

Mulheres com Câncer de Mama que Recidivam/Morrem Têm Estresse Oxidativo Associado à Obesidade Visceral no Diagnóstico: Estudo Longitudinal

Women with Breast Cancer Who Relapse / Die Have Oxidative Stress Associated with Visceral Obesity at Diagnosis: Longitudinal Study

Renata Melo Sampaio¹
Vitória Maria Queiroz Machado²
Adila da Silva Castro³
Nágila Raquel Teixeira Damasceno⁴
Sâmia Lopes Costa⁵
Sara Maria Moreira Lima Verde⁶

RESUMO

Objetivo: Avaliar mulheres com câncer de mama ao diagnóstico, para verificar a presença de estresse oxidativo e obesidade e sua associação com desfechos de sobrevivência após 5 anos de seguimento. **Metodologia:** Estudo longitudinal, observacional e analítico, realizado com 114 mulheres com câncer de mama, avaliadas em dois momentos: no diagnóstico (T0), onde se coletou dados socioeconômicos, antropométricos (peso, altura e circunferência da cintura), biomarcadores oxidativos (TBARS, LDL-, AntiLDL- e 8-OHdG) e antioxidantes (retinol, α -tocoferol, β -caroteno, EPA, DHA, linolênico e linoleico); e 5 anos após o diagnóstico (T1), quando se investigou os desfechos de sobrevivência: vivas sem doença e recidiva/morte. Modelos de regressão brutos e ajustado por tempo de acompanhamento e estadiamento clínico (EC) foram utilizados para avaliar associação entre medidas antropométricas e desequilíbrio oxidativo nos diferentes desfechos de sobrevivência. **Resultados:** O grupo recidiva/morte apresentou maior prevalência de tumores >5cm e estadiamentos clínicos mais avançados, quando comparado ao grupo vivas sem doença. Ocorreu maior desequilíbrio oxidativo ao diagnóstico no grupo que recidivou/morreu. O aumento de marcadores oxidantes, como a 8-OHdG e TBARS, implicou em redução do composto antioxidante β -caroteno. A circunferência da cintura apresentou correlação positiva com 8-OHdG no grupo que recidivou/morreu, mas não no grupo vivas sem doença. **Conclusão:** O desequilíbrio oxidativo e a obesidade visceral, ao diagnóstico, estiveram associados com maior risco de recidiva/morte em mulheres com câncer de mama.

DESCRIPTORES

Estresse oxidativo. Câncer de Mama. Obesidade Visceral. Desequilíbrio Oxidativo.

ABSTRACT

Objective: to evaluate women with breast cancer at diagnosis, to check for the presence of oxidative stress and obesity and its association with survival outcomes after 5 years of follow-up. **Methodology:** Longitudinal, observational and analytical study, carried out with 114 women with breast cancer, evaluated in two moments: at diagnosis (T0), where socioeconomic, anthropometric data (weight, height and waist circumference), oxidative biomarkers (TBARS, LDL-, AntiLDL- and 8-OHdG) and antioxidants (retinol, α -tocopherol, β -carotene, EPA, DHA, linolenic and linoleic) data were collected; and at 5 years after diagnosis (T1), when survival outcomes were investigated: alive without disease and recurrence/death. Crude regression models and adjusted for follow-up time and clinical staging (EC) were used to assess the association between anthropometric measures and oxidative imbalance in different survival outcomes. **Results:** The recurrence/death group had a higher prevalence of tumors >5 cm and more advanced clinical staging when compared to the group living without the disease. There was a greater oxidative imbalance at diagnosis in the group that relapsed/died. The increase in oxidative markers, such as 8-OHdG and TBARS, implied a reduction in the antioxidant compound β -carotene. Waist circumference showed a positive correlation with 8-OHdG in the group that relapsed/died, but not in the group alive without disease. **Conclusion:** The oxidative imbalance and visceral obesity, at diagnosis, were associated with a higher risk of recurrence/death in women with breast cancer.

DESCRIPTORS

Oxidative Stress. Breast Cancer. Visceral Obesity. Oxidative Imbalance.

¹ Nutricionista. Mestre em Nutrição e Saúde - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde/Universidade Estadual do Ceará (PPGNS/UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil.

² Nutricionista. Mestranda em Nutrição e Saúde - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde/Universidade Estadual do Ceará (PPGNS/UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil.

³ Nutricionista do Instituto Dr José Frota (IJF-Fortaleza). Mestre em Nutrição e Saúde - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde/Universidade Estadual do Ceará (PPGNS/UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil.

⁴ Nutricionista. Mestre em Nutrição e Saúde - Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde/ Universidade Estadual do Ceará (PPGNS/UECE); Professora do Curso de Nutrição da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brasil.

⁵ Nutricionista. Professora Doutora e Pesquisadora do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública (FSP/USP), São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁶ Nutricionista. Professora Doutora e Pesquisadora do Curso de Nutrição/Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde/Universidade Estadual do Ceará (PPGNS/UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil.

A obesidade tem sido amplamente estudada como importante fator de risco para o câncer de mama¹, em decorrência do seu potencial inflamatório e por aumentar o estresse oxidativo². A presença dela, por si, já induz ao dano oxidativo por meio de vários mecanismos: indução da NADH oxidase, fosforilação oxidativa, hiperleptinemia, baixa defesa antioxidante e formação de espécies reativas de oxigênio (EROs)³.

O excesso de acúmulo de gordura na região abdominal - a obesidade visceral também é um forte preditor para doenças crônicas e câncer de mama. Estudos tem demonstrado que indivíduos com obesidade visceral estão propensos ao maior acúmulo de marcadores de estresse oxidativo, de danos ao DNA, bem como de inflamação⁴. O dano ao DNA, que muitas vezes é expresso por meio da elevada concentração de 8 hydroxy-2-Deoxyguanosine (8- OHdG)⁵, pode sugerir impacto negativo sobre o prognóstico e sobrevida das pacientes.

Atualmente, a literatura que trata de acompanhar pacientes com câncer de mama, investigando os desfechos de sobrevida e os fatores que podem contribuir para melhor prognóstico e maior tempo de vida livre da doença têm estado em franca ampliação^{6,7}, ficando evidente que todo o perfil antropométrico e bioquímico ao diagnóstico pode ser um sinalizador de alvos terapêuticos que favoreçam maior sobrevida livre das doenças⁸.

Diante do exposto, nossa hipótese foi de que mulheres sobreviventes do câncer de mama que em cinco anos recidivam ou morrem pela doença têm, ao diagnóstico, maior obesidade e estresse oxidativo, quando

comparadas às pacientes que permanecem vivas sem a doença. Assim, o presente estudo objetivou avaliar a presença de obesidade e estresse oxidativo ao diagnóstico em mulheres com câncer de mama e sua associação com desfechos de sobrevida após cinco anos de seguimento.

METODOLOGIA

Desenho de Estudo

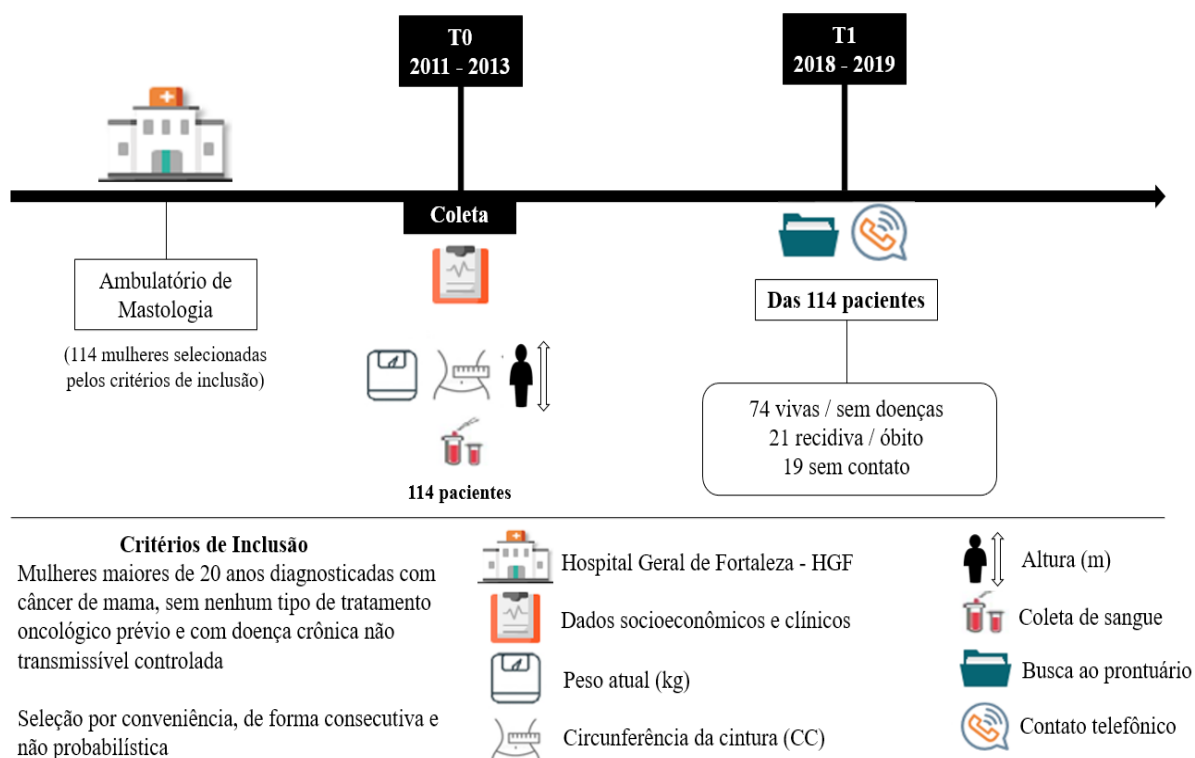
Trata-se de um estudo longitudinal, prospectivo. As participantes foram investigadas em dois momentos: T0 - ao diagnóstico e T1 - 5 anos após o diagnóstico, conforme descrito na figura 1.

Dados Socioeconômicos e Clínicos

Coletamos dados socioeconômicos no T0 referentes ao estado civil, etnia, escolaridade e renda familiar, por meio de entrevista com as pacientes. As informações clínicas (estágio de menopausa, uso de terapia de reposição hormonal - TRH, nuliparidade, amamentação, tabagismo, etilismo, antecedentes familiares de câncer, estadiamento clínico - EC, tamanho do tumor e linfonodos comprometidos), foram obtidas por leitura dos prontuários.

Sobre os desfechos de sobrevida no momento T1 (5 anos após o diagnóstico) investigamos se as pacientes estavam: a. vivas sem câncer (mulheres diagnosticadas, tratadas e sem doença ativa); b. vivas com câncer (mulheres com doença ativa - local ou à distância) e c. óbito (morte por todas as causas, morte por câncer ou morte por câncer

Figura 1. Fluxograma do desenho de estudo e coleta de dados



de mama). Essa investigação deu-se pela identificação da última visita da paciente ao serviço de saúde ou contato com a paciente e/ou familiares quando essa informação não estava presente nos prontuários até seis meses antes da coleta de dados.

Dados Antropométricos

A avaliação antropométrica deu-se pela aferição do peso atual (PA), altura (m) e circunferência da cintura (CC). O peso foi aferido em uma balança digital com capacidade de 150 kg e precisão de 100g. Para altura, utilizou-se um estadiômetro portátil, com limite de 2m e precisão de 1mm. Os valores de peso e altura foram utilizados para o cálculo do índice de massa corporal

($IMC = \text{Peso}/\text{Altura}^2$) e a classificação do estado nutricional deu-se pelos parâmetros da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000)⁹ para mulheres adultas. Para as idosas, utilizamos a recomendação da Associação Dietética Norte-Americana - The Nutrition Screening Initiative, 1994¹⁰. Em relação à CC, utilizou-se uma fita métrica inelástica, posicionada sobre a cicatriz umbilical. O ponto de corte para obesidade abdominal foi estabelecido pela IDF – International Diabetes Federation (2006)¹¹, cujo valor é $CC \geq 80$ cm.

Marcadores oxidativos

Os marcadores de estresse oxidativo avaliados foram TBARS (Substâncias

Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), LDL(-) (LDL eletronegativo), ANTI-LDL (-) (Auto-Anticorpo LDL eletronegativo), 8-OHdG (8-hidroxi-2-deoxyguanosina), a partir da amostra de plasma obtida após coleta de sangue mediante jejum de 12 horas, em tubo à vácuo contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (1 mg/ml).

Para análise de TBARS foi acrescentado ao plasma 1 ml da solução de ácidos tiobarbitúricos (0,046M), ácido tricloroacético (0,92M) e ácido clorídrico (0,25M) e levou-se para incubação em banho-maria fervente (100°C) por 30 minutos. Em seguida, foram levados para centrifugação a 8000 x g, por 15 minutos à 4°C. O sobrenadante (200 µmol) foi removido, sendo os produtos reativos monitorados em espectrofotômetro a 535 nm. A quantificação foi realizada aplicando a média das duplicatas na curva padrão de tetraetilpirazina (TEP) construída no intervalo de 0,2 a 0,4 µmol de TBARS/L de plasma¹². Os valores foram expressos em µmol de TBARS/mg de proteínas. O dano ao DNA, representado pelo 8-OHdG, foi avaliado por imunoenensaio do tipo ELISA, utilizando o kit de dano ao DNA (Enzo Life Sciences ®).

Para a detecção do LDL (-) foi utilizado o Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) sanduíche e seguiu o protocolo padronizado pelo grupo de pesquisa¹³. As placas (Costar®, modelo 3690, Corning, USA) foram sensibilizadas com Anticorpo Monoclonal Anti-LDL (-) (MAb- 1A3) (0,5 µg/ mL, 50 µL/ poço), diluído em tampão Carbonato/ Bicarbonato (0,25M, pH 9,6) sendo então incubadas overnight (16h) a 4°C. Após esse período, as placas foram lavadas 3 vezes, por imersão em tampão fosfato-

salina (PBS) - Tween 0,05%. Então, os sítios livres foram bloqueados com leite desnatado (Molico®, Nestlé, São Paulo, Brasil), diluído a 2% em PBS -Tween 0,01% e incubados a 37°C, por 2 horas.

Depois da incubação, as placas foram lavadas por imersão, 3 vezes, em PBS -Tween 0,05%, sendo então adicionados 50 µL/ poço do plasma das pacientes diluído em 1:1000 de leite desnatado, preparado a 1% em PBS -Tween 0,01%, seguido com incubação a 37°C, por 1h30 min. As placas foram então lavadas 3 vezes em imersão com PBS -Tween 0,05%.

Em seguida, foram adicionados 50 µL/ poço de anticorpo monoclonal anti-LDL (-) biotilado (Ac-2C7b) (10 µg/ml), diluído em leite desnatado preparado a 1% em PBS -Tween 0,01%. As placas seguiram para incubação a 37°C por 1h, sendo então lavadas por imersão 3 vezes, com PBS -Tween 0,05%. Após esta etapa, foi adicionada estreptoavidina-peroxidase (1:40000), diluído em leite desnatado preparado a 1% em PBS -Tween 0,01% (50 µL/ poço), sendo as placas incubadas por 1h a 37°C e, em seguida, lavadas 4 vezes por imersão, com PBS -Tween 0,05%.

Seguiu-se com a adição de 50 µL/ poço da solução de ortofenilenediamina (OPD) diluída em tampão de citrato-fosfato (0,1M, PH 4,2) e H₂O₂ (30%) (250/12/10, µL, ml, µL). Após a incubação de 5 minutos, a reação de cor foi bloqueada com 50 µL/ poço de ácido sulfúrico (H₂SO₄) (2M) e absorbância observada em 450 nm. Os resultados foram expressos por meio das médias das absorbâncias das amostras menos o background e, posteriormente,

aplicados à curva padrão e multiplicados pela respectiva diluição, sendo os resultados expressos em U/L.

Avaliou-se a concentração de Auto-Anticorpo anti LDL(-) por ELISA de captura de anticorpo, onde a LDL (-) isolada por FPLC, foi diluída em tampão carbonato-bicarbonato (0,25M, PH 9,6) até a concentração final de 1 µg/ml pipetada na placa (Costar®, modelo 3690, Corning, USA) e incubada overnight a 4°C para sensibilização. Os espaços livres foram bloqueados com leite desnatado diluído à 5% em tampão fosfato-salina 0,01 mmol/L (PBS – PH 7,4) e incubados à 37°C por 2h. Após a incubação, lavou-se as placas 4 vezes por imersão, com PBS -Tween (0,05%).

Em seguida, diluiu-se as amostras (1:500) em PBS, as quais foram pipetadas (50 µL/ poço) na placa sensibilizada com LDL (-), seguido de incubação por 2h à 37°C. Posteriormente, as placas foram lavadas conforme descrito acima e adicionados 50 µL/ poço de anti-igG humana marcada com peroxidase (1:5000) diluídas em PBS. As placas seguiram para incubação, durante 1h30min, à 37°C e posterior lavagem, conforme descrito acima.

Para avaliar a reatividade adicionou-se o substrato composto por 3,3',5,5'-tetrametilbenzina (TMB), tampão citrato-fosfato (0,1M, PH 4,2) e H₂O₂ (30%) (250/12/10, µL, ml, µL), sendo a placa incubada por 15 minutos, à 37°C, sob a proteção da luz. A reação de cor foi bloqueada com 50 µL/ poço de ácido sulfúrico (H₂SO₄) (2M) e absorbância observada em 450 nm. Os resultados foram expressos por meio das médias das absorbâncias das amostras menos o background à equação da curva

padrão de MAb (MAb-1A3) (0,004- 0,125 mU/L).

Marcadores antioxidantes

Foram avaliados os marcadores antioxidantes β-caroteno e α-tocoferol sendo suas concentrações mensuradas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e do protocolo descrito por Arnaud e colaboradores (1991)¹⁴. Para análise foram extraídos 200 µl do plasma, por meio do acréscimo de 200 µl de solução de etanol (Merck, Darmstadt, Germany; high-performance liquid chromatography - HPLC), seguido por 5s de vortex (Biomixer-MVS-1, Hamilton Beach, Washington, NC, USA). Após esse período, foram adicionados 500 µl de hexano (Merck; HPLC) e a solução final foi misturada por 2 minutos. A solução foi centrifugada (Centrifuge Eppendorf 5415C, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) durante 5 minutos a 4°C e o sobrenadante foi transferido e evaporado sob nitrogênio. Os antioxidantes extraídos foram suspensos novamente em 200 µl da fase móvel a qual consistia em ofacetonitrila/ metanol/ diclorometano (70%, 20%, 10%).

A análise de β-caroteno e α-tocoferol foi realizada utilizando HPLC (Shimadzu Inc., Tokyo, Japan) a qual foi realizada por meio de coluna de separação Synergy Fusion 5µ – C8 em coluna de 150 x 4,6 mm e a pré coluna Security Guard-HPLC Guard Cartridge System-KJO 4282, de Phenomenex (Torrance, CA, USA). O efluente foi monitorado por SPD-10AVVP UV-vis and RF-10AXL (Shimadzu Inc.). O detector de fluorescência foi em 295 nm (excitação) e 340 nm (emissão). O fluxo

da fase móvel foi 1,0 ml/ min por 8 minutos. O tempo de retenção para α -tocoferol, retinol e β -caroteno foram 4,5 minutos, 2,5 minutos e 6,7 minutos, respectivamente. A curva foi realizada usando padrão externo (99%) com concentrações de α -tocoferol entre 2 e 49 $\mu\text{mol/l}$, retinol entre 0,2 e 6,5 $\mu\text{mol/l}$ e β -caroteno entre 0,1 e 0,76 $\mu\text{mol/l}$. O coeficiente de variação foi 2,9%.

Análise estatística

Para fins de análise estatística, os desfechos investigados foram categorizados em: a. vivas sem a doença e b. recidiva/morte. Na categoria “a” inserimos as mulheres diagnosticadas, tratadas e sem doença ativa. Na categoria “b” foram agrupadas mulheres com doença ativa - local ou à distância e os óbitos (morte por todas as causas, morte por câncer ou morte por câncer de mama).

As variáveis qualitativas estão apresentadas em frequência simples e números relativos. Para as variáveis quantitativas contínuas, realizamos os testes de normalidade e homogeneidade, utilizando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. O perfil clínico segundo os desfechos investigados foi avaliado pelo teste X^2 de Pearson. A comparação de médias das variáveis antropométricas e bioquímicas entre os desfechos foi realizada por meio dos testes t de Student independente, para os dados paramétricos e Mann-Whitney para os não paramétricos.

Seguiu-se com a análise da correlação entre os marcadores oxidantes e antioxidantes utilizando-se o Teste de Correlação de Pearson para variáveis com distribuição normal e

Spearman para as variáveis não paramétricas. Para aqueles marcadores que apresentaram correlação, realizou-se uma regressão linear utilizando modelo bruto e ajustado por tempo de acompanhamento e estadiamento clínico (EC). Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 20.0, adotando $p < 0,05$ como significante.

RESULTADOS

As 114 pacientes avaliadas tinham ao diagnóstico uma média de idade de $50,6 \pm 11,4$ anos e foram acompanhadas por $55,4 \pm 16,6$ meses. Entre elas, 64,9% (74) estava viva sem a doença, 18,4% (21) apresentou recidiva ou foi a óbito por câncer de mama e 16,7% (19) perdeu-se no seguimento por informações incompletas nos prontuários, não ter realizado retorno às consultas e/ou perda do contato telefônico.

Com relação ao perfil clínico, o grupo recidiva/morte apresentou maior prevalência de tumores $>5\text{cm}$ ($p < 0,002$) e de EC mais avançados (II e III; $p < 0,02$), como demonstrado na Tabela 2.

Os grupos estavam com média de peso semelhante ($68,0 \pm 11,0\text{kg}$ e $66,6 \pm 2,3\text{kg}$ - $p = 0,607$, vivas sem doença e recidiva/morte, respectivamente) e também de IMC ($27,74 \pm 4,13\text{ kg/m}^2$ e $28,62 \pm 5,08\text{ kg/m}^2$ - $p = 0,414$, vivas sem doença e recidiva/morte, respectivamente), bem como de CC ($96,25 \pm 10,08\text{ cm}$ e $96,85 \pm 11,91\text{ cm}$ - $p = 0,821$, vivas sem doença e recidiva/morte, respectivamente), como mostra a tabela a 2.

Em análise de correlação entre variáveis

Tabela 1. Perfil clínico das participantes ao diagnóstico, de acordo com os desfechos investigados

Variáveis	Vivas sem doença n (%)	Recidiva/Morte n (%)	p
Menopausa			
Sim	36 (48,6)	11 (52,4)	0,763
Não	38 (51,4)	10 (47,6)	
TRH			
Sim	9 (12,2)	2 (9,5)	0,739
Não	65 (87,8)	19 (90,5)	
Nuliparidade			
Sim	14 (18,9)	2 (9,5)	0,310
Não	60 (81,1)	19 (90,5)	
Amamentação			
Sim	52 (86,7)	17 (89,5)	0,748
Não	8 (13,3)	2 (10,5)	
Fumo			
Não	46 (62,2)	13 (61,9)	0,327
Fumante	8 (10,8)	3 (14,3)	
Ex-fumante	20 (27)	5 (23,8)	
Etilismo			
Não	41 (55,4)	13 (61,9)	0,753
Etilista	16 (21,6)	3 (14,3)	
Ex-etilista	17 (23)	5 (23,8)	
Antecedentes Clínicos			
Sim	52 (70,3)	14 (66,7)	0,752
Não	22 (29,7)	7 (33,3)	
Estadiamento clínico			
0	4 (6,2)	0 (0)	0,002
I	22 (36,8)	2 (10,5)	
II	27 (41,5)	6 (31,6)	
III	9 (13,8)	11 (57,9)	
IV	3 (4,6)	0 (0)	
Tamanho do Tumor			
Tis	2 (3,3)	0 (0,0)	0,02
T1 (até 2 cm)	28 (45,9)	2 (11,1)	
T2 (2 a 5 cm)	19 (31,1)	6 (33,3)	
T3 (≥ 5 cm)	5 (8,2)	3 (16,7)	
T4	6 (9,8)	7 (38,9)	
Tx	1 (1,6)	0 (0,0)	
Linfonodos Comprometidos			
N-	44 (72,1)	9 (50,0)	0,079
N+	17 (27,9)	9 (50,0)	

Legenda: TRH= terapia de reposição hormonal. As diferenças entre os grupos foram avaliadas através do teste χ^2 de Pearson. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

Tabela 2. Descrição de circunferência da cintura, de biomarcadores oxidativos e inflamatórios das participantes ao diagnóstico, de acordo com os desfechos investigados

Variáveis antropométricas, oxidativas e antioxidantes	Vivas sem doença n = 74	Recidiva/Morte n = 21	P*
Peso (Kg)	68,02 (11,05)	66,57 (12,37)	0,607
IMC (kg/m ²)	27,73 (4,13)	28,62 (5,08)	0,414
% Gordura	35,29 (4,59)	36,80 (4,95)	0,194
CC (cm)	96,25 (10,08)	96,85 (11,91)	0,821
TBARS (µmol/ ml)	6,00 (1,87)	6,46 (1,51)	0,121*
LDL (-) (mU/L)	3,7 (5,29)	3,81 (3,99)	0,593*
8-OHdG (ng/ml)	17,77 (6,3)	19,36 (6,65)	0,435*
Auto LDL (mU/L)	4,34 (2,3)	4,80 (2,43)	0,566*
β-caroteno (ng/ml)	0,46 (0,36)	0,42 (0,29)	0,932*
α-tocoferol (µmol/L)	11,29 (2,77)	11,02 (3,11)	0,709

Legenda: Resultados expressos em média e desvio padrão. A diferença entre médias foi avaliada através dos testes T-Student, para dados paramétricos e *Mann-Whitney para os não-paramétricos. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

pró-oxidantes, antioxidantes e antropométricas (Tabela 3), a 8-OHdG correlacionou-se inversamente com β -caroteno ($r = -0,652$ e $p = 0,002$) e diretamente com a circunferência da cintura ($r = 0,495$ e $p = 0,031$) no grupo recidiva/morte, mas não no grupo vivas sem doença ($r = 0,200$ e $p = 0,136$). O TBAR, no grupo vivas sem doença, apresentou uma correlação inversa com β -caroteno ($r = -0,272$ e $p = 0,023$), mas não no grupo recidiva/morte ($r = -0,305$ e $p = 0,179$). O LDL (-) e o Anti-LDL (-) não tiveram correlação com nenhum marcador antioxidante nos grupos avaliados.

A Tabela 4 descreve os resultados da regressão linear, para a qual foram realizados 4 modelos: sem ajuste, ajustado ao tempo de acompanhamento, ajustado ao estadiamento clínico e ajustado ao tempo de acompanhamento e estadiamento clínico. A regressão mostrou no grupo recidiva/morte que o aumento da 8-OHdG estava associado com aumento de CC e redução de β -caroteno, o que não aconteceu no grupo de vivas sem a doença. O aumento do TBARS tem efeito negativo sobre a concentração de β -Caroteno no grupo vivas sem doença.

Tabela 3. Associação entre variáveis de estresse oxidativo x fatores antioxidantes e antropométricos, ao diagnóstico, de acordo com desfechos vivas e recidiva/morte

	8-OHdG		TBAR		LDL (-)		Auto LDL	
	Vivos	Recidiva/ Morte	Vivos	Recidiva/ Morte	Vivos	Recidiva/ Morte	Vivos	Recidiva/ Morte
	r (p)		r (p)		r (p)		r (p)	
CC	0,200 (0,136)	0,495 (0,031)	-0,212 (0,092)	0,164 (0,477)	0,077 (0,540)	-0,330 (0,156)	-0,001 (0,991)	-0,061 (0,793)
β -caroteno	-0,202 (0,113)	-0,652 (0,002)	-0,272 (0,023)	-0,305 (0,179)	-0,057 (0,642)	0,233 (0,324)	0,040 (0,744)	0,132 (0,569)
α -Tocoferol	-0,026 (0,841)	0,175 (0,474)	-0,113 (0,352)	-0,314 (0,165)	-0,079 (0,517)	-0,390 (0,089)	0,002 (0,985)	0,007 (0,976)

Legenda: CC: Circunferência da cintura; r= coeficiente de correlação (Pearson/ Spearman); Nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 4. Modelos de regressão da associação entre estresse oxidativo x fatores antioxidantes e antropométricos e os desfechos de vida

8-OHdG	Vivas sem doença							
	Sem ajuste		Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
CC	Beta	P	Beta	P	Beta	P	Beta	P
	0,128	0,116	0,124	0,143	0,131	0,151	0,134	0,138
β -caroteno	-2,790	0,236	-2,746	0,251	-3,120	0,195	-3,926	0,106
TBAR	Beta	P	Beta	P	Beta	P	Beta	P
β -caroteno	-1,407	0,023	-1,447	0,020	-1,482	0,020	-0,165	0,049
8-OHdG	Recidiva / Morte							
CC	Sem ajuste		Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	Beta	P	Beta	P	Beta	P	Beta	P
	0,108	0,386	0,121	0,343	0,138	0,256	0,236	0,017
β -caroteno	-11,807	0,026	-11,150	0,039	-7,550	0,144	-13,459	0,008
TBAR	Beta	P	Beta	P	Beta	P	Beta	P
β -caroteno	-1,571	0,179	-1,554	0,198	-0,870	0,450	-0,009	0,055

Legenda: CC: circunferência da cintura; Modelo 1: regressão linear ajustada ao tempo de acompanhamento; Modelo 2: regressão linear ajustada ao estadiamento clínico; Modelo 3: regressão linear ajustada ao tempo de acompanhamento e estadiamento clínico.

DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar se o estresse oxidativo ao diagnóstico de câncer de mama influenciava os desfechos de sobrevida: vivas sem doença e recidiva/morte. Os resultados indicaram que no grupo que recidivou/morreu, ao diagnóstico, existiu maior estresse oxidativo e que o aumento de marcadores oxidantes, como a 8-OHdG e TBARS implica em redução de compostos antioxidantes, como β -caroteno. Além disso, a CC, importante marcador antropométrico de gordura visceral, apresentou correlação com 8-OHdG no grupo que recidivou/morreu, mas não no grupo vivas sem doença. Esse achado fortalece a hipótese de que mulheres com câncer de mama que em cinco anos recidivam/morrem pela doença têm ao diagnóstico evidente estresse oxidativo quando comparadas às pacientes que permanecem vivas sem doença.

Carioca e colaboradores⁵, estudando mulheres com câncer de mama, mostram desequilíbrio oxidativo em seus achados, nos quais β -caroteno, α -tocoferol e retinol estão inversamente correlacionados com LDL (-), 8-OHdG e TBAR. No presente estudo a 8-OHdG também apresentou importante correlação com β -caroteno no grupo que recidivou/morreu, mas não no grupo vivas sem doença. A 8-OHdG reflete dano ao DNA e tem sido apresentada como um marcador oxidativo em pacientes com câncer¹⁵. Além disso, a expressão de 8-OHdG está associada com prognóstico clínico em pacientes oncológicos de tumores sólidos e estudos demonstram a possibilidade desse marcador servir como um meio de rastreamento do câncer de mama em estágio inicial^{15,16}.

A relação inversa entre 8-OHdG e o β -caroteno nas pacientes que recidivaram/morreram evidencia o respeitável papel dos nutrientes antioxidantes na manutenção do equilíbrio oxidativo em pacientes com câncer. Cocate e colaboradores¹⁷ mostram que o maior consumo dietético de alimentos ricos em β -caroteno está associado com menor concentração de 8-OHdG. Em sinergia, avaliando pacientes com câncer de mama, Bakker e colaboradores¹⁸ observam que quanto maior a concentração plasmática de β -caroteno, menor a de 8-OHdG. Chlebowski e colaboradores¹⁹ avaliando o consumo alimentar de mulheres com câncer de mama, descobriram que aquelas com padrão de consumo rico em antioxidantes, ou seja, em frutas, vegetais e grãos integrais, apresentaram menor risco da doença quando comparadas com aquelas que não possuíam esse padrão alimentar.

Um dos mecanismos que pode explicar a relação antioxidante versus pró-oxidante na carcinogênese é o de que, na presença do desequilíbrio oxidativo, ocorre maior formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e, portanto, maior risco de dano ao DNA, levando ao comportamento anormal da célula, com desregulação da proliferação e morte celular²⁰.

O estresse oxidativo está presente na obesidade em função do processo de inflamação crônica de baixa intensidade característica dessa doença²¹. O tecido adiposo visceral é metabolicamente ativo e contribui sobremaneira para essa condição inflamatória²². As pacientes avaliadas no presente estudo, além do IMC médio que sugere excesso de peso, têm média de CC > 88cm, o que indica importante presença

de gordura visceral²³ e certamente processo inflamatório evidente. De acordo com Silva e colaboradores²⁴, o tecido adiposo visceral possui função metabólica distinta quando comparado ao tecido adiposo subcutâneo, uma vez que o visceral tem a capacidade de produzir mais citocinas e mais marcadores de inflamação crônica.

Considerando as características inflamatórias da obesidade, indicadas na população estudada, pelo IMC médio e a presença evidente de tecido adiposo visceral em excesso, compreende-se nessa população a instalação de um quadro inflamatório crônico de baixa intensidade. Entende-se assim a presença do desequilíbrio oxidativo, fortalecido no grupo recidiva/morte, com a correlação positiva e significativa entre CC e 8-OHdG. Estudos apontam que a CC pode ser importante marcador de risco para o câncer de mama entre mulheres pré e pós-menopausadas²⁵. Em metanálise com 18 estudos prospectivos realizados com mulheres com câncer de mama, Chen e colaboradores²⁶ indicam que a obesidade central medida pela CC está associada com o aumento do risco de câncer de mama na pré e pós-menopausa, independente da obesidade geral, medida pelo IMC e relação cintura quadril. Desse modo, aferir a CC é uma estratégia importante para avaliação de risco de recidiva do câncer de mama em mulheres sobreviventes⁵.

É importante destacar algumas

limitações do presente estudo, como a inexistência de um grupo controle que permitiria uma avaliação mais clara das variáveis oxidativas sem a interferência da patologia, bem como a ausência de dados de consumo alimentar que nos permitiriam compreender o padrão alimentar das participantes. Entretanto, o tempo de seguimento das pacientes de 55,4 meses fortalece a avaliação dos desfechos de sobrevida investigados e as análises de correlação realizadas implementam uma relação de causalidade. É imprescindível destacar que o presente estudo preenche uma lacuna da literatura indicada pelo WCRF sobre a ausência de estudos que investigam a relação entre nutrição, dieta e atividade física em países de baixa renda.

CONCLUSÃO

Concluimos que a associação entre variáveis antioxidantes e pró-oxidantes, bem como a obesidade visceral, ao diagnóstico, foram significativos para piores desfechos de sobrevida na população estudada.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao serviço de Mastologia do Hospital Geral de Fortaleza (HGF) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

REFERÊNCIAS

- Baronea I, Giordanoa C, Bonofiglio D, Andò S, Catalano S. The weight of obesity in breast cancer progression and metastasis: Clinical and molecular perspectives. *Seminars in Cancer Biology*. 2019; 60:274-284.
- Kompella P, Vasquez KM. Obesity and cancer: A mechanistic overview of metabolic changes in obesity that impact genetic instability. *Mol Carcinog*. 2019; 58(9):1531-1550.
- Čolak E, Pap D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. *J Med Biochem*. 2021; 40(1):1-9.
- García-Sánchez A, Gámez-Nava JI, de la Cruz END, Cardona-Muñoz ED, Becerra-Alvarado IN, Aceves-Aceves JA, Sánchez-Rodríguez EN, Miranda-Díaz AG. The Effect of Visceral Abdominal Fat Volume on Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokines in Subjects with Normal Weight, Overweight and Obesity. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020; 8(13):1077-1087.
- Qing X, Shi D, Lv X, Wang B, Chen S, Shao Z. Prognostic significance of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in solid tumors: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2019;19(1):997.
- Shaikh H, Bradhurst P, Ma LX, Tan SYT, Egger SJ, Vardy JL. Body weight management in overweight and obese breast cancer survivors. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020; 12(12):CD012110.
- Hurtado-Barroso S, Trius-Soler M, Lamuela-Raventós RM, Zamora-Ros R. Vegetable and Fruit Consumption and Prognosis Among Cancer Survivors: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Adv Nutr*. 2020;11(6):1569-1582.
- Biganzoli E, Desmedt C, Fornili M, Azambuja E, Cornez N, Ries F, et al. Recurrence dynamics of breast cancer according to baseline body mass index. *European J Cancer*. 2017; 87:10-20.
- OMS. Organização Mundial de Saúde. Obesity: preventing and manging the global epidemic – report of a WHO consultation on obesity; Geneva: OMS, 2000.
- Wellman NS: The Nutrition Screening Initiative. *Nutrition Reviews*. 1994; 52: (8):44-47.
- IDF. Clinical Guidelines Task Global Guideline for Type 2 Diabets: recommendations for standard, comprehensive and minimal care. *Diabet Med*. 2006; 23:579-93.
- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, Mcdonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002; 127(1):183-198.
- Faulin S; Do Espirito T, De Sena KCM, Telles AER, De Mattos DG, et al. Validation of a novel ELISA for measurement of electronegative low-density lipoprotein. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2008; 46(12):1769- 1775.
- Arnaud J, Fortis I, Blachier SD, Faver A. Simultaneous determination of retinol, α - tocopherol, β -carotene in serum by isocratic hight-performance liquid chromatography. *J Chromatography*. 1991; 572: 103-116.
- Eldin EEMN, El-Readi MZ, Eldein MMN, Alfalki AA, Althubiti MA, Kamel HFM, Eid SY, Al-Amodi HS, Mirza AA. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a Discriminatory Biomarker for Early Detection of Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2019; 19(2):e385-e393.
- Bayo J, Castano MA, Rivera F, Navarro F. Analysis of blood markers for early breast cancer diagnosis. *Clin Trans Oncol*. 2018; 20(4):467-475.
- Cocate PG, Natali AJ, Alfenas RCG, de Oliveira A, dos Santos EC, Hermsdorff HHM. Carotenoid consumption is related to lower lipid oxidation and DNA damage in middle-aged men. *Br J Nutr*. 2015;114(2):257-64.
- Bakker MF, Peeters PHM, Klaasen VM, Bueno-de-Mesquita HB, Jansen EHJM, et al. Plasma carotenoids, vitamin C, tocopherols, and retinol and the risk of breast cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Am J Clin Nutr*. 2016; 1-11.
- Chlebowski RT, Aragaki AK, Anderson GL, Pan K, Neuhouser ML, Manson JE, Thomson CA, Mossavar-Rahmani Y, Lane DS, Johnson KC, Wactawski-Wende J, Snetselaar L, Rohan TE, Luo J, Barac A, Prentice RL. Dietary Modification and Breast Cancer Mortality: Long-Term Follow-Up of the Women's Health Initiative Randomized Trial. *J Clin Oncol*. 2020; 38(13):1419-1428.
- Saha SK, Lee SB, Won J, Choi HY, Kim K, et al. Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation. *Int J Mol Sci*. 2017; 18.
- Picon-Ruiz M, Morata-Tarifa C, Valle-Goffin J, Friedman ER, Slingerland JM. Obesity and Adverse Breast Cancer Risk and Outcome: Mechanistic Insights and Strategies for Intervention. *CA Cancer J Clin*. 2017; 67:378-397.
- Unamuno X, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Becerril S, Frühbeck G, Catalán V. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *Eur J Clin Invest*. 2018; 48(9):e12997.
- Ferreira FG, Juvanhol LL, Da Silva DCG, Longo GZ. Visceral Adiposity Index Is A Better Predictor Of Unhealthy Metabolic Phenotype Than Traditional Adiposity Measures: Results From A Population-Based Study. *Public Health Nutr*. 2019; 22(9):1545-1554.
- Silva KR, Côrtes I, Liechocki S, Carneiro JRI, Souza AAP, Borojevic R, Maya-Monteiro CM, Baptista LS. Characterization of stromal vascular fraction and adipose stem cells from subcutaneous, preperitoneal and visceral morbidly obese human adipose tissue depots. *Plos One*. 2017; 7:12(3):1-15.
- Lee KR, Hwang IC, Han KD, Jung J, Seo MH. Waist circumference and risk of breast cancer in Korean women: A nationwide cohort study. *Int J Cancer*. 2018;142(8):1554-1559.

26. Chen GC, Chen SJ, Zhang R, Hidayat K, Quin JB, Zhang YS, Quin LQ. Central obesity and risks of pre- and postmenopausal breast cancer: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev.* 2016; 17(11):1167-1177.

CORRESPONDÊNCIA

Sara Maria Moreira Lima Verde, PhD.
Universidade Estadual do Ceará/
Programa de Pós-Graduação
em Nutrição e Saúde (PPGNS/UECE)
Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus do Itaperi.
Cep: 60.714.90. Fortaleza, Ce. Brasil.
E-mail - sara.maria@uece.br