancer Lett**, v. 18, p. 283-289, 1983.

VINCENT, H.K.; TAYLOR, A.G. Biomarkes and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International Journal of Obesity**, v. 30, n. 3, p. 400-418, 2006.

VIEIRA, F. G. K. ; DI PIETRO, P. F. ; BOAVENTURA, B. C. B. ; AMBROSI, C. ; FAUSTO, M. A. ; CRIPPA, C. G. ; SILVA, E. L.; ROCKENBACH, G. Factors associated with oxidative stress in women with breast cancer. **Nutrición Hospitalaria**, 2011 (*in press*).

VIEIRA. F.G.K. Características sócio-demográficas, reprodutivas, clínicas, nutricionais e de estresse oxidativo de mulheres com câncer de mama. [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

VITOLINS, M.Z.; KIMMICK, G.G.; CASE, L.D. BMI Influences Prognosis Following Surgery and Adjuvant Chemotherapy for Lymph Node Positive Breast Cancer. **The Breast Journal**, v.14, n. 4, p. 357-365, 2008.

WEIJL, N.I. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. **Annals of Oncology**, v.9, p.1331-1337, 1998.

WEITZEN, R.; TICHLER, T.; KAUFMAN, B.; CATCANE, R.; SHPATZ, Y. Body Weight, nutritional factors and physical activity-their influence on prognosis after cancer diagnosis. **Harefuah**, v. 145, n. 11, p. 820-5, 861, 2006.

WHO (World Health Organization). **Physical Status: the use and interpretation of anthropometry**. WHO technical report series 854. Geneva: WHO,1995.

WHO (World Health Organization). The problem of overweight and obesity. In: Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO, 2000.

INTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 305, p. 729-736, 2003.

WOLFF A.C.; DAVIDSON, N.E. Primary systemic therapy in operable breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 18, p. 1558–69, 2000.

WOLFF, A.C.; HAMMOND, M. E.; SCHWARTZ, J.N. et al. American Society of Clinical Oncology. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v.131, n. 1, p.18, 2007.

World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, physical activity, and the prevention of câncer: a global perspective. Washington DC: AICR, p. 289, 2007.

YU, P.B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Review**, v. 74, p. 139-162, 1994.

## APÊNDICE

## APÊNDICE A – Protocolo para busca em prontuários

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

Local de tratamento: \_\_\_\_\_

Médico responsável: \_\_\_\_\_

Período Total Tratamento: \_\_\_\_\_

### 1. QUIMIOTERAPIA: sim ( ) não ( )

Primeiro: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Último: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Ciclos: \_\_\_\_\_

QUIMIO	1º Ciclo	2º Ciclo	3º Ciclo	4º Ciclo	5º Ciclo	6º Ciclo	7º Ciclo	8 Ciclo	9º Ciclo	10º Ciclo
Adriamicina __mg/m <sup>2</sup>										
Ciclofosfamida __mg/m <sup>2</sup>										
Metotrexato __mg/m <sup>2</sup>										
5-Fluorouracil __mg/m <sup>2</sup>										
Epirrubicina __mg/m <sup>2</sup>										
Taxol __mg/m <sup>2</sup>										
__mg/m <sup>2</sup>										

### 2. RADIOTERAPIA: sim ( ) não ( )

Primeira: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Última: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Seções: \_\_\_\_\_

Datas: \_\_\_\_\_

Local ( ) Loco regional ( )

### 3. RECEPTORES HORMONAIS

**RE+**: sim ( ) não ( )

**RP+**: sim ( ) não ( )

**HER2+**: sim ( ) não ( )

**Ki-67**: sim ( ) não ( )

### 4. HORMONIOTERAPIA

**Tamoxifeno**: sim ( ) não ( )

início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Herceptin**: sim ( ) não ( )

início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Inibidor da aromatase**: arimidex ( ) anastrozol ( )

início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**5. ANTROPOMETRIA**

Altura: \_\_\_\_\_ cm

Peso: \_\_\_\_\_ kg Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**6. OUTRAS OBSERVAÇÕES:**

---

---

---



**ANEXOS**

## ANEXO A – Questionário sóciodemográfico, clínico e antropométrico

Identificação:	Fones p/ contato:
Data da entrevista: / /	
Data de nascimento: / / .	Idade: anos
Onde Nasceu:	Onde Mora:
Qual a sua raça? ( ) 1: Branca ( ) 2: Negra ( ) 3: Parda ( ) 4: Outra	
Qual a sua profissão?	
Estado civil: ( ) 1: casada ( ) 2: solteira ( ) 3: viúva ( ) 4: separada ( ) 5: vive c/ comp	
Quantos anos você estudou?	
Grau de escolaridade: 1: ( ) analfabeto 5: ( ) 2º grau completo 2: ( ) 1º grau incompleto 6: ( ) superior incompleto 3: ( ) 1º grau completo 7: ( ) superior completo 4: ( ) 2º grau incompleto 8: ( ) pós-graduação (esp/mestrado/dout)	
Com que idade ocorreu a sua primeira menstruação?	Anos
Você tem filhos? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, quantos filhos você tem?	
Quantas gestações você teve?	
Qual o tipo de parto? 1: ( ) Normal 2: ( ) Cesária	
Qual a idade em que você teve o primeiro filho?	Anos
Você amamentou seus filhos? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, qual o período? 1: ( ) < 6 meses 2: ( ) 6 meses a 1 ano 3: ( ) > 1 ano	
Atualmente você usa contraceptivos (AC) orais? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, há quanto tempo? _____	
Se não, você já usou AC orais? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim por quanto tempo? _____	
Se Você usa/usou AC oral, você interrompeu o uso de AC orais por algum tempo? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não Se sim, quanto tempo? _____	
Você tem alguma doença? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, qual (ou quais)? _____	
Hoje, você faz uso contínuo de algum medicamento? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, qual (ou quais)? _____	
Faz uso de suplementos nutricionais? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, qual (ou quais)? _____	
Menopausa 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, com que idade ocorreu a sua menopausa? _____	
Foi por histerectomia? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, você faz uso de reposição hormonal? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Você realiza consulta ginecológica anualmente? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Você realizou mamografia? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, com que idade realizou a 1ª mamografia? anos	
Você pratica atividade física? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	
Se sim, qual (ou quais)? _____	
Quantas vezes por semana?	
E há quanto tempo por vez? _____ E há	
Você fuma? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não	

Se sim, há quanto tempo?
Quantos cigarros por dia você fuma?
Se não, você já fumou? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não
Se sim, por quanto tempo?
Quantos cigarros por dia você fumava?
Etilismo? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não
Há alguém na sua família que tem (ou teve) CA de mama? 1:( ) Sim 2:( ) Não
Se sim, qual o seu grau de parentesco com esta pessoa? 1: ( ) mãe 6: ( ) prima 1º Grau 2: ( ) filha 7: ( ) tia 2º Grau 3: ( ) avó 8: ( ) prima 2º Gr. 4: ( ) irmã 5: ( ) tia 1º Grau
Existe alguém em sua família que tem ou já teve outro tipo de câncer? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não
Se sim, Qual o câncer?
Se sim, qual o seu grau de parentesco com esta pessoa? 1: ( ) pai/mãe 6: ( ) primo 1º Grau 2: ( ) filho 7: ( ) tio 2º grau 3: ( ) avô/avó 8: ( ) primo 2º grau 4: ( ) irmão/irmã 5: ( ) tio 1º Grau
Qual a renda mensal da família (em reais)? _____
Quantas pessoas moram com você? _____

### Informações coletadas apenas para as pacientes com câncer de mama

Data da cirurgia: ____/____/_____.
Tipo de cirurgia:
Diagnóstico de CA de mama? 1: ( ) Sim 2: ( ) Não
Se sim, qual o tipo de tratamento? 1: ( ) quimioterapia 2: ( ) radioterapia 3: ( ) mastectomia
Grau de Estadiamento? 1:( )Grau I 2:( )Grau II 3:( )Grau III 4:( ) Grau IV 5:( ) Grau V

### Dados antropométricos

Peso Usual:	Peso Atual:	Altura:
Circ. Braquial:	Prega Tricipital:	
Circ. Quadril:	Circ. Abdominal:	Circ. Cintura:

**ANEXO B – Questionário de retorno**

Nome da paciente: \_\_\_\_\_ Data da entrevista: \_\_\_\_\_

**Radioterapia** ( ) Sim ( ) Não

Se sim, quantas sessões foram realizadas? \_\_\_\_\_

Permanece em tratamento? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo concluiu o tratamento? \_\_\_\_\_

Procedimento cirúrgico

Há quanto tempo foi realizado? \_\_\_\_\_

Qual procedimento cirúrgico? \_\_\_\_\_

**Quimioterapia** ( ) Sim ( ) Não

Se sim, quantas sessões foram realizadas? \_\_\_\_\_

Forma de administração: \_\_\_\_\_

Permanece em tratamento? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo concluiu o tratamento? \_\_\_\_\_

**Tamoxifeno** ( ) Sim ( ) Não

Inibidor da aromatase ( ) Sim ( ) Não

**Herceptin** ( ) Sim ( ) Não

Se sim, há quanto tempo iniciou o tratamento? \_\_\_\_\_

Permanece em tratamento? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo concluiu o tratamento? \_\_\_\_\_

Medicamentos associados ao tratamento antineoplásico

( ) antiemético ( ) corticoide ( ) protetor gástrico ( ) Outro?

Qual? \_\_\_\_\_

Reações colaterais devido ao tratamento (anotar número de vezes ao lado)

Lesões Orais ( ) Diarreia ( ) Constipação ( ) Edema ( ) Fadiga ( )

Náusea ( ) Vômito ( ) Anorexia ( ) Dificuldade de mastigação ( )

Disfagia ( ) Boca seca (xerostomia) ( )

Outra ( ) Qual? \_\_\_\_\_

**Desenvolveu algum tipo de aversão alimentar?** ( ) Sim ( ) Não

Quais? \_\_\_\_\_

Houve inclusão de alimentos ou suplementos, complementares ou produtos

homeopáticos ou polivitamínicos após o diagnóstico? ( ) Sim ( ) Não

Qual? \_\_\_\_\_

Desde quando utiliza? \_\_\_\_\_

Permanece utilizando? \_\_\_\_\_

Quando interrompeu o uso? \_\_\_\_\_

**Instituição de Saúde onde realizou o tratamento:**

\_\_\_\_\_ Contato: \_\_\_\_\_  
Médico responsável: \_\_\_\_\_

## ANEXO C - Parecer do comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Maternidade Carmela Dutra



ESTADO DE SANTA CATARINA  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
MATERNIDADE CARMELA DUTRA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS EM SERES HUMANOS

### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS - CEP

#### FORMULÁRIO RELATO/PARECER DO PROJETO

Título do Projeto: "INFLUÊNCIA DO CONSUMO ALIMENTAR NO ESTRESSE OXIDATIVO DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA"

Relator:

CAE Nº:

Nomes dos Pesquisadores: Patrícia F. Di Pietro, Gabriele Rockenboch, Cláudia Ambrósio

#### PROTOCOLO

1. Objetivo(s) do Estudo:	
2. Material e Método	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos
3. Número de Indivíduos e Método de Seleção	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos
4. Medidas a Serem Obtidas	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos
5. Forma de Armazenamento e Avaliação dos Dados - Confidencialidade	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos
6. Tempo de Duração do Estudo	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos
7. Relação Risco-benefício	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos <input type="checkbox"/> Não se aplica
8. Procedimentos de Desconforto e Distresse	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos <input type="checkbox"/> Não se aplica
9. Grau de Risco	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos <input type="checkbox"/> Não se aplica
10. Compensação/Arranjos Financeiros	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input checked="" type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos <input type="checkbox"/> Não se aplica
11. Indenização	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados <input type="checkbox"/> Inadequados <input type="checkbox"/> Ausentes <input type="checkbox"/> Incompletos <input type="checkbox"/> Não se aplica





ESTADO DE SANTA CATARINA  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
MATERNIDADE CARMELA DUTRA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS EM SERES HUMANOS

Título do Projeto: "INFLUÊNCIA DO CONSUMO ALIMENTAR NO ESTRESSE OXIDATIVO DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA"

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Informações ao indivíduo a ser pesquisado (incluindo todo o procedimento, medidas a serem obtidas, riscos e benefícios e, desconforto).	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados	<input type="checkbox"/> Inadequados	
	<input type="checkbox"/> Ausentes	<input type="checkbox"/> Incompletos	<input type="checkbox"/> Não se aplica
2. Uso da linguagem para escrever o Formulário de Consentimento.	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados	<input type="checkbox"/> Inadequados	
	<input type="checkbox"/> Ausentes	<input type="checkbox"/> Incompletos	<input type="checkbox"/> Não se aplica
3. Acompanhamento assistencial. Permissão de desistência	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados	<input type="checkbox"/> Inadequados	
	<input type="checkbox"/> Ausentes	<input type="checkbox"/> Incompletos	<input type="checkbox"/> Não se aplica
4. Produção de fotografias, filmagens, etc. Verificar se houve permissão para obtenção destes e, a forma de sigilo do material (e.g. fotos).	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados	<input type="checkbox"/> Inadequados	
	<input type="checkbox"/> Ausentes	<input type="checkbox"/> Incompletos	<input type="checkbox"/> Não se aplica
5. Elaboração de questionários.	<input checked="" type="checkbox"/> Adequados	<input type="checkbox"/> Inadequados	
	<input type="checkbox"/> Ausentes	<input type="checkbox"/> Incompletos	<input type="checkbox"/> Não se aplica

Comentários:

Assinatura do Relator

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa:

<input checked="" type="checkbox"/> APROVADO
<input type="checkbox"/> APROVADO, COM PENDÊNCIA
<input type="checkbox"/> RETIRADO
<input type="checkbox"/> APROVADO E ENCAMINHADO A CONEP/MS
<input type="checkbox"/> REPROVADO

Florianópolis, 06/05/2008

Assinatura da Presidente



## ANEXO D - Parecer do comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Santa Catarina



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Pro - Reitoria de Pesquisa  
Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos

**CERTIFICADO** Nº 082

O Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) da Pro-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584/GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o conteúdo no Regimento Interno do CEPSH, CERTIFICA que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

**APROVADO**

PROCESSO: 099/08 FR-179678

TÍTULO: Influência do consumo alimentar no estresse oxidativo de mulheres com câncer de mama.

AUTORES: Patricia Faria Di Pietro, Gabriele rockenbach e Claudia Ambrosi.

DEPARTAMENTO.: Nutrição/UFSC.

FLORIANÓPOLIS, 30 de Maio de 2008.

Coordenador do CEPSH - Prof. Washington Portela de Souza

## ANEXO E - Parecer do comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Centro de Pesquisas Oncológicas



ESTADO DE SANTA CATARINA  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
CENTRO DE PESQUISAS ONCOLÓGICAS - CEPON  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



### DECLARAÇÃO

Declaro que o Comitê de Ética em Pesquisa do CEPON, em reunião realizada em 06 de novembro de 2009, referente ao **PROL. 015/2009** "Influência do Consumo Alimentar no Estresse Oxidativo de Mulheres com Câncer de Mama", após análise, aprovou a complementação de informações no CEPON, da pesquisa que vem sendo desenvolvida na Maternidade Carmela Dutra em parceria com a Universidade Federal de Santa Catarina e aprovada no CEP daquela instituição sob o nº 099/08 IR - 179678.

Florianópolis, 06 de novembro de 2009.

Crystian W. C. Saraiva  
Coordenador do CEP-CEPON

**ANEXO F - Termo de consentimento livre e esclarecido**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)  
Resolução n. 196 de 10 de outubro de 1996, segundo o Conselho Nacional de Saúde.

A Universidade Federal de Santa Catarina, através das pesquisadoras **Patrícia Faria Di Pietro**, professora do Departamento de Nutrição, Claudia Ambrosi e Daisy Galvan, alunas do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, está desenvolvendo a pesquisa **INFLUÊNCIA DO CONSUMO ALIMENTAR NO ESTRESSE OXIDATIVO DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA**.

O objetivo desta pesquisa é investigar a relação entre a alimentação e estresse oxidativo (análise do dano celular no sangue) em mulheres com câncer de mama em dois momentos: 1) na ocasião em que forem realizados os exames, punção e/ou cirurgia do nódulo suspeito; 2) após o término do tratamento.

Serão realizadas entrevistas pelas nutricionistas, nos dois momentos de avaliação da pesquisa, com o objetivo de verificar as características pessoais, clínicas, socioeconômicas e de alimentação, além da avaliação de medidas corporais (peso, altura, circunferências e dobras cutâneas). A coleta de sangue será realizada por profissional da área de enfermagem com experiência e também ocorrerá nos dois momentos. Se necessário, ainda serão consultados os prontuários para a complementação de informações necessárias para a pesquisa.

Este estudo não trará nenhum risco para a sua integridade física ou moral. Os materiais para coleta sanguínea serão descartáveis. Apenas poderá ocorrer uma sensação de dor (suportável) durante a coleta sanguínea.

Garantimos que as informações fornecidas serão utilizadas apenas neste trabalho sem a identificação das participantes.

Sua participação é voluntária, podendo desistir a qualquer momento do estudo, sem qualquer consequência para você, sendo que não receberá nenhum tipo de indenização pela participação na pesquisa.

Caso tenha alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato através do telefone (48) 3721-8014.

Eu, \_\_\_\_\_, fui esclarecida sobre a pesquisa “INFLUÊNCIA DO CONSUMO ALIMENTAR NO ESTRESSE OXIDATIVO DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA” e aceito participar livremente da mesma.

Florianópolis, \_\_\_ de \_\_\_ de 2010.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador