Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública
Departamento de Nutrição

**Inter-relações entre índice ω -3, estresse oxidativo e
composição corporal em mulheres com câncer de
mama**

Antônio Augusto Ferreira Carioca

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Nutrição em Saúde Pública para
obtenção do título de Mestre em Ciências**

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

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

São Paulo
2014

Inter-relações entre índice ω -3, estresse oxidativo e composição corporal em mulheres com câncer de mama

Antônio Augusto Ferreira Carioca

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

**Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública
Orientadora: Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno**

**São Paulo
2014**

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

Resumo

Carioca AAF. Inter-relações entre índice ω -3, estresse oxidativo, composição corporal em mulheres com câncer de mama [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2014.

Introdução - O câncer de mama é dos tipos de câncer mais frequente no mundo e o mais comum entre as mulheres. Sabe-se que durante o desenvolvimento do câncer de mama diversos mecanismos regulatórios estão em desequilíbrio, enquanto processos como a inflamação crônica e as reações pró-oxidativas se encontram estimuladas. Nessa perspectiva, alguns estudos propõem que alguns fatores de risco ambientais possam ser modificados. Desses, grande destaque tem sido direcionado à dieta e, particularmente, ao perfil de gorduras consumidas. **Objetivo** - Avaliar a associação do índice ω -3, estresse oxidativo e composição corporal em mulheres com câncer de mama. **Métodos** - Foram selecionadas 101 mulheres com recém-diagnóstico de câncer de mama, com estadiamento tumoral I a IV. Essas pacientes foram selecionadas do serviço de Mastologia do Hospital Geral de Fortaleza, Ceará. Foram avaliados parâmetros antropométricos (peso, altura, IMC e circunferência da cintura) e de composição corporal por impedância bioelétrica. Após jejum de 12h foram obtidas amostras de sangue e a partir plasma foram analisados os marcadores do estresse oxidativo [LDL eletronegativa – LDL(-) e seus auto anticorpos, 8-Oxo-2'-deoxiguanosina - 8OHdG por meio de imunoensaios, vitaminas lipossolúveis por HPLC e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico -TBARS por teste colorimétrico]. O perfil de ácidos graxos nos eritrócitos foi determinado por cromatografia a gás e a partir do percentual de ácidos graxos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) calculou-se o índice ω -3. Os resultados obtidos foram analisados por meio de testes comparação de médias, correlações e modelos de regressão linear (SPSS 20.0). **Resultados** – Não houve relação significativa entre ácidos graxos EPA, DHA e índice ω -3 e biomarcadores de estresse oxidativo, antropométricos e de composição corporal ($p>0,05$). Entretanto, os antioxidantes lipossolúveis foram maiores em mulheres na pós-menopausa, com tumor em estágio inicial e linfonodos negativos. O conteúdo de TBARS associou-se com o estadiamento clínico. A adiposidade foi associada com concentrações de retinol e 8-OHdG, enquanto LDL(-), 8-OHdG e TBARS foram correlacionadas com antioxidantes lipossolúveis após o ajuste para fatores de confusão. **Conclusão** - O índice ω -3 não está

correlacionado com estresse oxidativo e composição corporal. Entretanto, marcadores do estresse oxidativo estiveram associados ao perfil clínico e a composição corporal nestas pacientes.

Descritores: câncer de mama, ômega-3, estresse oxidativo, composição corporal.

Abstract

Carioca AAF. Interrelations between ω -3 index, oxidative stress, body composition in women with breast cancer [Master's Dissertation]. Sao Paulo: School of Public Health University of Sao Paulo; 2014.

Introduction - Breast cancer is the most frequent types of cancer worldwide and the most common among women. It is known that during the development of breast cancer several regulatory mechanisms are in imbalance, while processes such as chronic inflammation and pro-oxidative reactions are stimulated. In this perspective, some studies suggest that some environmental risk factors can be modified. These, great emphasis has been directed to the diet and particularly to the profile of the fats consumed. **Aim** - Assess the association between ω -3 index, oxidative stress and body composition in women with breast cancer. **Methods** - 101 women with newly diagnosed breast cancer with tumor stages I to IV were selected. These patients were selected of the Service of Mastology of General Hospital of Fortaleza, Ceará. Anthropometric parameters (weight, height, BMI and waist circumference) and body composition by bioelectrical impedance were evaluated. After 12h fasting blood samples were obtained and, from the plasma, markers of oxidative stress were analyzed [electronegative LDL – LDL(-) and their autoantibodies, 8-oxo-2'-deoxyguanosine - 8OHdG by immunoassays, liposoluble vitamins by HPLC and thiobarbituric acid reactive substances - TBARS by colorimetric test]. The profile of fatty acids in erythrocytes was determined by gas chromatography and, from the percentage of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) fatty acids, the ω -3 index was calculated. The results were analyzed by comparison of means tests, correlations and linear regression models (SPSS 20.0). **Results** - There was no significant relation between EPA, DHA and ω -3 index and biomarkers of oxidative stress, anthropometric and body composition ($p>0.05$). However, the liposoluble antioxidants were higher in postmenopausal women with early-stage tumors and negative lymph nodes. The content of TBARS was associated with clinical staging. Body fat was associated with retinol concentrations and 8-OHdG, while LDL(-), 8-OHdG and TBARS were correlated with liposoluble antioxidants after adjustment for confounding factors. **Conclusion** - The ω -3

index is not correlated with oxidative stress and body composition. However, markers of oxidative stress were associated with the clinical profile and body composition in these patients.

Keywords: breast cancer, omega-3, oxidative stress, body composition

“Um cientista em seu laboratório não é somente um técnico. É também uma criança colocada diante de fenômenos naturais que a impressionam como um conto de fadas.” Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Com muito amor, agradeço e dedico essa Dissertação, a minha família (Verônica, João, Louize, Liduina, Clariany e Roberta) e a minha namorada (Lia), que souberam entender minha paixão pela pesquisa e que sempre me incentivaram a não desistir. Fazendo do impossível o possível para matar a saudade.

A professora Nágila Damasceno e seu grupo de pesquisa que me receberam muito bem em São Paulo e tornaram possível meu sonho de pesquisar.

A Geni Sampaio, Rosana Soares e Liania Alves que sem elas esse trabalho não seria possível, tanto pelo conhecimento, como pela cafeína diária.

Aos professores da Faculdade de Saúde Pública que mudaram meu modo de ver a ciência.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo por todo subsídio financeiro, tanto para o projeto (2010/19207-6), como para bolsa de Mestrado (11/18658-7) e Treinamento Técnico (2011/15590-2), que permitiram a realização da pesquisa.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Aspectos epidemiológicos do câncer de mama	19
1.2	Aspectos nutricionais e câncer de mama	20
1.2.1	Ácidos graxos poli-insaturados	20
1.2.1.1	Índice ômega-3	22
1.2.2	Relação entre ácidos graxos e câncer de mama	25
1.2.2.1	Índice ômega-3 e câncer de mama	28
1.2.3	Estresse oxidativo e câncer de mama	29
1.2.4	Relação ácidos graxos poli-insaturados, obesidade e inflamação	31
1.3	Justificativa e hipótese	34
2	OBJETIVOS	35
2.1	Geral	35
2.2	Específicos	35
3	MÉTODOS	36
3.1	Casuística	36
3.2	Delineamento do estudo	37
3.3	Critérios de inclusão	37
3.4	Critérios de não inclusão	37
3.5	Risco e benefícios	37
3.6	Avaliação socioeconômica e clínica	37
3.7	Composição corporal e antropometria	38
3.8	Coleta de sangue	38
3.9	Determinação do perfil de ácidos graxos na membrana dos eritrócitos	39
3.10	Análises bioquímicas	40
3.11	Marcadores de estresse oxidativo	41
3.11.1	Substâncias reativas ao ácido barbitúrico	41
3.11.2	Deteção de LDL (-) e seus auto anticorpos	41
3.11.3	Dano oxidativo ao DNA	42
3.12	Análises estatísticas	42
3.13	Aspectos éticos	43

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
	Manuscrito	51
5	CONCLUSÕES	75
	REFERÊNCIAS	76
	ANEXOS	84
	Anexo 1 – Protocolo de avaliação socioeconômica, clínica e antropométrica	84
	Anexo 2 – Parecer de aprovação do comitê de ética em pesquisa	85
	Anexo 3 – Primeira página do currículo lattes do orientando	87
	Anexo 4 – Primeira página do currículo lattes do orientador	88

Lista de Figuras

Figura 1. Metabolismo dos ácidos graxos poli-insaturados.

Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos poli-insaturados.

Figura 3. Pontos de corte sugeridos para o índice ω -3.

Figura 4. Potenciais mecanismos de ação dos ácidos graxos poli-insaturados sobre o processo de carcinogênese.

Figura 5. Potenciais mecanismos de ação dos ácidos graxos poli-insaturados sobre os fatores de transcrição.

Figura 6. Metabolismo do estrógeno e os metabólitos do ciclo redox.

Figura 7. Algoritmo do estudo.

Lista de Quadros

Quadro 1. Média e desvio padrão do índice ω -3 em várias populações.

Quadro 2. Percentual de EPA e DHA na membrana de eritrócitos, em estudos caso controle com mulheres com câncer de mama.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Caracterização socioeconômica e clínica de pacientes com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Tabela 2. Caracterização das variáveis antropométricas e de composição corporal dos pacientes com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Tabela 3. Caracterização das análises bioquímicas, biomarcadores de estresse oxidativo e percentual de ácidos graxos dos pacientes com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Tabela 4. Mediana e intervalo interquartil do percentual de ácidos graxos em pacientes com câncer de mama, de acordo com a composição corporal. São Paulo, 2014.

Tabela 5. Correlação entre percentual de ácidos graxos e parâmetros antropométricos e de composição corporal. São Paulo, 2014.

Tabela 6. Correlação entre produtos da oxidação e percentual de ácidos graxos estratificados por estadiamento clínico e composição corporal. São Paulo, 2014.

Manuscrito

Table 1. Socioeconomic and clinical characteristics of patients with breast cancer.

Table 2. Median and interquartile interval of oxidative and antioxidant parameters in patients with breast cancer according to clinical profile.

Table 3. Median and interquartile interval of oxidative and antioxidant parameters in patients with breast cancer according to adiposity level.

Table 4. Correlation between oxidant and antioxidative biomarkers stratified by clinical stage and body composition.

Table 5. Linear regression models for variables oxidative and antioxidant biomarkers.

Lista de Gráfico

Gráfico 1. Classificação do estado nutricional e de composição corporal de mulheres com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Siglas Utilizadas

%MG – Percentual de massa gorda

8-OHdG – 8-oxo-2'-desoxiguanosina plasmática

AA – Ácido araquidônico

AICR – *Association for International Cancer Research*

ALA – Ácido alfa-linolênico

APO AI – Apolipoproteína AI

APO B100 – Apolipoproteína B100

BHT – Hidroxitolueno butilado

CC – Circunferência da cintura

COEP – Comitê de ética em pesquisa

DHA – Ácido docosaexaenoico

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EC – Estadiamento clínico

EDTA – Ácido etileno-diaminotetraacético

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EPA – Ácido eicosapentaenoico

ER – Receptor de estrógeno

EUA – Estados Unidos da América

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

FPLC – *Fast Protein Liquid Chromatography*

GLP – *Good clinical practice*

HDL – Lipoproteína de alta densidade

HGF – Hospital Geral de Fortaleza

HPLC – *High-performance liquid chromatography*

IATA – *International Air Transport Association*

IGF – *Insulin-like growth factor*

IgG – Imunoglobulina G

IL-6 – Interleucina 6

IMC – Índice de massa corporal

LA – Ácido linoleico

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LDL(-) – Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa
LTB – Leucotrieno
MAB – Monoclonal antibodies
NEFAS – Ácidos Graxos Não Esterificados
NF- κ B – *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
NO – Óxido nítrico
OLR1 – *Lectin-like ox-LDL receptor 1*
OPD – *Ortho-Phenylenediamine*
PBS – *Phosphate buffered saline*
PCR – Proteína C reativa
PGE – Prostaglandina E
PGI – Prostaciclina
PMSF – Fluoreto de fenilmetilsulfonila
ROS – Espécies reativas ao oxigênio
SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*
TBARS – Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TEP – *1,1,3,3 tetraethoxypropane*
TMB – *3,3',5,5'- tetramethylbenzidine*
TNF- α – Fator de necrose tumor alfa
TXA – Tromboxano A
UCP – *Proteína mitocondrial desacopladora*

APRESENTAÇÃO

O presente trabalho tratou-se de um subprojeto do estudo intitulado “Papel da adiposidade sobre a inflamação, oxidação e adipocitocinas na neoplasia mamária” financiado pela FAPESP (processo: 10/19207-6).

No segundo semestre do segundo ano de Mestrado, ocorreu a elaboração de um manuscrito intitulado “*Adiposity and tumor stage accelerate oxidative stress in women with breast cancer*” e submissão para *Clinical Nutrition* (Qualis A1 em Saúde Coletiva e fator de impacto de 3,298). Este artigo foi apresentado na dissertação como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência pelo Programa de Pós-graduação em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Seguindo a deliberação da Comissão de Pós-graduação em sua sessão 9ª/2008 de 05/06/2008, este documento conta com os itens introdução, objetivo, metodologia, resultados e discussão (onde foi inserido o manuscrito e resultados não contemplados no artigo), conclusões, referências bibliográficas e anexos.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos epidemiológicos do câncer de mama

O câncer de mama é a principal neoplasia maligna que acomete o sexo feminino (AICR, 2007; SIEGEL et al., 2014). Nos EUA, cerca de 235.030 mil novos casos e 40.430 mil mortes decorrentes dessa doença foram previstas para o ano de 2014 (SIEGEL et al., 2014).

No Brasil estimou-se, para o ano de 2014, a ocorrência de 57.120 novos casos de câncer de mama, com risco estimado de 56,09 casos a cada 100 mil mulheres. Desconsiderando os tumores de pele não melanoma, esse câncer é o mais prevalente em mulheres na maioria das regiões do Brasil [Sudeste (71,18/100 mil), Sul (70,98/100 mil), Centro-Oeste (51,30/100 mil) e Nordeste (36,74/100 mil)], com exceção da região Norte (21,29/100 mil) (BRASIL, 2014).

Dentre os fatores de risco para o câncer de mama, destacam-se o sexo, idade, história familiar e reprodutiva, exposição ao álcool e tabaco, radiações e pesticidas. Além desses, fatores dietéticos também estão envolvidos na etiologia do câncer de mama, sendo considerados fatores de risco o consumo elevado de lipídios e carnes, em detrimento da baixa ingestão de frutas, hortaliças, verduras e fibras alimentares (AICR, 2007; KUSHI et al., 2012; BRASIL, 2014).

Outro fator ambiental modificável que vem demonstrando forte associação com o câncer de mama é a obesidade (AICR, 2007; KUSHI et al., 2012; BRASIL, 2014). Nesse contexto, o excesso ponderal no momento do diagnóstico do câncer de mama é reconhecido como fator agravante para um prognóstico negativo das pacientes e maior taxa de recidiva da doença, embora os mecanismos relacionados ainda não sejam totalmente esclarecidos (GOODWIN et al., 2003; ROONEY & WALD, 2007).

Segundo o *American Institute for Cancer Research* - AICR (2007), sobrepeso e obesidade estão claramente associados com risco aumentado de desenvolver diversos tipos de câncer, incluindo o de mama em mulheres na pós-menopausa, além disso, a gordura abdominal, também vem sendo associada de forma robusta ao câncer de mama. De acordo com esse mesmo documento, estudos que

avaliaram a perda intencional de peso sugerem que a redução ponderal pode diminuir o risco de câncer de mama na pós-menopausa. A obesidade no período pós-menopausa afeta diretamente a concentração dos hormônios circulantes, como a insulina, fatores de crescimento semelhantes a insulina (*insulin-like growth factor* - IGF-1 e IGF-2) e estrógenos, que favorecem o aumento do risco de carcinogênese, inibindo a apoptose, além de estimular a resposta inflamatória do organismo, o que pode contribuir para o início e agravamento da neoplasia.

1.2 Aspectos nutricionais e câncer de mama

Como citado anteriormente, os hábitos alimentares e estilo de vida são fatores de risco modificáveis associados ao câncer de mama. Isso tem levado a comunidade científica a pesquisar os efeitos e recomendações, no caso da dieta, dos nutrientes e compostos bioativos que poderiam ajudar na redução do risco e como adjuvante no tratamento do câncer de mama.

Segundo AICR (2007), um padrão dietético rico em hortaliças, verduras, frutas, produtos lácteos, peixes, aves, e baixo consumo de lipídios tem sido associado com menor risco de câncer de mama em estudos observacionais. Embora a variável dieta represente um fator extremamente complexo na etiologia do câncer, grande atenção tem sido direcionada aos componentes lipídicos.

1.2.1 Ácidos Graxos Poli-insaturados

Na década de vinte, pesquisadores comprovaram pela primeira vez que seres humanos eram incapazes de produzir certos ácidos graxos poli-insaturados, sendo denominados assim, de ácidos graxos essenciais (Burr; Burr, 1929). A essencialidade desses ácidos graxos decorre da ausência das enzimas delta-12 e delta-15 dessaturases no homem, responsáveis pela inserção de novas insaturações nas cadeias carbônicas dos ácidos graxos (**Figura 1**).

Figura 1. Metabolismo dos ácidos graxos poli-insaturados. LXB: leucotrieno; PGE: prostaglandina E; PGI: prostaciclina; TXA: tromboxano A. Adaptado de Hernandez (2010).

Nas últimas décadas, grande atenção tem sido direcionada a alguns desses ácidos graxos, devido seu papel benéfico no organismo humano. Dentre esses encontram-se os da série ω -6 (especialmente o ácido linoleico) e os da série ω -3 (especialmente o ácido α -linolênico). Esses ácidos graxos têm sido propostos como potenciais moduladores de processos crônicos como as doenças coronarianas, diabetes tipo 2, câncer e algumas doenças inflamatórias (SIMOPOULOS, 2009).

Os ácidos graxos da série ω -6 são os mais comumente encontrados na dieta atualmente, enquanto os da série ω -3 têm menor participação (WIJENDRAN; HAYES, 2004). O principal derivado do ácido linoleico é o ácido araquidônico (AA), enquanto os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) são os principais derivados do ácido α -linolênico (SABARENSE, 2003). No caso dos derivados do ω -3 (EPA e DHA), as principais fontes são os peixes que vivem em águas frias, como salmão, arenque e truta (SABARENSE, 2003). As quantidades variam entre as espécies, e dentro da mesma espécie a depender de fatores ambientais como alimentação (RUSSO, 2009).

As fontes vegetais como linhaça, canola e soja são ricas em ácido alfa-linolênico (ALA) (SABARENSE, 2003), que contém 18 carbonos e três duplas ligações (**Figura 2**) (HOLUB, 2002). Tais fontes vegetais apresentam baixas ou nenhuma quantidade de EPA e DHA (RUSSO, 2009).

Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos poli-insaturados. Adaptado de Holub (2002).

A conversão do ALA em EPA e DHA está descrita na **Figura 1**. Entretanto, essa conversão ocorre em pequena proporção (10 a 15% de eficiência) em humanos adultos (EMKEN; ADLOF; GULLEY, 1994).

1.2.1.1 Índice ômega-3

Em 2004, Harris & Von Schacky propuseram que o “Índice ômega-3” poderia ser um importante biomarcador e potencial fator de risco cardiovascular. Neste mesmo estudo, os autores definiram pontos de corte, através de levantamentos bibliográficos e análises do índice determinado experimentalmente (**Figura 3**).

Figura 3. Pontos de corte sugeridos para o índice ω -3. Adaptado de Von Schacky & Harris (2004).

O índice ω -3 é definido como a somatória do EPA e DHA incorporados nas membranas dos eritrócitos e é expresso como percentual do total de ácidos graxos presentes nos eritrócitos. De acordo com Harris (2008), o índice ω -3 tem impacto nas respostas inflamatórias e metabolismo lipídico em situações fisiológicas e, possivelmente, no desenvolvimento de algumas doenças. Além desses aspectos, o índice ω -3 tem demonstrado ser um biomarcador mais fidedigno do consumo pregresso, o que o torna uma ferramenta mais adequada na associação com doenças crônicas. Embora o monitoramento da biodisponibilidade de ácidos graxos tenha sido foco de diversos estudos, somente nos últimos anos o índice ω -3 tem se tornado um importante biomarcador de consumo. Em revisão recente, Von Schacky (2014) descreveu a média e desvio padrão de índice ω -3 em algumas populações em diferentes países. O autor associou os menores valores do índice a piores condições de saúde das populações estudadas (**Quadro 1**).

Quadro 1. Média e desvio padrão do índice ω -3 em várias populações. Adaptados de Von Schacky (2014).

População	Índice ω -3	
	Média	Desvio padrão
Países ocidentais (alta incidência de doença cardiovascular)		
Pacientes com aterosclerose	5,94	1,41
Pacientes com hipertrigliceridemia	7,00	1,90
Pacientes com infarto do miocárdio	6,08	-*
Saudáveis	4,90	2,10
Framingham-Offspring	5,60	1,70
Diabéticos	3,47	1,20
Países asiáticos (baixa incidência de doença cardiovascular)		
Controles saudáveis	10,55	0,48
Pacientes com infarto do miocárdio	9,57	-*
Pacientes com transplante de rim	9,70	1,85

*Valores não reportados.

Os ácidos graxos poli-insaturados (ômega-3) alteram as propriedades biofísicas das membranas celulares, devido sua natureza altamente insaturada (STILLWELL & WASSALL, 2003). Esta modificação afetaria diversas proteínas associadas às membranas e por consequência sua ação e interação com biomoléculas envolvidas na comunicação entre células. Tal fato tem impacto direto na resposta inflamatória, pois os ácidos graxos presentes nas membranas ligam-se a diversos receptores nucleares (receptor retinoide X, receptor farnesoide X e fator nuclear de hepatócitos α) (DECKELBAUM et al. 2006). Além disso, pode ocorrer liberação desses ácidos graxos através da hidrólise promovida pelas fosfolipases A₂, que estimulariam a conversão do ω -3 em eicosanoides das séries 3 e 5 (CALDER, 2006).

A maioria dos estudos envolvendo o índice ω -3 foi delineado tendo as doenças cardiovasculares como desfecho (VON SCHACKY, 2011; BAGHAI et al., 2011; SALISBURY, 2011; LERMAN, 2011). Harris et al. (2012), avaliando a variabilidade do índice ômega-3 em indivíduos do *Framingham Heart Study*, determinaram que esse variou principalmente em função de fatores dietéticos e genéticos. Sendo esse também inversamente associado à frequência cardíaca, circunferência da cintura, triacilgliceróis e tabagismo. Sala-Vila et al. (2011), avaliando também os fatores associados ao índice ômega-3, através de modelos múltiplos, observaram que a ingestão de DHA e EPA foi o principal preditor deste índice, embora tenha explicado apenas 12% de sua variabilidade.

O ω -3 modula os processos inflamatórios por diferentes vias metabólicas. O estudo de Farzaneh-Far et al. (2009) avaliou o impacto do índice ômega-3 em marcadores inflamatórios (PCR e IL-6) em 992 indivíduos com doença coronariana. Esse estudo observou que a concentração de ácido graxos ω -3 (DHA + EPA) nos eritrócitos foi inversamente associada com a PCR ($r=-0,19$; $p<0,001$) e IL-6 ($r=-0,19$; $p<0,001$).

Esse fato torna as investigações entre índice ω -3 e outras doenças crônicas e de base inflamatória um potencial campo a ser explorado. Especificamente em relação ao câncer, a associação com o índice ω -3 ainda é pouco descrita na literatura internacional e ausente no Brasil.

1.2.2 Relação entre Ácidos Graxos e Câncer de Mama

O estudo da associação entre câncer e a relação entre ω -6 e ω -3 tem fomentado o interesse em estudos de intervenção, na busca por uma proporção ideal entre esses ácidos graxos.

O papel da ingestão de diversos tipos de gorduras na etiologia do câncer de mama tem sido investigado, mas ainda permanece controverso (PRENTICE et al., 2006). As quantidades relativas da relação ω -6/ ω -3 podem ser mais importantes para o risco de câncer de mama que a quantidade individual desses ácidos graxos na dieta (THIÉBAUT et al., 2009; MURFF et al., 2010). Entretanto, a avaliação do consumo de ácidos graxos por meio de ferramentas subjetivas e indireta apresenta diversas limitações (imprecisão/ausência dos dados de composição de alimentos, erros na coleta e adequação de questionário), tornando o uso de biomarcadores uma estratégia mais adequada para estimar o consumo desses nutrientes (UKOLI et al., 2010).

Efeitos benéficos foram comprovados em estudos experimentais que mostraram que o consumo de ω -3 pode exercer efeitos inibitórios sobre a carcinogênese mamária através da competição com ω -6 ou redução no estado oxidativo (ROSE & CONNOLLY, 1999).

Em adição, estudos mais recentes com humanos têm observado relação negativa entre ω -3 e o câncer de mama (ALTENBURG & SIDDIQUI, 2009; DIMRI et al., 2010; ESCRICH et al., 2011; PATTERSON et al., 2011).

Larsson et al. (2004) em sua revisão, avaliaram os mecanismos pelos quais o ω -3 poderia inibir a carcinogênese. Estes autores propuseram os seguintes mecanismos (**Figura 4**):

1. **Inibição da biossíntese dos eicosanóides derivados do ácido araquidônico:** o ω -3 inibe a biossíntese dos eicosanóides derivados do ácido araquidônico, e este é o principal mecanismo pelo qual ω -3 pode diminuir risco de câncer (LARSSON et al., 2004). Os eicosanóides derivados do AA, em geral, possuem efeitos pró-inflamatórios modulados pelas PGE₂, leucotrieno B₄, tromboxano A₂ e 12-hidroxi-eicosatetranóico, sendo sua ativação associada positivamente com a carcinogênese (ROSE & CONNOLLY, 1999). Altas ingestões de ω -3 resultam na sua

incorporação nas membranas celulares, substituindo parcialmente o ácido araquidônico, e favorecendo a síntese de eicosanoides derivados do EPA (CRAWFORD et al., 2000). Além disso, ω -3 e ω -6 competem pelas enzimas dessaturases e elongases, tendo o ω -3 maior afinidade com essas enzimas. Dessa forma, a dessaturação e a elongação do ácido linoleico em ácido araquidônico é reduzida (ROSE & CONNOLLY, 1999);

2. Alteração na produção de radicais livres: a alteração na produção de radicais livres pode ocorrer devido ao efeito anti-inflamatório do ω -3, que reduz a produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, e inibe a carcinogênese. Enquanto os produtos do AA favorecem esse estado inflamatório, os ácidos graxos ω -3 podem inibir a inflamação e, conseqüentemente, a superprodução de radicais livres e a carcinogênese (LARSSON et al. 2004);

Figura 4. Potenciais mecanismos de ação dos ácidos graxos poli-insaturados sobre o processo de carcinogênese. Adaptado de Larsson et al. (2004).

Além desses mecanismos, a literatura tem apresentado outras vias envolvendo o ω -3 potencialmente capazes de modular a carcinogênese:

1. **Influência sobre fatores de transcrição, expressão gênica e transdução de sinal**, o que leva a alterações no metabolismo, crescimento e diferenciação celular. Além dos receptores nucleares citados anteriormente, os ácidos graxos da série ω -3, são ligantes naturais dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs) que modificam a expressão de enzimas relacionadas à oxidação de ácidos graxos. Ao contrário, o fator nuclear kappa B (NF-kB), modulador da resposta inflamatória é inibido por esses ácidos graxos (HARRIS, 2008) (**Figura 5**).

Figura 5. Potenciais mecanismos de ação dos ácidos graxos poli-insaturados sobre os fatores de transcrição. FXR: receptor farnesoide X, LXR; receptor X do fígado; NFκB: fator nuclear kappa B; PPAR: receptor ativado por proliferadores de peroxissomos; RXR: receptor retinoide X; SREBP-1c: proteína ligada ao elemento regulado por esterol 1c. Adaptado de Schmitz & Ecker, 2008.

2. **Alteração do metabolismo de estrógenos:** o estrógeno estimula efeitos proliferativos em tecidos sensíveis a esse hormônio. Desse modo, concentrações elevadas de estrógeno podem aumentar risco de câncer de mama e outros tipos de câncer influenciados por hormônios (LARSSON et al. 2004). O eicosanoide PGE2 (derivado do ácido araquidônico) tem sido mostrado como ativador da aromatase P450

que converte andrógenos em estrógeno (NOBLE et al. 1997). Entretanto, o PGE3 (derivado do EPA) não ativa a aromatase P450. Logo, o aumento na ingestão de ω -3 em relação ao ω -6 pode diminuir a produção endógena de estrógeno (LARSSON et al. 2004);

3. Mecanismos que envolvem o metabolismo da insulina e fluidez celular: ligantes naturais como o PPAR γ poderiam modular o metabolismo da insulina (PICARD; AUWERX, 2002; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014). Outro possível mecanismo seria a reestruturação das *lipid rafts*, com o deslocamento de colesterol e modificações proteicas (SHAIKH, 2012; RAVACCI et al., 2013).

1.2.2.1 Índice Ômega-3 e Câncer de Mama

Os estudos até o presente momento envolvendo câncer de mama não focam na determinação do índice ω -3, conforme proposto por Von Schacky & Harris (2004), embora avaliem o conteúdo de EPA e DHA biodisponíveis no plasma ou incorporados em membranas celulares.

O **Quadro 2** apresenta os estudos de caso controle que avaliaram EPA e DHA incorporados na membrana de eritrócitos, tendo o câncer de mama como doença primária.

Quadro 2. Percentual de EPA e DHA na membrana de eritrócitos, em estudos caso controle com mulheres com câncer de mama.

Estudos de caso controle	Ácido eicosapentaenoico*			Ácido docosaexaenoico*		
	Caso	Controle	p	Caso	Controle	P
Pala et al. (2001)	0,6 (0,2)	0,6 (0,2)	>0,05	5,7 (1,1)	5,8 (1,2)	>0,05
Crespí et al. (1999)	-	-	-	0,5 (0,1)	1,8 (0,5)	<0,05
Kuriki et al. (2007)	0,9 (0,6)	1,2 (0,6)	<0,001	3,2 (1,0)	4,2 (1,3)	<0,001
Wirfält et al. (2004)	1,7 (0,6)	1,7 (0,6)	>0,05	6,4 (1,1)	6,5 (1,1)	>0,05
Shannon et al. (2007)	0,5 (0,2)	0,6 (0,2)	<0,001	4,8 (1,0)	4,9 (0,9)	0,02

* Valores expressos em percentuais de média e desvio padrão.

Analisando os estudos acima, não foram realizadas análises estatísticas com o índice ω -3, pode-se observar, também, que não há um padrão de significância. Necessitam-se de mais estudos para conclusões definitivas, focando o índice ω -3.

Em adição aos estudos *in vitro*, Schley et al. (2007) afirmaram que EPA e DHA modificam a composição da membrana e alteram a sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico, reduzindo o crescimento tumoral.

Mais recentemente, Corsetto et al. (2012), em estudo com células de câncer de mama, MDA-MB-231 (ER-negativo) e MCF-7 (ER-positivo), observaram que o EPA e DHA foram capazes de modificar características bioquímicas e biofísicas das membranas lipídicas, promovendo diminuição da proliferação celular, provavelmente devido a mecanismos relacionados a sua insaturação. O EPA contribuiu para a apoptose, principalmente pela via de inibição do ácido araquidônico, enquanto o DHA alterou o conteúdo de colesterol na membrana plasmática.

1.2.3 Estresse oxidativo e câncer de mama

A oxidação é uma reação fundamental para organismos aeróbicos e por consequência presente no metabolismo humano. Os radicais livres são espécies químicas instáveis, extremamente reativas formadas por átomos, moléculas ou íons que contêm um ou mais elétrons não pareados em seu último orbital (STEPHENS; KHANOLKAR; BAIN, 2009). Atualmente, a definição de estresse oxidativo perpassa por uma ruptura da sinalização e controle redox celular, no qual as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio modulam as principais reações (JONES, 2006). Na presença de desequilíbrio dessas espécies, podem ocorrer alterações nas moléculas de DNA, proteínas, carboidratos e lipídios. A oxidação dessas moléculas pode levar a lesão de tecido e consequente desarranjo biológico, associados ao câncer, aterosclerose, etc. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; FRANKEL, 2005).

Existem diversos métodos para avaliação do estresse oxidativo em humanos, entretanto poucos deles medem diretamente as espécies reativas. Em geral as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio têm meia vida da ordem de milissegundos, sendo, portanto, mais fácil avaliar os produtos de oxidação presentes no sangue, urina e membranas celulares. Associado a esse perfil, tem sido recomendado o uso simultâneo de diversos marcadores de oxidação, para se estimar o estresse oxidativo sistêmico.

prognóstico e perfil clínico. Essa associação é diretamente dependente da ativação do fator nuclear kappa B (NF-kB) subunidade p65, causando desequilíbrio na homeostase do ambiente redox intracelular.

No contexto das modificações oxidativas de biomoléculas associadas ao câncer se insere a oxidação da LDL, cujo papel no desenvolvimento do câncer parece ir além do estresse oxidativo. Há fortes evidências ligando receptor LDL oxidado com o câncer de mama. Esse receptor (*lectin-like ox-LDL receptor 1 - OLR1*) tem várias ações pró-oncogênicas, como a ativação do NF-kB, estimulação da proliferação celular não programada e a inibição da apoptose. Além disso, sua forte ligação com o estímulo da lipogênese *de novo* e microRNA miR-21 são considerados mecanismos adicionais que favoreceriam a proliferação e manutenção do câncer (LU et al. 2011; KHAIDAKOV et al. 2011; KHAIDAKOV et al. 2012).

No estudo de Mohammad et al. (2011) houve aumento significativo de 8-oxo-2'-desoxiguanosina plasmática – 8-OHdG ($p = 0,004$), e homocisteína ($p < 0,001$); enquanto observou-se diminuição significativa no total de glutatona ($p < 0,01$) e de folato ($p = 0,006$) nos casos de câncer de mama, quando comparados aos controles. Outro estudo com biomarcadores de estresse oxidativo avaliou que em mulheres com excesso de peso, a concentração de isoprostanos foi associada positivamente com risco de câncer de mama (DAI et al., 2009)

A 8-OHdG tem sido amplamente utilizada como biomarcador de estresse oxidativo, e proposta como fator de prognóstico para o câncer da mama, uma vez que tumores mais agressivos foram associados com maior concentração plasmática e expressão de 8-OHdG (SOVA et al., 2010).

Aune et al. (2012) em revisão sistemática e metanálise de estudos prospectivos que avaliaram ingestão dietética e concentração plasmática de carotenóides e o risco de câncer de mama encontraram maior ingestão e concentração sanguínea de β -caroteno associadas com menor risco do câncer de mama (RR: 0.95; IC 95%: 0.91 - 0.99 e RR:0.74; IC 95%: 0.57 - 0.97, respectivamente). Eliassen et al. (2012), também em uma metaanálise de 8 estudos de coorte os quais contemplaram 3.055 casos de câncer de mama encontraram associações inversas entre as concentrações de α -caroteno,

β -caroteno, luteína e licopeno e o risco de câncer de mama, sendo mais evidente entre mulheres magras e com ER-.

1.2.4 Relação Ácidos Graxos Poli-insaturados, Obesidade e Inflamação

Durante o desenvolvimento do câncer de mama, diversos mecanismos regulatórios estão em desequilíbrio e processos como a inflamação crônica e as reações pró-oxidativas se encontram estimuladas. O desequilíbrio entre os radicais livres e as espécies antioxidantes, induzido por fatores exógenos (alimentação e fumo) ou endógenos (estrógenos), favorece o estresse oxidativo, o desenvolvimento e a manutenção do câncer de mama (YEON et al., 2011). Neste contexto, as modificações oxidativas, particularmente, na lipoproteína de baixa densidade (LDL), além de serem um componente intrínseco à obesidade têm sido identificadas como fator agravante para o desenvolvimento de outras doenças (MILLER et al., 2005).

Considerando que indivíduos obesos estão num processo inflamatório crônico e de baixa intensidade que estimula o estado oxidativo, é provável que a associação entre obesidade e o câncer de mama tenha as modificações oxidativas como um processo ativo que favorece a proliferação das células tumorais (HURSTING & DUNLAP, 2012).

Além do possível impacto da relação ω -6/ ω -3 sobre a incidência e desenvolvimento do câncer de mama, tem sido demonstrada que essa relação também influencia o peso corporal. Micallef et al. (2009), estudando a relação entre a concentração plasmática de ω -3 e parâmetros antropométricos, encontraram associação negativa entre a quantidade de ω -3 e índice de massa corporal ($p=0,004$), circunferência da cintura ($p=0,030$) e circunferência do quadril ($p=0,001$) em indivíduos obesos. Apesar dessas relações, os mecanismos envolvidos não são totalmente claros. Uma possível explicação seria que ω -3 aumentaria a oxidação dos lipídios, favorecendo a redução da massa gorda (COUET et al., 1997). Estudos em animais mostraram que a suplementação de ω -3 (óleo de peixe) pode estar associada com o aumento na expressão da proteína mitocondrial desacopladora 3 (UCP 3) (KATSUMI et al., 2002), que aumenta a termogênese, representando um potencial mecanismo de prevenção da obesidade.

De modo inverso, evidências sugerem que a perda de massa magra durante o desenvolvimento do câncer possivelmente está relacionada ao aumento de mediadores inflamatórios resultantes de alterações fisiopatológicas oriundas da doença ou tratamentos submetidos (ARGILES et al., 2005; SCHAAP et al., 2006). Sabe-se que a inflamação sistêmica inibe a síntese proteica muscular e aumenta o catabolismo proteico em diversos tipos de câncer. O aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e as interleucinas (IL-6, IL-1 β) estimula a proteólise, enquanto inibe a síntese proteica muscular (FEARON et al., 2003; AL-MAJID & WATERS, 2008).

O papel anti-inflamatório do ω -3 tem sido amplamente documentado em estudos experimentais e clínicos (CALDER, 2006; CALDER, 2009). Além dos mecanismos anti-inflamatórios, tem sido demonstrado que a ingestão de ω -3 estimula a saciedade pós-prandial em indivíduos com sobrepeso e obesos durante a perda de peso (PARRA et al., 2008). Estes ácidos graxos podem interagir com fatores neuroendócrinos incluindo a insulina (HAUGAARD et al., 2006), a grelina (CUMMINGS & OVERDUIN, 2007) e leptina (PEREZ-MATUTE et al., 2007), modulando os sinais do cérebro-intestinal relacionados ao metabolismo energético e controle do apetite. Ensaios clínicos atuais relatam melhora nas concentrações de PCR após suplementação com ácidos graxos ω -3 (JULIA et al., 2013; KRÁLOVÁ LESNÁ et al., 2013). A relação entre do ω -3 com estresse oxidativo e envelhecimento celular, foi observado no estudo de Kiecolt-Glaser et al. (2013), que encontraram que o comprimento dos telômeros aumentou com a diminuição da relação ω -6/ ω -3 ($p=0,02$).

Em estudos epidemiológicos, Pischon et al. (2003) encontraram associação inversa da ingestão habitual de ω -3 com o TNF- α ($p<0,05$) e com a proteína C reativa (PCR) ($p=0,08$). De modo semelhante, He et al. (2009) avaliando 5677 pessoas verificaram que o consumo de ω -3 foi inversamente associado com concentrações plasmáticas de interleucina-6 (IL-6) ($p=0,01$). Esse mesmo estudo demonstrou que o consumo de peixe também foi inversamente associado à PCR ($p=0,045$) e IL-6 ($p<0,01$). Perfil semelhante foi encontrado em estudos conduzidos com modelos animais (HUDERT et al., 2006).

Entretanto, estudos clínicos ainda são controversos. Caughey et al. (1996), usando óleo de linhaça durante quatro semanas verificaram redução de

aproximadamente 30% do TNF- α e interleucina I β . De modo contrário, Skulas et al. (2011), avaliando indivíduos com hipertrigliceridemia moderada, não observaram alterações nos marcadores inflamatórios (IL-6, TNF- α e PCR) ou na expressão de genes de citocinas inflamatórias em linfócitos.

Portanto, os estudos suportam a hipótese de que o consumo de ω -3 poderia modular processos inflamatórios e oxidativos associados à obesidade, contribuindo para a modulação do crescimento tumoral.

1.3 Justificativa e Hipótese

Considerando que o câncer de mama é a principal causa de morte entre as mulheres no mundo e também no Brasil, torna-se fundamental avaliar aspectos ambientais que possam modificar a iniciação e desenvolvimento deste tipo de câncer.

Em paralelo, a obesidade que constitui uma epidemia mundial tem mostrado associação positiva com os diversos tipos de câncer, tendo as duas doenças base inflamatória e oxidativa comum.

Desse modo, a dieta e, particularmente os ácidos graxos, como potencial fator de risco para a obesidade e também para o câncer, tem sido foco de interesse de diversos estudos.

Tendo em vista os aspectos citados e a importância da prevenção, tratamento e controle do câncer de mama, este estudo trabalhou com a hipótese de que o índice ω -3 ou o percentual de EPA e DHA teriam relação inversamente proporcional com o estresse oxidativo e composição corporal em pacientes com câncer de mama.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Avaliar a associação do índice ω -3, estresse oxidativo e composição corporal em mulheres com câncer de mama.

2.2 Específicos

2.2.1 Investigar a associação entre marcadores de estresse oxidativo com adiposidade e estágio tumoral, bem como a associação entre biomarcadores de estresse oxidativo em mulheres com câncer de mama (**Artigo 1**).

3 MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram selecionadas mulheres com diagnóstico clínico e anatomopatológico de neoplasia mamária. A triagem de pacientes foi realizada no Hospital Geral de Fortaleza - HGF. O presente estudo faz parte do projeto intitulado “Papel da adiposidade sobre a inflamação, oxidação e adipocitocinas na neoplasia mamária” (Proc. FAPESP 2010/19207-6).

A amostragem foi do tipo consecutiva, no qual cada paciente foi admitida segundo os critérios de inclusão e exclusão. Com isso, 101 mulheres compuseram a amostra final do presente estudo. Para o cálculo amostral foram considerados os coeficientes de correlação dos estudos de Sands et al. (2005) e Harris et al. (2012), com $\beta = 0,20$, $\alpha = 0,05$ (bilateral), obtendo-se um n mínimo de 85 pacientes. A **Figura 7** descreve o fluxo de pacientes ao longo do estudo.

Figura 7. Algoritmo do estudo.

3.2 Delineamento do estudo

O estudo foi do tipo observacional e de caráter analítico.

3.3 Critérios de inclusão

Foram consideradas elegíveis as mulheres com recém-diagnóstico clínico e anatomopatológico de neoplasia mamária, estadiamento I a IV, sem tratamento antineoplásico prévio e com índice de Karnofsky acima de 70.

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

3.4 Critérios de não inclusão

Não foram incluídas no estudo, pacientes com outras doenças crônicas não transmissíveis não controladas ou transmissíveis, com problemas neurológicos ou psiquiátricos. Também foram excluídos pacientes com metástase e uso de suplemento vitamínico. Essas informações foram obtidas por meio de anamnese clínica realizada pela equipe de pesquisadores e análise dos prontuários das pacientes.

3.5 Riscos e benefícios

A pesquisa tem caráter de diagnóstico e não de intervenção. Portanto, o risco considerado é mínimo. Os benefícios resultantes da realização deste estudo baseiam-se na identificação da possível associação do índice ω -3 sobre os oxidativos e a composição corporal em mulheres com neoplasia mamária. Sendo os resultados obtidos entregues às pacientes após término do estudo.

3.6 Caracterização socioeconômico e clínico

O perfil socioeconômico (idade, estado civil, raça, escolaridade e renda familiar *per capita*) dos pacientes foi determinado por uma avaliação direta utilizando um questionário padronizado. A história clínica foi obtida por meio de prontuários médicos, sendo conduzido, também, por uma entrevista direta, com auxílio de um médico. Foram avaliados: estado de menopausa [menopausa a partir dos 12 meses de amenorréia, seguida pela redução da atividade hormonal ovariana, na ausência de indução cirúrgica ou hormonal (SOULES et al., 2001)], nuliparidade, terapia de reposição hormonal, aleitamento materno (≥ 3 meses), tabagismo [consumo de cigarro, charuto ou cachimbo de uma ou mais vezes durante os 30 dias que antecederam a coleta de dados (CDC, 2002)], a ingestão de álcool [> 15 gramas de etanol/dia (LICHTENSTEIN et al., 2006)], a ingestão de suplemento vitamínico, subtipo tumoral, linfonodos comprometidos e estadiamento clínico (**Anexo 1**).

3.7 Antropometria e composição corporal

Foram coletadas as medidas de peso, altura, circunferência da cintura e composição corporal. Para o peso foi utilizando balança digital (Plenna, São Paulo, Brasil), com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g. A altura foi medida utilizando estadiômetro Alturaexata (TBW, São Paulo, Brasil), com limite de 2,10 metros e precisão de 1 mm. Peso e altura foram utilizados para calcular o índice de massa corporal (IMC) (kg/m^2), e os pacientes foram classificados de acordo com as recomendações da OMS (1998) e Lipschitz (1997). A circunferência da cintura foi medida ao nível do umbigo com uma fita inelástica, e o risco cardiometabólico dos pacientes foi calculado de acordo com a classificação da OMS (1998). A composição corporal foi avaliada por impedância bioelétrica para estimar percentagem de massa gorda, usando bioimpedância tetrapolar Biodinâmico® Modelo 450 (TBW, São Paulo, Brasil). Todas as medidas foram coletadas em duplicata por um entrevistador treinado. O percentual de massa gorda (% MG) foi classificado de acordo com Lohman (1992).

3.8 Coleta de sangue

Após jejum de 12 h foi coletada uma alíquota de sangue (20 mL). A coleta foi realizada por profissional capacitado (técnico ou auxiliar de enfermagem) e em local reservado e equipado de modo a conferir segurança biológica ao indivíduo doador e coletor. O sangue foi coletado em tubos vacutainer contendo ácido etileno-

diaminotetraacético-EDTA (1 mg/mL), utilizado como anticoagulante e antioxidante, mantido em gelo e protegido da luz até a obtenção do plasma (1500 g, 10 min, 4 °C). Ao plasma acrescentaram-se os seguintes inibidores de proteases: aprotinina (2 ug/mL), benzamidina (2 mM) e fluoreto de fenilmetilsulfonila - PMSF (1 mM) e hidroxitolueno butilado - BHT (20 mM). O plasma e hemácias foram aliquotados e armazenados a - 80°C até o momento das análises.

As amostras de plasma foram transportadas de Fortaleza para São Paulo, seguindo as normas da *International Air Transport Association* (IATA), categoria B (material biológico não infeccioso).

3.9 Determinação do perfil de ácidos graxos na membrana dos eritrócitos

Após separação do plasma (3000 rpm, 15 min, 4°C), foi utilizado 500 uL de papa de hemácias para a etapa de lise dos eritrócitos que se iniciou com a lavagem com PBS gelado (1:10; v/v, 15 min, 3000 rpm), descartando o sobrenadante até que o pellet fique livre de hemoglobina. O pellet final dessa etapa foi sonificado por 5 minutos.

O método modificado utilizado para determinação dos ácidos graxos na membrana dos eritrócitos constitui de etapa de preparo da amostra e extração dos ácidos graxos, no qual foi adicionado 1 ml de Metanol/Clorofórmio HPLC (2:1), seguido de centrifugação por 20 min, a 20000 rpm. Essa etapa foi repetida 3x, sendo os sobrenadantes obtidos em cada lavagem reunidos e secos em fluxo contínuo de N₂ comum.

A etapa de esterificação foi iniciada com adição de 0,5 ml de Hexano HPLC, e 125 uL de Metóxido de sódio (0,5 M), seguida de sonicação por 20 min. Em seguida, foi adicionado 2,5 ml de solução de NaCl saturada, sendo a amostra mantida em repouso por 10 min. Após essa etapa, foi adicionado 1 mL de Hexano HPLC seguido por agitação em vortex, durante 30 seg. O sobrenadante (fase hexânica) foi transferida para tubos de vidro. Essa etapa foi repetida 4 x, sendo todos os sobrenadantes reunidos e secos em fluxo de N₂.

Após completa evaporação, os ácidos graxos esterificados foram ressuspensos em 0,25 ml de Hexano HPLC, sonicando durante 5 min, filtrado

(Milipore; 0,22 μm) diretamente no vial e injetado no Cromatógrafo à Gás com detector de ionização de chama.

O perfil de ácidos graxos foi determinado em cromatógrafo a gás Shimadzu, CG-2010, equipado com uma coluna capilar DB-FFAP (15 m x 0,100 mm x 0,10 μm - J e W Scientific, Agilent Technologies). O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 0,27 mL/min, com vazão de 35 cm/s e pressão de 187,8 kPa. As taxas de fluxo de ar sintético, N_2 e H_2 foram, respectivamente, 300, 30, 30 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 260 °C, respectivamente. A programação de temperaturas da coluna foi de 100 °C inicial, com retenção de 0,5 min, rampa de 25 °C/min a 195 °C, 3 °C/min a 205 °C, 8 °C/min a 230 °C, com retenção de 4 min, 50 °C/min a 245 °C, retendo por 0,5 min. A razão Split utilizada no injetor foi de 1:150 e o tempo de corrida total foi de 15,56 min.

Como padrão externo utilizou-se uma mistura formada por 37 ésteres metil de ácidos graxos (FAME 37, código 47885, Sigma Chemical Co). O volume de injeção foi de 2 μL , em injetor automático AOC 20i. Os ácidos graxos foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção do padrão externo com as amostras. Foi utilizado também padrão interno *methyl tricosanoate* ($\text{C}_{23:0}$, T9900, Sigma Chemical Co). Os resultados foram expressos como percentual total de ácidos graxos presentes na amostra.

3. 10 Análises Bioquímicas

Através da aplicação manual de reagentes enzimáticos, foram analisadas as concentrações de colesterol (TC) e triacilglicerol (TG) no plasma, colesterol na HDL e proteínas totais (Labtest, Minas Gerais, Brasil). O conteúdo de colesterol associado à LDL foi determinado por meio da fórmula - $\text{LDL} = \text{TC} - \text{HDL} - \text{TG}/5$ (FRIEDEWALD, 1972).

As apolipoproteínas Apo A-I e Apo B 100 foram determinadas por métodos padrão, através da utilização dos kits Autokit APO A1[®] e Autokit APO B[®] (RANDOX Laboratories Ltd., Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom), respectivamente, pelo método imuno-turbidimétrico e sistemas semi automático COBAS.

A concentração dos Ácidos Graxos Não Esterificados (NEFAS) foi determinada através do kit comercial *Free Fatty Acid Quantification Kit* (RANDOX Laboratories Ltd., Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom).

3.11 Marcadores de estresse oxidativo

3.11.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Ao plasma (50 uL) foi adicionado em 1 mL de solução de ácidos tiobarbitúrico (0,046 M), ácido tricloroacético (0,92 M) e ácido clorídrico (0,25 M), sendo posteriormente, incubado em banho-maria fervente (100°C) por 30 minutos. Em seguida foram centrifugados a 4°C por 15 minutos a 8000 x g, sendo a leitura do sobrenadante (200 uL) realizada a 535nm. A quantificação foi realizada através de curva padrão construída com 1,1,3,3 tetraetoxiprapano (TEP) (0,2 a 4 umol de TBARs/L) (ANTOLOVICH et al. 2002). Os valores foram expressos em umol de TBARs/mg de proteína total. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

3.11.2 Detecção de LDL (-) e seus auto anticorpos

A LDL(-) foi detectada através de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) sanduíche, seguindo protocolo padronizado por nosso grupo de pesquisa. A sensibilização das placas (Costar®, modelo 3690, Corning, USA) foi feita com Anticorpo Monoclonal Anti-LDL(-) (MAb-1A3) (10 µg/mL, 50 µL/poço), diluído em tampão Carbonato-Bicarbonato, (0,25 M, pH 9,6), sendo as placas incubadas overnight a 4 °C. Após esse período, os sítios livres foram bloqueados com leite desnatado (Molico, Nestlé, São Paulo, Brasil), diluído a 2% em tampão Fosfato Salina 0,01 mol/L (PBS-Tween (0,01%) - pH 7,4) e incubados a 37 °C por 90 min. Em seguida, as placas foram lavadas três vezes com PBS-Tween (0,05%). Foi adicionado 50,0 µL/poço de plasma diluído 1:1000 em tampão PBS-Tween (0,01%) leite 1%, sendo a placa incubada por 90 min a 37 °C. Após essa etapa, a placa foi lavada, conforme descrito anteriormente, e foi adicionado 50 µL/poço de anticorpo monoclonal anti-LDL(-) biotilado (MAb-2C7) (10 µg/mL, 50 µL/poço). As placas foram incubadas a 37 °C por 1 hora, em seguida, foram lavadas conforme descrito acima. Após essa etapa, foram adicionados 50 µL/poço de estreptoavidina-peroxidase (1:100000) diluída em

PBS-Tween (0,01%) leite 1%. As placas foram incubadas por 1 hora, a 37 °C, novamente lavadas, conforme descrito anteriormente. A reação de cor foi desenvolvida através da adição de substrato composto por OPD, tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 4,2) e H₂O₂ (30%). As placas foram incubadas por 10 minutos a 37°C. A reação foi bloqueada com 50µL/poço de H₂SO₄ (2 M) e a absorbância monitorada em 490 nm. Os resultados foram expressos a partir da média das absorbâncias das amostras menos o background e, posteriormente, aplicados à curva padrão e multiplicados pela respectiva diluição, sendo os resultados expressos em U/L. Os anticorpos utilizados nessa análise foram gentilmente doados pela Profa. Dra. Dulcineia Saes Parra Abdalla, do Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP).

Os auto anticorpos LDL(-) foram detectados através de ELISA de captura de anticorpo. A LDL(-), isolada por FPLC, foi diluída em tampão Carbonato-Bicarbonato (0,25 M, pH 9,6) até concentração final de 1 µg/mL, e incubada overnight a 4 °C. Os espaços livres foram bloqueados com 5% de leite desnatado diluído em tampão Fosfato-Salina 0,01 mol/L (PBS - pH 7,4) e incubados a 37 °C por 2 horas. As placas foram lavadas quatro vezes com PBS-Tween (0,05 %). As amostras foram diluídas (1:500) em PBS e incubadas em temperatura de 37 °C por 2 horas. As placas foram novamente lavadas, conforme descrito acima. Foi adicionado 50 µL/poço de anti-IgG humana marcada com peroxidase, (1:5000) diluída em PBS. As placas foram incubadas por 1 hora e 30 min, à 37 °C, seguida de lavagem, conforme descrito acima. A reação de cor se desenvolveu através da adição de substrato composto por 3,3',5,5'-tetrametilbenzina (TMB), tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 4,2) e H₂O₂ (30%) (250/12/10, µL/mL/µL). As placas foram incubadas por 15 minutos à 37 °C sob proteção da luz. A reação foi bloqueada com 50 µL/poço de H₂SO₄ (2 M) e a absorbância monitorada em 450 nm. Os resultados foram determinados aplicando-se a média das absorbâncias das amostras - background à equação da curva-padrão de MAb (0,004–0,125 mU/L).

3.11.3 Dano oxidativo ao DNA

A análise de 8-Oxo-2'-deoxiguanosina foi realizado por meio do kit de Elisa competitivo DNA Damage EIA (Enzo Life Sciences, Inc.) seguindo protocolo recomendado pela própria empresa.

3.12 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram avaliados com o auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 20.0. Para as variáveis qualitativas os resultados estão sendo apresentados em valor absoluto, seguido da sua respectiva porcentagem. Para a apresentação dos dados quantitativos, assim como para a determinação dos testes que serão utilizados, consideramos o tipo de distribuição das variáveis (teste Kolmogorov-Smirnov, $p > 0,05$). As variáveis são apresentadas sob a forma de média e desvio padrão, mediana, valor máximo e mínimo. Foram realizados correlação de Pearson (variáveis paramétricas) e de Spearman (variáveis não paramétricas). Foram desenvolvidos modelos de regressão linear para aquelas variáveis que apresentaram $p < 0,2$ na análise de correlação. O nível de significância adotado em todos os testes foi de $p < 0,05$.

3.13 Aspectos Éticos

Este estudo foi submetido e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do HGF (nº 050507/10) e da FSP/USP (nº 2162) (**Anexo 2**). A coleta de dados foi realizada somente após obtenção da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelas pacientes. Todos os procedimentos de obtenção e divulgação de informações seguiram as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde, item de Ética em Pesquisas com Humanos (BRASIL, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostra final foi constituída de 101 mulheres, com idade média de 50,4 (11,3) anos. A maioria era casada e com baixo nível de escolaridade. Mais da metade (60,4%) tinha renda familiar inferior a um salário mínimo. Praticamente metade das mulheres estava na pós-menopausa, e 65,4% apresentaram estadiamento clínico inicial (I e II) (**Tabela 1**).

Tabela 1. Caracterização socioeconômica e clínica de pacientes com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Variáveis	n	%
Raça		
Branca	26	25,7
Não branca	75	74,3
Estado civil		
Casada	56	55,4
Outros	45	45,6
Escolaridade (anos de estudo)		
≤ 8	49	48,5
9-11	31	30,7
≥ 12	21	20,8
Renda per capita*		
< 1 SM	61	60,4
≥ 1 SM	40	39,6
Pós-menopausa (sim)	50	49,5
Nuliparidade (sim)	19	18,6
Terapia de reposição hormonal (sim)	8	7,9
Amamentação (sim)	68	67,3
Tabagismo (sim)^a	9	8,9
Etilismo (sim)^b	18	17,8
História familiar de câncer de mama (sim)	70	69,3
Subtipo tumoral (ductal)	74	73,3
Linfonodos comprometidos (sim)	26	25,7
Estadiamento clínico (I e II)	66	65,4

n=101 mulheres; a – fumou cigarro, charuto ou cachimbo em um ou mais dias durante os 30 dias anteriores à coleta de dados; b – etilismo foi considerado consumo de álcool de 15 ou mais gramas de etanol / dia; Abreviações: IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; % MG: porcentagem de massa gorda. * SM: salário mínimo brasileiro (equivalente a 311,00 USD).

Médias, mediana e desvio padrão das variáveis antropométricas e de composição corporal foram expressos na **Tabela 2**. A análise descritiva das análises bioquímicas, biomarcadores de estresse oxidativo e percentual de ácidos graxos foram apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 2. Caracterização das variáveis antropométricas e de composição corporal dos pacientes com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Variáveis	Média	DP	Mediana
Peso (kg)	67,5	11,2	66,7
Altura (cm)	155,5	5,8	156,0
IMC (kg/m ²)	27,9	4,6	27,1
CC (cm)	96,1	10,7	96,0
MG (%)	35,3	4,8	35,2

IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; % MG: porcentagem de massa gorda.

Quando se classificou o estado nutricional e a composição corporal, observou-se que as pacientes avaliadas possuíam altas prevalências de inadequação de IMC, CC e %MG (**Gráfico 1**).

Gráfico 1. Classificação do estado nutricional e de composição corporal de mulheres com câncer de mama. São Paulo, 2014. IMC: Índice de massa corporal; CC: Circunferência da cintura; %MG: percentual de massa gorda. IMC - inadequado (excesso ponderal) ≥ 25 kg / m² (adultos) e ≥ 27 kg / m² (idosos); CC – inadequada ≥ 88 cm; %MG – inadequada $\geq 32\%$.

Sampaio et al. (2012), avaliando mulheres com câncer de mama na mesma cidade do presente estudo, constataram que 70,9% da amostra apresentaram excesso de peso, dado semelhante ao presente trabalho.

Tabela 3. Caracterização das análises bioquímicas, biomarcadores de estresse oxidativo e percentual de ácidos graxos dos pacientes com câncer de mama. São Paulo, 2014.

Bioquímica	Média	DP	Mediana
Apo A-I (mg/dL)	116	21	117
Apo B 100 (mg/dL)	103	25	99
NEFAS (mmol/L)	0,6	0,3	0,5
TG (mg/dL)	122	72	108
HDL-c (mg/dL)	34	10	35
CT (mg/dL)	179	39	176
LDL-c (mg/dL)	169	46	162
Proteínas totais (mg/L)	7,7	0,7	7,8
Estresse oxidativo			
LDL(-) (U/L)	4,2	5,4	2,4
Auto LDL(-) (mU/L)	4,6	3,0	4,3
8-OHdG (ng/mL)	18,2	6,0	19,4
TBARS (umol/mg de proteína total)	0,8	0,2	0,8
α -tocoferol (umol/L)	11,3	2,8	10,9
Retinol (umol/L)	1,7	0,5	1,6
β -caroteno (umol/L)	0,5	0,4	0,4
% Ácidos graxos			
DHA (%)	3,6	1,3	3,4
EPA (%)	0,8	0,9	0,5
Índice w3 (%)	4,4	1,5	4,1

DP: Desvio padrão; Apo A-I: Apolipoproteína A-I; Apo B 100: Apolipoproteína B 100; NEFAS: Ácidos graxos não esterificados; TG: Triacilglicerol; HDL: Lipoproteína de alta densidade; CT: Colesterol total; LDL: Lipoproteína de baixa densidade. LDL(-): Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa; Auto LDL(-): Auto anticorpos da lipoproteína de baixa densidade eletronegativa; 8-OHdG: 8-Oxo-2'-deoxiguanosina; TBARS: espécies reativas ao ácidos tiobarbitúrico. DHA: Ácido docosaexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico.

As médias de EPA e DHA foram semelhantes aos resultados descritos em estudos prévios. Nesses estudos EPA e DHA tiveram maiores percentuais nas mulheres sem câncer de mama (SHANNON et al., 2007; KURIKI et al. 2007). Os valores de EPA, DHA e índice ω -3 não apresentaram diferenças significativas, quando a amostra foi estratificada, segundo composição corporal (**Tabela 4**).

Tabela 4. Mediana e intervalo interquartil do percentual de ácidos graxos em pacientes com câncer de mama, de acordo com a composição corporal. São Paulo, 2014.

Percentual de ácidos graxos	IMC ^a		p*
	Sem excesso ponderal	Com excesso ponderal	
EPA, %	0,6 (0,4 – 0,7)	0,5 (0,4 – 0,6)	0,232
DHA, %	3,1 (2,8 – 4,0)	3,5 (2,7 – 4,5)	0,469
Índice ω-3, %	3,9 (3,2 – 4,8)	4,3 (3,3 – 5,3)	0,488
	CC ^b		
	Adequado	Inadequado	
EPA, %	0,6 (0,4 – 0,7)	0,5 (0,4 – 0,7)	0,484
DHA, %	3,0 (2,8 – 4,3)	3,4 (2,8 – 4,3)	0,652
Índice ω-3, %	4,0 (3,3 – 4,9)	4,1 (3,3 – 5,0)	0,871
	%MG ^c		
	Adequado	Inadequado	
EPA, %	0,5 (0,4 – 0,7)	0,5 (0,4 – 0,7)	0,362
DHA, %	3,4 (2,7 – 4,6)	3,4 (2,7 – 4,3)	0,732
Índice ω-3, %	4,0 (3,2 – 5,7)	4,1 (3,3 – 5,0)	0,848

a – excesso ponderal ≥ 25 kg / m² (adultos) e ≥ 27 kg / m² (idosos); b – inadequada ≥ 88 centímetros; c – inadequada $\geq 32\%$. * O teste de Mann-Whitney foi utilizado para as variáveis e os resultados foram expressos em mediana e intervalo interquartil, considerou-se significativo $p < 0,05$. IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; %MG: percentual de massa gorda; DHA: Ácido docosaexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico.

Não houve correlação do percentual de EPA e DHA com parâmetros antropométricos e de composição corporal, mesmo após estratificação por estadiamento clínico. O índice ω-3 apresentou correlação positiva com IMC e CC nos estadiamentos clínicos I e II. Observou também correlação positiva entre percentual de DHA e IMC. O percentual de EPA apresentou tendência ($p=0,053$) de correlação com IMC em mulheres com estadiamento tumoral III e IV (**Tabela 5**).

Tabela 5. Correlação entre percentual de ácidos graxos e parâmetros antropométricos e de composição corporal. São Paulo, 2014.

Variáveis antropométricas	EPA, %		
	Total	EC I e II	EC III e IV
	r (p)	r (p)	r (p)
IMC, kg/m ²	-0,042 (0,684)	0,110 (0,391)	-0,382 (0,107)
CC, cm	0,000 (0,998)	0,116 (0,387)	-0,450 (0,053)
%MG, %	0,007 (0,949)	0,193 (0,129)	-0,302 (0,209)

	DHA, %		
	Total	EC I e II	EC III e IV
IMC, kg/m ²	0,160 (0,117)	0,251 (0,047)	-0,052 (0,833)
CC, cm	0,111 (0,294)	0,223 (0,092)	-0,054 (0,825)
%MG, %	0,055 (0,192)	0,130 (0,309)	-0,058 (0,814)

	Índice ω-3, %		
	Total	EC I e II	EC III e IV
IMC, kg/m ²	0,144 (0,159)	0,280 (0,026)	-0,061 (0,805)
CC, cm	0,110 (0,298)	0,282 (0,032)	-0,108 (0,660)
%MG, %	0,033 (0,749)	0,169 (0,185)	-0,098 (0,689)

Utilizou-se correlação de Spearman nas variáveis e foram apresentados em valores de r (p). Considerou-se significativa $p < 0,05$. IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; %MG: percentual de massa gorda. DHA: Ácido docosaexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico.

A associação inversa com circunferência da cintura (HARRIS et al., 2012) e IMC (SANDS et al., 2005) foi observada com o índice ω-3. No estudo de Sala-Vila et al. (2011) e Block et al. (2008), a associação com IMC e CC não foram significativas. No presente estudo, encontrou-se que no estadiamento inicial (I e II), DHA e índice ω-3 apresentaram correlação diretamente proporcional com IMC e CC.

As concentrações plasmáticas de LDL(-), auto anticorpo anti-LDL(-), 8-OHdG e TBARS não apresentaram correlação com o percentual de EPA, DHA e o índice ω-3 (**Tabela 6**).

Tabela 6. Correlação entre produtos da oxidação e percentual de ácidos graxos estratificados por estadiamento clínico e composição corporal. São Paulo, 2014.

Percentual de Ácidos graxos	Total	EC I e II	LDL(-), U/L	%MG < 32	%MG ≥ 32
	r (p)	r (p)	EC III e IV	r (p)	r (p)
			r (p)		
EPA, %	-0,084 (0,417)	-0,040 (0,760)	-0,049 (0,848)	-0,267 (0,206)	-0,019 (0,874)
DHA, %	0,076 (0,466)	-0,061 (0,639)	0,281 (0,259)	-0,018 (0,934)	0,106 (0,377)
Índice ω-3, %	-0,020 (0,849)	-0,108 (0,405)	0,225 (0,369)	-0,188 (0,378)	0,043 (0,720)
Auto anticorpo anti-LDL(-), mU/L					
	Total	EC I e II	EC III e IV	%MG < 32	%MG ≥ 32
				r (p)	r (p)
EPA, %	0,022 (0,834)	-0,038 (0,765)	0,054 (0,825)	-0,076 (0,725)	0,055 (0,641)
DHA, %	-0,038 (0,712)	0,080 (0,532)	-0,328 (0,170)	0,237 (0,266)	-0,128 (0,281)
Índice ω-3, %	0,015 (0,886)	0,065 (0,611)	-0,040 (0,870)	0,174 (0,416)	-0,046 (0,700)
8-OHdG, ng/mL					
	Total	EC I e II	EC III e IV	%MG < 32	%MG ≥ 32
				r (p)	r (p)
EPA, %	0,069 (0,536)	0,256 (0,060)	0,105 (0,687)	-0,110 (0,645)	0,090 (0,488)
DHA, %	-0,082 (0,465)	-0,001 (0,996)	0,186 (0,474)	-0,162 (0,494)	-0,054 (0,674)
Índice ω-3, %	-0,025 (0,824)	0,060 (0,662)	0,245 (0,343)	-0,162 (0,494)	0,030 (0,818)
TBARS, μmol/mg de proteínas					
	Total	EC I e II	EC III e IV	%MG < 32	%MG ≥ 32
				r (p)	r (p)
EPA, %	0,116 (0,266)	0,213 (0,097)	-0,118 (0,632)	-0,068 (0,757)	0,203 (0,089)
DHA, %	-0,112 (0,284)	-0,059 (0,647)	-0,042 (0,864)	-0,068 (0,757)	-0,121 (0,316)
Índice ω-3, %	-0,032 (0,762)	0,042 (0,748)	-0,084 (0,732)	-0,130 (0,553)	0,024 (0,843)

EC: estadiamento clínico. %MG: percentual de massa gorda. DHA: Ácido docosaexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico. LDL(-): Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa; 8-OHdG: 8-Oxo-2'-deoxiguanosina; TBARS: espécies reativas ao ácidos tiobarbitúrico; IMC: Índice de massa corporal; CC: Circunferência da cintura. Utilizou-se correlação de Spearman, considerando significativo $p < 0,05$.

A variação genética poderia modificar as associações com o índice ω -3 com marcadores bioquímicos e composição corporal. A literatura descreve que alguns polimorfismos de nucleotídeos únicos, como CPT1A, FADS1 e FADS2 estão diretamente associados com a atividade do delta-5 dessaturases no plasma e nos eritrócitos (VORUGANTI et al., 2012). Entretanto, na avaliação de outros genótipos (APOE) a associação com perfil lipídico não foi modificada (HARRIS et al., 2014). O presente estudo não avaliou tais parâmetros, mas a influência de polimorfismos não pode ser desconsiderada, visto que os nossos resultados não confirmaram alguns estudos anteriores.

Pottala et al. (2012) destacaram o cuidado no armazenamento da amostra biológica para análise do índice ω -3. As amostras degradam a -20°C , principalmente os ácidos graxos de cadeia longa, em média 3,5 a 5,9% por semana, dependendo do tamanho da alíquota. Por fim, concluíram que as amostras de eritrócitos devem sempre ser armazenadas a -80°C , conforme realizado com as amostras de plasma e sangue total usadas no presente estudo.

O manuscrito apresentado a seguir apresenta parte dos resultados obtidos no presente estudo e inclui novas análises estatísticas.

MANUSCRITO

Submetido a revista *Clinical Nutrition*

Comprovante de submissão a *Clinical Nutrition*

Ms. Ref. No.: YCLNU-D-14-00147

Title: "Adiposity and tumor stage accelerate oxidative stress in women with breast cancer"

Clinical Nutrition

Dear Augusto Carioca,

Your submission "Adiposity and tumor stage accelerate oxidative stress in women with breast cancer" has been assigned manuscript number YCLNU-D-14-00147.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/yclnu/>

2. Enter your login details

3. Click [Author Login]

This takes you to the Author Main Menu.

4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to Clinical Nutrition.

Kind regards,

Nicolaas E. Deutz, MD, PhD

Editor-in-Chief

Clinical Nutrition

Adiposity and tumor stage accelerate oxidative stress in women with breast cancer

Running title: Adiposity, tumor stage and oxidation in breast cancer

Antonio Augusto Ferreira Carioca¹, Sara Maria Moreira Lima Verde^{1,2}, Liania Alves Luiza¹, Patricia Helen de Carvalho Rondó¹, Maria do Rosário Dias de Oliveira Latorre³, Nagila Raquel Teixeira Damasceno^{1#}

¹Department of Nutrition, School of Public Health, University of São Paulo.

²Nutrition course, University of Fortaleza.

³Statistician, Professor, Department of Epidemiology, School of Public Health, University of São Paulo.

#Corresponding author: Department of Nutrition, School of Public Health, University of São Paulo. Av. Dr. Arnaldo, 715. Zip code: 01246-904, São Paulo, Brazil

Phone: +55-11-30617865 fax: +55-11-30917130

E-mail: nagila@usp.br

Statement of Authorship

CARIOCA, AAF: data analysis and drafting of manuscript. VERDE, SML: data collection and data analysis. LUIZA, LA: data analysis and critical analysis. RONDÓ, PHC: data analysis and critical analysis. LATORRE, MRDO: data analysis and critical analysis. DAMASCENO, NRT: data analysis and final revision and critical analysis of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Conflict of Interest

Nothing to declare

Statement and Funding sources

FAPESP process: 2010/19207-6; 2011/15590-2

Acknowledgement

This study was supported by the Sao Paulo State Funding Agency - FAPESP, Brazil (grant 2010/19207-6; 2011/15590-2).

Abbreviations: %FM: fat mass percentage; 8-OHdG: 8-hydroxy-2-deoxyguanosine; BMI: body mass index; CS: clinical staging; LDL(-): electronegative low-density lipoprotein; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; WC: waist circumference; MBW: minimum Brazilian wage

Abstract

Background & Aims: Breast cancer is a disease characterized by both oxidative reactions and inflammation. However, oxidative and inflammatory biomarkers are not used in clinical practice because scant studies have focused on this issue. The aim of this study was to investigate the association of oxidative stress markers with adiposity and tumor stage, as well as the association between oxidative and antioxidant biomarkers of women with breast cancer.

Methods: A total of 135 incident cases of breast cancer between 2011 and 2012 were assessed. After exclusions, 101 pre and postmenopausal women with tumor stage I to IV were eligible for inclusion. Anthropometric evaluation was performed by collecting data on waist circumference (WC), body mass index (BMI) and body composition. The socioeconomic and clinical profile of the patients was determined using a standard questionnaire. For oxidative biomarkers, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), oxidative DNA damage (8-OHdG), LDL(-), autoantibody anti-LDL(-) and liposoluble antioxidants (α -tocopherol, retinol and β -carotene) were analyzed. Data were analyzed by the correlation test, differences in means and multiple linear regression with a level of significance of $p < 0.05$.

Results: Antioxidants were higher in postmenopausal women with early-stage tumor and negative lymph nodes. TBARS level was associated with clinical staging. Adiposity was associated with levels of retinol and 8-OHdG, while LDL (-), 8-OHdG and TBARS were correlated with liposoluble antioxidants after adjusting for confounders.

Conclusions: The body composition and clinical profile of patients were associated with oxidative stress. Oxidative and antioxidant biomarkers were associated in patients with breast cancer.

Keywords: Breast cancer; Oxidative Stress; Body Composition; Antioxidants.

1. Introduction

Breast cancer is one the most prevalent types of cancer and the leading form in incidence, prevalence and mortality among women worldwide (1). In 2014, there were an estimated 235,030 new cases and 40,430 deaths from breast cancer in the U.S.A (2). Brazil shows a similar pattern, where the incidence of breast cancer is forecast at 56.09 cases per 100,000 women in 2014 (3).

Despite the high prevalence of the disease, prevention, early detection and adequate treatment have helped delay tumor recurrence and contributed to improvements in quality of life. These benefits are directly dependent on knowledge of the mechanism involved in the pathogenesis of breast cancer. During development of the disease, many regulatory mechanisms become imbalanced and events such as chronic inflammation and pro-oxidative reactions are stimulated. The imbalance between free radicals and antioxidant species induced by exogenous (diet and smoking) or endogenous (estrogens) factors promotes oxidative stress during the onset, promotion and progression of breast cancer (4, 5, 6).

According to the American Institute for Cancer Research – AICR (1), a dietary pattern rich in vegetables, fruit, dairy products, fish, poultry and low fat has been associated with lower risk of breast cancer in observational studies. Regarding this dietary profile, the antioxidant capacity of nutrients and other bioactive components represent a potential protective mechanism against the development of cancer (5, 6, 7).

Therefore, evaluation of antioxidants, oxidative biomarkers and inflammatory status is crucial to clinical practice. In this context, the role of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG), malondialdehyde and antioxidant vitamins has been a focus in the assessment of prognosis and risk for onset and recurrence of breast cancer (7, 8, 9).

More recently, Hursting & Dunlap (10) proposed that the relationship between cancer and oxidation can change in the presence of obesity, probably in view of the mechanism involved in the development of obesity, where a chronic and low intensity inflammatory process takes place. It is plausible that obese women have a negative profile for oxidative reactions and the development of breast cancer. Despite this hypothesis, few studies have investigated the impact of adiposity and clinical profile on the relationship with oxidative stress (11, 12, 13, 14, 15). Therefore, the aim of this study was to investigate the association of markers of oxidative stress with adiposity and tumor stage, as well as the association between oxidant and antioxidative biomarkers in Brazilian women with breast cancer.

2. Materials and Methods

2.1 Subjects

Women with breast cancer were recruited from the public General Hospital of Fortaleza (Ceara, Brazil) between 2011 and 2012 to participate in this study. Subjects with recent clinical and histopathological diagnosis of breast cancer, stage I to IV, no prior anticancer treatment or metastasis, and a Karnofsky index of over 70, were selected. This study was approved by the Research Ethics Committees of the General Hospital of Fortaleza (no. 050507/10) and of the School of Public Health, University of São Paulo (no. COEP 2162) and written informed consent was obtained from all patients. Data were collected according to good clinical practice (GCP). Prior to study commencement, a training workshop was held in order to establish standard operating procedures and harmonize approaches among all the researchers involved.

2.2 Socioeconomic and clinical profile

The socioeconomic profile (age, marital status, race, education and family income) of the patients was determined by a direct interview assessment using a

standard questionnaire. Clinical history was obtained from the medical records and was conducted by a direct face-to-face interview. The following items were assessed: menopausal status (menopause defined as 12 months of amenorrhea followed by reduced ovarian hormonal activity in the absence of surgical or hormonal induction (16), nulliparity, hormone replacement therapy, breastfeeding, smoking (cigarette, cigar or pipe smoking one or more times during the 30 days leading up to data collection (17), alcohol intake (>15 grams of ethanol/day) (18), vitamin supplement intake, tumor subtype, lymph nodes and clinical stage of tumor.

2.3 Anthropometry and body composition

Measurements of weight, height, waist circumference and body composition were collected from the patients. Weight was determined using a Control digital scale (Plenna, São Paulo, Brazil), with 150 kg capacity and 100 g precision. Height was measured using a stadiometer Alturaexata (TBW, São Paulo, Brazil) with a limit of 2.10 meters and precision of 1 mm. Weight and height were utilized to calculate the body mass index (BMI) (kg/m^2), and patients were classified according to WHO recommendations (19) and to Lipschitz (20). Waist circumference was measured at the level of the umbilicus using an inelastic tape, and the cardiometabolic risk of the patients was calculated according to the WHO classification (19). Body composition was evaluated by bioelectrical impedance to estimate percentage of fat mass, using a tetrapolar bioimpedance Biodynamic ® Model 450 device (TBW, São Paulo, Brazil). All measurements were collected in duplicate by a trained interviewer. Fat mass percentage (%FM) was classified according to Lohman (21).

2.4 Blood collection

Blood samples were collected after a 12-h fast by peripheral venous puncture into vacutainer tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid-EDTA (1

mg/ml) used as an anticoagulant and antioxidant, stored on ice and protected from light until obtention of plasma (1500g, 10min, 4°C). The following protease inhibitors were added to the plasma: aprotinin (2µg/ml), benzamidine (2mM) and phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF) (1 mM), and the antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT) (20 mM). Plasma was aliquoted and stored at -80°C until analysis.

2.5 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

Plasma (50 µL) was added to 1 ml of thiobarbituric acid (0.046 M), trichloroacetic acid (0.92 M) and hydrochloric acid (0.25 M) and subsequently incubated in a boiling water bath (100 °C) for 30 minutes. After this period, samples were centrifuged at 4 °C for 15 minutes at 8000 g, and supernatant (200 µL) was monitored at 535 nm. Quantification was performed using the standard curve with 1,1,3,3 tetraethoxypropane (TEP) (0.2 to 4.0 µmol of TBARS/L) (22). Results were expressed as µmol TBARS/mg of protein. All analyzes were performed in duplicate. The intra and inter-coefficients of variation were 2.8% and 7.2%, respectively.

2.6 Oxidative DNA damage

The analysis of 8-Oxo-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) was performed by a competitive ELISA kit (EIA DNA Damage, Enzo Life Sciences, Inc.). The intra and inter-coefficient of variation was 4 %.

2.7 LDL(-) and autoantibody anti-LDL(-)detection

LDL(-) was detected by sandwich ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), following a standardized protocol by Faulin et al. (23). The coating of the plates (Costar®, Model 3690, Corning, USA) was performed with monoclonal anti-LDL(-) (MAB- 1A3) (10 µg/mL, 50 µL/well) diluted in carbonate-bicarbonate (0.25 M, pH 9.6), and plates were incubated overnight at 4 °C. After this period, free sites were

blocked with skimmed milk (Molico, Nestlé, São Paulo, Brazil), diluted to 2% in phosphate buffered saline 0.01 mol /L (PBS - Tween (0.01 %) - pH 7.4) and incubated at 37 °C for 90 min. The plates were then washed three times with PBS-Tween (0.05 %). Fifty (50) mL/well of plasma diluted 1:1000 in PBS-Tween (0.01%) plus 1% milk were added, and the plate incubated for 90 min at 37 °C. Subsequently, the plate was washed as described previously and 50 µL/well of monoclonal anti-LDL(-) biotinylated (Mab 2C7) (10 µg/mL, 50 µL/well) was added. The plates were incubated at 37 °C for 1 h and then washed as described above. After this step, 50 µL/well of streptavidin-peroxidase (1:100,000) diluted in PBS - Tween (0.01 %) plus 1% milk were added. The plates were incubated for 1 hour at 37 °C and washed again as described above. The color reaction was developed by adding Ortho-Phenylenediamine (OPD) substrate comprising citrate-phosphate buffer (0.1 M, pH 4.2) and H₂O₂ (30 %). The plates were incubated for 10 minutes at 37°C. The reaction was blocked with 50 µL/well H₂SO₄ (2 M) and absorbance monitored at 490 nm. Results were expressed as mean absorbance minus the background sample and then applied to the standard curve and multiplied by the corresponding dilution. A calibration curve was carried out for each plate, using LDL(-) extracted from human plasma by FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography) as a standard (0.6-20 µg/mL). Results were expressed as U/L, with 1 unit representing 1.0 g/L oxidized Apo B. The intra and inter-coefficients of variation were 4.8% and 8.9%, respectively.

The autoantibody anti-LDL(-) was detected by the ELISA capture antibody. LDL (-) isolated by FPLC was diluted in carbonate-bicarbonate buffer (0.25 M, pH 9.6) to a final concentration of 1 µg/ml and incubated overnight at 4 °C. The spaces were blocked with 5 % skimmed milk diluted in phosphate-buffered saline 0.01 mol/L (PBS - pH 7.4) and incubated at 37 °C for 2 hours. The plates were washed four times with

PBS-Tween (0.05 %). The samples were diluted (1:500) in PBS and incubated at a temperature of 37 °C for 2 hours. The plates were washed again as described above. Fifty (50) μL /well of anti-human IgG labeled with peroxidase (1:5000) diluted in PBS was added to the solution. The plates were incubated for 1 hr 30 min at 37 °C and then washed as described above. The color reaction was developed by adding substrate comprising 3,3',5,5'- tetramethylbenzine (TMB), citrate-phosphate buffer (0.1 M, pH 4.2) and H_2O_2 (30 %) (250/12/10, $\mu\text{L}/\text{mL}/\mu\text{L}$). The plates were incubated for 15 minutes at 37 °C protected from light. The reaction was blocked with 50 μL /well of H_2SO_4 (2 M) and the absorbance monitored at 450 nm. The results were determined by applying the average absorbance of sample-background to the equation of the standard curve MAb (0.004 to 0.125 mU/L). The intra and inter-coefficients of variation were 2.8% and 6.6%, respectively.

2.8 Antioxidant analysis

The liposoluble antioxidants (α -tocopherol, retinol and β -carotene) were extracted from plasma (200 μL) by the addition of 200 μL ethanol solution (Merck/HPLC) followed by 5 seconds of vortex (Biomixer-MVS-1). After this period, 500 μL of hexane (Merck/HPLC) was added and the final solution mixed (2 min). The solution was centrifuged (Eppendorf @Centrifuge 5415C) for 5 min at 700 g at 4 °C, and supernatant (250 μL) was transferred and evaporated under nitrogen. Antioxidants extracted were resuspended in 200 μL of mobile phase consisting of acetonitrile: methanol: dichloromethane (70%:20%:10%).

The analysis of α -tocopherol, retinol and β -carotene was performed on a high performance liquid chromatograph (HPLC, Shimadzu Inc, Japan) being conducted through a separation column Synergy Fusion 5 μ – C8 (2) 150 X 4.6 mm column and Security Guard - HPLC Guard Cartridge System - KJO 4282 (pre-column) both from

Phenomenex®. The effluent was monitored by SPD-10AVVP UV–vis and RF-10AXL. The fluorescence detector was set at 295 nm (excitation) and 340 nm (emission). The flow of the mobile phase was 1.0 mL/min for 8 min. Retention times for α -tocopherol, retinol and β -carotene were 4.5 min, 2.5 min and 6.7 min, respectively. The curve was constructed using external standard (99%) with concentrations of α -tocopherol between 2-49 $\mu\text{mol/L}$, retinol between 0.2-6.5 $\mu\text{mol/L}$ and β -carotene between 0.1-0.76 $\mu\text{mol/L}$. The coefficient of variation was 2.9%.

2.9 Statistical analysis

The results were evaluated using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 20.0. Adherence to the normal curve was evaluated using the Kolmogorov-Smirnov test ($p > 0.05$). Comparison between groups was evaluated by the Mann-Whitney test. Pearson's (normally distributed variables) and Spearman's (free distributed variables) correlation coefficients were calculated. Comparison of biochemical parameters between groups was performed using the Mann-Whitney test. Multiple linear regression models were used to evaluate associations between dependents variables [LDL(-), autoantibody anti-LDL(-), TBARS, 8-OHdG] while antioxidants were taken as independent variables. These were tested using a crude model (model 1) and models controlled for potential confounders: model 2 – age and model 3 - age (continuous), per capita income (< 1 MBW or ≥ 1 MBW), smoking (yes or no), alcohol intake (yes or no), waist circumference (continuous), body fat percentage (continuous), menopausal status (premenopausal or postmenopausal) and clinical stage (I and II or III and IV). A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

A total of 135 women with a mean age of 50.4 (11.3) years were initially contacted to participate in the study, but 13 proved ineligible. Women were excluded during follow-up for the following reasons: hospital transfers (n=8), refusals (n=5) and pretreatment of cancer or benign breast disease (n=8). Therefore, the final sample consisted of 101 patients. Most participants were postmenopausal (49.5%) and 65.4% had level I and II tumor stage (**Table 1**). The patients had a mean BMI of 27.9 (4.6) kg/m², %FM of 35.3 (4.8) % and WC of 96.1 (10.7) cm.

The values of LDL(-), autoantibody anti-LDL(-), 8-OHdG showed no significant differences according to the clinical profile. However, TBARS levels were higher in advanced clinical stages (p=0.037). Furthermore, the mean values of α -tocopherol (p=0.002) and retinol levels (p<0.001) were higher among postmenopausal women. β -carotene level showed differences as a function of tumor stage (p=0.014) while retinol levels differed with lymph node involvement (p = 0.017) (**Table 2**).

Women with inadequate waist circumference had higher 8-OHdG concentration (p=0.020) while those with excess weight had a lower concentration of retinol (p=0.019) (**Table 3**).

LDL(-) was inversely correlated with α -tocopherol (r=-0.28, p=0.005) and retinol (r=-0.24, p=0.017). The correlation did not differ according to the clinical stage, but was stronger in women with %FM < 32 for α -tocopherol (r=-0.61, p=0.002) and retinol (r=-0.55, p=0.007). The autoantibodies showed no significant correlation. 8-OHdG was correlated with β -carotene (r =-0.45, p <0.001), where this correlation was independent of clinical stage and fat mass percentage. In the initial tumor stage, TBARS showed correlation with β -carotene (r=-0.30, p=0.015) and high %FM (r=-0.38, p=0.001) (**Table 4**).

The relationship of α -tocopherol with LDL(-) (β :-0.049, 95% CI:-0.092,-0.007) remained even after adjusting for confounders. However, with respect to retinol (β :-0.237, 95% CI:-0.411,-0.063), the association with LDL(-) was independent of age, but not after adjusting for the other confounders tested in model 2. None of the antioxidants were associated with the autoantibody anti-LDL(-). β -carotene level was associated with 8-OHdG (β :-5.935, 95% CI:-9.900,-1.970) and with TBARS (β :-0.220, 95% CI:-0.358,-0.082). This association remained after adjusting for confounders (Table 5).

4. Discussion

Our results confirmed that antioxidants correlate with oxidative biomarkers, but highlighted that these associations are related to menopausal status, tumor stage and adiposity of women with breast cancer.

The relationship between menopausal status and oxidative stress was previously described by Victorino et al. (15). According to the authors, postmenopausal women had more favorable antioxidant profiles, contributing to lower levels of oxidative damage and higher antioxidant capacity. Although the mechanism involved remains unclear, Okoh et al (24) proposed that during the postmenopausal period the aromatase cycle is activated and oxidation stimulated. This observation was confirmed by Fussell et al. (25), who demonstrated that production of reactive oxygen species - ROS (H_2O_2 and O_2^-) in mammary epithelium is elevated in postmenopausal women. In addition, these women exhibited higher levels of plasma α -tocopherol and retinol.

Regarding the negative role of oxidative stress in the development of cancer, previous studies have shown that obesity in postmenopausal women can accelerate ROS generation (12, 26, 27). Our results confirmed that higher values of 8-OHdG were observed in women with a large waist circumference, while lower levels of

retinol were correlated with overweight. 8-OHdG has been widely used as a biomarker of oxidative stress, and breast cancer has been considered a prognostic factor, since a more aggressive tumor profile was associated with 8-OHdG serum levels and expression (8).

In addition to menopausal status, tumor profile also exerts a significant impact on oxidative stress. Kumaraguruparan et al. (11) observed that the oxidant/antioxidant ratio changes as a function of tumor stage. Our results showed that advanced products of lipid peroxidation (TBARS) were higher in women with stage III and IV tumors, unlike reduced levels of β -carotene. Recently, Panis et al (14) verified that at advanced clinical stages, pro-inflammatory and oxidative stimuli are present. Further supporting the oxidative basis of cancer, Pande et al, (28), concluded that women with advanced tumor stages and positive lymph nodes had lower levels of antioxidant vitamins, a finding corroborated by the results described in the present study. According to Pande et al (28), imbalances observed in antioxidant and oxidants are related with prognosis and clinical tumor stage, and this association is directly dependent on activation of the nuclear factor kappa B (NF- κ B) p65 subunit, causing an imbalance in the homeostasis of the intracellular redox environment.

In the present study, β -carotene was the main antioxidant related to oxidative biomarkers. This profile has been described previously (5, 7, 29) but this is the first time the antioxidant has been simultaneously associated with oxidative DNA damage (8-OHdG) and lipid peroxidation (TBARS) in women with breast cancer. In addition, we have shown that LDL(-) and α -tocopherol and retinol are inversely correlated. To date, these associations have not been reported in the literature although a relationship between LDL(-) and α -tocopherol was previously observed in obese adolescents (30), submitted to hemodialysis (31) and dyslipidemia (32).

Clinical profile and body composition influenced the correlations between biomarkers, where a significant association was observed of LDL(-) with α -tocopherol and retinol and the percentage of fat. This may possibly be related to the fact that LDL(-) is a biomarker of the initial oxidation process (33) unlike TBARS and 8-OHdG.

A limitation of this study lies in its design, which precludes the establishment of a cause-effect relationship. However, an important strength of this study is that antioxidants were evaluated using a direct method thereby avoiding systematic and randomized bias, a common occurrence in evaluations of diet. Our results reinforce the importance of an adequate diet, weight control and the avoidance of smoking and alcohol in women with breast cancer.

Finally, in women with breast cancer, the impact of antioxidants goes beyond the association with the oxidative biomarkers. Models of regression broaden this view, showing that non-modifiable (age, menopausal stage, tumor stage) and modifiable (income, %FM, WC, smoking, alcohol) factors can change the association between antioxidant and oxidative products. Therefore, we conclude that women with breast cancer are subject to oxidative stress and that this profile is directly influenced by clinical characteristics and adiposity.

References

1. American Institute for Cancer Research (AICR). World Cancer Research Fund. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR, 2007.
2. Siegel R, Jemal A, Naishad Z, Ahmedin J. Cancer statistics, 2014. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2014;64(1):9-29.
3. Brasil, Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro : Inca, 2014.
4. Vera-Ramirez L, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa MC, Ramirez-Tortosa CL, Granados-Principal S, Lorente JA, et al. Free radicals in breast carcinogenesis, breast

cancer progression and cancer stem cells. Biological bases to develop oxidative-based therapies. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2011;80(3):347-68.

5. Yeon J-Y, Suh Y-J, Kim S-W, Baik H-W, Sung C-J, Kim H-S, et al. Evaluation of dietary factors in relation to the biomarkers of oxidative stress and inflammation in breast cancer risk. *Nutrition*. 2011;27(9):912-8.

6. Jerby L, Wolf L, Denkert C, Stein GY, Hilvo M, Oresic M, et al. Metabolic associations of reduced proliferation and oxidative stress in advanced breast cancer. *Cancer research*. 2012;72(22):5712-20.

7. Thomson CA, Stendell-Hollis NR, Rock CL, Cussler EC, Flatt SW, Pierce JP. Plasma and dietary carotenoids are associated with reduced oxidative stress in women previously treated for breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2007;16(10):2008-15.

8. Sova H, Jukkola-Vuorinen A, Puistola U, Kauppila S, Karihtala P. 8-Hydroxydeoxyguanosine: a new potential independent prognostic factor in breast cancer. *British journal of cancer*. 2010;102(6):1018-23.

9. Pande D, Negi R, Karki K, Khanna S, Khanna RS, Khanna H. Oxidative damage markers as possible discriminatory biomarkers in breast carcinoma. *Translational Research*. 2012; 160(6):411-8.

10. Hursting SD, Dunlap SM. Obesity, metabolic dysregulation, and cancer: a growing concern and an inflammatory (and microenvironmental) issue. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012;1271(1):82-7.

11. Kumaraguruparan R, Kabalimoorthy J, Nagini S. Correlation of tissue lipid peroxidation and antioxidants with clinical stage and menopausal status in patients with adenocarcinoma of the breast. *Clinical biochemistry*. 2005;38(2):154-8.

12. Pansini F, Cervellati C, Guariento A, Stacchini MA, Castaldini C, Bernardi A, et al. Oxidative stress, body fat composition, and endocrine status in pre-and postmenopausal women. *Menopause*. 2008;15(1):112-8.

13. Badid N, Ahmed FZB, Merzouk H, Belbraouet S, Mokhtari N, Merzouk SA, et al. Oxidant/antioxidant status, lipids and hormonal profile in overweight women with breast cancer. *Pathology & Oncology Research*. 2010;16(2):159-67.

14. Panis C, Victorino V, Herrera A, Freitas L, De Rossi T, Campos F, et al. Differential oxidative status and immune characterization of the early and advanced stages of human breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2012;133(3):881-8.

15. Victorino V, Panis C, Campos F, Cayres R, Colado-Simão A, Oliveira S, et al. Decreased oxidant profile and increased antioxidant capacity in naturally postmenopausal women. *Age*. 2012:1-11.

16. Soules MR, Sherman S, Parrott E, Rebar R, Santoro N, Utian W, et al. Stages of reproductive aging workshop (STRAW). *Journal of women's health & gender-based medicine*. 2001;10(9):843-8.

17. Centers Disease Control of Prevention [homepage na Internet]. Teen Smoking Rates Decline Significantly. Embargoed until Noon. May 16, 2002. Disponível em: <http://www.cdc.gov/od/oc/media/pressrel/r020516.htm>
18. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006 A scientific statement from the American Heart Association nutrition committee. *Circulation*. 2006;114(1):82-96.
19. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3-5 June 1997. Geneva: world Health Organization; 1998
20. Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Prim Care* 1994; 21:55-67.
21. Lohman TG. Advances in body composition assessment: Human Kinetics Publishers Champaign IL; 1992. p.80.
22. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002;127(1):183-98.
23. Faulin S, do Espirito T, de Sena KCM, Rodrigues Telles AE, de Mattos Grosso D, Bernardi Faulin EJ, et al. Validation of a novel ELISA for measurement of electronegative low-density lipoprotein. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2008;46(12):1769-75.
24. Okoh V, Deoraj A, Roy D. Estrogen-induced reactive oxygen species-mediated signalings contribute to breast cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2011;1815(1):115-33.
25. Fussell KC, Udasin RG, Smith PJ, Gallo MA, Laskin JD. Catechol metabolites of endogenous estrogens induce redox cycling and generate reactive oxygen species in breast epithelial cells. *Carcinogenesis*. 2011;32(8):1285-93.
26. Žitnanová I, Rakovan M, Paduchová Z, Dvorská M, Andrežalová L, Muchová J, et al. Oxidative stress in women with perimenopausal symptoms. *Menopause*. 2011;18(11):1249-55.
27. Sánchez-Rodríguez MA, Zacarías-Flores M, Arronte-Rosales A, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez VM. Menopause as risk factor for oxidative stress. *Menopause*. 2012;19(3):361-7.
28. Pande D, Karki K, Negi R, Khanna S, Khanna RS, Khanna H. NF-κB p65 Subunit DNA-Binding Activity: Association with Depleted Antioxidant Levels in Breast Carcinoma Patients. *Cell biochemistry and biophysics*. 2013:1-7.
29. Şener DE, Gönenç A, Akıncı M, Torun M. Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer. *Cell biochemistry and function*. 2007;25(4):377-82.
30. Silva IT, Mello A, Sanches L, Abdalla D, Damasceno N. Is Plasma Alpha-Tocopherol Associated with Electronegative LDL in Obese Adolescents? *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2012;59(2):100-7.

31. Mafra D, Santos FR, Lobo JC, de Mattos Grosso D, Barreira AL, Velarde LGC, et al. Alpha-tocopherol supplementation decreases electronegative low-density lipoprotein concentration [LDL (-)] in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2009;24(5):1587-92.
32. Pereira EC, Bertolami MC, Faludi AA, Sevanian A, Abdalla DS. Antioxidant effect of simvastatin is not enhanced by its association with α -tocopherol in hypercholesterolemic patients. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;37(9):1440-8.
33. Mello APQ, da Silva IT, Abdalla DSP, Damasceno NRT. Electronegative low-density lipoprotein: origin and impact on health and disease. *Atherosclerosis*. 2011;215(2):257-65.

Figure and Table Legends

Table 1. Socioeconomic and clinical characteristics of patients with breast cancer.

Variables	n	%
Race		
White	26	25.7
Non-white	75	74.3
Marital status		
Married	56	55.4
Other	45	45.6
Education (years)		
≤ 8	49	48.5
9-11	31	30.7
≥ 12	21	20.8
Per capita income*		
< 1 MBW	61	60.4
≥ 1 MBW	40	39.6
Postmenopausal (yes)	50	49.5
Nulliparity (yes)	19	18.6
Hormone replacement therapy (yes)	8	7.9
Breastfeeding (yes)	68	67.3
Smoking (yes)^a	9	8.9
Alcohol intake (yes)^b	18	17.8
Family history of breast cancer (yes)	70	69.3
Subtype of breast cancer (ductal)	74	73.3
Lymph nodes (yes)	26	25.7
Clinical stage (I and II)	66	65.4
BMI (overweight)^c	68	67.3
WC (inadequate)^d	75	74.3
% FM (inadequate)^e	77	76.2

n=101 women

a - smoked cigarette, cigar or pipe on one or more days during the 30 days prior to data collection;

b - alcohol intake considered 15 or more grams of ethanol/day;

c – overweight ≥ 25 kg/m² (adults) (19) and ≥ 27 kg/m² (elderly) (20);

d - inadequate ≥ 88 cm (19);

e - inadequate $\geq 32\%$ (21).

Abbreviations: BMI: body mass index; WC: waist circumference; %FM: fat mass percentage.

*MBW, minimum Brazilian wage (equivalent to 311.00 USD).

Table 2. Median and interquartile interval of oxidative and antioxidant parameters in patients with breast cancer according to clinical profile.

Biochemical parameters	Total	Menopausal status		Tumor stage		Lymph node	
		Premenopausal	Postmenopausal	I/II	III/IV	Yes	No
Oxidant							
LDL(-), U/L	2.3 (1.3 – 4.9)	2.6 (1.3 – 5.8)	2.3 (1.3 – 4.4)	2.3 (1.1 – 5.2)	2.8 (1.5 – 4.4)	3.0 (1.6 – 5.6)	2.3 (1.0 – 4.5)
Autoantibody anti-LDL(-), mU/L	4.3 (2.3 – 5.8)	4.8 (2.4 – 6.0)	3.9 (2.2 – 5.4)	3.9 (2.3 – 5.7)	4.4 (1.9 – 5.8)	3.8 (1.9 – 5.6)	4.0 (2.4 – 5.5)
8-OHdG, ng/mL	19.4 (13.1 – 21.7)	15.9 (12.5 – 21.7)	19.7 (15.0 – 21.9)	18.8 (13.1 – 21.0)	20.7 (11.8 – 22.7)	20.6 (13.8 – 22.4)	16.8 (12.8 – 20.9)
TBARS, μmol/mg of protein	0.8 (0.6 – 0.9)	0.8 (0.6 – 0.9)	0.7 (0.6 – 0.9)	0.8 (0.6 – 0.8)	0.9 (0.7 – 1.0)*	0.8 (0.7 – 1.0)	0.8 (0.6 – 0.8)
Antioxidants							
α-tocopherol, μmol/L	10.9 (9.4 – 13.1)	10.7 (9.0 – 11.4)	12.3 (10.1 – 14.2)*	10.9 (9.6 – 13.3)	10.2 (9.4 – 11.6)	10.1 (9.4 – 12.1)	11.0 (10.1 – 13.5)
β-carotene, μmol/L	0.4 (0.2 – 0.6)	0.4 (0.2 – 0.6)	0.4 (0.2 – 0.6)	0.4 (0.3 – 0.7)	0.3 (0.1 – 0.4)*	0.4 (0.2 – 0.6)	0.4 (0.2 – 0.7)
Retinol, μmol/L	1.6 (1.4 – 1.9)	1.5 (1.3 – 1.7)	1.7 (1.6 – 2.1)*	1.6 (1.4 – 2.0)	1.4 (1.3 – 1.7)	1.4 (1.3 – 1.7)	1.6 (1.5 – 2.0)*

The Mann-Whitney test was used for the variable and the results were expressed as median and interquartile interval. *p<0.05 was considered significant.

Table 3. Median and interquartile interval of oxidative and antioxidant parameters in patients with breast cancer according to adiposity level.

Biochemical parameters		BMI		WC		%FM	
Oxidant		without excess weight	with excess weight	Appropriate	inappropriate	appropriate	inappropriate
LDL(-), U/L		2.3 (1.3 – 3.5)	2.4 (1.3 – 5.8)	2.8 (1.4 – 7.7)	2.4 (1.2 – 4.5)	3.4 (1.7 – 7.6)	2.4 (1.2 – 4.3)
Autoantibody	anti-	4.4 (2.6 – 6.0)	4.1 (2.1 – 5.6)	4.8 (3.2 – 5.8)	4.4 (2.2 – 5.9)	4.5 (2.1 – 5.6)	4.2 (2.3 – 5.9)
LDL(-), mU/L							
8-OHdG, ng/mL		15.8 (12.7 – 20.5)	19.9 (13.6 – 22.1)	15.2 (12.7 – 19.4)	20.4 (14.4 – 22.6)*	18.1 (11.5 – 21.1)	19.4 (13.3 – 21.9)
TBARS, μ mol/mg of protein		0.8 (0.6 – 1.0)	0.8 (0.6 – 0.9)	0.8 (0.6 – 1.0)	0.8 (0.6 – 0.9)	0.8 (0.6 – 0.9)	0.8 (0.6 – 0.9)
Antioxidants							
α -tocopherol, μ mol/L		10.9 (10.0 – 13.8)	10.9 (9.3 – 12.5)	10.3 (8.5 – 11.7)	11.2 (9.5 – 13.1)	10.8 (9.5 – 11.9)	11.0 (9.2 – 13.4)
β -carotene, μ mol/L		0.4 (0.3 – 0.7)	0.3 (0.2 – 0.6)	0.4 (0.3 – 0.7)	0.4 (0.2 – 0.6)	0.4 (0.3 – 0.7)	0.4 (0.2 – 0.6)
Retinol, μ mol/L		1.8 (1.5 – 2.1)	1.6 (1.3 – 1.8)*	1.7 (1.3 – 2.0)	1.6 (1.4 – 1.8)	1.5 (1.4 – 1.7)	1.6 (1.4 – 2.0)

The Mann-Whitney test was used for the variable and the results were expressed as median and interquartile interval. *p<0.05 was considered significant. BMI: body mass index; WC: waist circumference; %FM: fat mass percentage.

Table 4. Correlation between oxidant and antioxidative biomarkers stratified by clinical stage and body composition.

Antioxidants	LDL(-), U/L				
	Total	CS I and II	CS III and IV	%FM < 32	%FM ≥ 32
	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)	r (p)
α - tocopherol, $\mu\text{mol/L}$	-0.28 (0.005)	-0.26 (0.036)	-0.21 (0.391)	-0.61 (0.002)	-0.20 (0.088)
Retinol, $\mu\text{mol/L}$	-0.24 (0.017)	-0.21 (0.105)	-0.18 (0.466)	-0.55 (0.007)	-0.15 (0.219)
β -carotene, $\mu\text{mol/L}$	0.04 (0.734)	-0.06 (0.617)	0.15 (0.530)	0.02 (0.913)	0.01 (0.934)
	Autoantibody anti- LDL(-), mU/L				
	Total	CS I and II	CS III and IV	%FM < 32	%FM ≥ 32
α - tocopherol, $\mu\text{mol/L}$	-0.11 (0.264)	-0.12 (0.351)	-0.20 (0.391)	-0.25 (0.256)	-0.08 (0.473)
Retinol, $\mu\text{mol/L}$	0.01 (0.935)	-0.02 (0.902)	-0.13 (0.587)	-0.13 (0.547)	0.05 (0.686)
β -carotene, $\mu\text{mol/L}$	0.03 (0.794)	0.13 (0.314)	-0.24 (0.307)	0.19 (0.396)	-0.01 (0.965)
	8-OHdG, ng/mL				
	Total	CS I and II	CS III and IV	%FM < 32	%FM ≥ 32
α - tocopherol, $\mu\text{mol/L}$	0.05 (0.669)	0.02 (0.862)	0.10 (0.706)	0.11 (0.654)	0.02 (0.853)
Retinol, $\mu\text{mol/L}$	0.01 (0.916)	0.05 (0.737)	-0.20 (0.429)	-0.05 (0.847)	0.00 (0.986)
β -carotene, $\mu\text{mol/L}$	-0.45 (<0.001)	-0.46 (<0.001)	-0.58 (0.011)	-0.45 (0.046)	-0.45 (<0.001)
	TBARS, $\mu\text{mol/mg}$ of protein				
	Total	CS I and II	CS III and IV	%FM < 32	%FM ≥ 32
α - tocopherol, $\mu\text{mol/L}$	-0.08 (0.409)	-0.10 (0.383)	-0.21 (0.383)	0.14 (0.519)	-0.12 (0.291)
Retinol, $\mu\text{mol/L}$	-0.04 (0.691)	-0.06 (0.658)	0.02 (0.945)	0.15 (0.488)	-0.08 (0.515)
β -carotene, $\mu\text{mol/L}$	-0.27 (0.007)	-0.30 (0.015)	0.05 (0.830)	-0.01 (0.964)	-0.38 (0.001)

CS: clinical staging. %FM: % fat mass. Spearman's correlation was used for the variables LDL (-), autoantibody anti-LDL(-), and β -carotene whereas Pearson's correlation was employed for all other variables. Result considered significant for values of $p < 0.05$.

Table 5. Linear regression models for variables oxidative and antioxidant biomarkers.

LDL(-)¹, U/L						
Models	Crude		Models 1		Models 2	
	Beta	95% CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
α- tocopherol, μmol/L	-0.045	-0.074,-0.017	-0.048	-0.077,-0.020	-0.049	-0.092,-0.007
Retinol, μmol/L	-0.211	-0.383,-0.040	-0.237	-0.411,-0.063	-0.169	-0.384,0.046
β-carotene¹, μmol/L	0.078	-0.162,0.319	0.003	-0.004,0.011	-0.066	-0.360,0.228
Autoantibody Anti-LDL(-)¹, mU/L						
Models	Crude		Models 1		Models 2	
	Beta	95% CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
α- tocopherol, μmol/L	-0.010	-0.028,0.008	-0.009	-0.027,0.010	0.007	-0.021,0.035
Retinol, μmol/L	0.000	-0.180,0.107	-0.003	-0.007,0.002	0.098	-0.043,0.240
β-carotene¹, μmol/L	0.047	-0.101,0.195	0.063	-0.087, 0.212	0.157	-0.030,0.343
8-OHdG, ng/mL						
Models	Crude		Models 1		Models 2	
	Beta	95% CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
α- tocopherol, μmol/L	0.101	-0.368,0.570	0.030	-0.085,0.145	-0.204	-0.838,0.429
Retinol, μmol/L	0.163	-0.909,3.236	-0.145	-3.403,3.112	-0.790	-4.360,2.780
β-carotene¹, μmol/L	-7.248	-10.620,-3.876	-7.657	-11.060,-4.255	-5.935	-9.900,-1.970
TBARS, μmol/mg of protein						
Models	Crude		Models 1		Models 2	
	Beta	95% CI	Beta	95% CI	Beta	95% CI
α- tocopherol, μmol/L	-0.006	-0.021,0.009	-0.005	-0.020,0.010	-0.013	-0.035,0.009
Retinol, μmol/L	-0.018	-0.105,0.070	-0.002	-0.006,0.002	-0.025	-0.136,0.086
β-carotene¹, μmol/L	-0.188	-0.303,-0.073	-0.182	-0.299,-0.065	-0.220	-0.358,-0.082

¹ Variable logarithm. Model 1: Adjusted for age (continuous). Model 2: Age (continuous), per capita income (< 1 MBW or ≥ 1 MBW), smoking (yes or no), alcohol intake (yes or no), waist circumference (continuous), body fat percentage (continuous), menopausal status (premenopausal or postmenopausal) and clinical stage (I and II or III and IV)

5 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo mostraram que:

1. O índice ω -3 não apresentou associação com a composição corporal e com o estresse oxidativo.
2. O estresse oxidativo apresentou associação com o estado de menopausa, estadiamento clínico e adiposidade corporal.

REFERÊNCIAS

- AL-MAJID, S.; WATERS, H. The biological mechanisms of cancer-related skeletal muscle wasting: the role of progressive resistance exercise. **Biological research for nursing**, v. 10, n. 1, p. 7, 2008.
- ALTENBURG, J. D.; SIDDIQUI, R. A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids down-modulate CXCR4 expression and function in MDA-MB-231 breast cancer cells. **Molecular Cancer Research**, v. 7, n. 7, p. 1013, 2009.
- ANTOLOVICH, Michael et al. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, v. 127, n. 1, p. 183-198, 2002.
- ARGILÉS J. M. Cancer-associated malnutrition. *European Journal Oncology Nursing*. v.9: p.539-550, 2005.
- AUNE, Dagfinn et al. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. **The American journal of clinical nutrition**, v. 96, n. 2, p. 356-373, 2012.
- BAGHAI, T. et al. P02-09-Major depression, cardiovascular risk factors and the Omega-3 index. **European Psychiatry**, v. 26, p. 603-603, 2011.
- BLOCK, Robert C.; HARRIS, William S.; POTTALA, James V. Determinants of Blood Cell Omega-3 Fatty Acid Content. **The open biomarkers journal**, v. 1, p. 1-6, 2007.
- BRASIL. Conselho Nacional de Saúde, Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996. **Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo Seres Humanos**, n.2, Brasília, DF: CNS, 1996
- BRASIL. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro : Inca, 2014.
- BURR, George O.; BURR, Mildred M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. **Journal of Biological Chemistry**, v. 82, n. 2, p. 345-367, 1929.
- CALDER, P. C. n- 3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 6, p. S1505-1519S, 2006.
- CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: new twists in an old tale. **Biochimie**, v. 91, n. 6, p. 791-795, 2009.
- CAUGHEY, G. E. et al. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. **The American journal of clinical nutrition**, v. 63, n. 1, p. 116-122, 1996.

CENTERS DISEASE CONTROL OF PREVENTION [homepage na Internet]. Teen Smoking Rates Decline Significantly. Embargoed until Noon. May 16, 2002. Disponível em: <http://www.cdc.gov/od/oc/media/pressrel/r020516.htm>

CORSETTO, Paola A. et al. Chemical–physical changes in cell membrane microdomains of breast cancer cells after omega-3 PUFA incorporation. **Cell biochemistry and biophysics**, v. 64, n. 1, p. 45-59, 2012.

COUET, C.; DELARUE, J.; RITZ, P.; ANTOINE, J-M., LAMISSE, F. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. **Int J ObesRelatMetabDisord**, v. 21, p. 637–643, 1997.

CRAWFORD, Michael et al. Role of plant-derived omega–3 fatty acids in human nutrition. **Annals of nutrition and metabolism**, v. 44, n. 5-6, p. 263-265, 2000.

CRESPI, C. et al. Glucose erythrocyte transporter in women with breast cancer: Changes in lipid composition of erythrocyte membrane. **IUBMB life**, v. 48, n. 5, p. 531-537, 1999.

CUMMINGS, D. E.; OVERDUIN, J. Gastrointestinal regulation of food intake. **J Clin Invest**, v. 117, p. 13–23, 2007.

DAI, Qi et al. Oxidative stress, obesity, and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 27, n. 15, p. 2482-2488, 2009.

DECKELBAUM, R. J.; WORGALL, T. S.; SEO, T. n– 3 fatty acids and gene expression. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 6, p. S1520-1525S, 2006.

DIMRI, M. et al. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids suppress expression of EZH2 in breast cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 3, p. 489, 2010.

ELIASSEN, A. Heather et al. Circulating carotenoids and risk of breast cancer: pooled analysis of eight prospective studies. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 104, n. 24, p. 1905-1916, 2012.

EMKEN, Edward A.; ADLOF, Richard O.; GULLEY, R. Michael. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, v. 1213, n. 3, p. 277-288, 1994.

ESCRICH, E. et al. Modulatory effects and molecular mechanisms of olive oil and other dietary lipids in breast cancer. **Current Pharmaceutical Design**, v. 17, n. 8, p. 813-830, 2011.

FARZANEH-FAR, R. et al. Inverse association of erythrocyte n-3 fatty acid levels with inflammatory biomarkers in patients with stable coronary artery disease: The Heart and Soul Study. **Atherosclerosis**, v. 205, n. 2, p. 538, 2009.

FEARON, K. et al. Effect of a protein and energy dense N-3 fatty acid enriched oral supplement on loss of weight and lean tissue in cancer cachexia: a randomised double blind trial. **Gut**, v. 52, n. 10, p. 1479, 2003.

FRANKEL, Edwin Nessim et al. **Lipid oxidation**. The Oily Press, 2005.

FUSSELL, Karma C. et al. Catechol metabolites of endogenous estrogens induce redox cycling and generate reactive oxygen species in breast epithelial cells. **Carcinogenesis**, v. 32, n. 8, p. 1285-1293, 2011.

GOODWIN, P. J. et al. Diet and breast cancer: evidence that extremes in diet are associated with poor survival. **Journal of clinical oncology**, v. 21, n. 13, p. 2500, 2003.

GRENON, S. Marlene et al. Association between n-3 polyunsaturated fatty acid content of red blood cells and inflammatory biomarkers in patients with peripheral artery disease. **Journal of vascular surgery**, v. 58, n. 5, p. 1283-1290, 2013.

GRYGIEL-GÓRNIK, Bogna. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications—a review. **Nutrition journal**, v. 13, n. 1, p. 17, 2014.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. **Free radicals in biology and medicine**, 86-187. 1999.

HARRIS, W. S. et al. Clinical correlates and heritability of erythrocyte eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid content in the Framingham Heart Study. **Atherosclerosis**, 2012.

HARRIS, W. S. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 87, n. 6, p. 1997S, 2008.

HARRIS, W.S.; VON SCHACKY, C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease?. **Preventive medicine**, v. 39, n. 1, p. 212-220, 2004.

HARRIS, William S. et al. Does APOE Genotype Modify the Relations Between Serum Lipid and Erythrocyte Omega-3 Fatty Acid Levels?. **Journal of cardiovascular translational research**, p. 1-7, 2014.

HAUGAARD, S. B.; MADSBAD, S.; HOY, C. E.; VAAG, A. Dietary intervention increases n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in skeletal muscle membrane phospholipids of obese subjects. Implications for insulin sensitivity. **ClinEndocrinol (Oxf)**, v. 64, p. 169–178, 2006.

HE, Ka et al. Associations of dietary long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and fish with biomarkers of inflammation and endothelial activation (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [MESA]). **The American journal of cardiology**, v. 103, n. 9, p. 1238-1243, 2009.

HERNANDEZ, Angel Gil DRT. **Tratado de nutrición: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición**. Volume 1, Ed. Médica Panamericana, 2010.

HOLUB, Bruce J. Clinical nutrition: 4. Omega-3 fatty acids in cardiovascular care. **Canadian Medical Association Journal**, v. 166, n. 5, p. 608-615, 2002.

HUDERT, Christian A. et al. Transgenic mice rich in endogenous omega-3 fatty acids are protected from colitis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 30, p. 11276-11281, 2006.

HURSTING, S. D.; DUNLAP, S. M. Obesity, metabolic dysregulation, and cancer: a growing concern and an inflammatory (and microenvironmental) issue. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1271, n. 1, p. 82-87, 2012.

JONES, Dean P. Redefining oxidative stress. **Antioxidants & redox signaling**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

JULIA, Chantal et al. Intakes of PUFAs Were Inversely Associated with Plasma C-Reactive Protein 12 Years Later in a Middle-Aged Population with Vitamin E Intake as an Effect Modifier. **The Journal of nutrition**, v. 143, n. 11, p. 1760-1766, 2013.

KARNOFSKY, David A. et al. The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. With particular reference to bronchogenic carcinoma. **Cancer**, v. 1, n. 4, p. 634-656, 1948.

KATSUMI I., et al. Effects of fish oil feeding on obesity and UCP expression in dogs. **Vet Biochem**, v. 39, p. 31-38, (2002)

KHAIDAKOV, Magomed et al. Oxidized LDL receptor 1 (OLR1) as a possible link between obesity, dyslipidemia and cancer. **PloS one**, v. 6, n. 5, p. e20277, 2011.

KHAIDAKOV, Magomed; MEHTA, Jawahar L. Oxidized LDL triggers pro-oncogenic signaling in human breast mammary epithelial cells partly via stimulation of MIR-21. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e46973, 2012.

KIECOLT-GLASER, Janice K. et al. Omega-3 fatty acids, oxidative stress, and leukocyte telomere length: A randomized controlled trial. **Brain, behavior, and immunity**, v. 28, p. 16-24, 2013.

KUMARAGURUPARAN, R.; KABALIMOORTHY, J.; NAGINI, S. Correlation of tissue lipid peroxidation and antioxidants with clinical stage and menopausal status in patients with adenocarcinoma of the breast. **Clinical biochemistry**, v. 38, n. 2, p. 154-158, 2005.

KURIKI, K. et al. Breast cancer risk and erythrocyte compositions of n-3 highly unsaturated fatty acids in Japanese. **International journal of cancer**, v. 121, n. 2, p. 377-385, 2007.

KUSHI, L.H. et al. American Cancer Society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 62, n. 1, p. 30-67, 2012.

LARSSON, Susanna C. et al. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p. 935-945, 2004.

LERMAN, R. H. et al. Correction of the omega-3 index in women with metabolic syndrome by adding omega-3 supplements to a mediterranean style diet. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 5, n. 3, p. 224-224, 2011.

LESNA, I. Kralova et al. Effect of different types of dietary fatty acids on subclinical inflammation in humans. **Physiological Research**, v. 62, n. 2, 2013.

LICHTENSTEIN, Alice H. et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006 A scientific statement from the American Heart Association nutrition committee. **Circulation**, v. 114, n. 1, p. 82-96, 2006.

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

LOHMAN, T. G. Advances in body composition assessment: Human Kinetics Publishers Champaign IL; 1992. p.80.

LU, Jingjun et al. Oxidative stress and lectin-like ox-LDL-receptor LOX-1 in atherogenesis and tumorigenesis. **Antioxidants & redox signaling**, v. 15, n. 8, p. 2301-2333, 2011.

MICALLEF, Michelle et al. Plasma n-3 polyunsaturated fatty acids are negatively associated with obesity. **British journal of nutrition**, v. 102, n. 09, p. 1370-1374, 2009.

MILLER III, Edgar R. et al. A dietary pattern that lowers oxidative stress increases antibodies to oxidized LDL: results from a randomized controlled feeding study. **Atherosclerosis**, v. 183, n. 1, p. 175-182, 2005.

MOHAMMAD, N. S. et al. Aberrations in one-carbon metabolism induce oxidative DNA damage in sporadic breast cancer. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 349, n. 1-2, p. 159-167, 2011.

MURFF, H. J. et al. Dietary polyunsaturated fatty acids and breast cancer risk in Chinese women: A prospective cohort study. **International Journal of Cancer**, 2011

NOBLE, Luis S. et al. Prostaglandin E2 Stimulates Aromatase Expression in Endometriosis-Derived Stromal Cells 1. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 2, p. 600-606, 1997.

OKOH, Victor; DEORAJ, Alok; ROY, Deodutta. Estrogen-induced reactive oxygen species-mediated signalings contribute to breast cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer**, v. 1815, n. 1, p. 115-133, 2011.

PALA, V. et al. Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 93, n. 14, p. 1088-1095, 2001.

PANDE, Deepti et al. NF- κ B p65 Subunit DNA-Binding Activity: Association with Depleted Antioxidant Levels in Breast Carcinoma Patients. **Cell biochemistry and biophysics**, v. 67, n. 3, p. 1275-1281, 2013.

PANIS, C. et al. Differential oxidative status and immune characterization of the early and advanced stages of human breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 133, n. 3, p. 881-888, 2012.

PARRA, D.; RAMEL, A.; BANDARRA, N.; KIELY, M.; MARTÍNEZ, J. A.; THORSODOTTIR, I. A diet rich in long chain omega-3 fatty acids modulates satiety in overweight and obese volunteers during weight loss. **Appetite**, v. 51, p. 676–680, 2008.

PATTERSON, R. E. et al. Marine fatty acid intake is associated with Breast cancer prognosis. **The Journal of nutrition**, v. 141, n. 2, p. 201, 2011.

PEREZ-MATUTE, P.; MARTI, A.; MARTINEZ, J. A.; FERNÁNDEZ-OTERO, M. P.; STANHOPE, K. L.; HAVEL, P. J.; MORENO-ALIAGA, M. J. Conjugated linoleic acid inhibits glucose metabolism, leptin and adiponectin secretion in primary cultured rat adipocytes. **Mol Cell Endocrinol**, v. 268, p. 50–58, 2007.

PICARD, Frédéric; AUWERX, Johan. PPAR γ and glucose homeostasis. **Annual review of nutrition**, v. 22, n. 1, p. 167-197, 2002.

PISCHON, T. et al. Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. **Circulation**, v. 108, n. 2, p. 155-160, 2003.

POTTALA, James V. et al. Correcting the effects of– 20 C storage and aliquot size on erythrocyte fatty acid content in the women’s health initiative. **Lipids**, v. 47, n. 9, p. 835-846, 2012.

PRENTICE, R. L.; CAAN, B.; CHLEBOWSKI, R.T.; PATTERSON, R.; KULLER, L. H.; OCKENE, J. K.; MARGOLIS, K. L.; LIMACHER, M. C.; MANSON, J. E.; PARKER, L. M.; PASKETT E.; PHILLIPS, L.; et al. Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women’s Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. **JAMA**, v. 295, n. 6, p. 629 – 642, 2006.

RAVACCI, Graziela Rosa et al. Lipid raft disruption by docosahexaenoic acid induces apoptosis in transformed human mammary luminal epithelial cells harboring HER-2 overexpression. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 3, p. 505-515, 2013.

ROONEY, M.; WALD, A. Interventions for the management of weight and body composition changes in Women with breast cancer. **Clinical Journal of Oncology Nursing**, v. 11, n. 1, p. 41-52, 2007.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventiveagents. **PharmacolTher**, v. 83, p. 217 -244, 1999.

RUSSO, G. L. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. **Biochem Pharmacol**, v. 77, n. 6, p. 937–46.

SABARENSE, C. M. Avaliação do Efeito de ácidos Graxos Trans sobre o Perfil dos Lipídios Teciduais de Ratos que Consumiram Diferentes Teores de Ácidos Graxos Essenciais. São Paulo, 2003, 136p. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo.

SALA-VILA, A. et al. Determinants of the omega-3 index in a Mediterranean population at increased risk for CHD. **Br J Nutr**, v. 106, p. 425-31, 2011.

SALISBURY, A. C. et al. Predictors of Omega-3 Index in Patients with Acute Myocardial Infarction. 2011. **Mayo Clinic**. p.626.

SAMPAIO et al. Influência do Tipo de Terapia Antineoplásica sobre Marcadores Antropométricos e Dietéticos em Mulheres Portadoras de Câncer de Mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 58, n. 2, p. 223-230, 2012.

SANDS, Scott A. et al. The impact of age, body mass index, and fish intake on the EPA and DHA content of human erythrocytes. **Lipids**, v. 40, n. 4, p. 343-347, 2005.

SCHAAP, L. A. et al. Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. **The American journal of medicine**, v. 119, n. 6, p. 526.e9-526. e17, 2006.

SCHLEY, P. D.; BRINDLEY, D. N.; FIELD, C. J. (n-3) PUFA alter raft lipid composition and decrease epidermal growth factor receptor levels in lipid rafts of human breast cancer cells. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 3, p. 548, 2007

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 47, n.2, p. 147-55, 2008.

SHAIKH, Saame Raza. Biophysical and biochemical mechanisms by which dietary N-3 polyunsaturated fatty acids from fish oil disrupt membrane lipid rafts. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 23, n. 2, p. 101-105, 2012.

SHANNON, J. et al. Erythrocyte fatty acids and breast cancer risk: a case-control study in Shanghai, China. **The American journal of clinical nutrition**, v. 85, n. 4, p. 1090-1097, 2007.

SIEGEL, R.; JIEMIN, M.; ZHAOHUI, Z.; AHMEDIN, J. Cancer statistics, 2014. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/omega-3 essential fatty acids: biological effects. **World Rev Nutr Diet**, v. 99, p. 1 – 16, 2009.

SKULAS-RAY, A. C. KRIS-ETHERTON, P. M.; HARRIS, W. S.; VANDEN, H. J. P.; WAGNER, P. R.; WEST, S. G. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. **The American journal of clinical nutrition**, v. 93, n. 2, p. 243, 2011.

SOULES, Michael R. et al. Stages of reproductive aging workshop (STRAW). **Journal of women's health & gender-based medicine**, v. 10, n. 9, p. 843-848, 2001.

SOVA, H. et al. 8-Hydroxydeoxyguanosine: a new potential independent prognostic factor in breast cancer. **British journal of cancer**, v. 102, n. 6, p. 1018-1023, 2010.

STEPHENS, Jeffrey W.; KHANOLKAR, Manish P.; BAIN, Stephen C. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. **Atherosclerosis**, v. 202, n. 2, p. 321-329, 2009.

STILLWELL, W.; WASSALL, S. R. Docosaehaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. **Chemistry and physics of lipids**, v. 126, n. 1, p. 1-27, 2003.

THIÉBAUT, A. et al. Dietary intakes of 6 and 3 polyunsaturated fatty acids and the risk of breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 124, n. 4, p. 924-931, 2009

UKOLI, F. A. et al. The Association of Plasma Fatty Acids with Prostate Cancer Risk in African Americans and Africans. **Journal of Health Care for the Poor and Underserved**, v. 21, n. 1A, p. 127-147, 2010.

VICTORINO, V. J. et al. Decreased oxidant profile and increased antioxidant capacity in naturally postmenopausal women. **Age**, v. 35, n. 4, p. 1411-1421, 2013.

VON SCHACKY, C. The Omega-3 Index as a risk factor for cardiovascular diseases. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, 2011.

VON SCHACKY, Clemens. Omega-3 Index and Cardiovascular Health. **Nutrients**, v. 6, n. 2, p. 799-814, 2014.

VORUGANTI, V. Saroja et al. Variants in CPT1A, FADS1, and FADS2 are associated with higher levels of estimated plasma and erythrocyte delta-5 desaturases in Alaskan Eskimos. **Frontiers in genetics**, v. 3, p. 86, 2012.

WIJENDRAN, V.; HAYES, K. C. Dietary n-6 and n-3 fatty acids balance and cardiovascular health. **Annual Review of Nutrition**, v. 24, p. 597 – 615, 2004.

WIRFÄLT, E. et al. No relations between breast cancer risk and fatty acids of erythrocyte membranes in postmenopausal women of the Malmö Diet Cancer cohort (Sweden). **European journal of clinical nutrition**, v. 58, n. 5, p. 761-770, 2004.

WORLD CANCER RESEARCH FUND; AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Amer Inst for Cancer Research, 2007.

World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3-5 June 1997. Geneva: world Health Organization; 1998

YEON, Jee-Young et al. Evaluation of dietary factors in relation to the biomarkers of oxidative stress and inflammation in breast cancer risk. **Nutrition**, v. 27, n. 9, p. 912-918, 2011.

ANEXOS

ANEXO 1

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA, CLÍNICA E ANTROPOMÉTRICA

AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA CULTURAL, CLÍNICA E ANTROPOMÉTRICA		NÚMERO PRONTUÁRIO: _____	
		DATA DA COLETA: ____/____/____	
1. B1 AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA			
B1.1 Nome:		B1.2 Idade:	
Endereço:			
Telefone: Res - _____		Cel. - _____	
Trab. - _____			
B1.3 Estado civil ☐ Casada ☐ Solteira ☐ Viúva ☐ Divorciada ☐ Outros		B1.4 Etnia* ☐ Branco ☐ Amarelo ☐ Pardo ☐ Negro ☐ Indígena	
B1.5 Escolaridade: ☐ Ensino fundamental incompleto – 4ª série ☐ Superior incompleto ☐ Ensino fundamental completo – 8ª série ☐ Superior completo ☐ Ensino médio incompleto ☐ Outros ☐ Ensino médio completo – 3º ano			
B1.6 Renda familiar per capita: ☐ < 1 SM ☐ 2-6 SM ☐ 7-10 SM ☐ > 10 SM			
B1.7 Menarca: _____ anos		B1.8 Menopausa: _____ anos	
B1.9 DUM: _____		B1.10 TRH: ☐ Não ☐ Sim	
B1.11 Nuliparidade: ☐ Não ☐ Sim B1.12 Amamentação ☐ Não ☐ Sim			
B1.13 Fumo: ☐ Não ☐ Fuma (atual) Tempo: _____ ☐ Fumou (anterior) Tempo: _____			
B1.14 Álcool: ☐ Não ☐ Consome bebida alcoólica (atual) ☐ Consumiu Quantidade: _____			
B1.15 Antecedentes familiares de câncer: ☐ Não ☐ Sim B1.16 Localização ☐ Mama ☐ Outros			
B1.17 Quem: ☐ Mãe ☐ Irmã ☐ Avó ☐ Tia			
2. B2 AVALIAÇÃO CLÍNICA			
Diagnóstico: Neoplasia mamária		B2.1 SUBTIPO: ☐ Lobular ☐ Ductal	
B2.2 Estadiamento clínico (EC): ☐ EC I ☐ EC II ☐ EC III ☐ EC IV			
B2.4 Informações importantes: B2.4.1 Faz uso de suplementos de vitaminas ou minerais? ☐ Não ☐ Sim Qual? _____ Dose diária: _____ Há quanto tempo? _____			
3. B3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA			
B3.1 Peso atual(kg):		B3.2 Peso habitual(kg):	
B3.3 Altura(m):		B3.4 IMC:	
B3.5 CC:		B3.6 Reactância (Xc):	
B3.7 Resistência (R):			
B3.8 % água:		B3.9 % gordura:	
B3.10 % massa magra:			

B3.11 Ângulo de fase:	B3.12 TMB:
-----------------------	------------

*Fonte: IBGE, senso demográfico 2002

ANEXO 2

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

OF.COEP/209/12

27 de novembro de 2012.

Prezadas pesquisadora e orientadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, em sua 10.^a/12 Sessão Ordinária, realizada em 23/11/2012, analisou de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares, o protocolo de pesquisa n.º 2162, intitulado "OBESIDADE E CÂNCER DE MAMA: AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO EXCESSO DE PESO E TECIDO ADIPOSE", do grupo III, sob responsabilidade da pesquisadora Sara Maria Moreira Lima Verde e orientação da Professora Nágila Raquel Teixeira Damasceno, considerando APROVADO a inclusão de novas análises no projeto.

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

Atenciosamente,

Prof. Tit. Claudio Leone

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - FSP/USP

Ilm.^a Sr.^aProf.^a Dr.^a Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Departamento de Nutrição

Faculdade de Saúde Pública/USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/HGF

Fortaleza, 06 de maio 2010.

Ilma. Sra.

Pesquisadora: **Sara Maria Moreira Lima Verde**

Projeto Intitulado: **Obesidade e câncer de mama: Avaliação dos fatores de riscos associados ao excesso de peso e tecido adiposo**

Área de conhecimento: **Ciências da Saúde / Nutrição**

Data da entrada no CEP: **13/04/10**

Protocolo do CEP: **050507/10**

O Comitê de Ética em Pesquisa do HGF em reunião ordinária no dia 05/05/10 analisou e considerou o referido projeto **APROVADO**, pois atende as recomendações da Resolução nº 196/96 do CNS/MS.

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

Atenciosamente,

Dr.ª Maria Veraci Oliveira Queiroz
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HGF

ANEXO 3 – Primeira página do currículo lattes do orientando

Antônio Augusto Ferreira Carioca

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5463902168787345>

Última atualização do currículo em 24/03/2014

Possui graduação em Nutrição Bacharelado pela Universidade Estadual do Ceará(2011) e ensino-medio-segundo-graupelo Colégio Marista Cearense(2006). Atualmente é Mestrando da Universidade de São Paulo. **(Texto gerado automaticamente pela aplicação CVLattes)**

Identificação

Nome

Antônio Augusto Ferreira Carioca

Nome em citações bibliográficas

CARIOCA, A. A. F.;CARIOCA, ANTÔNIO AUGUSTO FERREIRA;AUGUSTO FERREIRA CARIOCA, ANTONIO

Endereço

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
Avenida Doutor Arnaldo - de 601/602 ao fim
Sumaré
01255000 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30617865

Formação acadêmica/titulação

2012

Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Inter-relações entre índice ω -3, estresse oxidativo e composição corporal em mulheres com câncer de mama, Orientador: Nágila Raquel Teixeira Damasceno.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

2007 - 2011

Graduação em Nutrição Bacharelado.

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil.

Título: Alimentação durante festividades natalinas: contribuição ao estudo da cultura alimentar brasileira.

Orientador: Helena Alves de Carvalho Sampaio.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

2004 - 2006

Ensino Médio (2º grau).

Colégio Marista Cearense.

ANEXO 4 - Primeira página do currículo lattes do orientador

Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/8729581028091781>

Última atualização do currículo em 22/01/2014

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

Identificação

Nome

Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Nome em citações bibliográficas

DAMASCENO, N. R. T.

Endereço

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.

Av. Dr. Arnaldo, 715

Pacaembu

01246-904 - São Paulo, SP - Brasil

Telefone: (011) 30617865

Fax: (011) 30617701

URL da Homepage: <http://www.usp.br>

Formação acadêmica/titulação

2013

Livre-docência.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Excesso de Peso na Adolescência: Uma Abordagem Nutricional e Metabólica de um Problema de Saúde Pública, Ano de obtenção: 2013.

2009 - 2010

Pós-Doutorado.

Universidade de Barcelona.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição.

Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Bioquímica da Nutrição.