



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

**Associação de marcadores inflamatórios e antioxidantes com  
excesso de peso em mulheres com câncer de mama submetidas à  
quimioterapia**

**Aluna: Letícia Lopes Dantas Santos**

**Orientadora: Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia**

**Coorientador: Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho**

**UBERLÂNDIA - MG**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

**Associação de marcadores inflamatórios e antioxidantes com  
excesso de peso em mulheres com câncer de mama submetidas à  
quimioterapia**

**Aluna: Letícia Lopes Dantas Santos**

**Orientadora: Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia**

**Coorientador: Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho**

**Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de  
Uberlândia como parte dos  
requisitos para obtenção do Título  
de Mestre em Genética e  
Bioquímica.**

**UBERLÂNDIA - MG**

**2019**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S237 2019	<p>Santos, Leticia Lopes Dantas, 1992- Associação de marcadores inflamatórios e antioxidantes com excesso de peso em mulheres com câncer de mama submetidas à quimioterapia [recurso eletrônico] : Estudo prospectivo / Leticia Lopes Dantas Santos. - 2019.</p> <p>Orientadora: Yara Cristina de Paiva Maia. Coorientador: Luiz Ricardo Goulart Filho. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Genética e Bioquímica. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2212">http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2212</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Genética. I. de Paiva Maia, Yara Cristina, 1975-, (Orient.). II. Goulart Filho, Luiz Ricardo, 1966-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.</p>
--------------	---

CDU: 575

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**Associação de marcadores inflamatórios e antioxidantes com  
excesso de peso em mulheres com câncer de mama submetidas à  
quimioterapia**

**ALUNA:** Letícia Lopes Dantas Santos

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Presidente:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Yara Cristina de Paiva Maia (Orientadora)

**Examinadores:** Dr<sup>ª</sup> Maria Carliana Mota (Membro Externo)  
Dr<sup>ª</sup>. Geórgia das Graças Pena (Membro Interno)  
Dr<sup>ª</sup> Kely Raspante Teixeira (Suplente Membro Externo)  
Dr<sup>ª</sup> Cláudia Mendonça Rodrigues (Suplente Membro Interno)

**Data da Defesa:** 12 / 07 / 2019

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Dissertação foram contempladas.

  
\_\_\_\_\_  
YARA CRISTINA DE PAIVA MAIA

*Dedicado à minha família.*

## AGRADECIMENTOS

Gratidão, palavra tão pequena e usada para definir algo que nos faz tão bem. Sou grata a Deus por tamanho privilégio que me tem concedido em estudar. Agradeço por seu amor e cuidado em todos os momentos.

Agradeço à minha família, vocês são muito especiais. Não existem palavras para expressar a gratidão que tenho pela vida da minha mãe. Obrigada, pois mesmo antes que eu pudesse entender seu amor, você já me amava, e até hoje não mede esforços por suas filhas. Seu apoio é fundamental.

Agradeço ao meu esposo Kelrison por estar sempre ao meu lado e carinhosamente me incentivando a ir além.

Agradeço em especial minha querida orientadora e madrinha Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Yara Cristina de Paiva Maia. Muito obrigada por tantas dádivas do saber que tem compartilhado conosco. Eu e a Alinne fomos suas primeiras alunas na UFU e olhando para trás vejo que aprendemos muito desde então.

Agradeço ao meu coorientador Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho pelo incentivo de sempre e por disponibilizar o Laboratório de Nanobiotecnologia para o desenvolvimento de nossos projetos.

Obrigada ao grupo de pesquisas em Biologia Molecular e Nutrição (BioNut), especialmente à Alinne e à Isis, que tenho hoje como amigas muito especiais.

Agradeço às pacientes e aos funcionários do Hospital de Clínicas de Uberlândia que colaboraram, ao setor de Ginecologia e Obstetrícia e ao querido Dr. Donizetti William Santos por ser nosso parceiro e colaborador. Agradeço aos professores e servidores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica (PPGGB).

Agradeço às agências de fomento FAPEMIG, CAPES e CNPq.

*“Você não fará coisas inacreditáveis  
sem um sonho inacreditável.”  
(JOHN ELIOT)*

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Epidemiologia e etiologia do câncer de mama.....	1
1.2	Diagnóstico e estágios do CM.....	3
1.3	Aspectos moleculares e anatômicos da mama com carcinoma .....	6
1.4	Inflamação crônica e câncer .....	8
1.5	Índice Inflamatório Dietético (DII) .....	11
1.6	Espécies reativas de oxigênio (ROS).....	12
1.7	Antioxidantes e Capacidade Antioxidante Total da Dieta (CATd) .....	16
1.8	Reconfiguração metabólica dos tumores e principais vias metabólicas relacionadas ao estado redox.....	18
2	OBJETIVOS.....	22
2.1	Objetivo Geral .....	22
2.2	Objetivos Específicos .....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	23
3.1	Desenho do Estudo e Aspectos Éticos .....	23
3.2	Tamanho Amostral e Critérios de Elegibilidade.....	23
3.3	Coleta de dados e material biológico .....	24
3.4	Extração do RNA total do sangue periférico, Transcrição Reversa e qPCR.....	24
3.5	Determinação de biomarcadores de estado redox plasmático.....	27
3.6	Parâmetros dietéticos.....	28
3.7	Busca de prontuários após o fim do segmento .....	31
3.8	Análises Estatísticas .....	31
4	RESULTADOS.....	32
4.1	Caracterização da população de estudo .....	32
4.2	Determinação do consumo de antioxidantes e DII .....	34

4.3	Avaliação do impacto dos efeitos adversos e do tempo de quimioterapia na CATd.....	36
4.4	Marcadores inflamatórios em sangue periférico.....	38
4.5	Marcadores antioxidantes plasmáticos .....	38
4.6	Associação de marcadores antioxidantes ao nível transcricional de marcadores inflamatórios .....	39
4.7	Associação de excesso de peso com os marcadores inflamatórios e antioxidantes .....	41
4.8	CATd e DII em metástases pós-tratamento .....	44
5	DISCUSSÃO.....	45
6	CONCLUSÃO .....	53
	REFERÊNCIAS.....	54
	ANEXOS.....	65

## RESUMO

O tipo de câncer mundialmente mais comum entre as mulheres é o de mama. A inflamação crônica e o desbalanço redox, ou seja, o desequilíbrio em um sistema bioquímico em relação ao seu estado reduzido versus o seu estado oxidado, são fortemente influenciados pela alimentação e estado nutricional além de fatores de risco para processos de progressão e metástase tumorais. A quimioterapia antineoplásica (QT) é um método de tratamento contra tumores que utiliza agentes quimioterápicos com atuação sistêmica, os quais podem causar efeitos adversos. No entanto, a comunidade científica carece de dados a respeito da contribuição da ingestão de nutrientes antioxidantes, consumo de alimentos pró-inflamatórios, marcadores inflamatórios e antioxidantes sanguíneos para o sucesso do tratamento em mulheres com câncer de mama (CM) submetidas à QT. Devido à complexa relação estabelecida entre dieta e câncer, estudar o papel dos componentes alimentares no curso da doença é de extrema relevância para a melhor compreensão das numerosas funções individuais e dos seus efeitos combinados, benéficos ou não para a saúde. O objetivo do estudo foi associar marcadores inflamatórios e antioxidantes com o estado nutricional em mulheres com CM submetidas à QT. Trata-se de um estudo prospectivo e as avaliações foram realizadas com 55 mulheres em três momentos: T0, período após a administração do primeiro ciclo de QT; T1, período após a administração do ciclo intermediário; e T2, período após a administração do último ciclo de QT. Quanto à caracterização das participantes do estudo, 61,8% (n=34) são mulheres na pós-menopausa; 96,4% (n=53) são casos de carcinoma ductal; 58,1% (n=32) são subtipo molecular luminal A/luminal B; 25,4% (n=14) foram classificados como estadios clínicos IIB; 58,2% (n=32) foram classificados no grau histológico G2; e ao menos 54,6% são mulheres com excesso de peso. O Índice Inflamatório Dietético, do inglês *Dietary Inflammatory Index* (DII) e a Capacidade Antioxidante Total da dieta (CATd) foram calculados, bem como o consumo individual de antioxidantes na dieta. Foi observada uma expressiva redução no consumo de nutrientes antioxidantes em mulheres com CM em QT entre T0 e T2 e um expressivo aumento no DII. Identificou-se, por meio dos instrumentos modificados QLQ-C30 e seu módulo para câncer de mama QLQ-Br23, que aquelas mulheres que apresentaram efeitos adversos (apetite reduzido, náusea, constipação, boca seca, alteração de paladar)

sem associação com o tempo da QT, ou associado ao tempo da QT (vômito), apresentaram menor CATd. Ao final da QT (T2) foram coletadas amostras de sangue das pacientes, nas quais foi encontrada associação entre menores níveis de Glutathione Redutase (GR) e maior transcrição de Interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ( $19,27 \pm 4,50$ ;  $p < 0,001$ ), Interleucina-6 (IL-6) ( $17,48 \pm 14,53$ ;  $p = 0,744$ ), Interleucina-10 (IL-10) ( $275,90 \pm 146,35$ ;  $p = 0,085$ ) e Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ( $32,59 \pm 15,72$ ;  $p = 0,082$ ). A associação entre menores níveis de glutathione reduzida (GSH) e maior transcrição de IL-6 ( $17,26 \pm 16,35$ ;  $p = 0,789$ ), IL-10 ( $338,12 \pm 163,48$ ;  $p = 0,045$ ) e TNF- $\alpha$  ( $38,26 \pm 17,15$ ;  $p = 0,047$ ), confirmando assim o papel de destaque do sistema glutathione. Foram observados maiores níveis transcricionais das citocinas pró-inflamatórias e menores níveis das enzimas relacionadas ao estado redox no plasma em mulheres com excesso de peso em relação às mulheres sem excesso de peso, sendo estatisticamente significativa a diferença entre os grupos para GR (média mulheres sem excesso de peso= $26,88$  U/mg; média mulheres com excesso de peso= $18,81$  U/mg;  $p = 0,039$ ). Mulheres que apresentaram metástase pós-tratamento possuíam CATd abaixo da mediana das demais, ainda que este indicador não nos permita inferir de forma direta sobre a eficácia do tratamento. Assim, este estudo fornece conhecimento relevante e que aponta a presença de baixos níveis antioxidantes e níveis inflamatórios elevados, associando-os com excesso de peso em mulheres submetidas à QT. Estes resultados poderão contribuir para a prática clínica e ampliar o conhecimento sobre parâmetros antioxidantes e inflamatórios, nutricionais e moleculares.

**Palavras-chave:** câncer de mama; quimioterapia; inflamação; estado redox; dieta.

## ABSTRACT

The most common type of cancer among women is breast cancer. Chronic inflammation and redox imbalance, ie imbalance in a biochemical system relative to its reduced state versus its oxidized state, are strongly influenced by diet and nutritional status as well as risk factors for tumor progression and metastasis processes. Antineoplastic chemotherapy (CT) is a treatment method for tumors that use chemotherapy agents with systemic action, which can cause adverse effects. However, the scientific community lacks data on the contribution of antioxidant nutrient intake, pro-inflammatory food intake, inflammatory markers and blood antioxidants to treatment success in women with breast cancer (BC) undergoing CT. Due to the complex relationship established between diet and cancer, studying the role of food components in the course of disease is of extreme relevance for better understanding the numerous individual functions and their combined effects, both beneficial and unhealthy. The objective of the study was to associate inflammatory and antioxidant markers with nutritional status in women with BC submitted to CT. This was a prospective study and the evaluations were performed with 55 women at three moments: T0, period after administration of the first CT cycle; T1, period after administration of the intermediate cycle; and T2, period after administration of the last CT cycle. Regarding the characterization of the study participants, 61.8% (n = 34) are postmenopausal women; 96.4% (n = 53) are cases of ductal carcinoma; 58.1% (n = 32) are luminal A / luminal B subtype; 25.4% (n = 14) were classified as clinical stage IIB; 58.2% (n = 32) were classified in histological grade G2; and at least 54.6% are overweight women. The Dietary Inflammatory Index (DII) and the Total Antioxidant Capacity of the diet (CATd) were calculated as well as the individual consumption of antioxidants in the diet. An expressive reduction in the consumption of antioxidant nutrients was observed in women with BC in CT between T0 and T2 and an expressive increase in DII. The QLQ-C30 and its QLQ-Br23 breast cancer modulus were identified by means of the QLQ-Br23 modifying instruments, which were those women who had adverse effects (reduced appetite, nausea, constipation, dry mouth, taste disturbance) with no association with time of the CT, or associated to the CT time (vomit), presented lower CATd. At the end of CT (T2), blood samples were collected from patients, in which an association between lower levels of Glutathione Reductase (GR) and higher transleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) was found

( $19.27 \pm 4.50$ ; Interleukin-10 (IL-10) ( $275.90 \pm 146.35$ ,  $p = 0.085$ ), and Interleukin-10 (IL-10) of Tumor Necrosis  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ( $32.59 \pm 15.72$ ;  $p = 0.082$ ). The association between lower levels of reduced glutathione (GSH) and increased transcription of IL-6 ( $17.26 \pm 16.35$ ,  $p = 0.789$ ), IL-10 ( $338.12 \pm 163.48$ ,  $p = 0.045$ ), and TNF - $\alpha$  ( $38.26 \pm 17.15$ ,  $p = 0.047$ ), thus confirming the prominent role of the glutathione system. Higher transcriptional levels of proinflammatory cytokines and lower levels of plasma redox-related enzymes were observed in overweight women compared to non-overweight women, and the difference between the groups for GR was statistically significant (mean women without overweight = 26.88 U/mg, mean overweight women = 18.81 U/mg,  $p = 0.039$ ). Women who had metastasis after treatment had a CATd below the median of the others, although this indicator does not allow us to directly infer the effectiveness of the treatment. Thus, this study provides relevant knowledge and points to the presence of low levels of antioxidants and high inflammatory levels, associating them with excess weight in women submitted to CT. These results may contribute to clinical practice and increase knowledge about antioxidant, inflammatory, nutritional and molecular parameters.

**Keywords:** breast cancer; chemotherapy; inflammation; redox state; diet.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Adriamicina e Ciclofosfamida
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
ARE	<i>Antioxidant Responsive Element</i>
B2M	$\beta$ -2-Microglobulina
CAT	Catalase
CATd	Capacidade antioxidante total da dieta
cDNA	Desoxirribonucleico Complementar
CEP	Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos
CM	Câncer de mama
CMF	Ciclofosfamida, Metotrexato e 5-Fluoracil
DCIS	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
DEPC	Dietil Pirocarbonato
DII	<i>Dietary Inflammatory Index</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNTP	Desoxirribonucleotídeo Fosfatado
DTT	Ditiotreitol
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EORTC	<i>European Organization Research and Treatment of Cancer</i>
ER	Receptor de estrogênio
ER-	Receptor de estrogênio negativo
ER+	Receptor de estrogênio positivo
FAC	Adriamicina, Ciclofosfamida e 5-Fluoracil
FOXO	<i>Forkhead box O</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
G6PDH	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GCL	Glutamato-cisteína-ligase
GPx	Glutathiona Peroxidase
GR	Glutathiona Redutase
GSH	Glutathiona reduzida
GSS	GSH sintetase

GSSG	Glutathiona oxidada
HER2	Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano
HIF1	fator 1 de transcrição indutível por hipóxia
IDH	Isocitrato desidrogenase
IF	Imunofluorescência
IHQ	Imuno-histoquímica
IL-10	Interleucina-10
IL-1 $\beta$	Interleucina-1 $\beta$
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corporal
INCA	Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
ISH	Hibridização <i>in situ</i>
ME	Enzima málica
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de Magnésio
MMLV-RT	Transcriptase Reversa do Vírus da Leucemia
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotideo fosfatada reduzido
NK	<i>Natural killer</i>
NR	Não relatado
Nrf2	fator 2 relacionado ao eritróide
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
PPP	Via das pentoses fosfato
PR	Receptor de progesterona
PR-	Receptor de progesterona negativo
PR+	Receptor de progesterona positivo
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
QT	Quimioterapia
R24H	Recordatório de 24 horas
RNA	Ácido Ribonucleico
RNAse	Ribonuclease
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio

RT	Radioterapia
SAA	Amiloide A sérica
SOD	Superóxido Dismutase
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TBE	Tris-Borato-EDTA
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral
TNM	Tumor, Nódulo, Metástase
TPTZ	2,4,6–Tris(2-piridil)-s-triazina
TRIS	Trisaminometano
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
UTDL	Unidade terminal ducto-lobular
WHO	<i>World Health Organization</i>
XCT	Transportador de cistina / glutamato

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Epidemiologia e etiologia do câncer de mama

O vocábulo câncer é de origem grega (*karkinos*, que significa caranguejo) e refere-se a um conjunto de mais de cem doenças com características diversas, das quais as principais são divisão celular de forma descontrolada e capacidade de invadir tecidos e órgãos adjacentes (BRASIL, 2017). Um dado interessante é a sua existência em tempos remotos, pois há relatos que comprovam a presença de câncer em múmias egípcias há 3 mil anos antes de Cristo (BRASIL, 2017).

O processo de carcinogênese ou oncogênese ocorre de forma geral em três estágios: iniciação, no qual ocorrem mutações em genes chamados proto-oncogenes e genes supressores tumorais; promoção, no qual a célula alterada sofre ação de agentes oncopromotores; e progressão, caracterizada pela proliferação descontrolada e irreversível da célula (BRASIL, 2017). Adicionalmente, anormalidades numéricas e estruturais nos cromossomos e aneuploidia são comuns em células cancerígenas, e podem desempenhar um papel crítico no seu desenvolvimento (SWIERCZYNSKI et al., 2014).

Desde a iniciação até a progressão do tumor, além de mutações genéticas, ocorrem diversas alterações epigenéticas, como hipometilação de alguns genes, aumentos frequentes na metilação do promotor de ilhas CpG e mudanças na ocupação do nucleossomo (YOU; JONE, 2012).

Nas últimas décadas, o câncer converteu-se em um evidente problema de saúde pública (BRAY et al., 2018). Segundo a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), a qual faz parte da Organização Internacional de Saúde (WHO), ocorreram 18,1 milhões de novos casos de câncer e 9,6 milhões de mortes em todo o mundo devido essa enfermidade em 2018, uma quantidade alarmante (BRAY et al., 2018). Até o ano de 2030, é esperado que o número anual de óbitos devido ao câncer chegue a 13 milhões (TURNER et al., 2013).

O tipo de câncer mais comum entre as mulheres é o de mama, o qual ocupa a segunda posição entre os mais frequentes mundialmente, totalizando cerca de 29% de todos os novos casos neoplásicos e é causa de 14% de todas as mortes de mulheres por câncer (LUKONG et al., 2017). Segundo dados do Instituto Nacional

do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), estima-se para o biênio 2018-2019 a ocorrência de aproximadamente 600 mil casos novos de câncer no Brasil. Dentre estes, é esperado que cerca de 60 mil sejam de mama (BRASIL, 2017).

A incidência primária de câncer de mama (CM) aumenta ano após ano, o que aliado aos avanços terapêuticos possibilita que este seja o maior grupo de sobreviventes de neoplasias malignas em todo o mundo (SKOUROLIAKOU et al., 2017). No entanto, as sobreviventes de CM têm risco cerca de duas a cinco vezes maior de recidiva (SKOUROLIAKOU et al., 2017).

Diversos elementos estão envolvidos no desenvolvimento do CM, tais como mecanismos genéticos poligênicos, epigenéticos e ambientais (ADKISON; BROWN, 2012). Dessa forma, constitui-se como uma doença crônica não transmissível que possui grande heterogeneidade, observada em todos os níveis, desde macroscópico até molecular (ADKISON; BROWN, 2012; TANG et al., 2014).

Quanto aos múltiplos fatores de risco, são considerados principais na etiologia do CM menarca antes dos 12 anos, menopausa após os 55 anos, nuliparidade, primeira gravidez após os 30 anos, uso de alguns anticoncepcionais e terapia de reposição hormonal na menopausa, exposição à radiação ionizante, consumo de bebidas alcoólicas, dietas hipercalóricas, sedentarismo, e predisposição genética por mutações em determinados genes – principalmente por dois genes de risco elevado, BRCA1 e BRCA2 (BRASIL, 2017).

Historicamente, houve um grande aumento na incidência de CM nos países desenvolvidos após a industrialização (HANAHAN, 2014). O desenvolvimento econômico e a urbanização foram benéficos em diversos aspectos, porém também são acompanhados de maiores índices de obesidade, consumo de comidas processadas, sedentarismo e mudanças nos padrões reprodutivos (LUKONG, 2017). O posterior aumento da incidência nos países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, pode ser de forma semelhante devido aos fatores de risco associados às alterações nos hábitos de vida (HANAHAN, 2014; LUKONG, 2017).

Diante de tantos casos de CM, é importante se pensar em soluções para que o sofrimento associado seja limitado e para que os gastos públicos sejam menores (BRASIL, 2009). O diagnóstico precoce é a forma mais eficaz, pois a cada milímetro de crescimento do tumor, há uma redução em 1% na chance de cura da doença (BRASIL, 2009). Tal diagnóstico é obtido pelo conjunto: população consciente e alerta para os sinais e sintomas suspeitos; profissionais de saúde capacitados para

avaliações de suspeitas; e serviços de saúde preparados para garantir diagnóstico de qualidade (BRASIL, 2017).

## **1.2 Diagnóstico e estágios do CM**

A mamografia é o padrão ouro para o rastreamento do CM até o momento (BRASIL, 2016). Ela consiste em uma radiografia das mamas realizada por um mamógrafo, capaz de detectar alterações suspeitas visíveis no exame (BRASIL, 2016). O Instituto Nacional do Câncer preconiza que mulheres acima de 50 anos façam uma mamografia a cada dois anos (BRASIL, 2016).

Quando o risco para CM é considerado elevado, por exemplo mulheres com história familiar de CM em parentes de primeiro grau com diagnóstico abaixo de 50 anos, recomendam-se, além do exame clínico das mamas (conduta adotada para todas que procuram o serviço de saúde), a mamografia anual a partir de 35 anos (BRASIL, 2017).

A confirmação diagnóstica e determinação de subtipo molecular de CM ocorre por meio de exame histopatológico (AYDINER et al., 2018). A ferramenta padrão na atual prática de patologia oncológica é a imuno-histoquímica (IHQ), porém também podem ser utilizados os métodos imunofluorescência (IF) e hibridização in situ (ISH) (AYDINER et al., 2018). Busca-se identificar nas amostras de biópsias de mama receptores de estrógeno (ER), receptores de progesterona (PR), receptores tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2) e o marcador de proliferação celular Ki-67, características essenciais para a escolha do tratamento a ser adotado posteriormente (AYDINER et al., 2018).

Nesse sentido, todas as áreas contendo tumores em uma dada lâmina de preparação histológica devem ser avaliadas, e a porcentagem de positividade e intensidade de coloração das células para os marcadores deve ser registrada e relatada no resultado (AYDINER et al., 2018).

O ER é um fator de transcrição nuclear capaz de regular o crescimento, proliferação e diferenciação celular no epitélio mamário (AYDINER et al., 2018). Possui valor prognóstico, sendo o biomarcador mais importante de resposta clínica a terapias hormonais (AYDINER et al., 2018). O gene do PR é regulado por

estrógeno, e sua expressão, portanto, indica uma via de ER funcional (AYDINER et al., 2018).

O gene HER-2 (ERBB2) está localizado no cromossomo 17 e codifica a proteína p185, um receptor do fator de crescimento na superfície do epitélio mamário normal (AYDINER et al., 2018). Aproximadamente 15 a 20% dos casos de CM apresentam superexpressão desse receptor, condição que associa-se positivamente com características histológicas agressivas e mau prognóstico (AYDINER et al., 2018). O anticorpo monoclonal humanizado trastuzumabe (Herceptin) é utilizado na prática clínica especificamente para pacientes com tumores de mama HER-2 positivo, pois tem como alvo seu domínio extracelular (AYDINER et al., 2018).

O antígeno Ki-67 é o marcador imuno-histoquímico de proliferação celular mais utilizado na prática, expresso nas fases tardias G1, S e G2/M do ciclo celular (AYDINER et al., 2018). Apresenta utilidade clínica como um marcador prognóstico, preditivo e para avaliação de implementação de terapia sistêmica neoadjuvante (AYDINER et al., 2018). Assim, pode corroborar um fenótipo luminal A no contexto de elevado conteúdo de ER e PR (quando índice Ki-67 é muito baixo); um fenótipo luminal B, independente da porcentagem de conteúdo ER/PR (quando índice Ki-67 é muito elevado); e quase todos os tumores triplo-negativos de alto grau possuem um índice Ki-67 > 50% (AYDINER et al., 2018).

Os subtipos moleculares do CM são classificados de acordo com a expressão dos quatro marcadores: luminal A (ER e/ou PR positivo / HER-2 negativo / baixo Ki-67), luminal B (ER e/ou PR positivo / HER2-negativo / elevado Ki-67), HER-2 positivo luminal B (ER e/ou PR positivo/HER2 superexpresso / qualquer Ki-67), HER2-positivo não-luminal (ER e PR ausentes /HER2 superexpresso), e triplo negativo (ER e PR ausentes/HER2-negativo) (LI et al., 2015).

Em busca de uma ferramenta padrão de avaliação prognóstica para pacientes com CM recém-diagnosticado, o sistema de estadiamento TNM (dimensão do tumor primário [T], extensão de disseminação para linfonodos regionais [N], presença ou ausência de metástase distante [M]) foi descrito pelo *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) desde a década de 1940 (EDGE et al., 2019). Este sistema foi introduzido para refletir o risco de recorrência do câncer e aplica-se a carcinomas invasivos e *in situ* com ou sem microinvasão (AYDINER et al., 2018; EDGE et al., 2019).

De acordo com este sistema, T compreende: TX, tumor primário não pode ser avaliado; T0, não há evidências de tumor primário; Tis (DCIS), carcinoma ductal in situ; Tis (Paget), doença de Paget do mamilo não associada a carcinoma invasivo e/ou carcinoma ductal in situ no parênquima mamário subjacente; T1, tumor  $\leq$  20mm em sua maior dimensão; T2, tumor  $>$  20mm mas  $\leq$  50mm em sua maior dimensão; T3, tumor  $>$  50mm em sua maior dimensão; e T4, tumor de qualquer tamanho com extensão direta à parede torácica e/ou à pele (nódulos macroscópicos) (GIULIANO, et al., 2017).

Quanto à letra N: NX; linfonodo regional não pode ser avaliado; N0, linfonodo regional não tem metástase; N1, micro metástase ou metástase nos linfonodos axilares 1-3, e/ou linfonodos mamários internos clinicamente negativos com micrometástases ou macrometástases por biópsia de linfonodo sentinela; N2; metástase nos linfonodos axilares 4-9, ou linfonodos mamários internos ipsilaterais positivos na ausência de metástases linfonodais axilares; N3, metástase em 10 ou mais linfonodos axilares, ou em linfonodos infraclaviculares (axilares nível III), ou linfonodos mamários internos ipsilaterais positivos por exames de imagem na presença de um ou mais linfonodos axilares positivos de nível I e II, ou em mais de 3 linfonodos axilares e micrometástases ou macrometástases por biópsia de linfonodo sentinela em linfonodos mamários internos ipsilaterais clinicamente negativos ou em linfonodos supraclaviculares ipsilaterais (GIULIANO, et al., 2017).

A letra M refere-se: M0, sem evidência clínica ou radiográfica de metástases à distância; M1, metástases à distância detectadas por meios clínicos e radiográficos e/ou metástases histologicamente comprovadas maiores que 0,2mm (GIULIANO, et al., 2017).

Atualmente, o sistema TNM está em sua oitava edição, e classifica em estadios de I a IV o CM, de acordo com as combinações T, N e M (0: carcinoma “in situ”; I: invasão local inicial; II: tumor primário limitado ou invasão linfática regional mínima; III: tumor local extenso ou invasão linfática regional extensa; IV: tumor localmente avançado ou presença de metástases) (EDGE et al., 2019). A classificação antes do início do tratamento é chamada estadio clínico (cTNM), baseada em exames de imagem (EDGE et al., 2019). Após a cirurgia ocorre o estadio patológico (pTNM), baseado no estadio clínico e em informações cirúrgicas e de exames histológicos (EDGE et al., 2019).

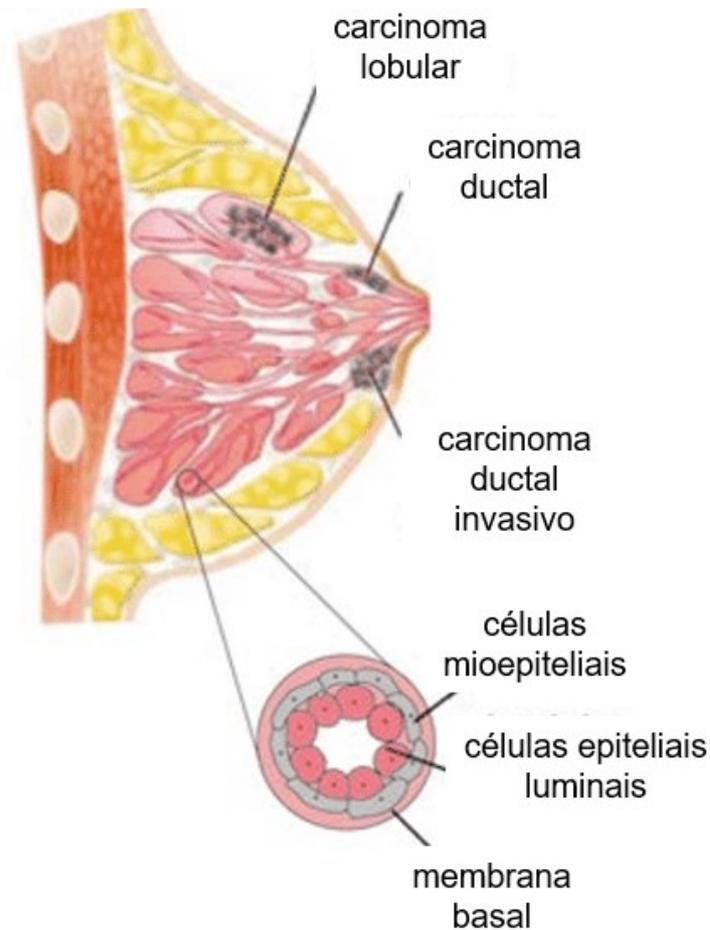
### 1.3 Aspectos moleculares e anatômicos da mama com carcinoma

Em relação aos aspectos anatômicos da mama humana, constitui-se basicamente de seis a dez sistemas de ductos principais, revestidos por uma dupla camada de epitélio cuboidal (BRASILEIRO-FILHO, 2006). Uma sucessiva ramificação dos ductos maiores, finalmente, leva à formação da unidade terminal ducto-lobular (UTDL) (BRASILEIRO-FILHO, 2006). A UTDL é considerada a unidade funcional da mama (BRASILEIRO-FILHO, 2006). Em mulheres adultas, o ducto terminal se ramifica em um conglomerado de pequenos ácinos, em forma de cacho de uva, para formar o lóbulo (BRASILEIRO-FILHO, 2006; KUMAR, 2010). Cada sistema ductal tipicamente ocupa mais de um quadrante das mamas e os sistemas extensivamente se sobrepõem um ao outro (BRASILEIRO-FILHO, 2006; KUMAR, 2010).

Os ductos e lóbulos da mama humana são revestidos por dois tipos celulares: células mioepiteliais, que repousam na membrana basal, e células epiteliais luminiais, que revestem o lúmen (KUMAR, 2010). Existem também dois tipos de estroma mamário, os estromas interlobular e intralobular, os quais cruzam informações com o epitélio mamário (KUMAR, 2010).

Apesar das evidências de que todos os tumores mamários se originam de células da UTDL, persiste o uso dos termos lobular e ductal, para descrever ambos os carcinomas, in situ e invasivos (**Figura 1**) (RIBEIRO, 2014). O tipo mais comum de CM é o carcinoma ductal invasivo, o qual pode disseminar-se e causar metástases em outros órgãos (KUMAR, 2010; RIBEIRO, 2014).

**Figura 1.** Origem anatômica do câncer de mama.



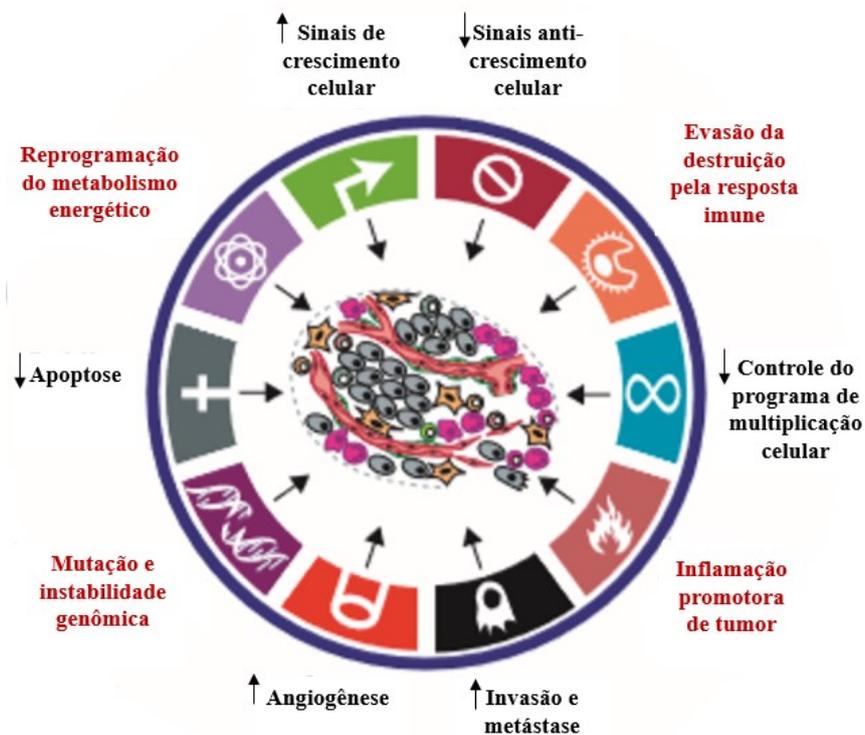
Fonte: adaptado de KONING, 2009.

Molecularmente, segundo Hanahan e Weinberg (2000), a progressão tumoral está associada com a ocorrência de seis capacidades funcionais (**Figura 2**): aumento dos sinais de crescimento celular, redução nos sinais de anti crescimento celular, aumento da invasão e metástase, redução do controle do programa de multiplicação celular, aumento da angiogênese e redução da apoptose. É importante destacar que os mesmos autores também propõem duas características habilitadoras, que são a instabilidade genômica, levando a diversidade genética, e a inflamação, relacionada de diversas formas às demais características (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Dois marcos emergentes para a progressão do câncer são a reprogramação do metabolismo energético e a evasão da resposta imune ao tumor (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Por conseguinte, estudos em diversos tumores, incluindo mama, próstata, cólon e melanoma, claramente estabeleceram existir um fator que intimamente afeta

etapas essenciais para o estabelecimento do câncer, sendo a base de muitas das capacidades necessárias para a progressão tumoral (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Tal fator, descrito no subtópico a seguir, denomina-se inflamação (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

**Figura 2.** Capacidades funcionais necessárias à progressão do tumor.



Fonte: Adaptada de HANAHAN & WEINBERG, 2011.

## 1.4 Inflamação crônica e câncer

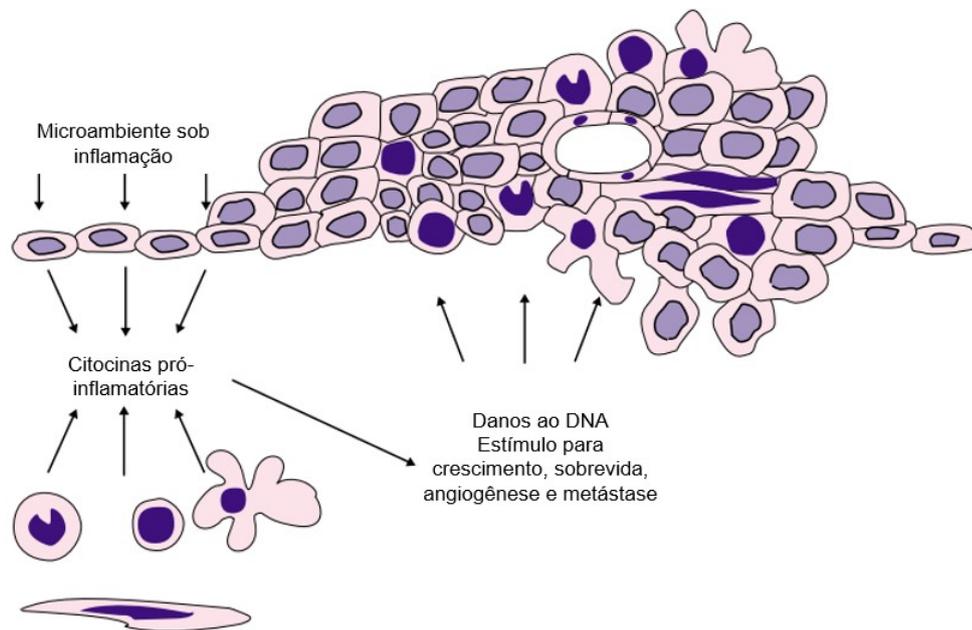
O microambiente desempenha um papel fundamental na promoção e progressão do câncer de mama (JEONG et al., 2019). Células inflamatórias, matriz extracelular, células endoteliais e fibroblastos compõem esse sistema, afetando direta e indiretamente as células tumorais (JEONG et al., 2019).

A inflamação crônica é um fator de grande relevância no microambiente tumoral, impactando nos processos de progressão e metástase (SUMAN et al., 2016). No início de 1863, Rudolf Virchow postulou que o câncer poderia ser originado por inflamação crônica (SUMAN et al., 2016). Diversos fatores de risco associados à inflamação, que podem se correlacionar com o câncer de mama,

incluindo envelhecimento, obesidade, consumo elevado de álcool, pós-menopausa, adiposidade, inatividade física e infecções subclínicas (SUMAN et al., 2016).

Como observado por Ben-Neriah e colaboradores (2011), diversas citocinas podem atuar de forma local em interações recíprocas de sinalização, e induzir mudanças na expressão gênica de células, alterando assim processos como o de proliferação celular, contribuindo para o desenvolvimento de câncer e disfunções celulares (**Figura 3**).

**Figura 3.** O microambiente sob inflamação contém citocinas com características pró-tumorais.



Fonte: adaptado de BALKWILL; MANTOVANI, 2001.

A Interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pró-inflamatória chave produzida no local da inflamação, juntamente com o seu receptor solúvel (sIL-6R alfa) (SUMAN et al., 2016). Sabe-se que quantidades elevadas de IL-6 no plasma e tecido podem conferir pior prognóstico ao paciente com câncer de mama (SUMAN et al., 2016; MA et al., 2017).

O Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) tem a capacidade de promover o crescimento e a migração tumoral (MA et al., 2017). Os níveis elevados de TNF- $\alpha$  circulantes no sangue periférico estão correlacionados com estádios tumorais mais elevados e metástases nos linfonodos (MA et al., 2017).

A interleucina-1 (IL-1) é principalmente produzida por fagócitos mononucleares e macrófagos (GERMANO et al., 2008). O estudo de Johnson (1993) demonstra que

existem duas formas desta interleucina, denominadas como IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , as quais apesar de apresentarem menos de 30% de homologia, são capazes de se ligarem em receptores celulares idênticos e exercerem as mesmas funções biológicas, todavia, a IL-1 $\beta$  consiste na principal forma biologicamente ativa secretada. A presença de IL-1 $\beta$  no microambiente tumoral está relacionada à maior ocorrência de metástases, proliferação celular e angiogênese (GERMANO et al., 2008).

A Interleucina 10 (IL-10) é considerada uma citocina com perfil anti-inflamatório, uma vez que inibe a expressão gênica e a produção de mediadores inflamatórios por células T e macrófagos (HAMIDULLAH et al., 2011). Em alguns tipos de câncer, a IL-10 pode desempenhar atividades tanto antitumorais quanto pró-tumorais (HAMIDULLAH et al., 2011). Acredita-se que o efeito antitumoral desta citocina seja provocado, ou pela atuação sobre as células *natural killer* (NK), ou pela atuação nas células T CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> (HAMIDULLAH et al., 2011).

Os adipócitos são células esféricas que armazenam gordura (MONTANARI, 2016). Seu diâmetro é de cerca de 70 $\mu$ m em pessoas magras e pode atingir 170 a 200 $\mu$ m em pessoas obesas (MONTANARI, 2016). As gotículas lipídicas unem-se, formando uma grande vesícula que comprime o núcleo contra a periferia da célula (MONTANARI, 2016).

A obesidade (do latim, *obesus*, gordura) pode ocorrer pela elevada proliferação dos precursores dos adipócitos (forma hipercelular ou hiperplásica) e/ou pelo aumento no volume das células adiposas (forma hipertrófica), ambas situações causadas por um excesso de ingestão calórica (MONTANARI, 2016). O indivíduo é considerado obeso quando a porcentagem de gordura excede a porcentagem média para a idade e o sexo (MONTANARI, 2016). O índice de massa corporal (IMC = peso/altura<sup>2</sup>) pode revelar excesso de peso, o que representa risco para a saúde, podendo gerar doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (MONTANARI, 2016).

De acordo com Simpson e Brown (2013), o maior risco de câncer de mama na pós-menopausa deve-se à produção de estrógeno pelas células adiposas. A síntese de estrógeno no tecido adiposo aumenta com a idade e é associada com a maior expressão de aromatase, estrógeno sintase (CYP19 p450), a enzima responsável pela biossíntese do estrógeno (BOWERS et al., 2015). Além disso, estudos sugerem que fatores inflamatórios gerados ao redor dos adipócitos estimulam a expressão da aromatase, o que pode contribuir para a iniciação e progressão de

tumores (RICHARDS et al., 2002; BOWERS et al., 2015; MADEDDU, et al., 2014; ZHAO et al., 2016).

## 1.5 Índice Inflamatório Dietético (DII)

Há evidências demonstrando que o consumo alimentar pode influenciar a inflamação, observadas por meio do Índice Inflamatório Dietético, do inglês *Dietary Inflammatory Index* (DII), o qual está associado à expressão de marcadores inflamatórios específicos: IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e proteína C reativa (SHIVAPPA et al., 2014). Assim, o DII é resultado de uma revisão de 1943 estudos publicados entre 1950 e 2010, relacionando um total de 45 parâmetros dietéticos aos biomarcadores inflamatórios (SHIVAPPA et al., 2014). Um maior escore DII indica uma dieta pró-inflamatória enquanto um menor escore DII indica uma dieta anti-inflamatória (SHIVAPPA et al., 2014; MOZHI, 2018).

O DII foi desenvolvido e validado para facilitar a pesquisa a respeito do efeito inflamatório da dieta sobre a saúde em humanos (CAVICCHIA et al., 2009). Um exemplo de dieta com perfil anti-inflamatório é a mediterrânea, rica em frutas, legumes, grãos integrais e peixes, com baixo consumo de carne vermelha e manteiga, e moderada em álcool e azeite (CAVICCHIA et al., 2009). Estão associados a ela baixos níveis de marcadores inflamatórios, como proteína C reativa (CAVICCHIA et al., 2009).

Uma dieta pró-inflamatória, ou seja, com DII elevado, tem como características principais ter quantidades elevadas de gordura saturada, açúcar refinado, carne vermelha, proteína, colesterol, gordura *trans*, além de ser pobre em frutas e vegetais (SHIVAPPA et al., 2015; MORADI, et al., 2018).

Uma dieta pró-inflamatória pode aumentar o risco para o desenvolvimento de doenças como diabetes, depressão, asma, doenças cardiovasculares, osteoarticulares, intestinais e diversos tipos de câncer (LIBBY, 2007). Um estudo realizado por Tabung e colaboradores (2018) relaciona uma dieta pró-inflamatória à uma maior ocorrência de câncer colorretal entre homens e mulheres. O mecanismo biológico exato que explica a relação entre DII e risco de câncer não foi completamente explicado até o momento (MORADI, et al., 2018).

No entanto, sabe-se que a expressão elevada de marcadores inflamatórios se correlaciona com maior risco de desenvolvimento de câncer e pior prognóstico para pacientes oncológicos (SHIVAPPA et al., 2015; SHIVAPPA et al., 2017; DATTA et al., 2019). Dessa forma, a possibilidade de mensurar o quanto uma dieta é pró ou anti-inflamatória demonstra vantagens ao paciente e à equipe médica, pois trata-se de um fator de risco modificável que pode até mesmo intervir no tratamento (MICHELS et al., 2007; CARLSEN et al., 2010).

Estudos indicam que o maior DII está relacionado positivamente ao risco de CM em mulheres tanto na pré como na pós-menopausa (SHIVAPPA et al., 2015; MORADI, et al., 2018). Além disso, hábitos alimentares pró-inflamatórios durante a adolescência e idade adulta jovem refletem maior propensão ao desenvolvimento de CM pré-menopausa (HARRIS et al., 2017).

A inflamação relacionada ao tecido adiposo pode, ainda, induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), causando danos ao DNA e mutações (CANLI et al., 2017). As células mielóides são a principal fonte de ROS na inflamação aguda e crônica bem como na inflamação induzida por tumor (CANLI et al., 2017).

## **1.6 Espécies reativas de oxigênio (ROS)**

A teoria dos radicais livres de Gershman em 1954, sugeriu que formas parcialmente reduzidas de oxigênio possuem efeitos deletérios às células (BISHT; DADA, 2017). Atualmente, sabe-se que nem todas as ROS são radicais livres, mas possuem em comum o fato de apresentarem oxigênio com propriedades reativas (BISHT; DADA, 2017).

As ROS são extremamente reativas por extraírem um elétron de uma molécula próxima para completar seus próprios orbitais, iniciando reações em cadeia (SMITH et al., 2007). O  $O_2$  tem a capacidade de receber um total de quatro elétrons, o que o reduz à água (SMITH et al., 2007). Quando ele recebe um elétron, o superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) é formado (SMITH et al., 2007). Quando o superóxido recebe um elétron, ele é reduzido a peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (SMITH et al., 2007). O radical hidroxil ( $OH^{\bullet}$ ) é formado no passo posterior de redução de um elétron na sequência (SMITH et al., 2007). Finalmente, a aceitação do último elétron reduz o radical hidroxil à água ( $H_2O$ ) (SMITH et al., 2007).

Estima-se que cerca de 2% do oxigênio consumido na cadeia transportadora de elétrons das mitocôndrias é reduzido apenas parcialmente (GORRINI et al., 2013). Dessa forma, as mitocôndrias são uma importante fonte não enzimática de ROS (GORRINI et al., 2013). Os peroxissomos estão envolvidos na eliminação e produção de ROS, por meio da enzima catalase e da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, respectivamente (GORRINI et al., 2013). O retículo endoplasmático constitui um ambiente oxidante que favorece a formação de ligações dissulfeto e o enovelamento de proteínas, porém aumenta os níveis de ROS pela oxidação de proteínas (GORRINI et al., 2013).

Existem diversas reações enzimáticas que geram ROS, incluindo as que envolvem NADPH-oxidase, xantina oxidase, óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), enzimas do citocromo P450, lipooxigenase e ciclooxigenase (GORRINI et al., 2013).

O equilíbrio em um sistema bioquímico em relação ao seu estado reduzido versus o seu estado oxidado denomina-se estado redox (CAIRNS et al., 2011). Em organismos aeróbios saudáveis, existe um balanço entre a produção de ROS e defesas antioxidantes (SOUZA, 2017). Entretanto, o excesso de ROS pode alterar este equilíbrio, levando ao processo conhecido como estresse oxidativo (SOUZA, 2017).

Portanto, a manutenção do estado redox é crucial para a homeostase celular, pois a oxidação excessiva prejudica componentes celulares como lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos (GORRINI et al., 2013).

Os radicais livres atacam principalmente os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) das membranas celulares. O dano causado é denominado peroxidação lipídica, que se propaga como uma reação em cadeia, atingindo PUFA próximos (NIMSE; PAL, 2015). O processo inicia-se com a formação de um radical ácido graxo, que rapidamente recebe um oxigênio e torna-se um radical peroxil, o qual é o responsável por continuar a reação em cadeia (NIMSE; PAL, 2015).

Além do dano direto aos componentes celulares, o desbalanço na produção de ROS está intimamente ligado aos mecanismos básicos necessários para o desenvolvimento de muitas doenças humanas, inclusive o câncer (BISHT; DADA, 2017).

As ROS estão envolvidas na proliferação celular, por transativação independente de ligante de receptor tirosino kinase e ativação de ERK; na promoção da invasão tecidual e disseminação metastática, devido a liberação de

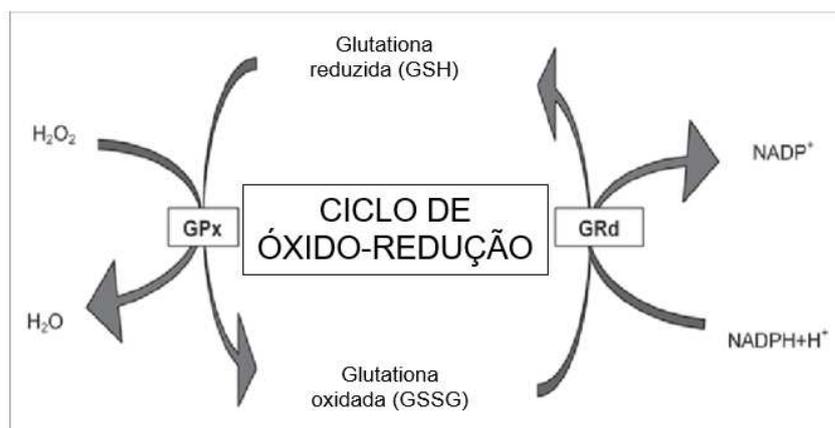
metaloproteinases e transição epitélio-mesênquima; além de estarem diretamente envolvidas na mutagênese e instabilidade genômica (FIASCHI; CHIARUGI, 2012).

Existem diversos fatores que são conhecidos por induzirem a maior produção de ROS (GORRINI et al., 2013). Dentre eles, a hipóxia é apontada como um dos principais, surgindo de um desequilíbrio entre a oferta e o consumo de oxigênio (GORRINI et al., 2013). Sabe-se que a hipóxia estimula a produção de ROS pelas mitocôndrias, e essas ROS, por sua vez, ativam o fator 1 de transcrição indutível por hipóxia (HIF1) (GORRINI et al., 2013). O HIF1 é um fator de transcrição heterodimérico que promove a angiogênese, a sobrevivência, a glicólise e a progressão tumoral (GORRINI et al., 2013).

Problemas no enovelamento de proteínas dentro do retículo endoplasmático, local de oxidação onde as proteínas nascentes adquirem a correta conformação tridimensional, podem desencadear o estresse do retículo endoplasmático e levar ao acúmulo de ROS (GORRINI et al., 2013). A liberação de cálcio, induzida por este estresse e pela despolarização da membrana interna mitocondrial, também pode ocasionar a maior produção de ROS mitocondriais (GORRINI et al., 2013).

No combate aos ROS, as células possuem um sistema antioxidante com mecanismos enzimáticos e não enzimáticos, que atenuam os danos promovidos pelo estresse oxidativo (SOUZA, 2017). Dentre os enzimáticos, que são altamente específicos para um substrato, a catálise da dismutação do ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio é realizada pela enzima Superóxido Dismutase (SOD) (HAIDA; HAKIMAN, 2019). O  $H_2O_2$  é então neutralizado pela enzima Catalase (CAT) e pelo sistema glutationa (HAIDA; HAKIMAN, 2019). A Glutaciona Peroxidase (GPx) é uma enzima capaz de reduzir o  $H_2O_2$  a partir da oxidação da glutaciona reduzida (GSH), formando glutaciona oxidada (GSSG), que pode voltar a ser GSH pela ação da enzima Glutaciona Redutase (GR) como representado na **Figura 4** (SOUZA, 2017; HAIDA; HAKIMAN, 2019).

**Figura 4.** Ciclo de oxido-redução da glutatona (GSH).



Fonte: adaptado de SOLOVERA et al., 2009.

A enzima SOD interessantemente pode ser classificada em três grupos, dependendo do seu co-fator e sítio de ação: Cobre/Zinco (CuZn)-SOD (SOD1), Manganês (Mn)-SOD (SOD2), e extracelular CuZnSOD (EC-SOD ou SOD3) (GALADARI et al., 2016).

Além das defesas antioxidantes enzimáticas, existem também as não-enzimáticas, as quais não possuem especificidade, neutralizando assim os radicais livres em geral (SOUZA, 2017). Diversas moléculas antioxidantes podem ser obtidas pela dieta, tais como vitamina A (retinol), vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferol), ácido úrico, ácido lipóico, compostos fenólicos, além de minerais como ferro, cobre, zinco e manganês, que atuam como cofatores para diferentes enzimas antioxidantes (SOUZA, 2017; HAIDA; HAKIMAN, 2019).

A glutatona reduzida (GSH) é a molécula antioxidante não enzimática mais abundante nas células, essencial para a homeostase redox (GORRINI et al., 2013). A síntese de GSH acontece a partir da ligação de três aminoácidos (GORRINI et al., 2013). Primeiro, ocorre a ligação entre glutamato e cisteína, catalisada pela enzima glutamato-cisteína-ligase (GCL), seguida da ligação do aminoácido glicina, pela GSH sintetase (GSS), sendo assim um tripeptídeo (GORRINI et al., 2013).

O metabólito nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatado reduzido (NADPH) é essencial para muitos processos celulares (GORRINI et al., 2013). A sua produção ocorre de três formas: via das pentoses fosfato (PPP), que envolve a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH); conversão de piruvato em malato pelas

isoformas da enzima málica (ME); conversão do isocitrato em  $\alpha$ -cetoglutarato pelas isoformas da isocitrato desidrogenase (IDH) (GORRINI et al., 2013).

Uma ligação entre ROS e transformação celular foi identificada pela primeira vez em 1981, quando se descobriu que células tumorais se proliferam mais rapidamente sob efeito da insulina, aumentando os níveis de  $H_2O_2$  intracelular (OBERLEY et al., 1988).

Pode-se dizer que a grande maioria das drogas usadas para terapia do câncer aumentam a geração de ROS (SANGEETHA et al., 1990). A oxidação de constituintes celulares em geral causa o estresse de células e, induzida por terapia, tem o potencial de promover a morte de células tumorais por torná-las mais vulneráveis (FIASCHI; CHIARUGI, 2012). No entanto, a adaptação ao estresse oxidativo, devido a reprogramação do metabolismo energético, parece ser o principal mecanismo de resistência a quimioterapia (QT) e radioterapia (RT) (FIASCHI; CHIARUGI, 2012).

Drogas como taxanos (paclitaxel e docetaxel), alcalóides de vinca (vincristina e vinblastina) e antimetabólitos (anti-folatos) promovem a liberação de citocromo c das mitocôndrias, induzindo morte celular, e interferem na cadeia de transporte de elétrons, resultando na produção de radicais superóxidos (GORRINI et al., 2013). Complexos de platina (por exemplo, cisplatina, carboplatina e oxaliplatina) e antraciclina (por exemplo, doxorubicina, epirrubicina e daunorrubicina) geram níveis extremamente elevados de ROS (GORRINI et al., 2013).

## **1.7 Antioxidantes e Capacidade Antioxidante Total da Dieta (CATd)**

Antioxidantes são moléculas que podem inibir, quelar ou eliminar os radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio, dessa forma retardando ou inibindo danos celulares (HAIDA; HAKIMAN, 2019).

Uma das formas de categorização dos antioxidantes é baseada em hidrofília e hidrofobia (NIMSE; PAL, 2015). Os antioxidantes hidrossolúveis são hidrofílicos e encontram-se nos fluidos celulares, como citosol ou matriz extracelular (NIMSE; PAL, 2015). Os antioxidantes lipossolúveis são hidrofóbicos e localizam-se, predominantemente, nas membranas celulares e lipoproteínas (NIMSE; PAL, 2015).

Os antioxidantes também podem ser denominados como pequenas ou grandes moléculas (NIMSE; PAL, 2015). As pequenas moléculas antioxidantes atuam limpando todo radical livre (*radical scavenging*) (NIMSE; PAL, 2015). Os principais antioxidantes nessa categoria são vitamina C, vitamina E, carotenoides e glutathiona (GSH) (NIMSE; PAL, 2015). As grandes moléculas antioxidantes são as defesas enzimáticas (NIMSE; PAL, 2015).

A dieta é considerada o principal contribuinte externo para a regulação do estado redox plasmático (SOUZA, 2016). O consumo de frutas e hortaliças, por exemplo, traz benefícios associados, principalmente, aos antioxidantes presentes nestes alimentos (SOUZA, 2016).

Acredita-se que os antioxidantes originários da alimentação, além de atuar por si mesmos *in vivo*, também podem induzir mecanismos relacionados à defesa antioxidante endógena, longevidade, manutenção celular e reparo de DNA, reduzindo assim os riscos de desenvolvimento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (CARLSEN et al., 2010). No entanto, entender o complexo papel dos componentes alimentares no câncer é um desafio, pois podem chegar a mais de 25 mil bioativos em uma dieta, muitos dos quais com potencial de modificar diversos processos tumorais (CARLSEN et al., 2010).

Existem estudos *in vitro* que sugerem a ingestão elevada de antioxidantes à redução do risco de desenvolvimento de câncer (CALAF et al., 2018). No entanto, outros estudos observacionais não mostram resultados consistentes, pois uma correlação positiva entre ingestão de nutrientes sabidamente antioxidantes e maior risco de câncer pode ser encontrada (NISSEN et al., 2003; PANTAVOS et al., 2015). Nesse sentido, é importante ressaltar que diversos componentes que contribuem para a atividade antioxidante *in vitro* podem ser pouco absorvidos *in vivo*, devido à biodisponibilidade em alimentos ser altamente variável (SOUZA, 2016).

Devido à complexa relação estabelecida entre dieta e câncer, estudar o papel dos componentes alimentares no curso da doença é de extrema relevância para a melhor compreensão das numerosas funções individuais e dos seus efeitos combinados, benéficos ou não para a saúde (CARLSEN et al., 2010). Nesse sentido, nota-se uma lacuna no conhecimento científico até o momento sobre quais recomendações devem ser seguidas em uma dieta específica para pacientes com CM durante o processo de QT e sobre qual o melhor método para abordar o aporte

antioxidante, pois alguns estudos apresentam cada nutriente antioxidante separadamente e outros apresentam um índice total (CARLSEN et al., 2010; PANTAVOS et al., 2015; SOUZA, 2016).

A capacidade antioxidante total da dieta (CATd) é um instrumento utilizado neste propósito, visando analisar o total de antioxidantes presentes na dieta e os efeitos sinérgicos entre eles, pois a cooperação entre diversos antioxidantes fornece maior proteção contra as espécies reativas (SOUZA, 2016).

A análise da CATd pode ser feita pelo ensaio *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), que mede a redução de ferro na presença de antioxidantes da amostra, em condições ácidas (pH 3,6) (HAIDA; HAKIMAN, 2019). O valor de FRAP é expresso como mmol de equivalentes de trolox por gramas de alimento (mmolTE/g) (SOUZA, 2016). O método se baseia na capacidade de redução do  $Fe^{+3}$  a  $Fe^{+2}$ , que é quelado pelo TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) para formar o complexo  $Fe^{+2}$ -TPTZ, de coloração azul intensa (HAIDA; HAKIMAN, 2019).

## **1.8 Reconfiguração metabólica dos tumores e principais vias metabólicas relacionadas ao estado redox**

As principais vias de sinalização oncogênicas convergem para a adaptação das células tumorais, favorecendo seu crescimento e sobrevivência (CAIRNS et al., 2011). Nesse sentido, é considerado um *hallmark* do câncer as alterações no metabolismo celular (CAIRNS et al., 2011).

O metabolismo celular dos tumores é alterado sob três perspectivas principais: geração rápida de ATP para manter o estado de energia; aumento da biossíntese de macromoléculas; e manutenção rigorosa do estado redox celular apropriado (CAIRNS et al., 2011).

As células tumorais tendem a passar pela reprogramação metabólica de Warburg, caracterizada pelo aumento da atividade de glicólise aeróbia e pela desregulação do metabolismo de lipídeos (CAIRNS et al., 2011; FIASCHI; CHIARUGI, 2012). Esse é o fenótipo metabólico melhor descrito observado nos tumores (FIASCHI; CHIARUGI, 2012). Como resultado, muitas células transformadas obtêm uma grande quantidade de energia da glicólise aeróbica,

convertendo a maior parte da glicose em lactato (CAIRNS et al., 2011; FIASCHI; CHIARUGI, 2012).

A grande liberação de lactato pelas células tumorais contribui para um microambiente com pH ácido, que está associado com maior proliferação de células tumorais, sobrevivência, migração, invasão, angiogênese e supressão da resposta imune anticâncer (MARTEL et al., 2016).

Entretanto, embora a glicólise aeróbica (o efeito Warburg) seja o fenótipo metabólico mais bem documentado das células tumorais, não é uma característica universal de todos os tumores (CAIRNS et al., 2011). Além disso, mesmo nos tumores glicolíticos, a fosforilação oxidativa não é completamente interrompida (CAIRNS et al., 2011). Aminoácidos, ácidos graxos e até mesmo o lactato têm demonstrado funcionar como combustíveis para células tumorais em determinados contextos genéticos e microambientais (CAIRNS et al., 2011). A regulação dessa flexibilidade metabólica é um desafio que exige maiores estudos sobre a complexidade do câncer (CAIRNS et al., 2011).

Os tumores sólidos geralmente possuem duas subpopulações de células: células tumorais hipóxicas e oxigenadas (MARTEL et al., 2016). Um modelo sugere que as células hipóxicas produzem piruvato, precursor do lactato (MARTEL et al., 2016). O lactato é exportado e usado por células tumorais oxigenadas presentes no microambiente tumoral, sendo reconvertido em piruvato e totalmente oxidado através do ciclo do ácido cítrico e da fosforilação oxidativa (MARTEL et al., 2016). A produção de lactato em células tumorais hipóxicas é favorecida devido a inativação da enzima piruvato desidrogenase, levando a um desacoplamento entre a glicólise e o ciclo do ácido cítrico (MARTEL et al., 2016). Dessa forma, segundo este modelo, os tumores são simbioses metabólicas pelos quais as células tumorais hipóxicas e oxigenadas regulam mutuamente o acesso aos metabólitos energéticos (MARTEL et al., 2016).

Referente às vias de sinalização afetadas por ROS, a PI3K é uma das vias de sinalização mais comumente alteradas nos tumores humanos (CAIRNS et al., 2011). Essa via é ativada por mutações em genes supressores de tumor, nos componentes do próprio complexo PI3K ou por sinalização aberrante das tirosinas quinases receptoras (CAIRNS et al., 2011). A sua ativação fornece sinais de crescimento e sobrevivência às células tumorais (CAIRNS et al., 2011).

O efetor mais bem estudado da PI3K é o AKT1 (também conhecido como PKb) (CAIRNS et al., 2011). A AKT1 é um importante direcionador do fenótipo glicolítico tumoral e estimula a geração de ATP, gerando a capacidade bioenergética necessária para responder aos sinais de crescimento (CAIRNS et al., 2011).

O complexo HIF1 é um fator de transcrição ubiquamente expresso responsável por mudanças na expressão gênica durante a resposta a pouco oxigênio (ENGIN, 2017; LI et al., 2019). Além de sua estabilização em condições hipóxicas, o HIF1 também pode ser ativado em condições normóxicas por vias de sinalização oncogênicas (ENGIN, 2017; LI et al., 2019).

Existem numerosos reguladores, positivos e negativos, que têm um impacto significativo na expressão de genes relacionados às defesas antioxidantes (GORRINI et al., 2013). Compreender as vias específicas que são afetadas por esses controladores é essencial para abordagens sobre como modular os níveis de ROS (GORRINI et al., 2013).

Um importante fator de transcrição nesse contexto chama-se fator 2 relacionado ao eritróide (Nrf2), amplamente ativado em resposta a estímulos redox, que protege contra o estresse oxidativo ao induzir a transcrição de genes que expressam elementos envolvidos em processos antioxidantes por meio da ligação com um local específico do DNA, o qual é denominado *Antioxidant Responsive Element* (ARE) (RUSHMORE et al., 1991). Tem o potencial de ser um alvo para intervir em uma variedade de doenças, tais como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, pulmonares e inflamatórias crônicas (RUSHMORE et al., 1991; SINGH et al., 2010).

Indiscutivelmente, o Nrf2 é o mais importante regulador da expressão de moléculas que têm funções antioxidantes dentro da célula (ZHU, et al., 2016). Sob condições de repouso, o Nrf2 é degradado constitutivamente pelo complexo de ligase 1 (KEAP1) - Cullina 3 (CUL3) E3 associada a ECH (ZHU, et al., 2016). Sob condições de estresse oxidativo, a KEAP1 é oxidada e modificada para não se ligar ao Nrf2, levando à estabilização do Nrf2 e sua translocação para o núcleo (ZHU, et al., 2016). O Nrf2 é o único controlador das enzimas responsáveis pela produção de GSH, que é o cofator antioxidante mais abundante dentro da célula (ZHU, et al., 2016). Este fator de transcrição impulsiona a expressão das duas subunidades que compõem o complexo glutamato-cisteína-ligase (GCL), responsável pela etapa limitante da velocidade na síntese de GSH (ZHU, et al., 2016).

O Nrf2 também induz a expressão do transportador de cistina / glutamato XCT. Em troca do glutamato, o XCT importa a cistina, importante na produção de GSH, para dentro da célula (GORRINI et al., 2013). Ocorre a redução de cistina à cisteína dentro da célula, e dessa forma pode ser encontrada como selenocisteína e incorporada nos centros catalíticos ativos de enzimas antioxidantes, como GPx (GORRINI et al., 2013). A XCT tem sido implicada como uma enzima chave que suporta o desenvolvimento de tumores pois é estabilizada pelo CD44, um antígeno associado ao tumor expresso na superfície celular que também é encontrado em células com potencial de iniciar tumores (GORRINI et al., 2013).

Embora conhecidos principalmente como indutores de parada do ciclo celular e morte celular, a família de fatores de transcrição FOXO (*forkhead box O*) e o supressor de tumor p53 desempenham um papel importante na prevenção do estresse oxidativo por induzir expressão gênica antioxidante (GORRINI et al., 2013).

O gene da suscetibilidade ao câncer de mama 1 (BRCA1) demonstra estar relacionado ao controle do estado redox (GORRINI et al., 2013). A modulação *in vitro* dos níveis de BRCA1 controla a expressão de vários genes antioxidantes regulados por Nrf2 e reduz o dano ao DNA induzido por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e a apoptose (GORRINI et al., 2013). A capacidade do BRCA1 de regular positivamente o Nrf2 tem consequências importantes para a sua função de supressão de tumor específica do tecido, e as células deficientes em BRCA1 sofrem de elevados níveis de ROS devido a uma resposta ineficiente do Nrf2 (GORRINI et al., 2013).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Associar os marcadores inflamatórios e antioxidantes com o estado nutricional em mulheres com câncer de mama (CM) submetidas à quimioterapia (QT).

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Classificar o estado nutricional a partir do Índice de Massa Corporal (IMC) das mulheres com câncer de mama em três tempos de quimioterapia (T0, T1, T2);
- Verificar se existe diferença na ingestão dos nutrientes antioxidantes e no escore de CATd em mulheres com câncer de mama em três tempos de quimioterapia (T0, T1, T2);
- Verificar o impacto dos efeitos adversos da quimioterapia, obtidos por meio dos instrumentos modificados QLQ-C30 e seu módulo para câncer de mama QLQ-Br23, na CATd em mulheres com câncer de mama em três tempos de quimioterapia (T0, T1, T2);
- Analisar os níveis de transcrição das citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  em sangue periférico de mulheres com câncer de mama ao término da quimioterapia (T2);
- Analisar marcadores relacionados ao estado redox no plasma de mulheres com câncer de mama ao término da quimioterapia (T2);
- Associar marcadores relacionados ao estado redox ao nível transcricional de marcadores inflamatórios ao término da quimioterapia (T2);
- Associar o excesso de peso com os marcadores inflamatórios e antioxidantes;
- Verificar se a ocorrência de metástases pós-tratamento está associada com marcadores inflamatórios e antioxidantes da dieta após três anos do término da quimioterapia.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Desenho do Estudo e Aspectos Éticos**

O presente estudo prospectivo foi desenvolvido em 2014-15, em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos (protocolo no 721.977/14, adendo no 1.111.998/15) – **Anexo A**. Todo o estudo foi conduzido com base nas normas da Declaração de Helsinki e da Resolução CNS 466/12, com participação formalizada por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (**Anexo B**), após os devidos esclarecimentos.

Todas as mulheres com CM em QT elegíveis no período foram convidadas a participar desse estudo enquanto aguardavam a consulta médica no hospital. O tempo de seguimento variou de acordo com o regime quimioterápico, por cerca de 4 a 6 meses. As avaliações foram realizadas em três momentos: T0, período após a administração do primeiro ciclo de QT; T1, período após a administração do ciclo intermediário; e T2, período após a administração do último ciclo de QT.

### **3.2 Tamanho Amostral e Critérios de Elegibilidade**

O cálculo do tamanho amostral foi realizado com uso do software G\*Power, versão 3.1 (FAUL et al., 2007), considerando teste F ANOVA de uma via de medidas repetidas com tamanho do efeito intermediário de 0,25, nível alfa de 0,05, poder do teste de 95%, sendo um grupo de indivíduos e três medições. Um total de 43 mulheres seria necessário ao final do estudo, mas com ajuste de 20% para possíveis perdas, um mínimo de 52 mulheres foi requerido no tempo inicial (T0).

Como critérios de inclusão, definiu-se mulheres com 18 anos ou mais, com diagnóstico de CM e em primeiro ciclo de QT de primeira linha em T0. Não foram levados em consideração o estadiamento tumoral e a finalidade da quimioterapia (curativa, adjuvante, neoadjuvante ou paliativa). E, como critérios de exclusão, mulheres com idade inferior a 18 anos, sítio tumoral primário que não fosse a mama, tratamento antineoplásico que não incluísse QT, QT que não fosse o primeiro ciclo e incapacidade mental.

### **3.3 Coleta de dados e material biológico**

A partir de entrevistas e consulta a prontuários, foram obtidos os dados socioeconômicos, terapêuticos e clínicos das participantes do estudo.

No momento T2, foi coletado cinco mL de sangue periférico das pacientes para a realização de análises de biomarcadores plasmáticos inflamatórios e relacionados ao estado redox. Tal coleta ocorreu antes da infusão do quimioterápico em T2, não sendo necessário nenhum jejum prévio ou outra particularidade.

### **3.4 Extração do RNA total do sangue periférico, Transcrição Reversa e qPCR**

As amostras de sangue periférico foram centrifugadas por um período de 15 minutos, a temperatura de 4°C e rotação de 4000rpm. Ao final deste processo, obteve-se a formação de uma pequena camada de leucócitos e a separação do plasma sanguíneo, sendo este último transferido para um microtubo e armazenado à -20°C para realização de futuras análises.

A camada de leucócitos foi transferida para um tubo Falcon de 15mL, no qual adicionou-se 500µL de água DEPC. Posteriormente, a mistura foi invertida delicadamente até que se obtivesse uma homogeneização total. Em sequência, adicionou-se 3mL do reagente Trizol, encaminhando assim as misturas para agitação no Vórtex. A amostra provinda da agitação foi incubada por 5 minutos à temperatura ambiente, a fim de possibilitar a completa dissociação do complexo nucleoproteína.

Subsequentemente, adicionou-se 800µL de clorofórmio e a mistura foi novamente agitada e incubada por 10 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a amostra foi encaminhada para uma centrifugação de 15 minutos, a temperatura de 4°C e rotação de 12000xg. Após a centrifugação, transferiu-se 750µl da fase aquosa formada, junto a 750µl de Isopropanol, para um microtubo de 1.5mL. A mistura foi invertida delicadamente, até que se obtivesse uma homogeneização total, sendo posteriormente armazenada a -20°C por no mínimo 24 horas.

Concluído o tempo mínimo de 24 horas, a amostra foi então centrifugada, por um período de 15 minutos, a temperatura de 4°C e rotação de 12000xg. Em seguida, o sobrenadante formado foi descartado e a amostra foi lavada com Etanol 75%, sendo este processo de lavagem repetido no mínimo duas vezes.

Para a lavagem, empregou-se a centrifugação da amostra a uma rotação de 7500xg por um período de 5 minutos, descartado subsequentemente o sobrenadante. Posteriormente, deixou-se o *pellet* de RNA obtido, secar por um período de 10 minutos, sendo em seguida ressuscitado em 30µl de água DEPC. Do total obtido, alíquotou-se 5µl, dos quais 2µl foram destinados para a quantificação da amostra e 3µl para a realização da eletroforese em gel de agarose. Todas as alíquotas foram armazenadas a -80°C.

O produto da extração foi quantificado e avaliado por meio de leitura espectrofotométrica a 260nm. Paralelamente, o produto da extração também foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,5%, realizada em tampão TBE (45mM Tris-borato – pH 8,3 e 1mM EDTA). O perfil eletroforético foi visualizado em luz UV após uma hora à 110volts, sendo este documentado em sistema *ImageSystem* – VDS (Amersham Biosciences), a fim de proporcionar assim a avaliação da qualidade do RNA extraído.

Para a transcrição reversa foi utilizado 10µL de RNA total, 0.25µL de inibidor de RNase (Invitrogen), 0.2µL de MMLV-RT (Amersham Biosciences), 4µL de Tampão da MMLV-RT (Amersham Biosciences), 0.4µL de dNTPs (dGTP, dATP, dTTP e dCTP), 0.5µL de DTT e 1µL de *primer*. A solução foi incubada no Termociclador PTC-100 (MJ Research) à 37°C por uma hora. Reações controle, não contendo RNA, foram realizadas, a fim de verificar a presença de possíveis contaminantes exógenos. O cDNA obtido, foi estocado à -20°C para posterior amplificação.

A qualidade do cDNA foi avaliada pela amplificação de um fragmento de 536 pares de bases do gene constitutivo β-2-Microglobulina (B2M). Para esta reação foram utilizados Tampão da PCR 1X (20mM Tris-HCl – pH 8.0, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, glicerol 50% v/v), 0.4µL de dNTPs (Invitrogen), 1µL de *primer* (Invitrogen), 0.2µL de Platinum®Taq DNA polymerase (Invitrogen), 0.75µL de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen). Cada reação foi processada nas seguintes condições no Termociclador-PTC-100 (MJ Research Inc.): 95°C por 4 minutos, 35 ciclos de 94°C por 40 segundos, 59°C

por 50 segundos, 72°C por 50 segundos e 72°C por 10 minutos. O produto da reação foi analisado por eletroforese em gel de agarose.

Para se estabelecer o perfil transcricional dos marcadores IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF $\alpha$ , foram desenhados pares de oligonucleotídeos iniciadores para cada uma das sequências gênicas e para o gene endógeno B2M (**Tabela 1**). Foram empregados oligonucleotídeos, capazes de flanquear fragmentos nos tamanhos de 50 a 150 pares de base, e que foram considerados viáveis quantos aos padrões de amplificação segundo o software *Primer Express* versão 3.0 (Applied Biosystems). A especificidade dos oligonucleotídeos foi primeiramente avaliada em PCR convencional, para posteriormente serem utilizados na PCR em tempo real (qPCR).

As quantificações transcricionais relativas dos genes alvos (IL-1 $\beta$ ; IL-6; IL-10; TNF $\alpha$ ) em relação ao gene endógeno (B2M) foram estimadas por meio de qPCR a partir do cDNA obtido. As amostras foram amplificadas em duplicata e a detecção ocorreu a partir da emissão de fluorescência do corante de SYBRGreen, de acordo com o uso do kit Master Mix SYBR®Green PCR Core Reagents (Applied Biosystems).

**Tabela 1.** Sequência dos *primers* empregados na qPCR

<b>Primers</b>	<b>Sequência</b>
B2M	B2M F: AGCAGAGAATGGAAAGTCAAA
	B2M R: TGTTGATGTTGGATAAGAGAA
IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ F: ACAGGATATGGAGCAACAAGTGG
	IL-1 $\beta$ R: GGGCTTATCATCTTTCAACACGC
IL-6	IL-6 F: GATTCCAAAGATGTAGCCGCC
	IL-6 R: ATTTTCACCAGGCAAGTCTCCTC
IL-10	IL-10 F: ACCCACTTCCCAGGCAACC
	IL-10 R: TGGCAACCCAGGTAACCCTT
TNF $\alpha$	TNF $\alpha$ F: CAGGCGGTGCTTGTTCTT
	TNF $\alpha$ R: GGGGTTTCGAGAAGATGATCTGAC

**Legenda:** F – *primer forward*; R – *primer reverse*.

## **3.5 Determinação de biomarcadores de estado redox plasmático**

### **3.5.1 Níveis de glutathiona reduzida (GSH)**

Para a quantificação dos níveis de GSH, 150  $\mu\text{L}$  de amostra foram adicionados a 150  $\mu\text{L}$  de ácido metafosfórico e em seguida centrifugados a 7000  $\times g$  por 10 min. a 4°C. Retirou-se 30  $\mu\text{L}$  do sobrenadante, ao qual foi adicionado 185  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 8.0, contendo EDTA 5mM e 15  $\mu\text{L}$  de oftaldialdeído (1 mg/ml em metanol). Essa mistura foi incubada no escuro à temperatura ambiente por 15 min., e a fluorescência lida a 350 nm (excitação) e 420 nm (emissão). As concentrações de GSH foram calculadas utilizando uma curva padrão de GSH (0.001-0.1mM).

### **3.5.2 Atividade de Glutathiona Redutase (GR)**

A atividade de GR foi determinada a partir do consumo de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatado (NADPH) usando glutathiona oxidada (GSSG) como substrato. As amostras de plasma foram misturadas a 200  $\text{mmol L}^{-1}$  de tampão fosfato de sódio pH 7,5 contendo 6.3  $\text{mmol L}^{-1}$  de EDTA para inibir enzimas dependentes de metais, como metaloproteases, 10  $\text{mmol L}^{-1}$  de glutathiona oxidada e 3  $\text{mmol L}^{-1}$  de NADPH. O decaimento da concentração de NADPH foi avaliado por 10 min a 340 nm.

### **3.5.3 Atividade de Glutathiona Peroxidase (GPx)**

A atividade de GPx foi determinada a partir da redução de NADPH por GR, a qual reduz uma ponte dissulfeto da glutathiona criada pela GPx da amostra. As amostras de plasma foram incubadas com tampão GPx (100 $\text{mmol L}^{-1}$  de fosfato de potássio, pH 7.7, contendo 1  $\text{mmol L}^{-1}$  de EDTA para desativar enzimas dependentes de metal, como metaloproteases), 40  $\text{mmol L}^{-1}$  de ázida de sódio, 100  $\text{mmol L}^{-1}$  de GSH diluído em ácido metafosfórico 5%, 4.5 UGR diluído em tampão GPx, 2  $\text{mmol L}^{-1}$  de NADPH diluído em bicarbonato de sódio 5%, e 0.5  $\text{mmol L}^{-1}$

tertbutil. O decaimento da concentração de NADPH foi avaliado por 10 min a 340 nm.

#### **3.5.4 Atividade de Superóxido Dismutase (SOD)**

A atividade da SOD é baseada na capacidade de auto-oxidação do pirogalol, um processo dependente do radical superóxido. A inibição da auto-oxidação do pirogalol ocorre na presença de SOD, cuja atividade pode ser indiretamente analisada em espectrofotômetro a 420 nm, em um meio contendo tampão Tris 50 mM com EDTA 1 mM pH 8.2, 80 U/mL de catalase, pirogalol 0.38 mM e 15 µl de amostra. Uma curva de calibração foi realizada utilizando SOD purificada como padrão. A inibição de 50% da auto-oxidação do pirogalol é definida como uma unidade de SOD.

#### **3.5.5 Atividade de Catalase (CAT)**

A atividade de catalase foi determinada baseada no monitoramento da decomposição do peróxido de hidrogênio a 240 nm, em um meio de reação contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 mM, tampão fosfato 10 mM (pH 7.0) e 10 uL de amostra. A leitura cinética foi realizada aplicando um comprimento de onda de 240 nm durante 10 minutos.

### **3.6 Parâmetros dietéticos**

#### **3.6.1 Recordatório de 24 horas**

A avaliação da dieta foi realizada por meio de dados obtidos a partir da aplicação por telefone de três Recordatórios de 24 Horas (R24H) (**Anexo C**) em dias não consecutivos, sendo um de final de semana, em cada tempo da QT, totalizando 9 R24H por participante. As chamadas telefônicas eram realizadas no intervalo entre os ciclos ( $\Delta t = 21$  dias), preferencialmente na segunda semana após a infusão para evitar os efeitos adversos agudos do tratamento. Este método define e quantifica todos os alimentos e bebidas consumidos no dia anterior à entrevista.

Os dados em medidas caseiras dos R24H foram convertidos em unidade de medidas (gramas ou mililitros) pelo *software* Dietpro® versão 5.7. Para a quantificação dos nutrientes, foi utilizado o *software* Nutrition Data System for Research (NDSR), adotando a referência internacional United States Department of Agriculture (USDA, 2005) e, para aqueles alimentos não encontrados nesta tabela, foi utilizada a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011).

Devido à variabilidade intrínseca do consumo alimentar, os valores referentes ao consumo de energia e nutrientes foram deatenuados, ou seja, ajustados pela variabilidade intra e interindividual, seguindo metodologia de Nusser et al. (1996) e utilizando o *software* PC-Side (Department of Statistics, Iowa State University, Iowa, USA). Posteriormente, a fim de corrigir as estimativas de nutrientes, esses foram ajustados pela energia média da amostra, pelo método residual (WILLET et al., 1997)

Foram contabilizados 16 nutrientes antioxidantes: vitamina A, betacaroteno, vitamina D, vitamina C, magnésio, ferro, zinco, selênio, ômega 6, ômega 3, isoflavonas, cobre, ácido glutâmico, glicina, luteína + zeaxantina e manganês.

### **3.6.2 Cálculo da CATd e DII**

A CATd e o DII foram calculados a partir dos dados obtidos nos nove R24H de cada paciente em QT. Em relação à CATd, a tabela de alimentos antioxidantes (CARLSEN et al., 2010), desenvolvida para o cálculo do conteúdo antioxidante total de dietas complexas, foi utilizada para a obtenção dos valores de FRAP dos alimentos. Ela contém mais de 3.100 alimentos, bebidas, especiarias, ervas e suplementos utilizados em todo o mundo.

No entanto, alguns alimentos em específico, presentes na alimentação da população brasileira, não constam na tabela de alimentos antioxidantes desenvolvida por Carlsen e colaboradores. Assim, demais autores foram pesquisados para a determinação do poder antioxidante dos seguintes itens brasileiros: feijão carioca, café, refrigerante de guaraná, chá mate tostado, açaí, coco, acerola, pequi e jabuticaba (TORRES; FARAH, 2016; LEÃO et al., 2017; BETTA et al., 2018).

Em relação ao cálculo da DII, seguiu-se o método de Shivappa e colaboradores (2014), ou seja, as informações obtidas por meio do R24H foram

enviadas ao banco de dados mundial regionalmente representativo que forneceu uma estimativa robusta de média e desvio padrão para cada um dos parâmetros analisados. Este banco de dados, desenvolvido pelo pesquisador colaborador Shivappa, é resultado de uma revisão de 1943 estudos publicados entre 1950 e 2010, relacionando um total de 45 parâmetros dietéticos aos biomarcadores inflamatórios IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e proteína C reativa (SHIVAPPA et al., 2014). A exposição de um indivíduo em relação à "média global padrão" passa a ser expressa como uma pontuação Z, pois a "média padrão" da quantidade relatada é subtraída e divide-se este valor pelo seu desvio padrão, convertendo-o posteriormente em percentual. Para obter uma distribuição simétrica com valores centrados em 0 (nulo) e limitados entre 21 (máximo anti-inflamatório) e 11 (máximo pró-inflamatório), cada pontuação percentual é duplicada e, em seguida, "1" é subtraído. O valor do percentil centrado para cada parâmetro de alimento é então multiplicado pelo seu respectivo "escore de efeito inflamatório específico dos parâmetros alimentares" para obter o "escore DII específico do parâmetro alimentar". Finalmente, todas as "pontuações DII específicas de parâmetros de alimentos" são somadas para criar o "escore geral de DII" para um indivíduo. Um maior escore DII indica uma dieta pró-inflamatória enquanto um menor escore DII indica uma dieta anti-inflamatória (SHIVAPPA et al., 2014).

### **3.6.3 Efeitos adversos da quimioterapia de importância nutricional**

Foram avaliados os seguintes efeitos adversos não hematológicos da QT com potencial efeito no risco nutricional: dor, falta de apetite, náusea, vômito, constipação, diarreia, fadiga, boca seca e alteração do paladar. Para tanto, utilizou-se dois instrumentos desenvolvidos pela *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC), o genérico QLQ-C30 (**Anexo D**) e seu módulo para câncer de mama QLQ-Br23 (**Anexo E**), nas suas versões em português do Brasil (MICHELS et al., 2013), mediante permissão da EORTC para uso em pesquisa científica. Para que fosse possível calcular a intensidade desses efeitos adversos, as escalas de Likert dos questionários QLQ-C30 e QLQ-Br23 foram adaptadas. Ao invés de variarem entre "1 e 4", considerou-se a faixa de "0 a 3", em que zero corresponde a ausência do sintoma. Dessa forma, quanto mais próximo de três, pior a intensidade do efeito adverso.

### **3.6.4 Avaliação do Estado Nutricional**

Foram avaliados os parâmetros antropométricos peso atual e estatura, seguindo protocolo da WHO (1995), para cálculo do índice de massa corporal (IMC), o qual foi classificado conforme preconizado pela WHO (2000), para adultas (idade > 20 anos e < 60 anos) e por Lipschitz (1994) para idosas ( $\geq 60$  anos).

Ainda, para fins de análise estatística, as mulheres com sobrepeso e obesidade foram agrupadas em “excesso de peso”, enquanto as demais em “sem excesso de peso”.

### **3.7 Busca de prontuários após o fim do segmento**

Os prontuários das pacientes foram pesquisados no Setor de Arquivo e Pesquisa do Hospital de Clínicas e no Setor de Arquivo do Hospital do Câncer período máximo até o término da redação do presente estudo (três anos). Os dados buscados foram os referentes à metástase após o final do último ciclo quimioterápico (T2).

### **3.8 Análises Estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Programa SPSS versão 21.0. Foram realizados testes de normalidade para as variáveis, sendo dessa forma possível definir se seriam realizados testes paramétricos ou não paramétricos. O teste ANOVA de uma via com medidas repetidas foi escolhido para a busca do perfil antioxidante nutricional e DII das mulheres nos três momentos de avaliação (T0, T1 e T2). Por meio do teste de Equações Estimadas Generalizadas (GEE) foi estimado o impacto dos efeitos adversos não hematológicos e do tempo de QT, bem como da interação efeitos adversos e tempo de QT, na Capacidade Antioxidante Total da Dieta (CATd). Foi também realizado o teste de Friedman nas análises.

A fim de correlacionar marcadores do estado redox aos níveis transcricionais de citocinas, foi realizado o teste de Modelos Lineares Generalizados (GLZM). O teste de Mann Whitney teve por objetivo verificar a diferença entre as médias de

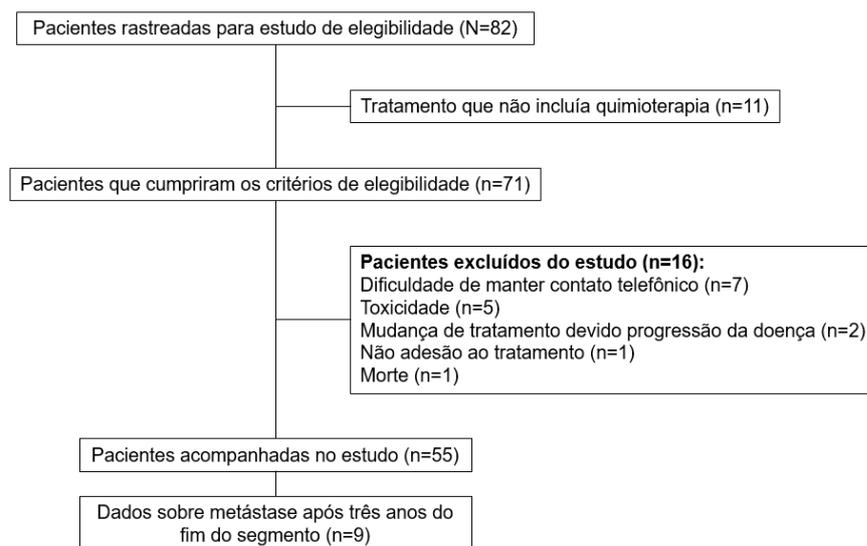
dois subgrupos, mulheres sem excesso de peso e com excesso de peso. O intervalo de confiança de 0,95 e valor de  $p < 0,05$  foram considerados para todos os testes.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Caracterização da população de estudo

O estudo foi realizado com 55 mulheres, com idade média de 51,5 anos  $\pm$  10,1 anos. A **Figura 5** apresenta o número de mulheres rastreadas, abordadas e recrutadas durante este estudo.

**Figura 5.** Diagrama reportando o número de mulheres com câncer de mama rastreadas, abordadas e recrutadas durante estudo em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015 (n=55).



A **Tabela 2** apresenta as características clínicas, hormonais e terapêuticas das participantes do estudo. A respeito das características hormonais, 61,8% (n=34) são mulheres na pós-menopausa. Quanto aos aspectos tumorais, 96,4% (n=53) são casos de carcinoma ductal; 58,1% (n=32) são subtipo molecular luminal A/luminal B; 25,4% (n=14) foram classificados como estadios clínicos IIB; 58,2% (n=32) foram classificados no grau histológico G2.

**Tabela 2.** Características clínicas, hormonais e terapêuticas de mulheres com câncer de mama (n=55).

	n (%)
<b>Características</b>	
<b>Idade (anos) média (DP, min-max)</b>	51,5 (29-66 ± 10,1)
<b>Estado Civil</b>	
Solteira	9 (16,4)
Casada	27 (49)
Viúva	7 (12,7)
Divorciada/Separada	6 (10,9)
Outro	6 (10,9)
<b>Anos de estudo</b>	
<8 anos	18 (32,7)
De 8 a 11 anos	24 (43,6)
>11 anos	12 (21,8)
NR	1 (1,8)
<b>Menopausa</b>	
Não	21 (38,1)
Sim	34 (61,8)
<b>Subtipo Tumoral</b>	
Carcinoma ductal	53 (96,4)
Carcinoma lobular	2 (3,6)
<b>Estadio Clínico</b>	
0	1 (1,8)
IA	10 (18,1)
IIA	12 (21,8)
IIB	14 (25,4)
IIIA	6 (10,9)
IIIB	8 (14,5)
IV	1 (1,8)
NR	3 (5,4)
<b>Grau Histológico</b>	
G1	7 (12,7)
G2	32 (58,2)
G3	12 (21,8)
NR	4 (7,3)
<b>Subtipos Moleculares</b>	
ER-, PR-, HER2- e CK5/6+ e/ou EGFR+	11 (20)
ER-, PR- e HER2+	7 (12,7)
ER+ e/ou PR+, HER2- e Ki-67<14%	14 (25,4)
ER+ e/ou PR+, HER2- e Ki-67≥14%	18 (32,7)
ER+ e/ou PR+, HER2+	5 (9,1)
<b>Terapia Hormonal prévia</b>	
Não	48 (87,3)
Sim	7 (12,7)
<b>Cirurgia</b>	
Mastectomia Radical	7 (12,7)
Cirurgia Conservadora	25 (45,4)
Outros	23 (41,8)
<b>Protocolo de Quimioterapia</b>	
AC→ Docetaxel (T)	33 (60)
AC→ Paclitaxel (P)	8 (14,5)
FAC	9 (16,4)
CMF	5 (9,1)

DP, desvio padrão; G1, tumor bem diferenciado (baixo grau); G2, tumor moderadamente diferenciado (grau intermediário); G3, tumor pouco diferenciado (grau elevado); ER, receptor de estrógeno; PR, receptor de progesterona; HER2, receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano; -, negativo; + positivo; CK, citoqueratina; EGFR, receptor do fator de crescimento epidérmico humano; Ki 67 – antígeno Ki 67; NR, não registrado; AC, adriamicina + ciclofosfamida; FAC, 5-fluoracila, adriamicina e ciclofosfamida; CMF, ciclofosfamida, metotrexato e 5-fluorouracila.

A **Tabela 3** apresenta a classificação do estado nutricional por IMC das participantes do estudo em três momentos: T0, período após primeiro ciclo de quimioterapia; T1, período após ciclo intermediário de quimioterapia; T2, período após último ciclo de quimioterapia.

**Tabela 3.** Estado nutricional de mulheres com câncer de mama submetidas à quimioterapia em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015 (n=55).

Estado Nutricional	Grupo Etário	T0		T1		T2	
		n	%	n	%	n	%
Baixo Peso	29-59	1	1,8	1	1,8	0	0,0
	60-66	2	3,6	2	3,6	2	3,6
Eutrofia	29-59	12	21,8	12	21,8	13	23,6
	60-66	9	16,4	9	16,4	10	18,2
Sobrepeso	29-59	9	16,4	9	16,4	10	18,2
	60-66	7	12,7	7	12,7	6	10,9
Obesidade grau I	29-59	6	10,9	7	12,7	6	10,9
Obesidade grau II	29-59	6	10,9	5	9,1	5	9,1
Obesidade grau III	29-59	3	5,5	3	5,5	3	5,5

IMC, Índice de Massa Corporal; T0, Período após primeiro ciclo de quimioterapia; T1, Período após ciclo intermediário de quimioterapia; T2, Período após último ciclo de quimioterapia.

## 4.2 Determinação do consumo de antioxidantes e DII

O consumo de antioxidantes realizado pelas mulheres do estudo está apresentado na **Tabela 4**, na qual é possível notar que houve redução significativa na ingestão de todos os nutrientes antioxidantes ao término do tratamento (T2) em relação ao início (T0), exceto o cobre, na qual a diferença observada foi entre T2 e o intermédio da QT (T1).

**Tabela 4.** Perfil de ingestão de nutrientes antioxidantes de mulheres com câncer de mama submetidas à quimioterapia em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015 (n=55).

Nutrientes Antioxidantes	T0		T1		T2		p
	Média ± DP	Mediana (p25 – p75)	Média ± DP	Mediana (p25 – p75)	Média ± DP	Mediana (p25 – p75)	
Vitamina A (UI)	8521,6 ± 3932,9	7933,8 (5816,7 – 10280,3) <sup>a</sup>	9791,7 ± 6248,8	7379,7 (5698,8 – 11217,7) <sup>a</sup>	7517,5 ± 4550,8	6048,6 (4737,2 – 9799,5) <sup>b</sup>	<b>0,004<sup>u</sup></b>
Betacaroteno (mcg)	4673,1 ± 1840,5	4552,7 (3340,0– 5710,6) <sup>a</sup>	4893,2 ± 3259,9	3852,0 (2903,4 – 5920,4) <sup>a</sup>	3571,4 ± 2184,3	3050,8 (2285,8 – 4282,7) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Vitamina D (mcg)	5,9 ± 4,0	4,8 (3,4 – 6,7) <sup>a</sup>	4,1 ± 2,6	3,4 (2,0 – 5,0) <sup>b</sup>	3,7 ± 2,4	3,1 (1,8 – 4,9) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Vitamina C (mg)	130,3 ± 66,6	119,5 (83,8 – 159,2) <sup>a</sup>	141,1 ± 66,8	123,5 (88,2 – 192,1) <sup>a</sup>	80,4 ± 41,4	69,7 (51,2 – 101,2) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Magnésio (mg)	216,4 ± 36,3	208,5 (191,6 – 227,6) <sup>a</sup>	183,9 ± 35,9	175,2 (156,5 – 202,5) <sup>b</sup>	179,0 ± 38,0	170,2 (156,6 – 195,2) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Ferro (mg)	10,3 ± 1,2	10,3 (9,3 – 11,0) <sup>a</sup>	8,9 ± 1,5	8,9 (8,1 – 9,7) <sup>b</sup>	9,0 ± 1,5	9,0 (7,8 – 9,9) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Zinco (mg)	8,2 ± 1,2 <sup>a</sup>	8,0 (7,3 – 8,7)	7,7 ± 1,2 <sup>b</sup>	7,7 (6,5 – 8,5)	7,4 ± 1,5 <sup>b</sup>	7,3 (6,5 – 8,4)	<b>0,009<sup>e</sup></b>
Selênio (mcg)	108,9 ± 55,6	96,1 (86,8 – 112,6) <sup>a</sup>	93,2 ± 23,5	89,1 (77,1 – 103,8) <sup>b</sup>	85,4 ± 12,2	85,7 (76,4 – 93,2) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Omega-6 (g)	10,1 ± 1,4	10,2 (9,1 – 11,1) <sup>a</sup>	9,2 ± 1,5	8,9 (8,0 – 10,2) <sup>b</sup>	8,8 ± 1,1	8,6 (8,1 – 9,8) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Omega-3 (g)	1,8 ± 0,3	1,7 (1,5 – 1,9) <sup>a</sup>	1,3 ± 0,3	1,3 (1,2 – 1,4) <sup>b</sup>	1,4 ± 0,3	1,4 (1,2 – 1,5) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Isoflavonas (mg)	0,9 ± 0,7	0,7 (0,5 – 1,1) <sup>a</sup>	1,8 ± 5,2	0,7 (0,3 – 1,1) <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1	0,2 (0,1 – 0,3) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Cobre (mg)	1,2 ± 0,6	1,0 (0,9 – 1,3) <sup>a,b</sup>	1,2 ± 0,5	1,1 (0,9 – 1,4) <sup>a</sup>	1,2 ± 1,2	0,8 (0,7 – 1,3) <sup>b</sup>	<b>0,02<sup>v</sup></b>
Ácido Glutâmico (g)	11,0 ± 0,7	11,0 (10,7 – 11,3) <sup>a</sup>	9,9 ± 1,3	10,0 (9,0 – 10,5) <sup>b</sup>	10,2 ± 1,1	10,3 (9,4 – 10,8) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Glicina (g)	2,8 ± 0,1	2,9 (2,7 – 2,9) <sup>a</sup>	2,5 ± 0,4	2,5 (2,2 – 2,8) <sup>b</sup>	2,5 ± 0,5	2,4 (2,1 – 2,8) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Luteína+Zeaxantina (mcg)	5300,6 ± 3376,6	4519,8 (3325,3 – 5609,5) <sup>a</sup>	2078,1 ± 1746,5	1769,1 (954,7 – 2222,1) <sup>b</sup>	3835,1 ± 2854,2	3170,8 (1850,5 – 4776,2) <sup>c</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Manganês (mg)	8,0 ± 4,6	6,9 (4,9 – 9,1) <sup>a</sup>	17,1 ± 19,1	12,6 (6,6 – 19,3) <sup>b</sup>	8,9 ± 19,1	4,2 (2,3 – 7,0) <sup>c</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Daidzeína (mg)	0,4 ± 0,6	0,2 (0,1 – 0,4) <sup>a</sup>	0,4 ± 0,9	0,1 (0,1 – 0,3) <sup>b</sup>	0,07 ± 0,03	0,07 (0,05 – 0,09) <sup>c</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
Genisteína (mg)	0,3 ± 0,3	0,2 (0,1 – 0,4) <sup>a</sup>	2,4 ± 11,8	0,1 (0,1 – 0,5) <sup>a</sup>	0,04 ± 0,02	0,04 (0,03 – 0,05) <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001<sup>u</sup></b>
CATd (escore)	15,6 ± 12,3	10,9 (7,5 – 20,3)	15,6 ± 12,8	11,6 (6,8 – 19,6)	13,8 ± 9,8	11,5 (6,8 – 18,3)	0,601 <sup>v</sup>

DP, Desvio padrão; T0, Período após primeiro ciclo de quimioterapia; T1, Período após ciclo intermediário de quimioterapia; T2, Período após último ciclo de quimioterapia; CATd, Capacidade Antioxidante Total da dieta; <sup>a</sup>ANOVA de uma via com medidas repetidas + Teste de Sidak; <sup>u</sup>Friedman + Teste de Comparações Múltiplas; Médias/ medianas na horizontal seguidas de letras diferentes diferiram estatisticamente conforme teste post-hoc ao nível de 5% de probabilidade.

O teste de Friedman mostrou que a mediana referente ao consumo de luteína + zeaxantina, manganês, daidzeína e genisteína diferiram entre os três tempos. Além disso, a mediana referente ao consumo de vitamina A total, betacaroteno, vitamina C, isoflavonas e genisteína em T2 diferiu dos demais tempos, mas em T0 e T1 não diferiu entre si.

Ainda por Friedman, verificou-se que a mediana referente ao consumo de vitamina D, magnésio, ferro, selênio, ômega-6, ômega-3, ácido glutâmico e glicina em T0 diferiu dos demais tempos, mas que em T1 e T2 não diferiu entre si. O teste de comparações múltiplas mostrou que a mediana referente ao consumo de cobre diferiu apenas entre T1 e T2.

A ANOVA de uma via com medidas repetidas mostrou que há efeito do fator tempo sobre a média do consumo de zinco [ $F(1.71, 92.52) = 5.39$ ;  $p=0.009$ ]. O post-hoc de Sidak mostrou que a média do consumo desse nutriente em T0 difere dos demais tempos, mas que em T1 e T2 não difere entre si.

O teste de Friedman mostrou que a CATd não difere entre os tempos [ $X^2(2) = 1.02$ ;  $p = 0.601$ ].

A **Tabela 5** apresenta os resultados da variação do DII ao longo da QT. Foi estatisticamente significativa a diferença entre os tempos de QT, revelando um aumento no consumo de nutrientes pró-inflamatórios ( $p<0,001$ ).

**Tabela 5.** Índice Inflamatório Dietético (DII) por tempo de quimioterapia de mulheres com câncer de mama em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015 (n=55).

DII	T0		T1		T2		p
	Média ± DP	Mediana (p25 – p75)	Média ± DP	Mediana (p25 – p75)	Média ± DP	Mediana (p25 – p75)	
Score DII	0,04 ± 1,16	0,14 (-0,77 – 0,74) <sup>a</sup>	0,79 ± 1,08	0,86 (-0,06 – 1,64) <sup>b</sup>	1,78 ± 1,02	1,89 (1,17 – 2,42) <sup>c</sup>	<0,001 <sup>o</sup>

DII, Índice Inflamatório Dietético; DP, Desvio Padrão; T0, Período após primeiro ciclo de quimioterapia; T1, Período após ciclo intermediário de quimioterapia; T2, Período após último ciclo de quimioterapia; <sup>o</sup>Friedman + Teste de Comparações Múltiplas; Médias/ medianas na horizontal seguidas de letras diferentes diferiram estatisticamente conforme teste post-hoc ao nível de 5% de probabilidade.

### 4.3 Avaliação do impacto dos efeitos adversos e do tempo de quimioterapia na CATd

Ao longo dos três tempos do estudo (T0, T1 e T2) as pacientes foram questionadas a respeito dos efeitos adversos da QT. A **Tabela 6** apresenta os efeitos adversos experimentados pelas pacientes e como os mesmos impactaram

a CATd. Identificou-se que mulheres que relataram apetite reduzido, náusea, constipação, boca seca, alteração de paladar apresentaram menor CATd. E, aquelas que apresentaram vômito, associado ao tempo de QT, também apresentaram menor CATd.

**Tabela 6.** Impacto dos efeitos adversos não hematológicos e do tempo de quimioterapia na Capacidade Antioxidante Total da dieta (CATd) em mulheres com câncer de mama. Hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015 (n=55).

Tempo QT	Efeito Adverso QT		Teste de Modelo de Efeito			Sig.
	Ausência	Presença	Efeito	Df	Wald chi-square	
	<b>16,73 ± 1,55<sup>a</sup></b>	<b>11,80 ± 1,47<sup>b</sup></b>				
<b>T0</b>	14,30 ± 1,49	11,91 ± 2,01	<b>Tempo QT</b>	2	1,196	0,550
<b>T1</b>	14,87 ± 1,85	13,24 ± 2,84	<b>Apetite Reduzido</b>	1	5,100	<b>0,024</b>
<b>T2</b>	13,05 ± 1,11	10,43 ± 1,24	<b>Apetite Reduzido Tempo QT</b> *	2	0,608	0,738
	<b>15,90 ± 1,38<sup>a</sup></b>	<b>10,76 ± 1,16<sup>b</sup></b>				
<b>T0</b>	11,57 ± 1,21	8,08 ± 1,45	<b>Tempo QT</b>	2	2,904	0,230
<b>T1</b>	14,71 ± 1,75	13,12 ± 2,64	<b>Náusea</b>	1	8,970	<b>0,003</b>
<b>T2</b>	13,16 ± 1,14	11,77 ± 1,45	<b>Náusea Tempo QT</b> *	2	3,575	0,167
	15,20 ± 1,24	11,35 ± 1,79				
<b>T0</b>	11,47 ± 1,14	<b>8,18 ± 1,37<sup>b</sup></b>	<b>Tempo QT</b>	2	5,690	0,058
<b>T1</b>	15,42 ± 2,04	15,17 ± 3,59	<b>Vômito</b>	1	2,781	0,095
<b>T2</b>	12,82 ± 1,78	11,79 ± 3,04	<b>Vômito Tempo QT</b> *	2	9,882	<b>0,007</b>
	<b>17,87 ± 1,56<sup>a</sup></b>	<b>9,57 ± 0,97<sup>b</sup></b>				
<b>T0</b>	13,47 ± 1,23	9,64 ± 1,34	<b>Tempo QT</b>	2	3,343	0,188
<b>T1</b>	14,37 ± 1,34	11,04 ± 1,40	<b>Constipação</b>	1	22,21	<b>&lt;0,001</b>
<b>T2</b>	11,55 ± 1,14	8,22 ± 1,39	<b>Constipação * Tempo QT</b>	2	0,675	0,714
	<b>18,20 ± 1,83<sup>a</sup></b>	<b>13,19 ± 1,17<sup>b</sup></b>				
<b>T0</b>	16,22 ± 1,63	13,11 ± 1,89	<b>Tempo QT</b>	2	2,070	0,355
<b>T1</b>	16,30 ± 1,67	14,35 ± 2,18	<b>Boca seca</b>	1	7,254	<b>0,007</b>
<b>T2</b>	14,08 ± 1,33	12,21 ± 1,47	<b>Boca seca * Tempo QT</b>	2	0,491	0,782
	<b>17,51 ± 1,86<sup>a</sup></b>	<b>12,44 ± 1,15<sup>b</sup></b>				
<b>T0</b>	15,01 ± 1,45	12,44 ± 1,68	<b>Tempo QT</b>	2	2,834	0,242
<b>T1</b>	16,05 ± 1,85	14,20 ± 1,71	<b>Alteração de Paladar</b>	1	7,311	<b>0,007</b>
<b>T2</b>	13,33 ± 1,24	10,89 ± 1,56	<b>Alteração de Paladar * Tempo QT</b>	2	0,398	0,820

Valores de CATd apresentados em média ± desvio padrão; QT, quimioterapia; Tempo QT: 21 dias após cada tempo investigado, sempre antes da infusão de quimioterápicos (T0, dia do primeiro ciclo de infusão da QT; T1, dia do ciclo intermediário de infusão da QT; T2, dia do último ciclo de infusão de QT). General Estimated Equations (GEE): Dados ajustados por idade, renda e protocolo quimioterápico; df, degree of freedom; <sup>a</sup>p values calculados por ANOVA. Testes de Modelo de Efeito significantes são mostrados em negrito. Teste Sidak Sequencial: Diferentes letras representam diferença estatística em comparações de pares, p-value < 0.05. Os efeitos adversos Dor, Diarreia e Fadiga não apresentaram efeito sobre o escore do CATd, não tendo sido, portanto, apresentados nesta tabela.

#### 4.4 Marcadores inflamatórios em sangue periférico

O sangue periférico coletado ao final da QT (T2) foi utilizado para caracterizar os níveis transcricionais das citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$ . A **Tabela 7** apresenta os níveis encontrados por meio de mediana e dos percentis p25 e p75.

**Tabela 7.** Níveis transcricionais dos marcadores inflamatórios analisados em pacientes com câncer de mama submetidas à quimioterapia em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015.

Marcadores Inflamatórios	N	Mediana (p25-p75)
IL-1 $\beta$	22	1,11 (0,65-2,77)
IL-6	23	0,28 (0,14-0,72)
IL-10	23	1,06 (0,43-3,58)
TNF $\alpha$	20	1,24 (0,48-3,98)

Legenda: IL-1 $\beta$ , interleucina-1 $\beta$ ; IL-6, interleucina-6; IL-10, interleucina-10; TNF- $\alpha$ , fator de necrose tumoral  $\alpha$ . Distribuição não-normal.

#### 4.5 Marcadores antioxidantes plasmáticos

Os marcadores antioxidantes plasmáticos encontram-se na **Tabela 8**. Nela observa-se os níveis encontrados de GR, GPx, GSH, CAT e SOD ao final da QT (T2).

**Tabela 8.** Marcadores antioxidantes plasmáticos em pacientes com câncer de mama submetidas à quimioterapia em um hospital universitário de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2014-2015 (Mediana/média e Percentis/DP), n=43.

Marcadores antioxidantes	Mediana (p25-p75)
	Média $\pm$ DP
GR	0,65 (0,49)
GPx	6,51 (1,66)
GSH	3,82 (0,81)
CAT	0,13 (0,63)
SOD <sup>a</sup>	0,10 (0,09-0,12)

Legenda: GR, glutatona redutase; GPx, glutatona peroxidase; GSH, glutatona reduzida; SOD, superóxido dismutase; CAT, catalase; DP, desvio padrão. <sup>a</sup> Distribuição não-normal (os demais possuem distribuição normal).

## 4.6 Associação de marcadores antioxidantes ao nível transcricional de marcadores inflamatórios

Foi avaliada a associação dos marcadores de estado redox plasmático com marcadores inflamatórios. A mediana dos marcadores antioxidantes foi utilizada como critério para a divisão em duas categorias: acima da mediana foi considerado maior nível antioxidante e abaixo da mediana foi considerado menor nível antioxidante. Importante ressaltar que não é conhecido um valor de referência para tais enzimas no plasma de pacientes em QT (T2). A **Tabela 9** refere-se à associação entre os níveis de marcadores de estado redox e a transcrição de citocinas inflamatórias.

Resultados com valor de  $p < 0,05$  foram encontrados para a associação de GR com IL-1 $\beta$  ( $p < 0,001$ ); GPx com IL-1 $\beta$  ( $p = 0,037$ ), IL-10 ( $p = 0,001$ ) e TNF- $\alpha$  ( $p = 0,001$ ); e de GSH com IL-10 ( $p = 0,045$ ) e TNF- $\alpha$  ( $p = 0,047$ ).

**Tabela 9.** Associação dos níveis de marcadores relacionados ao estado redox e níveis transcpcionais de marcadores inflamatórios em mulheres com câncer de mama ao final da quimioterapia (T2).

Maior vs Menor Nível Antioxidante <sup>§</sup>		Variáveis dependentes			
		IL-1 $\beta$	IL-6	IL-10	TNF- $\alpha$
GR	Menor nível antioxidante Média $\pm$ DP	19,27 $\pm$ 4,50	17,48 $\pm$ 14,53	275,90 $\pm$ 146,35	32,59 $\pm$ 15,72
	Maior nível antioxidante Média $\pm$ DP	-9,57 $\pm$ 5,08	10,29 $\pm$ 13,14	-107,86 $\pm$ 130,76	-6,96 $\pm$ 13,48
	$\beta$	28,838	7,188	383,771	39,555
	Valor de p Intervalo de Confiança (95%)	<b>&lt; 0,001</b> 13,137 – 44,538	0,744 -35,959 – 50,336	0,085 -52,444 – 819,986	0,082 -5,042 – 84,152
GPx	Menor nível antioxidante Média $\pm$ DP	-2,34 $\pm$ 4,38	13,97 $\pm$ 13,21	-302,33 $\pm$ 133,62	-24,46 $\pm$ 14,30
	Maior nível antioxidante Média $\pm$ DP	12,04 $\pm$ 4,31	13,81 $\pm$ 14,78	470,37 $\pm$ 146,06	50,08 $\pm$ 15,20
	$\beta$	-14,373	0,151	-772,699	-74,544
	Valor de p Intervalo de Confiança (95%)	<b>0,037</b> -27,887 – -0,866	0,995 -43,838 – 44,140	<b>0,001</b> -12014,797 – -330,601	<b>0,001</b> -119,725 – -29,364

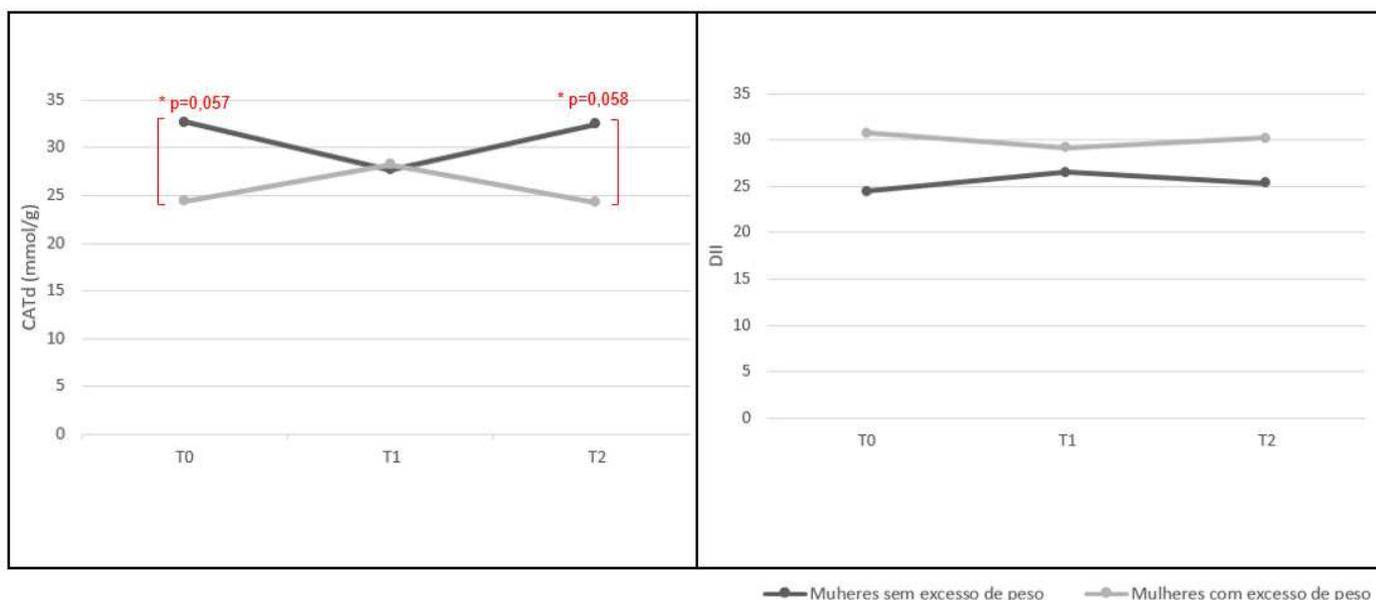
Maior vs Menor Nível Antioxidante <sup>§</sup>		IL-1 $\beta$	IL-6	IL-10	TNF- $\alpha$
GSH	Menor nível antioxidante Média $\pm$ DP	-1,76 $\pm$ 5,99	17,26 $\pm$ 16,35	338,12 $\pm$ 163,48	38,26 $\pm$ 17,15
	Maior nível antioxidante Média $\pm$ DP	11,47 $\pm$ 4,38	10,52 $\pm$ 13,78	-170,07 $\pm$ 138,93	-12,64 $\pm$ 14,32
	$\beta$	-13,232	6,739	508,196	50,908
	Valor de p Intervalo de Confiança (95%)	0,144 -30,999 – 4,536	0,789 -42,541 – 56,019	<b>0,045</b> 10,205 – 1006,187	<b>0,047</b> 0,608 – 101,208
SOD	Menor nível antioxidante Média $\pm$ DP	5,81 $\pm$ 4,22	21,02 $\pm$ 14,00	-66,71 $\pm$ 141,21	0,32 $\pm$ 15,83
	Maior nível antioxidante Média $\pm$ DP	3,89 $\pm$ 3,31	6,76 $\pm$ 10,47	234,75 $\pm$ 102,66	25,30 $\pm$ 10,67
	$\beta$	1,920	14,255	-301,469	-24,986
	Valor de p Intervalo de Confiança (95%)	0,724 -8,740 – 12,579	0,432 -21,279 – 49,788	0,099 -659,986 – 57,049	0,205 -63,645 – 13,672
CAT	Menor nível antioxidante Média $\pm$ DP	0,93 $\pm$ 3,33	7,01 $\pm$ 11,05	107,31 $\pm$ 111,76	12,85 $\pm$ 11,52
	Maior nível antioxidante Média $\pm$ DP	8,77 $\pm$ 5,54	20,77 $\pm$ 16,93	60,72 $\pm$ 167,61	12,78 $\pm$ 17,80
	$\beta$	-7,835	-13,755	46,589	0,071
	Valor de p Intervalo de Confiança (95%)	0,293 -22,435 – 6,766	0,552 -59,082 – 31,572	0,841 -407,473 – 500,652	0,998 -46,290 – 46,431

Legenda: IL-1 $\beta$ , interleucina-1 $\beta$  (n=22); IL-6, interleucina-6 (n=22); IL-10, interleucina-10 (n=23); TNF- $\alpha$ , fator de necrose tumoral  $\alpha$  (n=20); GR, glutatona redutase; GPx, glutatona peroxidase; GSH, glutatona reduzida; SOD, superóxido dismutase; CAT, catalase; DP, desvio padrão. Modelos Lineares Generalizados (GzLM). Valores de p <0,05 são apresentados em negrito. <sup>§</sup>Maior nível antioxidante foi usado como categoria de referência.

## 4.7 Associação de excesso de peso com os marcadores inflamatórios e antioxidantes

A fim de investigar a associação de excesso de peso com os marcadores inflamatórios e antioxidantes, as mulheres foram agrupadas em dois grupos: sem excesso de peso (mulheres adultas com  $\text{IMC} \leq 25 \text{ kg/m}^2$  e mulheres idosas com  $\text{IMC} \leq 27 \text{ kg/m}^2$ ) e com excesso de peso (mulheres adultas com  $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$  e mulheres idosas com  $\text{IMC} > 27 \text{ kg/m}^2$ ). A **Figura 6** mostra que a CATd é menor de forma estatisticamente significativa no grupo de pacientes com sobrepeso.

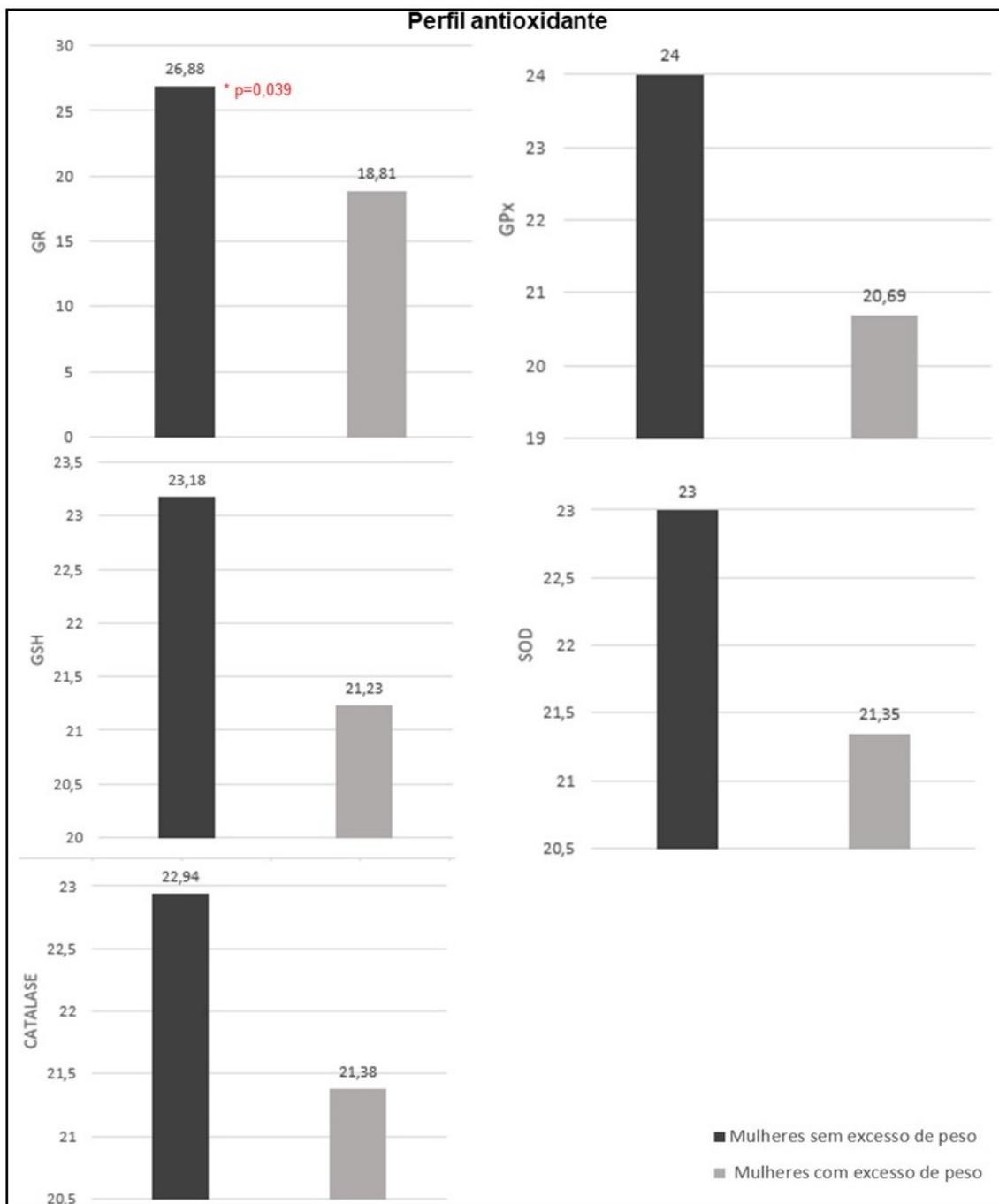
**Figura 6.** Associação de excesso de peso com a Capacidade Antioxidante Total da dieta (CATd) e com o Índice Inflamatório da Dieta (DII) em T0, T1 e T2 (n=55).



**Figura 6.** CATd, capacidade antioxidante total da dieta; DII, índice inflamatório da dieta; T0, Período após primeiro ciclo de quimioterapia; T1, Período após ciclo intermediário de quimioterapia; T2, Período após último ciclo de quimioterapia. Em cinza escuro são apresentadas médias de mulheres sem excesso de peso e em cinza claro são apresentadas médias de mulheres com excesso de peso. Teste de Mann Whitney.

A **Figura 7** apresenta os marcadores plasmáticos relacionados ao estado redox em T2, sendo notória a diferença entre os grupos sem excesso de peso (maiores níveis) e com excesso de peso (menores níveis).

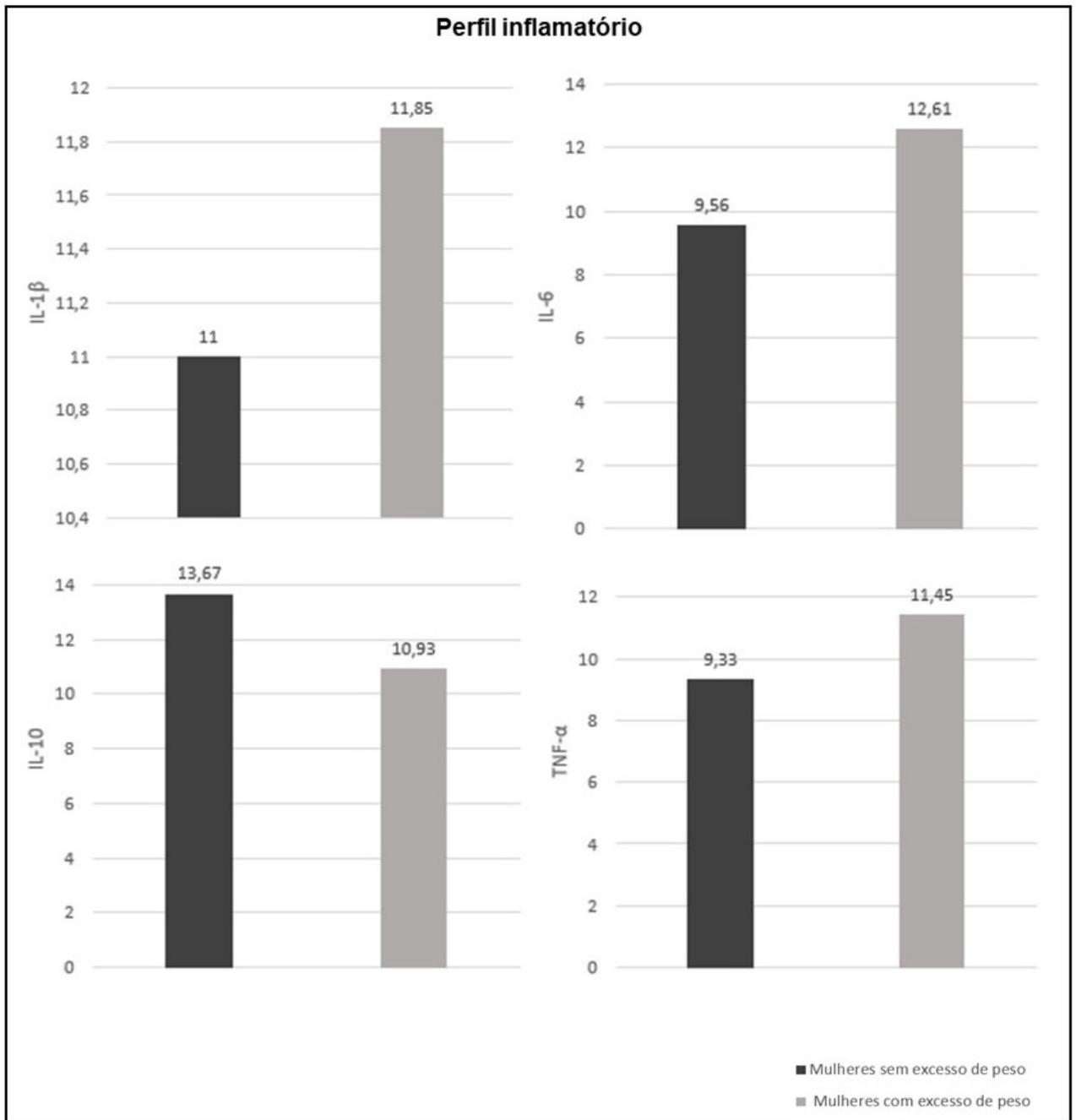
**Figura 7.** Associação de excesso de peso com os marcadores plasmáticos relacionados ao estado redox em T2 (n=43)



**Figura 7.** GR, glutatona redutase; GPx, glutatona peroxidase; GSH, glutatona reduzida; SOD, superóxido dismutase; CAT, catalase. Em vermelho são apresentados os valores de  $p < 0,05$ . Em cinza escuro são apresentadas médias de mulheres sem excesso de peso e em cinza claro são apresentadas médias de mulheres com excesso de peso. Teste de Mann Whitney.

A **Figura 8** apresenta os os níveis transcricionais das citocinas estudadas em T2.

**Figura 8.** Associação de excesso de peso com os marcadores inflamatórios em T2.



**Figura 8.** IL-1 $\beta$ , interleucina-1 $\beta$  (n=22); IL-6, interleucina-6 (n=22); IL-10, interleucina-10 (n=23); TNF- $\alpha$ , fator de necrose tumoral  $\alpha$  (n=20). Em vermelho são apresentados os valores de  $p < 0,05$ . Em cinza escuro são apresentadas médias de mulheres sem excesso de peso e em cinza claro são apresentadas médias de mulheres com excesso de peso. Teste de Mann Whitney.

## 4.8 CATd e DII em metástases pós-tratamento

Após três anos do término do seguimento das pacientes, foi realizada a busca de prontuários das mulheres do estudo no setor de arquivo e pesquisa do hospital universitário de Uberlândia. Nestas buscas, foram encontrados nove casos de metástases pós-tratamento. Afim de se caracterizar a CATd e o DII especificamente destes casos encontrados (16,36% das pacientes), a **Tabela 10** apresenta os seus respectivos valores.

**Tabela 10.** Caracterização das mulheres que apresentaram metástase pós-tratamento – dados obtidos em 2019 (N=9 para casos metástases e N=46 para casos não metástases).

Paciente	CATd	DII
ID1	8,753	2,59
ID2	5,831	3,21
ID3	8,655	2,17
ID4	4,588	-0,41
ID5	10,196	1,13
ID6	2,784	1,87
ID7	4,435	2,19
ID8	2,047	1,89
ID9	11,477	-0,84
<b>Casos metástases Mediana (p25-p75)</b>	5,83 (3,61 – 9,47)	1,90 (0,36 – 2,39)
<b>Casos não-metástases Mediana (p25-p75)</b>	13,83 (7,93 – 21,22)	1,89 (1,21 – 2,45)

Legenda: CATd, capacidade antioxidante total da dieta; ID, identificação; DII, índice inflamatório da dieta; casos metástases, ocorrência de metástases após T2 (n=9); casos não-metástases, não ocorrência de metástases após T2 (n=46).

## 5 DISCUSSÃO

Os parâmetros dietéticos antioxidante e inflamatório apresentaram modificações ao longo da QT, ou seja, foi encontrada uma redução da ingestão de nutrientes antioxidantes e aumento do DII. Além disso, o excesso de peso foi associado à menor CATd em T0 e T2 e menor nível de GR em T2. A avaliação dos efeitos adversos da QT revelaram associação de apetite, náusea, constipação e disgesia à menor CATd; e a busca por prontuários após três anos do término de T2 demonstrou a ocorrência de 16,36% de metástases. Neste sentido, este estudo fornece conhecimento relevante e que aponta a presença de baixos níveis antioxidantes e níveis inflamatórios elevados em mulheres submetidas à QT.

O subtipo de CM mais incidente é o carcinoma ductal (KANBAYASHI; IWATA, 2017). No presente estudo (**Tabela 2**), dentre as 55 mulheres participantes, 53 são casos de carcinoma ductal, ou seja, 96,4%, refletindo a elevada ocorrência do mesmo na população em geral. Quanto ao subtipo molecular, 58,1% foram classificadas nos subtipos luminal A/luminal B, fenótipos considerados menos agressivos e mais responsivos ao tratamento.

O estudo de Mozhi (2018), comparando mulheres sem histórico de câncer a mulheres sobreviventes ao CM, demonstra uma correlação positiva entre a ingestão de nutrientes antioxidantes, capacidade antioxidante do soro e inflamação. Um estudo com mais de três mil mulheres encontrou uma associação entre CATd moderada e elevada ao menor risco de CM em mulheres pós-menopausa quando comparadas àquelas com menor CATd (PANTAVOS et al., 2015). No presente estudo (**Tabela 4**), observamos uma expressiva redução no consumo de nutrientes antioxidantes em mulheres com CM em QT entre T0 e T2. Ainda que a CATd não tenha apresentado diferença estatisticamente significativa nas análises aqui apresentadas, os nossos resultados estão de acordo aos resultados já apresentados pelo nosso grupo de pesquisa que revelam um impacto negativo da QT na qualidade da dieta e na ingestão de micro e macronutrientes (CUSTÓDIO et al., 2016).

Uma metanálise identificou que a ingestão elevada de frutas e da combinação de frutas e vegetais, ricos em antioxidantes, está associada a uma

redução moderada do risco de CM (AUNE et al., 2012). Além disso, outra metanálise associou a adesão à dieta com capacidade antioxidante total elevada com diminuição do risco de morte por todas as causas, incluindo câncer e doenças cardiovasculares (PAROHAN, et al., 2019). Porém, ainda são limitadas as evidências da relação entre o consumo destes alimentos e a redução do risco da doença (WCRF, 2014; KARIMI et al., 2014). Sabe-se que os quimioterápicos implicam em uma neutropenia ao paciente, porém estudos sobre dietas neutropênicas, as quais não indicam o consumo de frutas e vegetais frescos, não apresentam efeitos na redução de infecções ou taxas de mortalidade dos pacientes, mas associam-se à piora na qualidade de vida e gasto elevado com a alimentação (MOODY et al., 2002; JUBELIRER, 2011; BOECKH, 2012; TRAMSEN et al., 2016). Nutrientes com capacidade antioxidante, em sua maioria, também possuem propriedades anti-inflamatórias, destacando-se em estudos anteriores como relevantes para uma dieta saudável (CARLSEN et al., 2010; TORRES; FARAH, 2016; LEÃO et al., 2017; BETTA et al., 2018).

Uma dieta que apresente escore mais baixo do DII tem o potencial de melhorar níveis de citocinas anti-inflamatórias, podendo reduzir o risco de desfechos negativos (SHIVAPPA et al., 2014). Shivappa e colaboradores (2017), em um estudo prospectivo com mulheres obesas na pós-menopausa, encontraram uma associação entre maiores escores de DII e aumento do risco de desenvolvimento de CM. Assim, o aumento do escore desse índice ao longo da QT, encontrada no presente estudo (**Tabela 5**), reflete a condição fragilizada de pacientes CM. Além disso, pode refletir a busca por tipos específicos de alimentos, como apresentado no estudo realizado por Marinho e colaboradores (2017), onde foi observada a alteração do hedonismo alimentar pela QT, aumentando o apetite geral e o apetite por alimentos salgados e condimentados.

Uma dieta pró-inflamatória, caracterizada por quantidades elevadas de carboidrato, proteína, lipídeo total, gordura saturada, colesterol, gordura *trans*, dentre outros, parecem aumentar o risco de CM, especialmente entre mulheres na pós-menopausa (SHIVAPPA et al., 2015). O consumo elevado de gordura saturada e *trans* está associado, ainda, ao maior risco de mortalidade por qualquer causa entre mulheres com câncer de mama (BEASLEY et al., 2011). Um outro estudo identificou que escores mais elevados de vegetais foram

significativamente associados com menores concentrações de proteína C reativa (GEORGE et al., 2010), sendo que elevadas concentrações desta proteína e de amiloide A sérica (SAA), biomarcadores de inflamação crônica, foram associadas com sobrevida global reduzida em mulheres diagnosticadas com CM (PIERCE et al., 2009). No estudo de Custódio e colaboradores (2016), verificou-se que ao longo da QT, houve redução significativa do consumo de Frutas Totais e de Vegetais Verde-escuro, Alaranjados e Leguminosas.

Embora a alimentação seja um fator de risco modificável chave para diversas doenças crônicas não transmissíveis, a evidência sobre o efeito dos fatores dietéticos individuais sobre o risco de CM ainda é inconclusiva. Porém, alguns autores argumentam que padrões alimentares globais podem permitir a avaliação entre CM e fatores dietéticos, ao invés de nutrientes ou alimentos específicos (WCRF, 2007; CASTELLÓ et al., 2014).

Como o tratamento não afeta apenas as células tumorais, é conhecida a ocorrência de efeitos adversos, como disgeusia, redução do apetite, náuseas, mucosite oral, boca seca, dentre outros que podem afetar a ingestão de nutrientes importantes (BOLTONG et al., 2014). Modificações na percepção do sabor e cheiro dos alimentos podem provocar alterações nas preferências alimentares. Após o diagnóstico do câncer de mama, a literatura mostra que algumas mulheres passam a buscar uma alimentação mais saudável. Porém, há relatos de que elas também encontram conforto com o consumo de alimentos menos saudáveis, utilizando-os como recompensa durante o desafiador período da QT (KWOK et al., 2015; MARINHO, et al., 2017). Identificou-se (**Tabela 6**) que aquelas mulheres que apresentaram efeitos adversos (apetite reduzido, náusea, constipação, boca seca, alteração de paladar) sem associação com o tempo da QT, ou associado ao tempo da QT (vômito), apresentaram menor CATd, possivelmente relacionado à redução do prazer em se alimentar, como relatado por Marinho e colaboradores (2017).

Sabe-se que o processo inflamatório possui um desbalanço redox, sendo possível uma associação entre os marcadores relacionados ao estado redox do plasma e as citocinas relacionadas à inflamação (MADEDDU et al., 2014). Neste estudo (**Tabela 9**), ainda que haja dentre as associações, algumas sem significância estatística, acredita-se que os maiores níveis transcricionais das

citocinas estudadas possam ter sido gerados em decorrência do desbalanço redox, sendo também um mecanismo de retroalimentação.

Foi encontrada (**Tabela 9**) associação entre menores níveis de GR e maior transcrição de IL-1 $\beta$  ( $p < 0,001$ ), IL-6 ( $p = 0,744$ ), IL-10 ( $p = 0,085$ ) e TNF- $\alpha$  ( $p = 0,082$ ). NIKULINA et al. (2000) afirmam que a formação de ROS, óxido nítrico (NO) e seus derivados pode ocorrer sob indução de IL-1 $\beta$ , ou seja, essa interleucina tem papel importante no desbalanço redox durante a inflamação crônica.

Por meio de estudos anteriores, sabe-se que a GSH modula a síntese de NO de forma pré e pós-transcricional, pois baixos níveis desse tripeptídeo levam à ativação oxidativa do principal fator de transcrição relacionado à inflamação, denominado NF $\kappa$ B, e também influencia a atividade enzimática da óxido nítrico sintase induzida (iNOS), fatores que estão intimamente relacionados ao estresse oxidativo (NIKULINA et al., 2000). Em nosso estudo (**Tabela 9**), a associação entre menores níveis de GSH e maior transcrição de IL-6 ( $p = 0,789$ ), IL-10 ( $p = 0,045$ ) e TNF- $\alpha$  ( $p = 0,047$ ) foi encontrada, confirmando assim o papel de destaque dado ao sistema de oxido-redução GSH, como fundamental na manutenção do estado redox e homeostasia.

A idade média das 55 mulheres participantes do estudo foi 51,5 anos, encontrando-se 61,8% na pós-menopausa (**Tabela 2**). Sabe-se que o ganho de peso e obesidade estão entre os fatores preditores mais importantes para o risco de CM estrógeno-dependente em mulheres na pós-menopausa (MADEDDU et al., 2014). O IMC elevado favorece a resistência à insulina e está significativamente associado ao maior risco de desenvolvimento e progressão do CM (QIU et al., 2012). Quanto à QT, estudos apontam que o ganho de peso é comum entre mulheres em QT (VANCE et al., 2011; KWOK et al., 2015; TRÉDAN et al., 2010). As modificações no peso e na dieta podem não ser esperadas por mulheres submetidas à QT, provocando preocupações e ansiedades que poderiam ser prevenidas por orientações adequadas na fase pós-diagnóstico (KWOK et al., 2015). No presente estudo foram observados maiores níveis transcricionais das citocinas em sangue periférico de mulheres com excesso de peso em relação às mulheres sem excesso de peso, porém sem significância estatística (**Figura 8**). Em adição, os níveis das enzimas relacionadas ao estado redox no plasma foram menores em mulheres com excesso de peso, sendo estatisticamente significativa

a diferença entre os grupos para GR ( $p=0,039$ ) (**Figura 7**). Em CM invasivos, estudos apontam uma elevada expressão de IL-1 $\beta$ , com um decréscimo de expressão nos carcinomas *in situ* e lesões benignas da mama. Maiores níveis de IL-1 $\beta$  no tecido tumoral e soro correlacionaram-se nesses estudos ao grau histológico tumoral elevado, presença do *status* negativo para o ER e elevada expressão de outras citocinas pró-inflamatórias (KNÜPFER et al., 2006; FOUAD et al., 2014).

A literatura apresenta que os biomarcadores inflamatórios em pacientes com CM encontram-se aumentados, incluindo IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e proteína C reativa. Porém, acredita-se que dietas ricas em antioxidantes e a manutenção do peso corporal podem auxiliar na redução da inflamação em mulheres que sobreviveram ao CM (MOZHI, 2018). Associação significativa entre excreção urinária de metabólitos da prostaglandina E2 (PGE2), pró-inflamatórios, e consumo de frutas foi identificada por Kim e colaboradores (2015), sugerindo que a geração de metabólitos da PGE2 pode ser modificada por uma dieta com maior aporte antioxidante. A obesidade pode promover inflamação no tecido adiposo da mama, levando à maior produção de PGE2, o qual atua na promoção e progressão tumoral (KIM et al., 2013). Segundo Engin (2017), IMC, IL-6 e ROS estão frequentemente mais elevados em mulheres com tumores ER positivo em comparação com ER negativo. Além disso, IL-6 e ROS correlacionam-se positivamente com metástases linfonodais. No presente estudo, 63,6% das participantes são ER positivo, indicando que os achados referentes ao nível antioxidante plasmático e ao nível inflamatório em sangue periférico estão em conformidade com estudos anteriores.

Em estudo comparando o tecido tumoral ao tecido saudável da mama de mulheres com CM, foi verificado que a atividade da enzima aromatase está mais elevada no tecido adiposo do quadrante da mama contendo o tumor. Nestes tecidos mamários, uma correlação significativa também é encontrada entre a produção de IL-6 e a atividade da aromatase (PUROHIT et al., 1995; ENGIN, 2017). Liu e colaboradores (2018) verificaram em sangue periférico de pacientes com CM que os níveis de expressão de mRNA de IL-10 em pacientes sem sobrepeso foram 2,8 vezes maiores do que naqueles com sobrepeso. Além disso, comparando apenas com obesos, os níveis de IL-10 do grupo sem excesso de

peso foram 3,5 vezes maiores ( $p < 0,05$ ). No presente estudo (**Figura 8**), também foi verificado maior nível transcricional de IL-10 no grupo sem excesso de peso, sendo provável a ligação desse resultado ao perfil anti-inflamatório que esta citocina pode desempenhar (HAMIDULLAH et al., 2011).

O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória encontrada em concentrações mais elevadas em mulheres com CM em relação a mulheres saudáveis, sendo assim comumente associado ao desenvolvimento e a migração do tumor no microambiente tumoral (LEEK et al., 1998; KNÜPFER et al., 2006; HAMED et al., 2012; KAMEL et al., 2012). Um aumento na expressão de TNF- $\alpha$  em pacientes com CM em QT foi identificado por Cruz e colaboradores (2013), correlacionado à condição de fadiga induzida pelo tratamento.

Existem indícios de que uma dieta de melhor qualidade parece estar associada com níveis mais baixos de inflamação crônica e, conseqüentemente, à melhor sobrevida da doença (GEORGE et al., 2010; ARNOLD et al., 2015; ABRANCHES et al., 2011). No presente estudo (**Tabela 10**) identificou-se que as mulheres que apresentaram metástase pós-tratamento possuíam mediana de CATd mais baixa que das demais. A hipótese alternativa seria que aquelas mulheres com metástase pós-tratamento, em relação às mulheres sem metástase, apresentariam valores de CATd mais elevados, já que uma dieta mais antioxidante de certa forma poderia interferir negativamente no efeito dos quimioterápicos, considerando que a morte das células tumorais por esse tratamento é decorrente da elevada produção de ROS (HALLIWELL, 2013; JUNG, et al., 2019). Entretanto, a análise isolada do CATd não nos permite inferências sobre a eficácia do tratamento, visto que não se conhece um valor a partir do qual o aporte de antioxidantes teria real efeito sobre a redução de ROS e a não apoptose de células tumorais.

O elevado controle do estado redox pelas células tumorais é um importante mecanismo de resistência à QT e RT. Estudos apontam que as células tumorais com características de maior malignidade expressam maior quantidade das enzimas responsáveis pelas defesas antioxidantes (KUO, 2009; FIASCHI; CHIARUGI, 2012; GALADARI et al., 2016). A resistência a múltiplos fármacos relaciona-se, dentre outros fatores, com a expressão de proteínas envolvidas na maior capacidade de retirada de ROS do interior celular (KUO, 2009). Canli e

colaboradores (2017) identificaram um *crosstalk* entre moléculas de ROS derivadas de células inflamatórias, dano oxidativo ao DNA e sinalização mediada por TNF- $\alpha$ , promovendo um microambiente pró-tumoral e pró-metastático. Assim, a atuação de ROS no câncer é complexa, pois participa como causa e consequência do tumor primário e de metástases, mas muitos eventos permanecem relativamente pouco estudados. A escassez de modelos de estudo em camundongos para monitorar a produção tumoral de ROS volátil e para identificar as células mais afetadas por ROS *in vivo* é um desafio para a ampliação das pesquisas neste sentido (LIAO, 2019).

O estudo possui algumas limitações, como a necessidade de a paciente se recordar e relatar todos os alimentos que ingeriu no dia anterior à entrevista para o preenchimento do R24H e todos os efeitos adversos que teve após a quimioterapia. Além disso, para o cálculo da CATd foi adotada como modelo a tabela de alimentos antioxidantes desenvolvida na Noruega, onde consta alimentos de todo o mundo, porém não é específica para a dieta dos brasileiros. Entretanto, os alimentos elencados por Torres e Farah (2016) como os principais contribuintes para a CATd brasileira, tiveram os valores de FRAP revisados e foram adotados aqueles que correspondem ao alimento encontrado no território nacional (LEÃO et al., 2017; BETTA et al., 2018).

Possíveis explicações para alguns resultados não significativos estatisticamente, ou para outros que não puderam ser confirmados ao longo da QT, são a amostra relativamente pequena para a análise de marcadores no sangue ( $n=43$  para análises de GR, GPx, GSH, SOD e Catalase;  $20 \leq n \leq 23$  para análises de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$ ), ainda que ao todo tenha atingido o cálculo amostral; a coleta das amostras de sangue periférico ter ocorrido apenas ao final da QT (T2); e não serem conhecidos de forma empírica os níveis de ROS presentes nas amostras. Não foi possível a análise da dieta das participantes antes do diagnóstico do CM, devido este ser um fator que precedeu à inclusão das pacientes no estudo. Propõe-se que mais estudos sejam realizados, com um número maior de pacientes e grupo controle.

Os dados dietéticos foram obtidos por nutricionistas altamente capacitadas, e os nutrientes presentes nas análises foram escolhidos em conformidade com estudos previamente realizados (CUSTÓDIO et al., 2016; MARINHO et al., 2017).

Após o tratamento, sobreviventes do CM devem seguir as mesmas recomendações para a prevenção da doença (WCRF, 2014). Uma dieta rica em antioxidantes e manutenção do peso corporal pode ajudar a reduzir a inflamação em mulheres que sobreviveram ao CM (MOZHI, 2018) e, conseqüentemente, reduzir o risco de recorrência do CM e de outras importantes doenças. Assim, ainda que algumas evidências encontradas no presente estudo não sejam conclusivas, há indícios de uma intrincada rede, onde os níveis antioxidantes vinculam-se aos níveis pró-inflamatórios de forma inversa, sendo uma possível explicação para isto a forma divergente com que ambos os perfis atuam frente às ROS.

## 6 CONCLUSÃO

A partir das análises realizadas, observou-se uma redução da ingestão de nutrientes antioxidantes e aumento do DII. Além disso, o excesso de peso foi associado à menor CATd em T0 e T2 e menor nível de GR em T2. A avaliação dos efeitos adversos da QT revelaram associação de apetite, náusea, constipação e disgesia à menor CATd; e a busca por prontuários após três anos do término de T2 demonstrou a ocorrência de 16,36% de metástases. Assim, este estudo fornece conhecimento relevante e que aponta a presença de baixos níveis antioxidantes e níveis inflamatórios elevados, associando-os com excesso de peso em mulheres submetidas à QT. Estes resultados poderão contribuir para a prática clínica e ampliar o conhecimento sobre parâmetros antioxidantes e inflamatórios, nutricionais e moleculares.

## REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, M. V.; MENDES, M. C. S.; PENA, G. G. et al. Antioxidant vitamins and cytokines are altered in breast cancer. **Eur J Cancer Prev**, London, v. 20, n. 5, p. 403-10, 2011. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e328347618e>
- ADKISON, L. R.; BROWN M. D. **Genética**. Rio de Janeiro, Elsevier. 2012.
- ARNOLD, M. et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: a population-based study. **Lancet Oncol**, London, v. 16, n. 1, p. 36-46, 2015. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71123-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71123-4)
- AUNE, D. et al. Fruits, vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. **Breast Cancer Res Treat**, Dordrecht, v. 134, n. 2, p. 479-93, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2118-1>
- AYDINER, A. et al. **Breast Cancer: A Guide to Clinical Practice**. Springer, 2018. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96947-3>
- BALKWILL F.; MANTOVANI A. Inflammation and cancer: back to Virchow. **Lancet**, p.539-45, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04046-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04046-0)
- BEASLEY, J. M. et al. Post-diagnosis dietary factors and survival after invasive breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, Dordrecht, v. 128, n. 1, p. 229-36, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1323-z>
- BEN-NERIAH, Y. et al. Inflammation meets cancer, with NF-κB as the matchmaker. **Nature Immunology**, v. 12, n. 8. 2011. <https://doi.org/10.1038/ni.2060>
- BETTA, F. et al. Phenolic compounds determined by LC-MS/MS and in vitro antioxidant capacity of Brazilian fruits in two edible ripening stages. **Plant foods for human nutrition**, v. 73, n. 4, p. 302-307, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0690-1>
- BISHT, S.; DADA, R. Oxidative stress: Major executioner in disease pathology, role in sperm DNA damage and preventive strategies. **Front Biosci (Schol Ed)**, v. 9, p. 420-47, 2017. <https://doi.org/10.2741/s495>
- BOECKH, M. Neutropenic diet—good practice or myth?. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 18, n. 9, p. 1318-1319, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2012.07.006>
- BOLTONG, A. et al. A Prospective Cohort Study of the Effects of Adjuvant Breast Cancer Chemotherapy on Taste Function, Food Liking, Appetite and Associated Nutritional Outcomes. Stemmer SM, editor. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 7, p. e103512, Jul. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103512>
- BOWERS, L. et al. Obesity-associated systemic interleukin-6 promotes pre-adipocyte aromatase expression via increased breast cancer cell prostaglandin E2

production. **Breast cancer research and treatment**, v. 149, n. 1, p. 49-57, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3223-0>

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2010: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ, 2009.

BRASIL Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Câncer de mama: é preciso falar disso**. Rio de Janeiro, RJ, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. Rio de Janeiro, RJ, 2017.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 2006.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

CAIRNS, R. Regulation of cancer cell metabolism. **Nature Reviews Cancer**, v. 11, n. 2, p. 85, 2011. <https://doi.org/10.1038/nrc2981>

CALAF, G. M. et al. Curcumin and paclitaxel induce cell death in breast cancer cell lines. **Oncology reports**, v. 40, n. 4, p. 2381-2388, 2018. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6603>

CANLI, Özge et al. Myeloid cell-derived reactive oxygen species induce epithelial mutagenesis. **Cancer Cell**, v. 32, n. 6, p. 869-883. e5, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.11.004>

CARLSEN, M. H. et al. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. **Nutrition journal**, v. 9, n. 1, p. 3, 2010. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-3>

CASTELLÓ, A. et al. Spanish Mediterranean diet and other dietary patterns and breast cancer risk: case-control EpiGEICAM study. **British Journal of Cancer**, London, v. 111, n. 7, p. 1454–1462, 23 set. 2014. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.434>

CASTRO, M. C. et al. Effectiveness of antiemetics in control of antineoplastic chemotherapy-induced emesis at home. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 412–418, out. 2014. <https://doi.org/10.1590/1982-0194201400069>

CAVICCHIA, P. P. et al. A new dietary inflammatory index predicts interval changes in serum high-sensitivity C-reactive protein. **The Journal of nutrition**, v. 139, n. 12, p. 2365-2372, 2009. <https://doi.org/10.3945/jn.109.114025>

CRUZ, F. M. et al. Quimioterapia induz fadiga e aumenta TNF- $\alpha$  em pacientes com câncer de mama. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 9, n. 32, p.52-4, 2013.

CUSTÓDIO, I. D. D. et al. Impact of chemotherapy on diet and nutritional status of women with breast cancer: a prospective study. **PLoS One**, v. 11, n. 6, p. e0157113, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157113>

DATTA, M. et al. Reprogramming the Tumor Microenvironment to Improve Immunotherapy: Emerging Strategies and Combination Therapies. **American Society of Clinical Oncology Educational Book**, v.39, p.165-174, 2019. [https://doi.org/10.1200/EDBK\\_237987](https://doi.org/10.1200/EDBK_237987)

EDGE, S. B. et al. New and important changes in breast cancer TNM: incorporation of biologic factors into staging. **Expert review of anticancer therapy**, v. 19, n. 4, p. 309-318, 2019. <https://doi.org/10.1080/14737140.2019.1582335>

ENGIN, A. Obesity-associated breast cancer: analysis of risk factors. In: **Obesity and Lipotoxicity**. Springer, Cham, p. 571-606, 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5\\_25](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_25)

FAUL, F. et al. G\* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. **Behavior research methods**, v. 39, n. 2, p. 175-191, 2007. <https://doi.org/10.3758/BF03193146>

FIASCHI, T.; CHIARUGI, P. Oxidative Stress, Tumor Microenvironment, and Metabolic Reprogramming: A Diabolic Liaison. **International Journal of Cell Biology**, v. 12. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/762825>

FOUAD, T. M et al. The Role of Inflammation in Inflammatory Breast Cancer. In: AGGARWAL, B. B; SUNG, B.; GUPTA, S. C. **Inflammation and Cancer**, Springer, p. 58-60, 2014. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-0837-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-0837-8_3)

GALADARI, S. et al. Reactive oxygen species and cancer paradox: to promote or to suppress? **Free Radical Biology and Medicine**. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.01.004>

GEORGE, S. M. et al. Postdiagnosis diet quality is inversely related to a biomarker of inflammation among breast cancer survivors. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, Philadelphia, v. 19, n. 9, p. 2220-8, Sep. 2010. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0464>

GERMANO, G. et al. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. **Cytokine**, v. 43, n. 3, p. 374-379, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.07.014>

GIULIANO, A. E. et al. Breast cancer—major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 67, n. 4, p. 290-303, 2017. <https://doi.org/10.3322/caac.21393>

GORRINI, C. et al. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. **Nature reviews Drug discovery**, v. 12, n. 12, p. 931, 2013. <https://doi.org/10.1038/nrd4002>

HAIDA, Z.; HAKIMAN, M. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 5, p. 1555-1563, 2019. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1012>

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox: less paradoxical now?. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 637-644, 2013. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04272.x>

HAMED, E. et al. Apoptosis, angiogenesis, inflammation, and oxidative stress: basic interactions in patients with early and metastatic breast cancer. **J Cancer Res Clin Oncol**, v. 6, n. 138, p. 999-1009, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00432-012-1176-4>

HAMIDULLAH, C. et al. Role of interleukin-10 in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 133, n. 1, p.11-21, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1855-x>

HANAHAN, D. et al. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, 4 p. 2000. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

HANAHAN, D. Rethinking the war on cancer. **The Lancet**, v. 383, n. 9916, p. 558-563, 2014. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62226-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62226-6)

HARRIS, H. R. et al. An adolescent and early adulthood dietary pattern associated with inflammation and the incidence of breast cancer. **Cancer research**, v. 77, n. 5, p. 1179-1187, 2017. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2273>

JEONG, H. et al. Tumor-Associated Macrophages as Potential Prognostic Biomarkers of Invasive Breast Cancer. **Journal of Breast Cancer**, v. 22, n. 1, p. 38-51, 2019. <https://doi.org/10.4048/jbc.2019.22.e5>

JOHNSON, C. S. Interleukin-1: therapeutic potential for solid tumors. **Cancer Invest**, n. 11, p. 600-8, 1993. <https://doi.org/10.3109/07357909309011679>

JUBELIRER, S. J. The benefit of the neutropenic diet: fact or fiction?. **The oncologist**, v. 16, n. 5, p. 704-707, 2011. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2011-0001>

JUNG, A. Y. et al. Antioxidant supplementation and breast cancer prognosis in postmenopausal women undergoing chemotherapy and radiation therapy. **The American journal of clinical nutrition**, v. 109, n. 1, p. 69-78, 2019. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy223>

KAMEL, M. et al. Effect of tumor necrosis factor alpha on estrogen metabolic pathways in breast cancer cells. **J Cancer**, v. 3, p. 310-21, 2012. <https://doi.org/10.7150/jca.4584>

KANBAYASHI, C.; IWATA, H. Current approach and future perspective for ductal carcinoma in situ of the breast. **Japanese journal of clinical oncology**, v. 47, n. 8, p. 671-677, 2017. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyx059>

KARIMI, Z. et al. Dietary patterns and breast cancer risk among women. **Public Health Nutr.**, v. 17, n. 5, p. 1098–106, May 2014. <https://doi.org/10.1017/S1368980013001018>

KIM, S. et al. Fruit and Vegetable Intake and Urinary Levels of Prostaglandin E 2 Metabolite in Postmenopausal Women. **Nutr Cancer**, Philadelphia, v. 67, n. 4, p. 580–6, 2015. <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1011787>

KIM, S. et al. Association between Urinary Prostaglandin E2 Metabolite and Breast Cancer Risk: A Prospective, Case-Cohort Study of Postmenopausal Women. **Cancer Prev Res (Phila)**, v. 6, n. 6, p. 511–18, 2013. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0040>

KNÜPFER, H. et al. Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 102, n. 2, p.129-35, 2006. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9328-3>

KONING, L. Chromatin assembly factors and heterochromatin organization during cell proliferation, tumorigenesis and in quiescence. Tese de Doutorado. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI. 2009

KUMAR, R. et al. **Bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro, Elsevier. 2010.

KUO, M. T. Redox regulation of multidrug resistance in cancer chemotherapy: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. **Antioxidants & redox signaling**, v. 11, n. 1, p. 99-133, 2009. <https://doi.org/10.1089/ars.2008.2095>

KWOK, A. et al. Dietary experiences and support needs of women who gain weight following chemotherapy for breast cancer. **Support Care Cancer**, v. 23, n. 6, p. 1561-8, Jun. 2015. <https://doi.org/10.1007/s00520-014-2496-5>

LEÃO, D. P. et al. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food chemistry**, v. 225, p. 146-153, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.027>

LEEK, R. D. et al. Association of tumor necrosis factor alpha and its receptors with thymidine phosphorylase expression in invasive breast carcinoma. **Br J Cancer**, v. 12, n. 77, p. 2246-51, 1998. <https://doi.org/10.1038/bjc.1998.373>

LI, H. et al. HIF-1 $\alpha$  protects against oxidative stress by directly targeting mitochondria. **Redox biology**, p. 101109, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101109>

LI, J. et al. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. **Int J Clin Exp Pathol**, [S.I.], v. 7, n. 8, p.8500-05, 2015.

LIAO, Z. et al. Reactive oxygen species: a volatile driver of field cancerization and metastasis. **Molecular cancer**, v. 18, n. 1, p. 65, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0961-y>

LIBBY, P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. **Nutrition reviews**, v. 65, n. 3, p. S140-S146, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00352.x>

LIPSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. **Primary care**, v. 21, n. 1, p. 55-67, 1994.

LIU, C. et al. Low BMI is correlated with increased TGF- $\beta$  and IL-10 mRNA levels in the peripheral blood of breast cancer patients. **IUBMB life**, v. 70, n. 3, p. 237-245, 2018. <https://doi.org/10.1002/iub.1721>

LUKONG, K. E. Understanding Breast Cancer – The long and winding road. **BBA Clinical**. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2017.01.001>

MA, Y. et al. IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels correlate with disease stage in breast cancer patients. **Adv Clin Exp Med**, v. 26, n. 3, p. 421-426, 2017. <https://doi.org/10.17219/acem/62120>

MADEDDU, C. et al. Role of inflammation and oxidative stress in post-menopausal oestrogen-dependent breast cancer. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 18, n. 12, p. 2519-2529, 2014. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12413>

MARINHO, E. et al. Impact of chemotherapy on perceptions related to food intake in women with breast cancer: A prospective study. **PloS one**, v. 12, n. 11, p. e0187573, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187573>

MARTEL, F. et al. Effect of polyphenols on glucose and lactate transport by breast cancer cells. **Breast cancer research and treatment**, v. 157, n. 1, p. 1-11, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3794-z>

MICHELS, F. et al. Validity, reliability and understanding of the EORTC-C30 and EORTC-BR23, quality of life questionnaires specific for breast cancer. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 16, p. 352-363, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2013000200011>

MICHELS, K. B. et al. Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 109, p. 2712-2749, 2007. <https://doi.org/10.1002/cncr.22654>

MONTANARI, T. Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 2016.

MOODY, K. et al. The neutropenic diet: what's the evidence? **J Pediatr Hematol Oncol**. v. 24, n. 9, p. 717-721, 2002. <https://doi.org/10.1097/00043426-200212000-00007>

MORADI, S. et al. Associations between dietary inflammatory index and incidence of breast and prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. **Nutrition**, v. 55, p. 168-178, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.04.018>

MOZHI, D. A. Relationship of dietary antioxidant intake, antioxidant serum capacity, physical activity and inflammation in breast cancer survivors and individuals without a history of cancer. 2018. Tese de Doutorado. Virginia Tech.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **Rsc Advances**, v. 5, n. 35, p. 27986-28006, 2015. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>

NIKULINA, M. A. et al. Glutathione depletion inhibits IL-1 $\beta$ -stimulated nitric oxide production by reducing inducible nitric oxide synthase gene expression. **Cytokine**, v. 12, n. 9, p. 1391-1394, 2000. <https://doi.org/10.1006/cyto.2000.0712>

NISSEN, S. B. et al. Intake of vitamins A, C, and E from diet and supplements and breast cancer in postmenopausal women. **Cancer Causes & Control**, v. 14, n. 8, p. 695-704, 2003.

NUSSER, S. M. et al. A semiparametric transformation approach to estimating usual daily intake distributions. **Journal of the American Statistical Association**, v. 91, n. 436, p. 1440-1449, 1996. <https://doi.org/10.1080/01621459.1996.10476712>

OBERLEY, L. W. Free radicals and diabetes. **Free radical biology and medicine**, v. 5, n. 2, p. 113-124, 1988. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(88\)90036-6](https://doi.org/10.1016/0891-5849(88)90036-6)

PANTAVOS, A. et al. Total dietary antioxidant capacity, individual antioxidant intake and breast cancer risk: the Rotterdam study. **International Journal of Cancer**, v. 136, n. 9, p. 2178-2186, 2015. <https://doi.org/10.1002/ijc.29249>

PIERCE, B. L. et al. Elevated Biomarkers of Inflammation Are Associated With Reduced Survival Among Breast Cancer Patients. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 21, p. 3437–44, 2009. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.9068>

PAROHAN, M. et al. Dietary total antioxidant capacity and mortality from all causes, cardiovascular disease and cancer: a systematic review and dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. **European journal of nutrition**, p. 1-15, 2019.

PUROHIT, A. et al. Aromatase activity and interleukin-6 production by normal and malignant breast tissues. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 80, n. 10, p. 3052-3058, 1995. <https://doi.org/10.1210/jc.80.10.3052>

QIU, J. et al. Risk Factors for Breast Cancer and Expression of Insulin-Like Growth Factor-2 (IGF-2) in Women with Breast Cancer in Wuhan City, China. (K. Afarinkia, Ed.). **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 5, p. e36497, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036497>

RIBEIRO, J. I. Carcinoma da mama: Estado da Arte. Lisboa. Dissertação (Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Saúde) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia. 2014. 339 p.

RICHARDS, J. Signaling pathways regulating aromatase and cyclooxygenases in normal and malignant breast cells. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 80, n. 2, p. 203-212, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(01\)00187-X](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(01)00187-X)

RUSHMORE, T. H. The antioxidant responsive element. Activation by oxidative stress and identification of the DNA consensus sequence required for functional activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 18, p. 11632-11639, 1991.

SANGEETHA, P. et al. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 8, n. 1, p. 15-19, 1990. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90139-A](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90139-A)

SHIVAPPA, N. et al. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. **Public Health Nutr**, v. 17, n. 8, p. 1689–96, Aug. 2014. <https://doi.org/10.1017/S1368980013002115>

SHIVAPPA, N. et al. Prospective Study of Dietary Inflammatory Index and Risk of Breast Cancer in Swedish Women. **Br J Cancer**, v. 113, n. 7, p. 1099–103, Sep. 2015. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.304>

SHIVAPPA, N. et al. Prospective study of the dietary inflammatory index and risk of breast cancer in postmenopausal women. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 5, p. 1600592, 2017. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600592>

SIMPSON, E. R.; BROWN, K. A. Minireview: Obesity and Breast Cancer: A tale of inflammation and dysregulated Metabolism. **Molecular Endocrinology**, v. 27, n. 5, 10 p. 2013. <https://doi.org/10.1210/me.2013-1011>

SINGH, S. et al. Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. **Free radical research**, v. 44, n. 11, p. 1267-1288, 2010. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.507670>

SKOUROLIAKOU, M. et al. Serum antioxidant capacity, biochemical profile and body composition of breast cancer survivors in a randomized Mediterranean dietary intervention study. **European journal of nutrition**, p. 1-13, 2017.

SMITH, C.; MARKS, A.; LIEBERMAN, M. **Bioquímica básica de Marks: uma abordagem clínica**. Porto Alegre, Artmed. 2007.  
SOLOVERA et al., 2009

SOUZA, M. A. N. Capacidade antioxidante total da dieta e depressão em idosos: um estudo de base populacional em viçosa (MG). Tese de Doutorado (Magister Scientiae.) - Universidade Federal de Viçosa. 2016. 78 p.

SOUZA, A. V. Efeitos de diferentes modalidades de exercício físico em indivíduos treinados sobre biomarcadores salivares e plasmáticos de estresse oxidativo e intensidade de exercício. Dissertação (Mestrado em Genética – Instituto de Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2017. 45 p.

SUMAN, S. et al. Current perspectives of molecular pathways involved in chronic inflammation-mediated breast cancer. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 472, n. 3, p. 401-409, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.10.133>

SWIERCZYNSKI, J. et al. Role of abnormal lipid metabolism in development, progression, diagnosis and therapy of pancreatic cancer. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 9, p. 2279, 2014. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i9.2279>

TABUNG, F. K. et al. Association of dietary inflammatory potential with colorectal cancer risk in men and women. **JAMA oncology**, v. 4, n. 3, p. 366-373, 2018. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.4844>

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4<sup>a</sup> ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA - UNICAMP, 2011.

TANG, X. et al. A joint analysis of metabolomics and genetics of breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 16, n. 415. 2014. <https://doi.org/10.1186/s13058-014-0415-9>

TORRES, T.; FARAH, A. Coffee, maté, açaí and beans are the main contributors to the antioxidant capacity of Brazilian's diet. **European journal of nutrition**, v. 56, n. 4, p. 1523-1533, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1198-9>

TRAMSEN, L. et al. Lack of effectiveness of neutropenic diet and social restrictions as anti-infective measures in children with acute myeloid leukemia: an analysis of the AML-BFM 2004 trial. **Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 23, p. 2776, 2016. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.66.7881>

TRÉDAN, O. et al. Body weight change in women receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer: A French prospective study. **Clin Nutr**, Kidlington, Oxford, UK, v. 29, n. 2, p. 187–91, Apr. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2009.08.003>

TURNER, A. P. F. Biosensors: sense and sensibility. **Chemical Society Reviews**, v. 42, 12 p. 2013. <https://doi.org/10.1039/c3cs35528d>

USDA. United States Dietetic Association. Dietary Guidelines for Americans. [Internet]. 2005. [acesso 06 mai 2018].  
Disponível: <http://health.gov/dietaryguidelines/dga2005/document/>

VANCE, V. et al. Weight gain in breast cancer survivors: prevalence, pattern and health consequences. **Obesity Reviews**, Oxford, UK, v. 12, n. 4, p. 282-94, Apr. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2010.00805.x>

WCRF. **Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective**. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research, Washington, 2007. Disponível em: <<http://www.wcrf.org/int/research-we-fund/our-cancer-prevention-recommendations>>. Acesso em 02 jun 2019.

WCRF. WORLD CANCER RESEARCH FUND. **Diet, nutrition, physical activity and breast cancer survivors**. Continuous Update Project, Analysing research on cancer prevention and survival. 2014. Disponível em: <<http://www.wcrf.org/sites/default/files/Breast-Cancer-Survivors-2014-Report.pdf>>. Acesso em: 02 jun 2019.

WHO. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 854. [Internet] Geneva, Switzerland; 1995. [acesso 08 mai 2019].  
Disponível: [http://www.who.int/childgrowth/publications/physical\\_status/en/](http://www.who.int/childgrowth/publications/physical_status/en/)

WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO consultation. WHO Technical Report Series 894. [Internet] Geneva, Switzerland: World Health Organ Tech Rep Ser; 2000;894:i-xii, 1–253. [acesso 08 mai 2019].  
Disponível: [http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO\\_TRS\\_894/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/)

WILLETT, W. C. et al. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **The American journal of clinical nutrition**, v. 65, n. 4, p. 1220S-1228S, 1997. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.1220S>

YOU, J. S.; JONES, P. A. Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin?. **Cancer cell**, v. 22, n. 1, p. 9-20, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.06.008>

ZHAO, H. et al. Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. **Journal of molecular endocrinology**, v. 57, n. 1, p. R19, 2016. <https://doi.org/10.1530/JME-15-0310>

ZHU, J. et al. An overview of chemical inhibitors of the Nrf2-ARE signaling pathway and their potential applications in cancer therapy. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 99, p. 544-556, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.09.010>

## ANEXO A



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** SENSações RELACIONADAS À INGESTÃO ALIMENTAR EM PACIENTES ONCOLÓGICOS SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA

**Pesquisador:** Cibele Aparecida Crispim

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 22439714.0.0000.5152

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.111.998

**Data da Relatoria:** 24/04/2015

#### Apresentação do Projeto:

O câncer de mama é um grupo heterogêneo de doenças, com comportamentos distintos. É a neoplasia mais frequente na população feminina, representando 23% do total de casos de câncer no mundo em 2008. No Brasil, excluídos os tumores de pele não melanoma, o câncer de mama também é o mais incidente em mulheres e a primeira causa de morte por câncer nessa população. Considerando-se o impacto do tratamento anti-neoclássico nas condições físicas e psicológicas das pacientes, torna-se indispensável avaliar em que grau essa terapia afeta o estado nutricional e o comportamento alimentar, e ainda, as possíveis influências dessas variáveis na qualidade de vida. O estudo em questão é do tipo longitudinal, prospectivo e será desenvolvido com pacientes do sexo feminino, com diagnóstico recente de Câncer de Mama e indicação de tratamento quimioterápico no Setor de Oncologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCUFU). Não serão levados em consideração o estadió da doença e a finalidade da quimioterapia. A pesquisa será executada no próprio Ambulatório de Quimioterapia mediante autorização da Diretoria do HCUFU e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas (CEP). Em acordo com cálculo amostral, considerando 95% de confiança e risco de erro (alfa 2) de 5%, no mínimo 40 pacientes com câncer de mama deverão participar do estudo. Serão avaliados parâmetros antropométricos, dietéticos e qualidade de vida em três momentos do tratamento quimioterápico:

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

## ANEXO B

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidada para participar da pesquisa intitulada **“Sensações relacionadas à ingestão alimentar em pacientes oncológicos submetidos à quimioterapia”**, sob a responsabilidade dos pesquisadores Prof<sup>ª</sup>. Dra. Cibele Aparecida Crispim, Dra. Paula Philbert Lajolo, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia, Eduarda da Costa Marinho, Isabela Borges Ferreira, Isis Danyelle Dias Custódio e Alinne Tatiane Faria Silva.

Nesta pesquisa nós pretendemos avaliar as sensações relacionadas à ingestão alimentar em pacientes submetidos à quimioterapia, para que seja possível criar alternativas que diminuam os efeitos maléficos da quimioterapia e possibilitar uma melhor qualidade de vida do paciente.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido pelas pesquisadoras Eduarda da Costa Marinho e Isabela Borges Ferreira no momento da aplicação dos questionários. Na sua participação, antes, durante e no término do tratamento quimioterápico você passará por uma avaliação antropométrica, em que serão aferidos: peso, estatura, circunferência da cintura e do quadril. Após essa avaliação, responderá a um questionário para avaliação da qualidade de vida. Para avaliar seu consumo alimentar, entraremos em contato via telefone em três dias alternados após administração da quimioterapia, e aplicaremos um inquérito alimentar denominado Recordatório de 24 horas. No último dia de inquérito, você preencherá no próprio domicílio um formulário para avaliação das sensações relacionadas à ingestão alimentar. Após 30 dias do término da quimioterapia, será coletado sangue periférico (10 mL) para avaliação de algumas substâncias relacionadas com inflamação corporal e aspectos genéticos. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa.

O risco encontra-se em um possível constrangimento ao responder aos questionários e durante a aferição das medidas antropométricas (principalmente o peso corporal), além de certo desconforto ou hematoma devido à punção venosa para coleta do material a ser analisado. O benefício consiste em levar a alternativas que possam amenizar os efeitos colaterais nas sensações alimentares dos pacientes submetidos à quimioterapia.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com: Cibele Aparecida Crispim pelo endereço: Universidade Federal de Uberlândia: Av. Pará, nº 1720, Campus Umuarama – Uberlândia – MG, CEP: 38405-320; fone: 34-32182084. Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, Campus Santa Mônica – Uberlândia –MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394131.

Uberlândia, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

---

Assinatura dos pesquisadores

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

---

Participante da pesquisa

## ANEXO C

Código do voluntário: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

DATA:

REFEIÇÃO	ALIMENTOS	MEDIDAS CASEIRAS
Horas: Local:		

Preferências:

Aversões adquiridas:

Momento: ( ) 0 ( ) 1 ( ) 2

Dia: ( ) 1 ( ) 2 ( ) 3

## ANEXO D

Código do voluntário: \_\_\_\_\_

DATA: \_\_\_\_\_



### EORTC QLQ-C30 (versão 3.0.)

Nós estamos interessados em alguns dados sobre você e sua saúde. Responda, por favor, a todas as perguntas fazendo um círculo no número que melhor se aplica a você. Não há respostas certas ou erradas. As informações que você fornecer permanecerão estritamente confidenciais.

Por favor, preencha suas iniciais:

--	--	--	--	--

Sua data de nascimento (dia, mês, ano):

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Data de hoje (dia, mês, ano):

31 

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

	Não	Pouco	Modera- damente	Muito
1. Você tem alguma dificuldade quando faz grandes esforços, por exemplo carregar uma bolsa de compras pesada ou uma mala?	1	2	3	4
2. Você tem alguma dificuldade quando faz uma <u>longa</u> caminhada?	1	2	3	4
3. Você tem alguma dificuldade quando faz uma <u>curta</u> caminhada fora de casa?	1	2	3	4
4. Você tem que ficar numa cama ou na cadeira durante o dia?	1	2	3	4
5. Você precisa de ajuda para se alimentar, se vestir, se lavar ou usar o banheiro?	1	2	3	4

#### Durante a última semana:

	Não	Pouco	Modera- damente	Muito
6. Tem sido difícil trabalhar ou realizar suas atividades diárias?	1	2	3	4
7. Tem sido difícil praticar seu hobby ou participar de atividades de lazer?	1	2	3	4
8. Você teve falta de ar?	1	2	3	4
9. Você tem tido dor?	1	2	3	4
10. Você precisou repousar?	1	2	3	4
11. Você tem tido problemas para dormir?	1	2	3	4
12. Você tem se sentido fraco/a?	1	2	3	4
13. Você tem tido falta de apetite?	1	2	3	4
14. Você tem se sentido enjoado/a?	1	2	3	4
15. Você tem vomitado?	1	2	3	4
16. Você tem tido prisão de ventre?	1	2	3	4



## ANEXO E

Código do voluntário: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

DATA:



### EORIC QLQ - BR23

Às vezes, os pacientes relatam os sintomas ou problemas relacionados abaixo. Por favor, indique até que ponto você apresentou esses sintomas ou problemas durante a última semana.

<b>Durante a última semana:</b>	<b>Não</b>	<b>Pouco</b>	<b>Moderado</b>	<b>Muito</b>
31. Sentiu a boca seca?	1	2	3	4
32. O que comeu e bebeu teve um sabor diferente do normal?	1	2	3	4
33. Sentiu os olhos doloridos, irritados ou lacrimejantes?	1	2	3	4
34. Teve queda de cabelo?	1	2	3	4
35. Responda a esta pergunta apenas se teve queda de cabelo: A queda de cabelo perturbou você?	1	2	3	4
36. Sentiu-se doente ou indisposta?	1	2	3	4
37. Sentiu fogachos?	1	2	3	4
38. Sentiu dor de cabeça?	1	2	3	4
39. Você se sentiu menos bonita devido à sua doença ou tratamento?	1	2	3	4
40. Você se sentiu menos mulher como resultado de sua doença ou tratamento?	1	2	3	4
41. Achou difícil observar-se nua?	1	2	3	4
42. Sentiu-se insatisfeita com seu corpo?	1	2	3	4
43. Sentiu-se preocupada com sua saúde futura?	1	2	3	4
<b>Durante as últimas <u>quatro</u> semanas:</b>	<b>Não</b>	<b>Pouco</b>	<b>Moderado</b>	<b>Muito</b>
44. Até que ponto sentiu desejo sexual?	1	2	3	4
45. Com que frequência foi sexualmente ativa (teve relações sexuais)? (com ou sem relação sexual)	1	2	3	4
46. Responda a esta pergunta apenas se tiver sido sexualmente ativa: Até que ponto o sexo foi satisfatório para você?	1	2	3	4

<b>Durante a última semana:</b>	<b>Não</b>	<b>Pouco</b>	<b>Moderado</b>	<b>Muito</b>
47. Sentiu dores no braço ou ombro?	1	2	3	4
48. Sentiu seu braço ou sua mão inchados?	1	2	3	4
49. Sentiu dificuldade em levantar ou abrir o braço?	1	2	3	4
50. Sentiu dores na área de seu seio doente?	1	2	3	4
51. Sentiu a área de seu seio doente inchada?	1	2	3	4
52. Sentiu a área de seu seio doente demasiado sensível?	1	2	3	4
53. Sentiu problemas de pele no ou na área do seio doente (i.e., comichão, pele seca ou escamosa)?	1	2	3	4