

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**ASSOCIAÇÕES ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE FATORES DE
CRESCIMENTO, INSULINA E LEPTINA COM FATORES PROGNÓSTICOS
DO CÂNCER DE MAMA**

MELISSA DA SILVA TERRES BOUCINHA

Orientadora: Dra. Daniela Dornelles Rosa

Dissertação de Mestrado

2012

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**ASSOCIAÇÕES ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE FATORES DE
CRESCIMENTO, INSULINA E LEPTINA COM FATORES PROGNÓSTICOS
DO CÂNCER DE MAMA**

MELISSA DA SILVA TERRES BOUCINHA

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação de
Medicina: Ciências Médicas da
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, para obtenção do título de mestre,
sob a orientação da Dra. Daniela
Dornelles Rosa

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo as pacientes participantes que mesmo em um momento tão delicado aceitaram compartilhar.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu querido esposo Rafael por ter sido compreensivo, companheiro e de ter me estimulado dia a dia a seguir. Aos queridos filhos Iago e Tomás por terem alegrado meus dias e feito tudo isso valer a pena. Aos meus pais Eva e José e minha irmã Mellina pelo apoio emocional e ajuda com meu filho para que eu pudesse frequentar as aulas. Meus queridos Paloma e Huander e grupo de pesquisa pelo profissionalismo e dedicação nas coletas dos dados. Em especial a Dra Daniela por ter me guiado nesse caminho novo e ser um exemplo de docente na qual me inspiro todos os dias.

Ainda gostaria de agradecer aos colegas do Grupo Hospitalar Conceição por ter me ajudado nas trocas de plantão, em especial ao Enfermeiro Daniel e Enfermeira Denise Pacheco pela compreensão e apoio.

A esta Universidade que pela segunda vez faz meu sonho se tornar realidade.

RESUMO

Dentre os fatores contribuintes para o desenvolvimento do câncer de mama estão o sedentarismo, a alta ingestão calórica, o sobrepeso e a obesidade, entre outros. O objetivo do presente estudo foi avaliar a relação entre os níveis séricos de IGF-1, IGFBP3, insulina e leptina com fatores prognósticos clínicos e patológicos do câncer de mama. Foi realizado um estudo transversal com 77 pacientes com diagnóstico recente de câncer de mama e indicação de quimioterapia, atendidas no Hospital Fêmina, em Porto Alegre, de agosto de 2009 a setembro de 2010. Foram coletados dados antropométricos e revisados os prontuários para a obtenção de dados clínicos e anátomo-patológicos. Foi realizada uma coleta de sangue antes da administração do primeiro ciclo de quimioterapia, para realizar dosagens de IGF-1, IGFBP3, insulina e leptina. Os níveis de IGFBP3 foram maiores em pacientes cujos tumores expressavam receptores hormonais, em comparação àquelas cujos tumores não expressavam tais receptores ($p=0,004$ e $p=0,005$, respectivamente). Não houve diferenças nos níveis de IGF-1 e IGFBP3 em relação às classes do índice de massa corporal (IMC). Houve correlação positiva entre níveis de insulina e leptina com IMC. Houve correlação negativa entre níveis de IGF-1 e relação cintura-quadril (RCQ) (correlação de Pearson = - 0,348; $p=0,007$). Houve correlação positiva entre níveis de insulina e leptina com circunferências abdominal, umbilical, da cintura e do quadril. Neste estudo, foram encontradas correlações positivas entre os níveis de fatores de crescimento e leptina com medidas antropométricas em pacientes com câncer de mama, sugerindo um papel de tais fatores no sobrepeso e na obesidade. Níveis mais elevados de IGFBP3 em pacientes com expressão de receptores hormonais no tumor sugerem que o estado hormonal possa contribuir para o comportamento deste

fator de crescimento e de sua cascata, embora ainda não se conheça o significado clínico de tal associação.

Palavras chave: obesidade, insulina, IGFBP3, IGF-1, leptina, câncer de mama.

ABSTRACT

Introduction: There is growing evidence that sedentary lifestyle, high caloric intake, overweight, obesity and its related growth factors have an important role in the risk of developing breast cancer. **Objectives:** to evaluate the relation among serum levels of insulin, IGF-1, IGFBP3, leptin and VEGF with clinical and pathologic breast cancer prognostic factors. **Material and methods:** a transversal study was performed at a public hospital in Southern Brazil, from August 2009 to September 2010. Body composition measurements were performed, pathologic review of specimens were done and blood samples were taken before chemotherapy to evaluate insulin, IGF-1, IGFBP3 and leptin. **Results:** 77 patients entered the study. There were higher levels of IGFBP3 in ER-positive and PR-positive tumors when compared to those ER-negative and PR-negative ($p=0.004$ and $p=0.005$, respectively). There were no differences in the levels of IGF-1 and IGFBP3 according to BMI classification. There was a positive correlation of insulin and leptin levels with BMI classification. There was a negative correlation of IGF-1 levels and waist-to-hip (WTH) ratio (Pearson's correlation= - 0.348; $p=0.007$). There was a positive correlation of insulin and leptin levels with waist, hip, abdominal and umbilical circumferences. **Conclusion:** we found positive correlations of growth factors and leptin with anthropometric measurements in patients with breast cancer, suggesting a role of these factors in overweight and obese patients. Higher levels of IGFBP3 were found in patients with hormone receptor-positive breast cancer when compared with those with no expression of hormone receptors. Although we need further research on the clinical significance of this finding, we suggest that hormonal status may contribute to the behavior of IGFBP3 and its pathways.

SUMÁRIO

Introdução	14
Revisão da Literatura.....	16
Epidemiologia do câncer de mama.....	16
Fisiopatologia do câncer de mama.....	18
Fatores prognósticos.....	21
Diagnóstico.....	23
Estadiamento.....	25
Fatores de risco.....	25
Câncer de mama e a insulina.....	27
Câncer de mama e os IGFs.....	28
Câncer de mama e a leptina.....	33
Associação da insulina com o IMC.....	37
Associação da leptina com o IMC.....	39
Associação da obesidade abdominal com insulina, IGF e leptina	41
Papel do IGFBP3.....	45
Objetivos.....	49
Referências.....	50
Artigo.....	61
Considerações Gerais.....	77
Anexo.....	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:- Representação espacial das taxas brutas de incidência por 100 mil mulheres estimadas para o ano de 2012, segundo a Unidade da Federação (neoplasia maligna da mama feminina). [10]

Figura2: Vias de sinalização da insulina e IGF-1 [108]

Figura 3: O sistema do IGF com suas proteínas de ligação [103]

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Associações das variáveis com IGF, IGFBP3, insulina e leptina.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- IGF- fator de crescimento semelhante a insulina
- IGFBP3- proteína ligante de IGF
- CC- circunferência da cintura
- CQ- circunferência do quadril
- CU- circunferência umbilical
- CA- circunferência abdominal
- RCQ- relação cintura-quadril
- IMC- índice de massa corporal
- CM- câncer de mama
- RE- receptor de estrogênio
- RP- receptor de progesterona
- Her2- oncogene C-erbB2
- INCA- instituto nacional do câncer
- MCF-7- célula tumoral mamária estrogênio responsiva
- Ob- gene da obesidade
- CDI- carcinoma ductal invasor
- CDIS- carcinoma ductal *in situ*
- TEM- transição epitélio mesenquimal
- PAAF- punção aspirativa por agulha fina
- LS- linfonodo sentinela

LA- Infonodo axilar

IHQ- imuno-histoquímica

PAG- punção com agulha grossa

BI-RADS- *breast imagem reporting and data system*

UICC- união internacional contra o câncer

DM- diabete melitus

SM- síndrome metabólica

NRp- neurolipina

hTERT- telomerase humana da transcriptase reversa

mRNA- RNA mensageiro

IC- intervalo de confiança

TAB- tecido adiposo branco

TAM- tecido adiposo marrom

SUS- sistema único de saúde

BRCA- breast câncer

TNM- tumor, nódulo, metástase

INTRODUÇÃO

O câncer que mais acomete as mulheres em todo o mundo é o câncer de mama (CM), responsável por cerca de 20% de todos os tipos de câncer. A incidência mundial vem crescendo consistentemente principalmente nos países desenvolvidos como América do Norte, oeste da Europa e Austrália. Em 2012, esperam-se, para o Brasil, 52.680 novos casos de CM, com um risco estimado de 52 casos a cada 100 mil mulheres. [1,2,3]

No Rio Grande do Sul são esperados 4610 novos casos de CM e em Porto Alegre 980 novos casos, apresentando uma das mais altas taxas do Brasil.[5,6,7] O risco de morte por CM nas mulheres é diminuído quando descoberto em fases iniciais e tratado oportunamente, melhorando o prognóstico da patologia.[8]

Os estudos atuais evidenciam diversos fatores de riscos associados ao CM. O uso de terapia hormonal combinada, história familiar, faixa etária, sedentarismo e dieta com alto teor calórico.[13,29,30,31] Existem fortes indícios de que o sobrepeso e a obesidade adulta estão relacionados ao risco de muitos tipos de cânceres. E o estudo de evidências que possam ser relacionados com o câncer estão em pleno desenvolvimento.[32]

A resistência à insulina e a consequente hiperinsulinemia em decorrência de seus efeitos estimulantes podem atuar na proliferação de células do CM. Podem ainda influenciar a produção de adipocinas pelo tecido

adiposo e dos adipócitos pelas células do estroma e indiretamente, reforçar o crescimento de células cancerígenas. [38]

O *Insulin-like growth factor* (IGF) é um sistema composto por três peptídeos: insulina, IGF-1, IGF-2 e cada um com seu receptor (IR, IGF-1R, IGF-2R) bem como as proteínas ligadoras do IGF (*IGF-binding proteins* - IGFBPs) e são produzidos na maioria dos órgãos e dos tecidos do organismo. Os IGFs (IGF-1 e IGF-2) podem atuar sobre a proliferação, o crescimento e a diferenciação celular. [41,49] O IGF1 estimula a mitose e inibe a apoptose. Alguns resultados publicados mostram uma associação entre IGF-1 circulante e risco de CM. [46,50]

O IGFBP3 age de forma ambígua quando se correlaciona com os tumores. Também pode regular o movimento dos fatores de crescimento da circulação para os tecidos alvos e inibir a sua proliferação além de possuir efeito anti-apoptótico nas células, bloqueando a ativação do receptor IGF tipo 1 (IGF1R) na superfície celular. Em alguns estudos epidemiológicos foram indicadas associações entre os valores dos níveis séricos de IGF-1 e o risco de câncer, entretanto, os níveis de IGFBP-3 apresentaram-se em menores concentrações séricas nas pacientes com CM o que pode justificar o aumento da biodisponibilidade de IGF-1. [8,56]

A adipocina leptina é um hormônio multifuncional envolvido na regulação da ingestão de alimentos e na homeostase energética através de sua ação central. Uma série de estudos indicam que os níveis de receptores de leptina estão aumentados nos tecidos de carcinoma mamário em relação a tecidos benignos ou normal. Vários estudos afirmam consistentemente que níveis elevados de leptina em indivíduos obesos têm sido implicados como um fator de risco para CM. [59,64]

A leptina é produzida predominantemente no tecido adiposo (adipócitos) e expressa em células epiteliais mamárias e em tecidos malignos da mama e é produto do gene da obesidade (Ob). [60,61]

REVISÃO DA LITERATURA

Epidemiologia do Câncer de Mama

O câncer que mais acomete as mulheres em todo o mundo é o câncer de mama (CM), responsável por cerca de 20% de todos os tipos de câncer. A incidência mundial vem crescendo consistentemente passando de 572 mil novos casos em 1980 para 1,15 milhões em 2002. Existe um crescimento maior nos países desenvolvidos como América do Norte, oeste da Europa e Austrália. Em 2012, esperam-se, para o Brasil, 52.680 novos casos de CM, com um risco estimado de 52 casos a cada 100 mil mulheres. A representação espacial da taxa de incidência no Brasil está representada pela figura 1. [1,2,3].

Em 2008 estimou-se 12 milhões de casos novos de câncer e 7 milhões de óbitos por essa causa no mundo. No Brasil, vem sendo a segunda causa de morte, representando 17% dos óbitos por causas conhecidas. Fatores como crescimento populacional e envelhecimento contínuo vem mudando o perfil epidemiológico dessa neoplasia. O início dos estudos e incentivos sobre esse tema no Brasil teve início por volta de 1920 com o Departamento Nacional de Saúde Pública. Em 1940, com a criação do Sistema Nacional do Câncer foram impulsionados novos avanços na rede de combate ao câncer. [4]

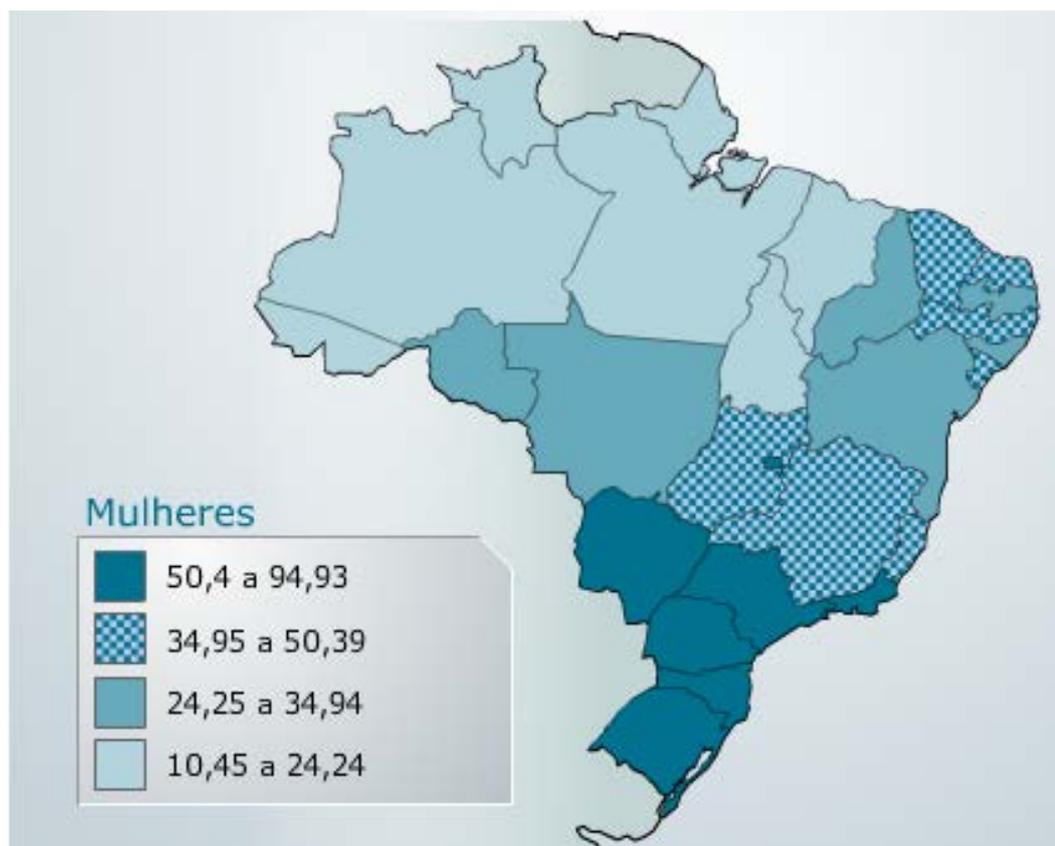


Figura 1 - Representação espacial das taxas brutas de incidência por 100 mil mulheres estimadas para o ano de 2012, segundo a Unidade da Federação (neoplasia maligna da mama feminina). [10]

No Rio Grande do Sul são esperados 4610 novos casos de CM e em Porto Alegre, 980 novos casos, apresentando uma das mais altas taxas do Brasil. A distribuição proporcional do total de mortes por câncer, segundo localização primária do tumor, em mulheres, no Rio Grande do Sul, para os períodos entre 1994-1998 e 2004-2008, foi de 15,5-15,4, respectivamente, em 100.000 habitantes. [5,6,7]

O risco de morte por CM nas mulheres é diminuído quando descoberto em fases iniciais e tratado oportunamente, melhorando o prognóstico da patologia. No Brasil, o aumento da incidência do CM vem acompanhado do crescimento das taxas de mortalidade. Isso pode estar relacionado com a morosidade do processo de diagnóstico, realização do estadiamento e do início do tratamento. [8]

No Brasil, no período de 2003 a 2007, foram registrados 51.233 óbitos por câncer de mama. Existe um aumento nas taxas de mortalidade a partir do

25 anos, concentrando-se na faixa etária acima dos 45 anos, sendo responsável por aproximadamente 45% dos óbitos. No Brasil, 60% dos casos são diagnosticados quando o tumor encontra-se nos estágios III e IV, determinando, muitas vezes, uma diminuição na taxa de sobrevivência e perda da qualidade de vida das pacientes. [8]

As altas incidências de CM vêm causando um grande impacto na sociedade segundo o INCA. Isso se deve aos altos custos com diagnóstico e tratamento, pelas elevadas taxas de mortalidade e importantes consequências psíquicas e físicas que abalam às milhares de mulheres acometidas por essa patologia. [6]

Fisiopatologia do Câncer de mama

A glândula mamária normal possui uma camada de células mioepiteliais que estão em contato com a membrana basal, tecido adiposo, lóbulos que contêm os alvéolos, ductos e células epiteliais. Também possui uma rede ramificada de parênquima que produz leite durante a lactação e drena o mesmo até o mamilo para o bebê sugar. As estruturas produtoras de leite da glândula mamária são coleções de pequenos e múltiplos ácinos localizados nas extremidades distais dos ductos [9].

Estudos epidemiológicos têm mostrado que as exposições ao ambiente, idade reprodutiva, estilo de vida e dados antropométricos são preditivos para o risco de CM, no entanto, não há clareza quanto a relação desses fatores com algum subtipo histológico. A história natural do CM envolve a progressão através de estágios clínicos e patológicos, iniciando com a proliferação epitelial anormal, progredindo para os carcinomas *in situ* (lobular ou ductal) e invasivos ocasionando a doença metastática. [10,11]

Entre os casos de CM invasivo, 75% são carcinoma ductal, 15% são do tipo lobular e os restantes são uma mistura histológica menos comum. Diferenças nos aspectos clínicos, patológicos e moleculares dos tumores ductais e lobulares sugerem uma etiologia distinta e podem ter implicações no

que diz respeito à sua prevenção, diagnóstico e tratamento. Além disso, o câncer tipo lobular possui maior probabilidade do que o câncer ductal de ser receptor de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (RP) positivos. [10]

O carcinoma lobular *in situ* tem como característica o crescimento de tecido anormal nos lóbulos da mama. Ele não progride, mas aumenta o risco de CM invasivo subsequente em cerca de 7% durante 10 anos. O *National Comprehensive Cancer Network* recomenda a mamografia anual e exame clínico das mamas a cada seis meses. Devem ser oferecidas às pacientes informações sobre quimioprevenção com moduladores seletivos dos receptores de estrogênio, tais como o tamoxifeno. [12]

Estudos definem que o carcinoma ductal *in situ* (CDIS) é patologicamente descrito como a proliferação de células epiteliais malignas que não invadiram além da membrana basal. Na realidade, o CDIS é um grupo heterogêneo de tumores pré-invasivo da mama com vários padrões de morfologia, expansão e potencial de malignidade. Atualmente o prognóstico à longo prazo de CDIS é excelente, com uma expectativa de sobrevivência global de 10 anos em cerca de 95% dos casos, mesmo na ausência de tratamento. No entanto, 16% a 22% das mulheres sofrem recidiva local dentro de 10 anos após mastectomia sem quimioterapia e aproximadamente metade destas recidivas são o CM invasivo. Radioterapia adjuvante reduz o risco de recaída em 10 anos de 7% a 9%, embora seja associada à toxicidade cutânea e um risco pequeno de neoplasias secundárias à longo prazo. [13]

Como foi descrito o CDIS é a lesão mais comum não-invasiva da mama sendo definida como a proliferação de células ductais epiteliais malignas sem a penetração da membrana basal. Devido a sua característica pré-invasiva, com uma apresentação clínica e molecular heterogênea, coloca um grande desafio tanto para o diagnóstico quanto para o tratamento. O aumento do uso da mamografia na triagem para CM nas últimas décadas levou ao diagnóstico cada vez mais prevalente de CDIS de tal forma que a incidência aumentou de 1,87 por 100.000 mulheres de 1973-1975 para 32,5 por 100.000 mulheres em 2004. [14,15]

O carcinoma invasivo de mama é definido como um grupo de tumores epiteliais malignos caracterizados por invadir o tecido adjacente e ter marcada

tendência de metástase à distância. A grande maioria desses tumores são derivados das células das unidades do ducto terminal do lóbulo mamário, que são as células cuboidais luminais secretoras e as células mioepiteliais e/ou basais. Um passo crítico na progressão do câncer de mama não-invasivo para invasivo é conhecido como a transição do DCIS para o carcinoma ductal invasivo (IDI). [16,17]

O desenvolvimento embrionário, reparação de remodelação e a restituição da lesão de tecido são processos biológicos importantes que necessitam de células epiteliais para escapar das rígidas limitações estruturais de sua arquitetura tecidual assim como alcançar o movimento e migração das células. A transição epitelial mesenquimal (TEM) é um processo altamente conservado e fundamental que atinge a transformação morfogênica. A progressão do CM é muitas vezes acompanhada por mudanças no padrão de expressão genética das células tumorais, resultando em um fenótipo de célula altamente tumorigênica e invasiva. Algumas destas mudanças são reminiscências da TEM, tal como resultam em perda de características epiteliais e um ganho de propriedades mesenquimais. Em tumores epiteliais, alterações no perfil e atividade de moléculas de adesão acompanham progressão maligna. [18]

As células mioepiteliais também têm sido rotuladas como "supressoras naturais do tumor" devido aos seus efeitos negativos sobre o crescimento de células tumorais, invasão e angiogênese conseguido através da secreção de inibidores da protease a diminuição da regulação dos níveis de metaloprotease de matriz. A função de supressão tumoral das células mioepiteliais se perde progressivamente durante a transição do *in situ* para carcinoma invasivo. Na verdade, o critério de diagnóstico que distingue a invasão nos carcinomas *in situ* é o desaparecimento da camada de células mioepiteliais e a organização da membrana basal. [11]

Entre os fatores de risco que são conhecidas para desenvolver doença maligna da mama são: sexo feminino, idade, história familiar em parentes de primeiro e segundo grau com CM, predisposição hereditária (BRCA 1 e 2, *Brest Cancer*), fatores hormonais, menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade,

ou primigesta tardia, obesidade, contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal, outros fatores ambientais, dieta e exposição à radiação. [19]

Fatores Prognósticos

Sabe-se que a neoplasia maligna demonstra a falta completa ou parcial de organização estrutural e coordenação funcional com tecido circundante normal. [20]

O CM maligno possui fatores prognósticos heterogêneos e a avaliação desses é que determinará a condução do tratamento. Estes fatores prognósticos incluem estado linfonodal, receptores hormonais, classificação histológica do tumor e índice de proliferação celular. Embora todos os parâmetros sejam estudados em espécimes cirúrgicos, a avaliação de características citológicas do CDI na punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é defendida por alguns autores por fornecer informações adicionais sobre características intrínsecas do tumor, bem como seu prognóstico. As informações fornecidas pela PAAF podem ser extremamente úteis ao estabelecer a melhor terapia neoadjuvante nas pacientes para quem a remoção cirúrgica do tumor não é a melhor opção. [21]

O CM localmente avançado inclui tumores maiores de 3 cm, com envolvimento dos nódulos linfáticos regionais extensa, envolvimento direto da parede torácica subjacente ou da pele, tumores considerados inoperáveis, mas sem metástases à distância e CM inflamatório.[22]

O estado patológico dos linfonodos axilares continua sendo um dos fatores prognósticos mais importantes em pacientes com CM. A identificação do tumor metastático nos gânglios axilares indica um pior prognóstico e, muitas vezes, leva a uma recomendação para terapias sistêmicas e locais mais agressivas. O estadiamento cirúrgico da axila é um componente de rotina do tratamento do CM para a maioria dos 200.000 pacientes diagnosticados com o tipo invasivo nos Estados Unidos a cada ano. [12]

Em pacientes com nódulos clinicamente negativos, a biópsia negativa intra-operatória do linfonodo sentinela (LS) exclui a necessidade de dissecação dos linfonodos axilares (LA). A biópsia do LS reduz os sintomas pós operatórios do braço em comparação com dissecação dos LA, possui uma sensibilidade de 95 a 100 % e taxa de falso-negativo de 5,5 %. A análise prospectiva fornece evidências de que pacientes em estágio inicial de CM que têm um LS negativo têm melhorado a sobrevida livre de doença global em comparação com pacientes que têm uma dissecação LA negativo. Isso é mais provável por causa da obtenção mais precisa do foco axilar nos pacientes com localização do LS. A dissecação LA está indicada para todas as mulheres com linfonodos palpáveis ou um LS positivo, embora esta última indicação atualmente esteja sendo motivo de novos estudos. [23]

Expressão dos receptores hormonais (receptor de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (RP)), bem como superexpressão / amplificação do receptor para o fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) são importantes fatores prognósticos entre os pacientes com CM. Eles também têm sido caracterizados como essenciais fatores preditivos no benefício do tratamento endócrino ou terapias-alvo contra HER2, respectivamente. [23,24]

A avaliação precisa da expressão do RE e RP e do HER2 é essencial para selecionar o tratamento adequado. O conhecimento da expressão dos biomarcadores é também vantajoso para desenvolver novas terapias que possam ser alvo em cada subtipo específico de CM. O RE e RP são rotineiramente definidos pela imuno-histoquímica (IHQ), enquanto a superexpressão de HER2 pode ser determinada por IHQ e sua amplificação, por hibridização *in situ* fluorescente (FISH). [24]

Diagnóstico

A primeira etapa para a detecção da presença do câncer de mama acontece no exame clínico e é parte fundamental para o diagnóstico. Deve ser realizado como parte do exame físico e ginecológico, e constitui a base para a solicitação dos exames complementares. O procedimento adequado deve contemplar: a inspeção estática e dinâmica, palpação das axilas e palpação da mama com a paciente em decúbito dorsal. [25]

Nas mulheres com menos de 35 anos a ultra-sonografia é o método de escolha para avaliação da imagem das lesões palpáveis, no entanto, nas com idade igual ou superior a 35 anos a mamografia é o método indicado. Na ocorrência de lesões suspeitas deve-se buscar a confirmação do diagnóstico com exame citológico, através da PAAF ou, em alguns casos avaliação histológica, utilizando punção com agulha grossa (PAG) /*core biopsy* ou biópsia cirúrgica convencional. [25]

O sistema de padronização de laudos do American College of Radiology, conhecido como *Breast Imaging Reporting and Data System* (BI-RADS) é um método que tem como proposta a padronização dos achados radiográficos para a melhor comunicação e interação dos profissionais assim como ajudar nas pesquisas e facilitar o acompanhamento dos pacientes. [10]

De acordo com a quarta edição do BI-RADS, os exames são classificados, com base no grau de suspeita das lesões em seis categorias: um (sem achados; dois (achados benignos); três (achados provavelmente benignos); quatro (achados suspeitos para malignidade); cinco (achados altamente suspeitos para malignidade) e seis aquelas que têm diagnóstico histopatológico maligno previamente confirmado. [26]

No caso da categoria 3 do BI-RADS devem ser realizados dois controles radiológicos com intervalo semestral, seguidos de dois controles com intervalo anual. Nas lesões categoria 4 e 5 do BI-RADS está indicado estudo histopatológico, que pode ser realizado por meio de PAG, mamotomia ou biópsia cirúrgica. [25]

Devem ser consideradas as seguintes características do tumor: tamanho, grau, tipo histológico e a descrição da invasão vascular. Em relação ao tamanho, deve-se considerar o maior diâmetro do componente invasivo do tumor, assim como o relato da porcentagem de ductos que contêm o componente *in situ*. A classificação do tipo histológico deve seguir a terminologia da Organização Mundial de Saúde, atualizada em 2003. Na classificação do grau histológico utiliza-se a classificação de *Nottingham* (*Scarff, Bloon, Richardson* modificado por *Elston-Ellis*, 1998) que inclui o percentual de diferenciação tubular, avaliação do pleomorfismo nuclear e índice mitótico. [22]

O surgimento das metástases à distância está relacionado com a invasão dos vasos sanguíneos e linfáticos intra e peritumorais pelas células tumorais. A ocorrência de êmbolos tumorais em vasos linfáticos peritumorais, estão associados ao aumento de recorrência tumoral e a invasão de vasos sanguíneos o que piora o prognóstico. Como já descrito, a análise do estado linfonodal é de extrema relevância. O relatório de análise dos linfonodos axilares deve conter um mínimo de 10 linfonodos dissecados, número de linfonodos comprometidos, tamanho do maior foco metastático e a invasão capsular e extensão a tecidos extranodais. [22]

A avaliação das margens cirúrgicas deve conter informação se estas estão comprometidas ou não. Quando existem “margens livres”, deve informar em milímetros, a distância da neoplasia à menor margem. Como descrito anteriormente, a avaliação por IH dos receptores hormonais são os principais fatores preditivos do prognóstico de mulheres com CM. Esses dados conferem ao tumor o benefício quanto a terapia hormonal. Recomenda-se a dosagem de RE e de RP em todos os casos, citando-se o percentual de positividade. Considera-se positivo o tumor que apresente receptores em pelo menos 10% das células. [22,25]

Estadiamento

O estadiamento TNM (tumor, linfonodo, metástase) desenvolvido e publicado pela União Internacional contra o Câncer- UICC e classifica a neoplasia mamária de acordo com o tamanho tumoral, comprometimento linfonodal e metástases à distância. A UICC acredita que a concordância internacional no registro das informações contidas nesse método permite comparações entre experiências clínicas sem ambigüidade. [27,28]

Os objetivos para essa classificação têm como propósito: auxiliar no prognóstico, ajudar na avaliação dos resultados de tratamento, propiciar a troca de informações entre os centros de tratamento e contribuir para a pesquisa contínua sobre o câncer. Existem dois tipos de classificação: a clínica ou pré-tratamento, designada como TNM ou cTNM respectivamente e a patológica (classificação histopatológica pós-cirúrgica) designada pTNM. Os quadros com as classificações TNM estão no anexo 3. [25,28]

Fatores de risco

Os estudos atuais evidenciam diversos fatores associados à ocorrência de CM. O uso de terapia hormonal combinada (estrogênio-progestágeno) nas mulheres pós-menopáusicas aumentou em 26% a incidência de CM invasivo nas participantes do estudo do Women's Health Initiative (WHI) nos EUA. Esse ensaio clínico randomizado controlado, não mostrou significância para as que fizeram uso exclusivo de estrogênio. [29]

Indivíduos que possuem um ou mais familiares de primeiro grau com câncer tem um risco aumentado para desenvolver a doença. Isso pode estar relacionado com a interação de múltiplas variantes genéticas que são mais prevalentes entre esses familiares e o compartilhamento das exposições ambientais durante a vida. [13]

A história familiar de CM determina as mulheres um risco de 2-4 vezes maior de desenvolver a patologia. Os indivíduos que se incluem nos critérios

de história familiar podem ser beneficiados por programas de triagem específicos. O teste de mutação genético do BRCA 1 e 2 são indicados para mulheres com forte história familiar para a neoplasia. Nos EUA os estudos evidenciam que 5-10% dos casos de CM sejam hereditários. A quimioprevenção pode ser indicada para as pacientes com perfil propenso a desenvolver a neoplasia e em alguns casos, inclusive, a realização da mastectomia profilática. [30,31]

Existem fortes indícios de que o sobrepeso e a obesidade adulta estão relacionados ao risco de muitos tipos de cânceres. Com o aumento crescente do ganho de peso da população mundial existem estimativas de que o impacto na saúde total causada pelo sobrepeso e a obesidade pode ser superior a do consumo de cigarros.[32]

A literatura demonstra uma elevação dos níveis de estrogênio nas mulheres obesas devido a conversão de androgênio em estrogênio que ocorre quando existe excesso de tecido adiposo. Por isso a associação de elevados índice de massa corporal (IMC) nas mulheres menopáusicas estão relacionados a risco aumentado de CM. [33]

A gordura corporal é indicada como fator de risco convincente para o CM em mulheres na pré-menopausa. Em um estudo indiano realizado entre os anos de 2002-2005 evidenciou nas mulheres pré-menopáusicas um risco aumentado de CM para o IMC maior que 25, assim como para as com tamanho da cintura maior que 85 cm e com quadril superior a 100 cm. [34,35]

As taxas de incidência de CM aumentam com a idade mais consistentemente até os 50 anos. Após essa idade as taxas de ocorrência são de forma mais lenta. Menarca precoce, nuliparidade, idade da primeira gestação acima dos 30 anos, menopausa tardia também já são fatores de risco bem estabelecidos. Alguns estudos ainda evidenciam a exposição à radiação ionizante como fator de risco, mesmo em pequenas doses, particularmente durante a puberdade A atividade física é um fator protetor para CM reduzindo, conforme algumas literaturas em 20% o risco para esta patologia. [2,36]

Câncer de Mama e Insulina

Diabetes mellitus (DM) é um sério problema mundial de saúde que vem crescendo e está associado a graves complicações agudas e crônicas. O processo de industrialização e a economia mundial acompanhada pela chamada "ocidentalização" do estilo de vida, caracterizada por uma dieta de alto teor calórico, obesidade e sedentarismo podem explicar essa epidemia de diabetes. Vários estudos indicam uma associação entre diabetes e o risco de câncer de fígado, pâncreas, endométrio, cólon, reto, mama e bexiga. [37]

A resistência à insulina e a conseqüente hiperinsulinemia pode ser um fator comum que liga diabetes do tipo 2 (DM2) ao câncer. Devido aos seus efeitos estimulantes sobre a proliferação de células do CM, podem influenciar a produção de adipocinas pelo tecido adiposo e dos adipócitos pelas células do estroma e indiretamente, reforçar o crescimento de células cancerígenas. Da mesma forma, a resistência à insulina induzida pela hiperglicemia e hiperlipidemia podem alterar a produção adipocinas em adipócitos e favorecer o desenvolvimento do câncer de mama. [38]

A DM2 que é caracterizada por hiperinsulinemia, resistência à insulina e hiperglicemia, é um fator de risco para CM. Os dados de duas meta-análises recentes constataram que as mulheres com história de diabetes têm um risco 15-20% maior de CM em comparação com mulheres sem diabetes. Além disso, pacientes com CM que são diabéticas têm sido demonstrado que têm um risco 32% maior de complicações relacionadas com a quimioterapia e duas meta-análises relataram que elas possuem 24-61% maior risco de mortalidade por qualquer causa em comparação com pacientes com CM sem diabetes. [39,40]

A incidência de DM2 está diretamente relacionada com a epidemia da obesidade. O risco de neoplasia mamária é maior em mulheres diabéticas, independentemente da obesidade. Assim, tanto a obesidade como a diabetes são fatores de risco para CM e a prevalência de cada uma dessas doenças continuarão a subir em todo o mundo. [38]

A síndrome metabólica (SM) é um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares relacionados à deposição

central de gordura e à resistência à ação da insulina. Entre esses fatores de risco, incluem-se a dislipidemia, a obesidade centrípeta, a alteração na homeostase glicêmica e a hipertensão arterial sistêmica. A prevalência de SM na população em geral é de aproximadamente 24%, chegando a mais de 80% entre os pacientes com DM2. A SM é um importante fator de risco de mortalidade precoce em indivíduos não-diabéticos e em pacientes com DM 2. [41,42]

De acordo com uma definição de consenso recente de SM um indivíduo é considerado com esta patologia se apresentar três dos cinco critérios listados que incluem a obesidade central / circunferência da cintura larga, pressão arterial elevada, níveis elevados de triglicérides séricos em jejum e glicemia de jejum elevados.[43]

Câncer de mama e IGFs

A insulina é um dos principais hormônios metabólicos que regulam a homeostase da glicose no organismo sendo um fator chave de crescimento para as células normais e neoplásicas. A insulina pode atuar como um mitógeno e tem sido associada com vários tipos de câncer. Os efeitos tumorigênicos da insulina pode ser diretamente mediado por receptores de insulina nas células pré-neoplásicas alvo ou devido a alterações relacionadas ao metabolismo hormonal endógeno, secundário a hiperinsulinemia.[44,45]

A resistência à insulina coincide com um aumento do risco de câncer em uma variedade de condições, incluindo envelhecimento, inatividade física, obesidade, a distribuição central de gordura corporal , DM2 , hiperglicemia, SM, doença hepática, , acromegalia, uma dieta rica em açúcar e gordura saturada. [46]

Células epiteliais normais da mama necessitam de insulina e dos IGFs para o crescimento. Pesquisas mostram que expressão de oncogenes sobre CM transforma células MCF10A a um fenótipo de insulina independente. Além

disso, a maioria das linhas celulares de CM são insulino-independentes para o crescimento. [47]

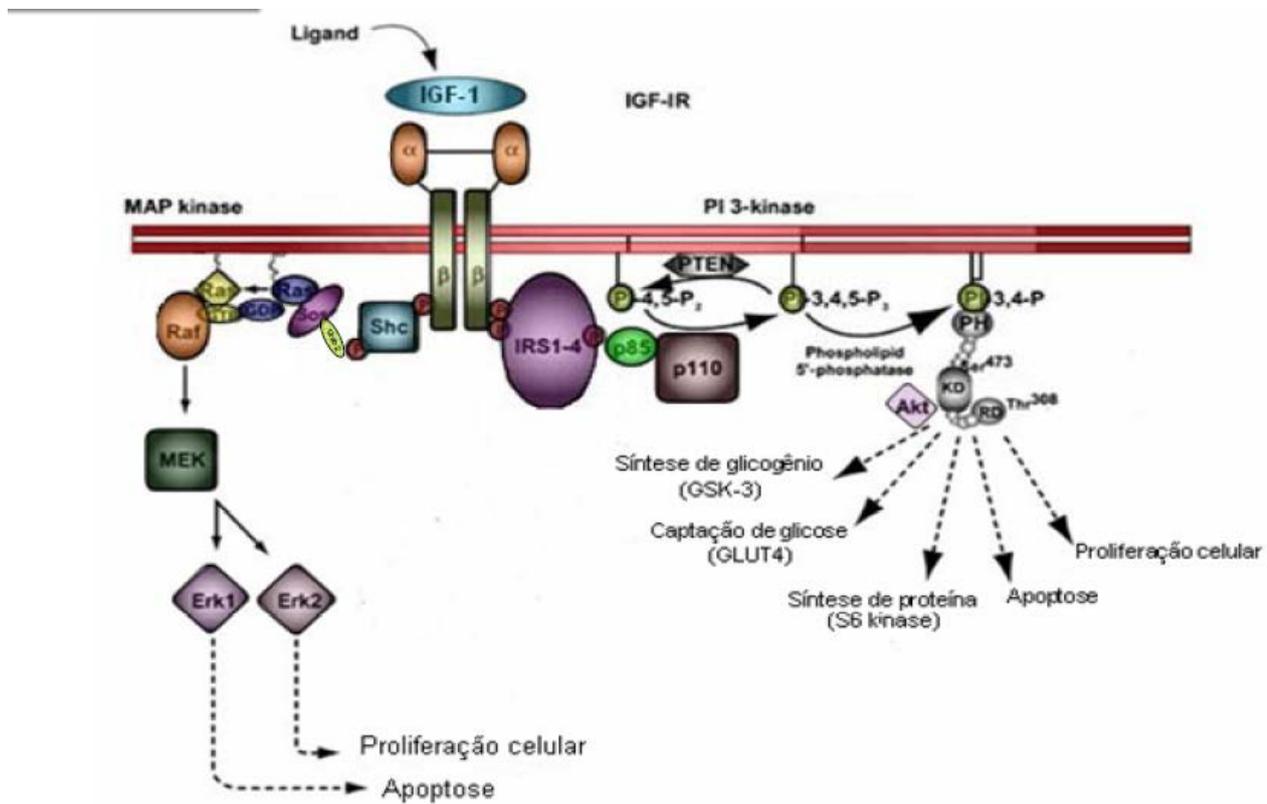


Fig. 2: Vias de sinalização da insulina e IGF-1 [108]

O aumento dos níveis de insulina também podem desenvolver resistência a algumas terapias. O receptor de estrogênio alfa ($ER\alpha$)-positivo que co-expressam fatores *cription trans* GATA-3 e FOXA1 têm um prognóstico favorável. Estes fatores de transcrição formam uma rede auto-regulação de hormônio que influencia a capacidade de resposta do estrogênio e da sensibilidade à terapia hormonal. A ruptura dessa rede pode ser um mecanismo pelo qual CM $ER\alpha$ positivos se tornam resistentes à terapia. Em um estudo, relatamos que a insulina se correlaciona com redução da

expressão de GATA-3, FOXA1 e o ER α tornando o tumor resistente a terapia hormonal , exemplo, tamoxifeno. [48]

O Insulin-like growth factor (IGF) é um sistema composto por três peptídeos, insulina, IGF-1, IGF-2 e cada um com seu receptor (IR, IGF-1R, IGF-2R) bem como as proteínas IGF-binding (IGFBPs). Os IGFs (IGF-1 e IGF-2) que apresentam elevado grau de homologia estrutural com a pró-insulina têm atividade sobre o metabolismo intermediário, a proliferação, o crescimento e a diferenciação celular. Os IGFs são produzidos na maioria dos órgãos e dos tecidos do organismo, visto que sua secreção ocorre à medida que são produzidos não existindo um órgão de armazenamento. [41,49]

O IGF1 (Fig.2) estimula a mitose e inibe a apoptose. Alguns resultados publicados mostram uma associação entre IGF1 circulante e risco de CM. Esse achado vem acompanhado de outros fatores como estado menopausal, receptor de estrogênio e outros. Evidências experimentais, epidemiológicas e clínicas sugerem que a resistência à insulina e hiperinsulinemia poderia amplificar promoção do crescimento celular. [46,50]

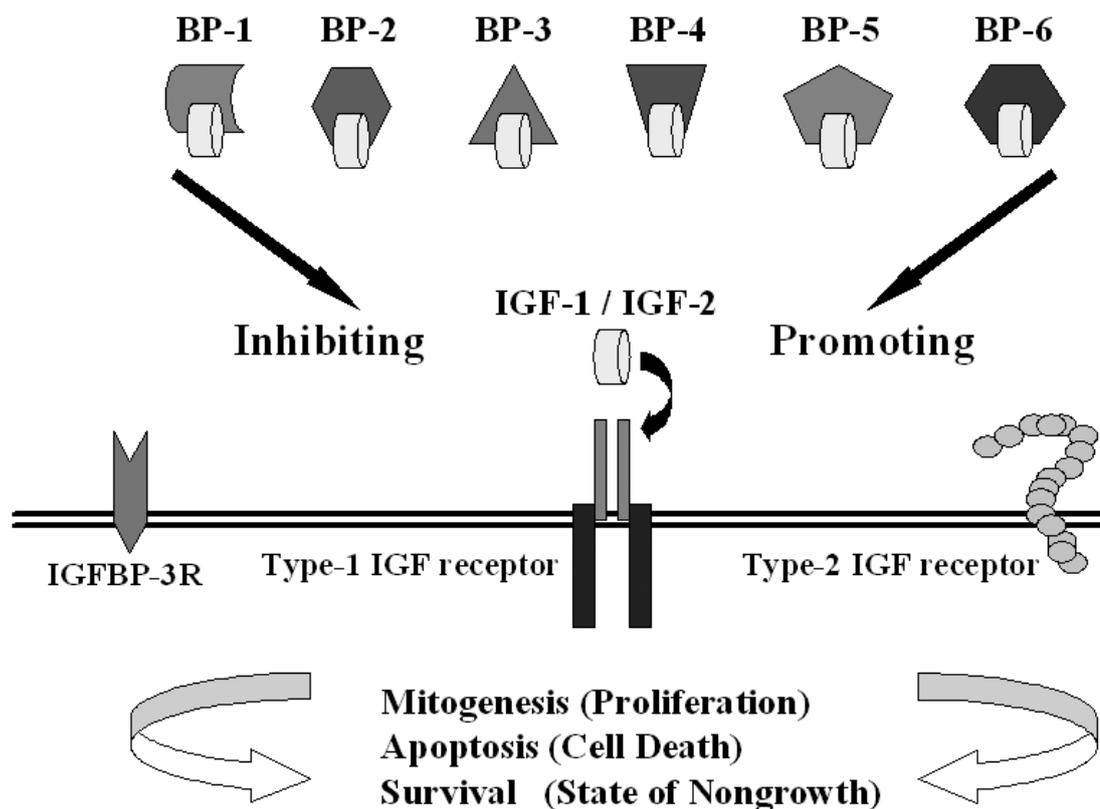


Fig. 3: O sistema do IGF com suas proteínas de ligação.[103]

IGF-I promove a proliferação e inibe a apoptose em células normais da mama e as linhas de células de CM. A biodisponibilidade do IGF-I é determinada por seis proteínas de ligação sendo que a IGFBP-3 é a proteína predominante de ligação. Os estudos revelam que a IGFBP-3 pode afetar diretamente o risco de câncer de uma forma independente de IGF-I. . Em vários estudos epidemiológicos, os níveis de IGF-I circulante foram associados com maior risco de CM entre as mulheres pré-menopáusicas não atribuindo esse risco na pós-menopausa. [51]

O envolvimento do sistema IGF no câncer é apoiado por evidência experimental de uma série de estudos que têm investigado o papel do IGF-1R na transformação celular mediada por vários oncogenes potente, bem como na sobrevivência da célula, na proliferação, invasão e metástase. [41,52]

Recentes e estudos epidemiológicos têm evidenciado que insulina, (IGF-I) e proteína-3 de ligação (IGFBP-3) implicam na progressão do CM. Altos níveis de insulina no jejum têm sido associados com o aumento de duas vezes

o risco de recorrência e um aumento de três vezes no risco de morte entre os sobreviventes na pós-menopausa. Além disso, elevados níveis de insulina pode tanto promover diretamente o crescimento de células de câncer de mama e sua proliferação, tanto indiretamente, através da regulação de uma variedade de fatores, incluindo fatores de crescimento semelhante à insulina, hormônios sexuais e adipocinas. [53,54]

As adipocinas são polipeptídeos produzidos e secretados pelo tecido adiposo e a alteração dessa produção pode levar a complicações relacionadas à obesidade. Tumores de mama invasivo rompem a membrana basal infiltrando-se nas barreiras do tecido fibroso, resultando em uma justaposição imediata dos adipócitos com as células de CM, permitindo interações parácrina entre esses dois tipos celulares. [39]

Insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) é uma das seis IGFBPs que se ligam a fatores de crescimento IGF-1 e IGF-12 com alta afinidade e regulamentam a sua bioatividade. Como carreador predominante de IGFs no sistema endócrino, IGFBP-3 regula o movimento desses fatores de crescimento da circulação para os tecidos alvos e inibe a sua proliferação e efeitos antiapoptóticos, bloqueando a ativação do receptor IGF tipo 1 (IGFR1) no superfície da célula. [46,51]

O IGFBP-3, a espécie mais abundante IGFBP no soro, circula como um complexo ternário 150 kDa com uma subunidade ácido-lábil e peptídeo IGF . Classicamente, a função principal de IGFBP-3 tem sido para o transporte de IGFs, protegendo-os da eliminação rápida e / ou degradação, e biodisponibilidade IGF modulando-se a receptores da superfície celular do IGF. Muitos estudos têm relatado que IGFBP-3 apresenta diferentes efeitos biológicos independentes do eixo IGF / IGF-IR, em especial de inibição do crescimento celular e indução de apoptose em uma variedade de células de câncer. [55]

O IGFBP-3 regula o movimento dos fatores de crescimento da circulação para os tecidos alvos e inibe a sua proliferação além de possuir efeitos anti-apoptótico nas células, bloqueando a sua ativação do receptor IGF tipo 1 (IGFR1) na superfície celular. Estudos *in vitro* em uma variedade de tipos de células têm revelado que IGFBP-3 também poderá ter impacto sobre o

crescimento celular e a sobrevivência independentemente de bioatividade IGF, induzindo a parada do ciclo celular e regulando a apoptose além de fazer interação com receptores nucleares. [56]

No entanto, há evidência de uma associação entre IGFBP-3 e proliferação celular reforçada. Alguns estudos clínicos com câncer de mama, próstata, pâncreas, rim e não-pequenas células do pulmão demonstraram que um alto nível de expressão tecidual de IGFBP-3 está correlacionado com o crescimento maior do tumor. [56]

A biodisponibilidade do IGF-I na circulação e nos tecidos é determinada pela quantidade de ligante livre que circula disponível para a ligação às proteínas. Aproximadamente 75-90% de IGF-I se liga a IGFBP-3, limitando sua biodisponibilidade. O IGFBP-1 também regula a biodisponibilidade de IGF-I e são inversamente regulados pela insulina. O IGF-I tem sido mostrado para promover a proliferação de células epiteliais normais da mama. A via de IGF tem sido associada a carcinogênese mamária em modelos animais e, conseqüentemente, tem sido extensivamente examinada em relação à patogênese do CM em humanos. Além da IGFBP-3 regular a biodisponibilidade de IGF-1, também tem atividade funcional para induzir ou inibir a apoptose independente da biodisponibilidade de IGF-1. [51,57]

Estudos epidemiológicos anteriores têm sugerido que altos níveis circulantes de IGF-I e baixos níveis de IGFBP-3 estão associados com risco aumentado de câncer de mama na pré-menopausa. [58]

Câncer de mama e Leptina

A leptina é um hormônio multifuncional envolvido na regulação da ingestão de alimentos e na homeostase energética através de sua ação central. As ações periféricas, conforme documentado em diversos estudos ocorre das associações com a resposta imunológica, angiogênese, vias de sinalização dos hormônios de crescimento e as vias de metabolismo lipídico. Além disso, uma série de estudos indicam que os níveis de receptores de

leptina estão aumentados nos tecidos carcinoma mamário em relação a tecidos benignos ou normal.[59]

A leptina, é produzida predominantemente no tecido adiposo (adipócitos) e expresso em células epiteliais mamárias e em tecidos malignos da mama e é produto do gene da obesidade (Ob). Alguns autores evidenciaram que a expressão da leptina e seu receptor (OBR) é significativamente maior no carcinoma de mama em comparação com tecido mamário normal. Além disso, a leptina estimula a invasão de células malignas de mama. Na mama normal é necessária para o desenvolvimento da glândula mamária e lactação [60,61]

Níveis mais altos de leptina são encontrados no sexo feminino, mulheres na pós-menopausa e em pessoas obesas. Evidências consistentes têm mostrado que a leptina é um importante fator pró-angiogênico, pró-inflamatórios e mitogênicos. Essas características colocaram em evidência estudos que demonstraram maior mortalidade nos pacientes com CM obesos em comparação com pacientes não-obesos. Essas características são reforçadas pela interação da leptina com as citosinas (fatores de crescimento). [62]

Os níveis de leptina e de seu receptor (OBR) estão correlacionados com metástases à distância e taxa de sobrevivência. Em estudos com animais, devido a semelhança entre mulheres obesas, camundongos e ratos por possuírem altos níveis de leptina, a modelagem animal mostrou estar mais propensa a desenvolver tumores mamários. Camundongos deficientes de leptina ou camundongos sem um OB-R funcional não desenvolveram tumores mamários. [63]

Vários estudos afirmam consistentemente que níveis elevados de leptina em indivíduos obesos têm sido implicados como um fator de risco para CM. Outro estudo, uma análise de cerca de 300 biópsias revelou que, semelhante à OBR, a leptina é abundante no CM, enquanto ele está ausente ou expressa em níveis muito baixos no epitélio normal ou tumores benignos [59,64]

A leptina pode desenvolver diferentes ações como estimulação do crescimento celular normal e tumoral, migração, invasão e valorização da angiogênese e estas ações podem sugerir que este hormônio possa promover

um fenótipo de câncer de mama agressivo, que é estrogênio-independente. Para os tumores de mama receptor-negativo, a expressão de leptina foi inversamente correlacionada com o prognóstico. Estes achados sugerem que a leptina pode ser um importante marcador prognóstico para o CM nos pacientes receptores hormonais negativos. [65]

Estudos posteriores mostraram que a leptina pode modular diversos processos nos órgãos periféricos, tais como resposta imune, fertilidade e hematopoiese. Em nível celular, a leptina pode atuar como um mitógeno. Além de seus efeitos próprios, a leptina pode interagir com outros sistemas de sinalização em CM. Como alguns exemplos, a leptina pode alterar o HER2, VEGF e RE e isso sugere que altos níveis de leptina podem impedir diferentes terapias contra o CM voltadas para esses indicadores. [64]

Tabela 1: Associações da variáveis com IGF, IGFBP3, insulina e leptina.

Variáveis	Associações
Receptores de estrogênio e progesterona positivos	Associação positiva com maiores níveis de IGFBP3.[105 106,107]
Gordura abdominal	Associação positiva com os maiores níveis de IGF [93,94,95,97,98]
Gordura abdominal	Associação positiva com os maiores níveis de insulina [83,85,90,93,95]
Gordura abdominal	Associação positiva com maiores níveis de leptina [112, 113,114,115,116,117]
Massa corporal (IMC)	Associação positiva com os níveis de leptina [74,75,76,77,78,79,80,81,82]
Massa corporal (IMC)	Associação positiva com os níveis de insulina [68,69,70,71,72,73,82]

Associação da Insulina com IMC

Acredita-se que 21% de todas as mortes por CM em todo o mundo são atribuíveis à obesidade e inatividade física. A resistência a insulina e a hiperinsulinemia conseqüente pode ser um fator comum que liga DM2 e câncer. A insulina desempenha um efeito estimulante sobre a proliferação de células no CM e uma possível produção de adipocinas pelo tecido adiposo, adipócitos e células estromais podem reforçar indiretamente o crescimento de células neoplásicas. A hiperglicemia e hiperlipidemia podem induzir a resistência a insulina promovendo a produção de adipócitos pelas adipocinas contribuindo para o desenvolvimento do CM.[66]

Os níveis circulantes de insulina podem estar elevados quando existe excesso de peso corporal, níveis aumentados de triglicérides no plasma e baixos níveis de atividade física. Esse aumento crônico das concentrações de insulina pode resultar no aumento dos níveis de IGFBP-1 e 2, assim como IGF-1 podendo desta forma favorecer o desenvolvimento de neoplasias.[67]

Estudos epidemiológicos têm mostrado a associação entre a obesidade central e resistência à insulina em especial nas mulheres com neoplasia de mama na pós-menopausa. Os resultados de estudos associam o IMC positivamente com risco para CM na pré-menopausa, porém com fraca ou inversamente relacionado com o risco na pré-menopausa. A insulina parece estimular a proliferação das células de CM através do IGF-1 e seus receptores, de sua relação sinérgica com os efeitos mitogênicos do estrogênio ou da associação reguladora da insulina sobre o VEGF que é um potente agente angiogênico secretado pelas células do CM.[68]

Um dos fatores que atribui associação positiva entre obesidade e câncer de mama na pós-menopausa é o fato de que o estrogênio, um fator de risco conhecido, é sintetizado pelo tecido adiposo. Além disso, a associação de altos níveis circulantes de insulina e de estrogênio, presentes na obesidade, promovem um risco aumentado de câncer de mama na pós-menopausa.[69]

Existem indícios de que a obesidade possui uma relação com o risco aumentado para o desenvolvimento de CM e com a piora do prognóstico após a doença estabelecida. Como já elucidada, em mulheres pós-menopáusicas onde existe as maiores correlações positivas, várias medidas de obesidade, tais como índice de massa corporal, peso, ganho de peso, a medida da gordura abdominal e quadril foram todas positivamente associada com risco de desenvolver CM. [70]

Em um estudo na Arábia Saudita houve uma associação para maior risco de CM nas pacientes que apresentaram predisposição genética, assim como uma dieta rica em gorduras, consumo de álcool e acompanhada do estilo de vida. O estudo evidenciou que as alterações metabólicas, incluindo a obesidade e DM2 podem estar associadas positivamente com o risco de CM a partir das correlações encontradas. Também foi evidenciada uma forte associação entre a resistência à insulina e o estado pós-menopáusico, assim como o câncer de mama na pré-menopausa. Já os níveis de estrogênio estavam positivamente correlacionados com o CM na pós-menopausa. [71]

Em uma coorte com CM nos EUA os níveis de insulina foram positivamente correlacionadas com o IMC ($r = 0,57$, $P < 0,001$). Foi observado uma forte associação positiva para o risco de CM (2,4) maior entre o quartil mais elevado comparado ao quartil mais baixo) de níveis de insulina em jejum em mulheres pós-menopáusicas não diabéticas sem uso de reposição hormonal. [69]

Um estudo realizado em Shanghai entre os anos de 1996 e 1998 recrutou mulheres que apresentavam diagnóstico recente para CM. Foram medidos no plasma , peptídeo-C que é um aminoácido subproduto da insulina podendo ser utilizado como indicador de resistência da mesma, IGFBP3, IMC dentre outros indicadores. Houve relação positiva entre o IMC com IGFBP-3 e peptídeo-C. Outros estudos também já haviam evidenciado a relação positiva entre a obesidade e o peptídeo-C, um indicador de resistência a insulina. Nesse estudo as mulheres obesas (IMC maior que 30 kg/m²) apresentaram relação positiva com os níveis de peptídeo C ($p=0,018$). [72]

Um estudo realizado nos EUA com 317 pacientes pré-menopáusicas da coorte do *Nurses Health Study II*, durante os anos de 1996 a 1999, analisou o

risco para CM. Os níveis de insulina e peptídeo-C foram moderadamente correlacionados com o IMC maior que 30 ($r=0,41$ e $0,40$) e fortemente correlacionados entre si ($r=0,68$). Esses estudos reforçam as evidências científicas para a correlação positiva entre os elevados níveis de insulina e valores de IMC elevados, alguns compatíveis com a obesidade em pacientes com CM. [73].

Associação da Leptina com IMC

As evidências epidemiológicas sugerem que a obesidade está associada com um risco aumentado de CM em mulheres, principalmente na pós-menopausa. Como já descrito, a leptina é um hormônio peptídeo que é principalmente sintetizado e secretado pelo tecido adiposo sendo relacionada diretamente com a obesidade. Um estudo realizado entre os anos de 2004 e 2006 em Taiwan, com 297 pacientes com CM, os níveis de leptina foram significativamente correlacionadas positivamente com o IMC ($p < 0,0001$). O estudo ainda evidenciou a associação positiva entre as maiores concentrações de leptina e um risco aumentado de CM.[74]

Dentre as adipocinas, a leptina desempenha um importante papel no fator prognóstico e preditor do câncer. A leptina que é secretada pelos adipócitos proporcionalmente aos valores de IMC e ao estado nutricional. Essa adipocina também atua no hipotálamo regulando a ingestão de alimentos e o metabolismo energético.[75]

Já foi estabelecido pela literatura mundial que a obesidade está relacionada fortemente com o CM na pós-menopausa. As taxas de recorrência para as mulheres com sobrepeso ou obesidade é o dobro das com o peso adequado, assim como o risco de morte por CM é 1,5 vezes mais nessas pacientes. A sobrevida é melhor em mulheres cujo IMC está na faixa de normalidade (18,5-24,9) quando comparado a valores acima do normal (25,0-29,9) ou nas faixas de obesidade (> 30 ,IMC, peso corporal (kg) / altura (m²)). [76]

Em uma pesquisa realizada em cinco países diferentes com 183 pacientes com CM na pré-menopausa, foram avaliados o estado nutricional e alguns indicadores. Metade das mulheres estavam acima do peso ou apresentavam obesidade e os níveis de leptina foram significativamente elevados nestas mulheres quando comparadas com as que apresentavam peso dentro das faixas de normalidade ($p < 0,0001$). Os níveis de leptina e adiponectina foram fortemente relacionados com os valores de IMC ($p = 0,0001$ com $r = 0,80$ para leptina e $r = -0,41$ para adiponectina). [77]

Um outro estudo, realizado na Noruega, avaliou 967 mulheres através das mamografias, concentrações de leptina no plasma, fatores hormonais e dados antropométricos. O resultado evidenciou que elevadas concentrações plasmáticas de leptina foram associadas positivamente com os valores de IMC e medidas de circunferência da cintura. Em um outro estudo, realizado com mulheres obesas, a análise concentrou-se sobre o mecanismo de obesidade na expressão da mRNA hTERT nos tecidos tumorais de mama. A expressão da telomerase humana da transcriptase reversa (hTERT) ocorre na maioria dos cânceres e nesse estudo estava correlacionado positivamente com níveis aumentados de leptina. [78, 79]

Em um centro na Arábia Saudita que avaliou 108 pacientes com DM2 o resultado demonstrou que houve associação entre a obesidade e altos níveis de leptina nas mulheres obesas. Devido à associação entre as adipocitocinas e a obesidade com o DM2 este estudo sugeriu consistentemente um maior risco de CM para estas mulheres. [80]

Em uma pesquisa que recrutou 710 sobreviventes de CM do tipo ductal *in situ* estágio III do Novo México, Los Angeles e Washington foi avaliado se obesidade e atividade física estavam correlacionados com os níveis de insulina, IGFs e leptina. Ocorreu uma relação positiva entre a leptina e categorias elevadas de IMC, assim como, menores níveis de leptina foram encontradas nas mulheres que desenvolviam atividade física. [81]

Amostras de sangue de 130 pacientes com doença mamária foram analisadas na China. Na avaliação das correlações os níveis de leptina, insulina e triglicérides estavam superiores em pacientes com neoplasia maligna. A leptina também foi relacionada positivamente com os valores de

IMC. O estudo concluiu que altos níveis séricos de leptina, insulina, lipídios pode desempenhar um papel importante na carcinogênese do CM. Os resultados sugerem que uma forma de se prevenir o CM possa ser realizada através do controle da dieta alimentar. [82]

Associação da Obesidade abdominal com IGF 1, Leptina e Insulina

Em um estudo realizado com 603 pacientes com CM no Centro de Câncer de Vancouver, o *British Columbia Cancer Agency*, durante os anos de 1991 e 1992, testou a hipótese de que a relação cintura quadril (RCQ) elevada estaria diretamente relacionada à mortalidade por neoplasia mamária. Os estudos tem evidenciado um maior risco de CM e mortalidade com a obesidade na parte superior do corpo tanto pela RCQ ou da relação da coxa com a região supra-ílica para esta patologia m sido associada com a obesidade na parte superior. O estudo verificou os possíveis fatores modificáveis e que podem afetar a sobrevivência. [83,84]

Em um estudo realizado em Lisboa 71 mulheres diagnosticadas histopatologicamente com CM que faziam RT ocorreu uma alta prevalência de sobrepeso, assim como obesidade e uma circunferência da cintura acima do limite superior preconizado pela literatura. A adiposidade central pode ser referenciada pela circunferência da cintura (CC) podendo ser um marcador clínico para a resistência a insulina, síndrome metabólica e maiores níveis de estradiol livre, sendo o último um fator de risco consistente para neoplasia mamária. Alguns estudos evidenciam que a CC pode como um forte preditor para o CM.[85]

Existe um aumento no número de estudos que estão relacionando significativamente a relação positiva entre adiposidade central e risco de câncer de mama na pré-menopausa. Em uma revisão realizada por Lovegrove em 2002 apresentou que houve entre as mulheres na pós-menopausa um risco aumentado para CM para todas as medidas antropométricas: peso, altura, IMC, medidas de adiposidade central (cintura e quadril), aumento do volume da mama e aumento de peso. Esses fatores, especialmente o aumento da gordura

central , estiveram relacionados com o aumento de diversos hormônios circulantes tais como estrogênios, insulina, IGF-1.[86]

Em um grande estudo de coorte prospectivo de 31.702 mulheres de Iowa, com idades entre 55 a 69 anos e livre de câncer, doenças cardíacas e diabetes iniciado ano de 1986 e acompanhado por 12 analisou associações conjuntas e relativa do IMC, circunferência da cintura e relação cintura-quadril . Dentre associações como risco para hipertensão e diabetes associou a obesidade central como um possível fator de risco para o CM quando comparado a mulheres com gordura distribuída em outras faixas como quadril, nádegas e extremidades inferiores. [87]

Em um estudo realizado entre os anos de 1986 até 1994 com 47.382 enfermeiras registradas nos EUA foram medidas a medida da cintura e do quadril para verificar a associação dessas medidas com a ocorrência de CM. Ao longo do estudo 1037 casos de CM foram diagnosticados. Nas análises a CC não foi significativamente relacionada ao risco de câncer de mama na pré-menopausa, porém apresentou associação significativa na pós-menopausa. Em uma análise apenas com as mulheres na pós-menopausa que não receberam terapia de reposição hormonal a associação com CM foi ainda mais significativa. O estudo conclui que a circunferência da cintura aumenta o risco maior de câncer de mama, especialmente entre mulheres na pós-menopausa que não fizeram reposição de estrogênio. [88]

Em uma revisão que descreveu sobre alguns estudos prospectivos que analisaram a adiposidade central através da CC, dobras cutâneas, RCQ e o risco com CM. Todas as revisões encontraram associações positivas dessas variáveis com risco para CM nas mulheres na pós-menopausa. Apenas a análise que utilizou a prega cutânea restrita da região subescapular e tríceps não encontrou significância nas relações. Nas mulheres pré-menopáusicas ocorreu fraca associação entre as variáveis. De uma forma geral possuir maior adiposidade central aumentou o risco de CM entre mulheres na pós-menopausa 1,4 a 5,2 vezes mais do que as mulheres com menor gordura corporal central. [89]

Um estudo de caso controle de CM foi realizado em *New York* durante os anos de 1996 e 2001 com 1166 mulheres com histopatologia confirmada

para neoplasia mamária. Foi utilizado *odds ratio* e o IC foi de 95%. Ocorreu um aumento no risco para o CM nas mulheres na pós-menopausa que ganharam peso em torno de 4% de risco para cada 5 kg. Também houve uma tendência no estudo que associou além de ganho de peso a maior circunferência abdominal, níveis de estrogênio positivo e mulheres que não realizaram reposição hormonal como possíveis riscos para desenvolver CM. [90]

O tecido adiposo pode ser classificado em tecido adiposo branco (TAB) ou tecido adiposo marrom (TAM). O TAB, localizado periféricamente nas regiões subcutâneas e viscerais, armazenam energia na forma de triglicerídios e participa da regulação do balanço energético mediante processos de lipogênese e lipólise. O TAB possui função metabólica ativa expressando ou secretando substâncias bioativas como as adipocinas. A leptina é um hormônio produzido principalmente pelo TAB, tendo a sua produção sérica proporcional à massa de tecido adiposo.[91]

A leptina possui uma ação neurofisiológica dando sensação de saciedade e aumentando gasto energético. Existem alguns tipos de obesidade causados pela mutação do gene da leptina tornando-se comum a hiperleptinemia em obesos, podendo ocorrer resistência à ação deste hormônio causando hiperfagia, diminuição do gasto energético e conseqüentemente aumento de peso. Além disso, acredita-se que a leptina contribua para reprodução celular, angiogênese, osteogênese e ainda estar associados a um quadro inflamatório relacionado com a obesidade e síndrome metabólica. [91]

Na obesidade abdominal ocorre a desregulação da secreção das adipocinas ou adipócito que está relacionado com a secreção da letina. Essa é uma proteína de 16 kDa, codificada pelo gene obeso (OB), produzido por adipócitos maduros A leptina é secretada no plasma e seus níveis estão fortemente correlacionadas com a massa adiposa em roedores, assim como nos seres humanos. Os dados de uma pesquisa revelaram que o grupo de obesos mostraram mRNA de leptina significativamente maior que o grupo controle ($p < 0,01$). [92]

Ganho de peso durante a vida adulta também parece aumentar o risco de câncer de mama e outros tipos como o de cólon. O excesso de

armazenamento de energia pode influenciar nos hormônios que controlam : o metabolismo (insulina e leptina), crescimento celular (IGF e IGF- binding proteínas) e da reprodução (esteróides e leptina) [93]

Em uma meta-análise o aumento da gordura abdominal foi associado com maiores concentrações de insulina, leptina e IGF-1, o que possivelmente pode mediar o crescimento do tumor. Estes dados sugerem que a carga metabólica criada por excesso de adiposidade acelera o crescimento celular descontrolando a sobrevivência, aumentando assim o risco de desenvolver câncer de mama. [94]

Em uma amostra com pacientes com uma fase mais avançada de estadiamento mostraram significativamente mais chances de serem obesas ($P = 0,007$), centralmente obesos ($P = 0,009$), hiperglicemia ($P = 0,047$) e hiperinsulinêmicas ($P = 0,026$), 51% tinham síndrome metabólica em comparação com 12% para doença em estágio inicial. Pacientes com nódulo positivo da doença foram significativamente mais propensos a apresentar hiperinsulinemia ($P = 0,030$) e síndrome metabólica ($P = 0,028$) do que pacientes com nódulo negativo doença. Os dados dessa pesquisa sugerem que a síndrome metabólica e obesidade central podem estar associadas nas pacientes com câncer de mama na pós-menopausa, e que a síndrome metabólica pode estar relacionada a uma biologia tumoral mais agressivo. [95]

Nas pacientes com CM que apresentam obesidade existe uma maior concentração de ácidos graxos livres que estão associados com maior resistência a insulina assim como na obesidade abdominal superior quando comparada a obesidade periférica. Os níveis de IGF-1 também estão aumentados na obesidade abdominal e estão associados com o risco aumentado de vários tipos de câncer incluindo CM. Estudos têm evidenciado que os adipócitos viscerais possuem altos níveis de insulina o que pode resultar na sinalização aumentada de IGF-1. Adiposidade abdominal em mulheres está fortemente associada com aumento da concentrações de insulina. [96]

Em uma coorte foi possível afirmar que o acúmulo de gordura abdominal está associada a um maior risco de CM na pós-menopausa do que na distribuição da obesidade periférica. Estudos recentes têm mostrado que concentrações de IGF-1 estão aumentadas nas obesas do que nas mulheres normais. [97]

Estudos recentes mostram que o aumento da concentração de insulina, do IGF-1 e o maior depósito de gordura abdominal são marcadores de alto risco para CM. Como já relatado na obesidade ocorre a ampliação de depósito de tecido adiposo que pode produzir excesso de ácidos graxos e fator de necrose tumoral alfa, podendo ambos estar associados com a resistência da insulina.[98]

Papel do IGFBP3

Em uma pesquisa foram avaliadas 300 pacientes diagnosticados com CM e 300 casos controles entre agosto de 1996 e março de 1998 em Shanghai. Na amostra com CM os níveis plasmáticos de IGF-I e IGFBP-3 apresentaram-se elevados. Estas associações foram mais evidentes nas mulheres na pré-menopausa, com alto IMC e RCQ elevada. Houve um contraste deste estudo em relação aos achados com mulheres caucasianas, o IGFBP-3 esteve associado positivamente com o CM nas mulheres chinesas.[99]

O IGFBP3 age de forma ambígua quando se correlaciona com os tumores. Em alguns estudos epidemiológicos foram indicadas associações entre os valores dos níveis séricos de IGF-I e o risco de câncer, entretanto, os níveis de IGFBP-1, IGFBP-3 e IGFB-6 apresentaram-se em menores concentrações séricas nas pacientes com CM o que pode justificar o aumento da biodisponibilidade de IGF-I. [100]

As possíveis associações entre as concentrações de IGF-I, IGF-II, IGFBP-3 com o risco de CM foram investigados em um estudo de caso-controle com 117 mulheres com CM e 350 controles no Reino Unido. Elevados níveis de IGFBP-3 foram associados positivamente com a redução do risco de CM nas mulheres pré-menopáusicas, porém sem correlação nas pós. Todavia, outros estudos encontraram a mesma associação, inversa ou a ausência da mesma. O presente estudo sugere que alta concentração de IGFBP-3 pode reduzir indiretamente o risco de câncer ligando uma proporção maior de IGF-I e reduzindo assim a sua biodisponibilidade, desta forma, ocorre a inibição dos seus efeitos mitogênicos. Além disso, existem evidências que o IGFBP-3 pode inibir diretamente o crescimento celular e induzir a apoptose de células de CM, independentemente de seu efeito sobre a IGF-I. [101]

Em uma amostra de mulheres na pós-menopausa foram obtidas as medidas séricas de IGF-I, IGF-II, e proteínas de ligação IGFBP-1, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-6, bem como GHBP, insulina e leptina em 74 casos de CM e 76 indivíduos controle. Este sistema em análise desempenha um papel muito importante no metabolismo, proliferação celular, diferenciação e apoptose e desta forma pode ser um determinante de risco para carcinoma, incluindo CM. O hormônio do crescimento humano (GH) regula a produção de IGF-I principalmente no fígado. [102]

Uma análise do sistema GH-IGF relacionado com o risco de CM demonstraram uma relação inversa entre o IGFBP-3 e o risco (OR=3,3 e $p < 0,01$). Os resultados das pesquisas tem sido mistas como já foi dito. Estudos com populações na pós-menopausa tendem a relatar nenhuma associação entre IGF-I ou IGFBP-3 e o risco de CM. Especificamente, IGF-I é conhecido por induzir a proliferação celular *in vitro*, e IGFBPs tem sido evidenciado para exercer efeitos dependentes e independentes da função IGF e pode induzir a apoptose. [102]

O mecanismo de ação entre o IGF e o IGFBP3 ainda não está completamente definido. O IGFBP3 pode ter efeito antiapoptótico regulando a ação mitogênica entretanto pode exercer uma ação inibitória no crescimento celular. A relação direta do complexo IGF- IGFBPs com as neoplasias estaria vinculada a degradação que as proteases tumorais produzem nas proteínas

carreadoras aumentando a fração livre de IGF1, contribuindo para a mitogênese no tecido mamário.[103]

As revisões sobre esse tema são contrastantes. Um estudo de 1995 mostrou que a diminuição dos níveis de IGFBP3 estavam relacionados com CM no estágio I e II. Em um outro estudo em que se pesquisou os níveis de IGFBP3 no soro, o mesmo estava 3 vezes mais prevalente em tumores de pobre diagnóstico. Os resultados de metanálises demonstram que existe uma tendência ao aumento níveis de IGFBP3 e IGF1 e de maiores riscos de CM nas mulheres pré-menopáusicas.[103]

Na fase inicial da progressão do câncer eles ainda dependem dos ligantes dos IGFs antes de se tornarem capaz de produzir de forma autócrina e esta capacidade de se auto-estimular pode estar relacionada ao comportamento mais agressivo da neoplasia. O modelo que explica a ação do IGFBP3 na neoplasia postula que estes modulam a biodisponibilidade dos IGFs na circulação e no espaço extracelular por competição com seus receptores. De forma menos clara alguns IGFBP3 tem efeito inibitório no crescimento celular independente da ação do IGF, podem possuir efeito pró-apoptótico ou tornar as células tumorais resistentes as suas ações. Em determinadas situações os IGFBPs parecem potencializar a atividade mitogênica da IGFs. Em um estudo de caso controle com 121.700, com 397 casos confirmados de CM evidenciou risco relativo para CM de 2,3 quando somente o IGF-I esteve aumentada. As mulheres na pré-menopausa e com idade abaixo dos 50 anos o RR foi de 4,6 e associadas ao IGFBP3 um RR de 7,3. [104]

Poucos estudos evidenciam a relação entre os receptores hormonais e o padrão de expressão das IGF e IGFBP3. Alguns estudos evidenciam que altos níveis de IGFBP3 em tumores de mama e baixos níveis de receptores de esteróides hormonais estão associados ao mau prognóstico. Como já foi exposto o papel do IGFBP3 ainda permanece indefinido e isso reflete a complexidade de sua atividade biológica em células tumorais. Em um estudo em Xangai que avaliou a expressão de RNAm do IGFBP3 no tecido de CM houve superexpressão de IGFBP3 nas mulheres pré-menopáusicas e múltiparas, também estavam relacionados com CM não metastático, porém no

metastático estavam exclusivamente relacionados às mulheres pós menopáusicas em RE positivo. [105]

Uma coorte de mulheres com CM operável foi analisada em três hospitais universitários de Toronto entre os anos 1989 e 1996 que haviam sido submetidos a mastectomia com margens livres de câncer invasivo ou mastectomia radical modificada com dissecação axilar por um T1-3, N0-1, M0 de CM invasivo. A expressão do m-RNA IGFBP-3 no tecido mamário tem sido associado com fatores de mau prognóstico quando relacionados aos receptores de estrogênio e progesterona. No grupo que avaliou as mulheres pós-menopáusicas os níveis de IGFBP3 foram significativamente associados com o *status* de RE positivo ou não conclusivo ($p=0,0002$) mas não quando foi negativo. [106]

Em um estudo realizado na Hungria nos anos de 2002 e 2004 analisou níveis de hormônio no plasma de 102 pacientes na menopausa e de seus 102 controles, assim como tipo histológico, status dos receptores hormonais. Houve a ocorrência de 2,5 e 16 vezes risco aumentado de CM nos mulheres com RE positivo e RP negativo respectivamente quando o maior quartil e o menor quartil de IGFBP3 foram comparados. O aumento da prevalência de tumores com RE positivos correlacionados com altos níveis de IGF-I e IGFBP3 pode conferir uma etiologia para o tumor. [107]

OBJETIVOS

Objetivo geral

Identificar se os níveis séricos de IGF-1, IGFBP3, insulina e leptina apresentam associação com os fatores prognósticos clínicos e patológicos do câncer de mama.

Objetivos específicos

- Avaliar os níveis séricos de IGF-1, IGFBP3, insulina e leptina em uma coorte de pacientes com câncer de mama provenientes de um centro de referência no Sul do Brasil e associá-los a:

- diferentes categorias de escore do IMC;
- circunferência da cintura, do abdômen, do quadril e umbilical;
- relação cintura quadril;
- estadiamento do câncer de mama;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INCA, Ministério da Saúde .*Estimativa 2012: Incidência de Câncer no Brasil*. 2011. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/index.asp?ID=5>, em 3 dezembro de 2011.
2. Martins, E., Freitas-Junior, R., Curado, M.P., Freitas, N.M.A., Oliveira, J.C., Bandeira, C.M., *Central-Temporal evolution of breast cancer stages in a population-based cancer registry in the Brazilian central region*, Revista Brasileira Ginecologia Obstetrícia, 2009.**31**(5):p.219-23.
3. INCA, Ministério da Saúde. *Estimativa de Neoplasia Maligna de Mama para 2012*. 2011. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/mapa.asp?ID=13>, em 4 de dezembro de 2011.
4. Rodrigues, J.S.M., Ferreira, N.M.L.A., *Perfil do Câncer: Conhecer para Intervir*.Revista Brasileira de Cancerologia, 2010.**56** (4): p.431-441.
5. INCA, Ministério da Saúde. *Atlas de mortalidade por câncer*. 2011. Disponível em: <http://mortalidade.inca.gov.br/Mortalidade/>. Em 3 de dezembro de 2011.
- 6.Oliveira, M.M.C., Torresan, C., Oliveira, S.F.V., Torrezan, G.T., Abuazar,C. S., Lima, R.S., et al., *Epidemiologia do câncer de mama em pacientes do Sul do Brasil*. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2009.**6**(63):p. 4-14.
7. INCA, Ministério da Saúde. *Estimativas para 2012 de Câncer de Mama para Porto Alegre e Rio Grande do Sul*. 2011. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/tabelaestados.asp?UF=RS>, em 4 de dezembro de 2011.

8. Zapponi, A.L.B., Melo, E.C.P., *Regional distribution of mortality from breast and cervical cancer in Brazil*, Rev. enferm. UERJ, Rio de Janeiro, 2010.**18**(4):p.628-31.
9. Cichon, M.A., Degnim, A.C., Visscher, D.W., Radisky, D.C.J., *Microenvironmental influences that drive progression from benign breast disease to invasive breast cancer*. Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010.**15**(4):p.389-97.
10. Munirah, M.A., Siti-Aishah, M.A., Reena, M.Z., Sharifah, N.A., Rohaizak, M., Norlia, A., Rafie, M.K., Asmiati, A., Hisham, A., Fuad, I., Shahrin, N.S., *Identification of different subtypes of breast cancer using tissue microarray*, J. Morphol Embryol. 2011.**52**(2):p.669-77.
11. Hu M., Yao J, Carroll DK, Weremowicz S, Chen H, Carrasco D, Richardson A, Violette S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Bauerlein EL, Hahn WC, Gelman RS, Allred C, Bissell MJ, Schnitt S, Polyak K., *Regulation of in situ to invasive breast carcinoma transition*. Cancer Cell. 2008.**13**(5):394-406.
12. Smith, B.L., *Clinical applications of breast pathology: management of in situ breast carcinomas and sentinel node biopsy issues*. Modern Pathology ,2010. **23**: p:33–35.
13. Toussaint, J., Durbecq, V., Altintas, S., Doriath, V., Rouas, G., Paesmans, M., Bedard, P., Haibe-Kains, B., Tjalma, W.A., Larsimont, D., Piccart, M., *Low CD10 mRNA expression identifies high-risk ductal carcinoma in situ (DCIS)*. Sotiriou C. PLoS One, 2010.**5**(8):p.10
14. Flanagan, M., Love, S., Hwang, E.S. *Status of Intraductal Therapy for Ductal Carcinoma in Situ*. Curr Breast Cancer Rep. 2010. **2**(2):p.75-82.
15. Zhou, W., Jirström, K., Johansson, C., Amini, R.M., Blomqvist, C., Agbaje, O., Wärnberg F., *Long-term survival of women with basal-like ductal carcinoma in situ of the breast: a population-based cohort study*. BMC Cancer.,2010.**10**:p.65-73.
16. Sung, K.E., Yang, N., Pehlke, C., Keely, P.J., Eliceiri, K.W., Friedl, A., Beebe, D.J., *Transition to invasion in breast cancer: a microfluidic in vitro model enables*

examination of spatial and temporal effects. Integr Biol (Camb), 2011.**3**(4):439-50.

17. Schnitt, S.J. ,*Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy.* Mod Pathol., 2010. **23**: p.60-4.

18.Moneim,E.I., Zaghloul, N.M., *Expression of E-cadherin, N-cadherin and snail and their correlation with clinicopathological variants: an immunohistochemical study of 132 invasive ductal breast carcinomas in Egypt.* Clinics (Sao Paulo),2011.**66**(10):p.1765-71.

19.Schiaffino, O.R., I barra, P.A., González, A.R., Urrutia, M.J.,*Correlacion entre distintos tipos histologicos de cancer de mama y receptores estrogenicos.* Rev. chil. obstet. Ginecol, 2002. **67**(5):p.377-380.

20.Tambasco, M., Eliasziw, M., Magliocco, A.M., *Morphologic complexity of epithelial architecture for predicting invasive breast cancer survival.* J Transl Med., 2010.**8**:p.140.

21.Khan, N., Afroz, N., Rana,F.,Khan, M., *Role of cytologic grading in prognostication of invasive breast carcinoma.* J Cytol. 2009.**26**(2):p.65-8.

22- Barros, A.C.S.D., et al., *Diagnóstico e tratamento do câncer de mama.* Associação Médica e Conselho Federal de Medicina – Projeto Diretrizes, 2001. p: 1-15

23.Karen, L., M., Mark, A. L., Peter, S. H., *Treatment of Breast Cancer.* Am Fam Physician,2010.**81**(11):p.1339-1346.

24. Dvorkin-Gheva, A., Hassell, J.A.,*Hormone Receptor and ERBB2 Status in Gene Expression Profiles of Human Breast Tumor Samples.* PLoS One, 2011;**6**(10):p.2602325

25.INCA, Ministério da Saúde. *Controle do câncer de mama: documento de consenso*,2004. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/publicacoes/Consensointegra.pdf>, em 1 de novembro de 2011.

26. Prado, G. L. M, Guerra, M.T.P. M., *Valor preditivo positivo das categorias 3, 4 e 5 do Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS®)*. Radiol Bras, 2010. **43**(3):p. 171-174.
27. Farante, G., et al., *New TNM: classification of breast cancer proposed by the European Institute of Oncology, Milan, Italy*. Rev. Bras. de Mast., 2010. **2**(20):p:61-5.
28. INCA, Ministério da Saúde. *TNM: classificação de tumores malignos, 2004*. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/tratamento/tnm/>, em 1 de novembro de 2011.
29. National Cancer Institute. *Breast cancer prevention, 2011*. Disponível em: www.cancer.gov/cancertopics/pdq/prevention/breast/HealthProfessional#Section_175 , em 5 de dezembro de 2011.
30. Ramsey, S.D., Yoon, P., Moonesinghe R., Khoury, M.J., *Population-based study of the prevalence of family history of cancer: implications for cancer screening and prevention*. Genet Med., 2006. **8**(9):p.571-5.
31. Levy, D.E., Garber, J.E., Shields, A.E., *Guidelines for genetic risk assessment of hereditary breast and ovarian cancer: early disagreements and low utilization*. J Gen Intern Med., 2009. **24**(7):p.822-8.
32. Wolin, K.Y., Carson, K., Colditz, G.A., *Obesity and cancer*. Oncologist, 2010. **15**(6):p.556-65.
33. Baer, J., Tworoger, S. S., Hankinson, S. E., Willett, W. C., *Body fatness at young ages and risk of breast cancer throughout life heather*. Am J Epidemiol., 2010. **171**(11):p.1183–1194.
34. Inumaru, L.E., Silveira, E. Naves, M.M.V. *Risk and protective factors for breast cancer: a systematic review*. Cad. Saúde Pública, 2011. **27**(7):p. 1259-1270.
35. Mathew, A., Gajalakshmi, V., Rajan, B., Kanimozhi, V., Brennan, P., Mathew, B.S., Boffetta, P., *Anthropometric factors and breast cancer risk among urban and rural women in South India: a multicentric case-control study*. Br J Cancer, 2008. **99**(1):p.207-13.

36. Hartman, S.J., Dunsiger, S.I., Jacobsen, P.B., *The relationship of psychosocial factors to mammograms, physical activity, and fruit and vegetable consumption among sisters of breast cancer patients.* Int J Womens Health, 2011. **3**:p.257-63.
37. Suh, S., Kim, K.W., *Diabetes and cancer: is diabetes causally related to cancer?* Diabetes Metab J., 2011. **35**(3):p.193-8.
38. Grisouard, J., Dembinski, K., Mayer, D., Keller, U., Müller, B., *Targeting AMP-activated protein kinase in adipocytes to modulate obesity-related adipokine production associated with insulin resistance and breast cancer cell proliferation.* M.Diabetol Metab Syndr. ,2011. **20**: p.3:16.
39. Christopher, I. L., Janet, R.,Mei-Tzu C., Kathleen, E., *Relationship between Diabetes and Risk of Second Primary Contralateral Breast Cancer.* Breast Cancer Res Treat.,2011.**125**(2): p.545–551.
40. Srokowski, T.P., Fang, S., Hortobagyi, G.N., Giordano, S.H., *Impact of diabetes mellitus on complications and outcomes of adjuvant chemotherapy in older patients with breast cancer.* J Clin Oncol. 2009. **27**:2170–6.
41. Braun, S., Bitton-Worms, K., Leroith, D. *The Link between the Metabolic Syndrome and Cancer.* Int J Biol Sci, 2011.**7**(7):1003-15.
42. Rodrigues, T.C., Canani, L. H., Gross, J. L., *Metabolic syndrome, insulin resistance and cardiovascular disease in type 1.* Arquivos brasileiros de cardiologia,2010. **94** (1):p. 125-130.
43. Shafizadeh, T.B., et al., *Comparison of accuracy of diabetes risk score and components of the metabolic syndrome in assessing risk of incident type 2 diabetes in cohort.* PLoS One, 2011. **6**(7):p.22863.
44. Radulescu, R.T., *Intracellular insulin in human tumors: examples and implications.*Diabetol. Metab Syndr., 2011.**3**(1):p.5.
45. Donohoe, C.L., Doyle, S.L., Reynolds, J.V., *Visceral adiposity, insulin resistance and cancer risk.* Diabetol Metab Syndr., 2011. **22**:p.3-12.
46. Godsland, I. F., *Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer.*Clin Sci (Lond), 2009. **118**(5): p.315-32.

47. Fischer, A. B., Gregory, T. D., Ethier, S.P., *Oncogene Activation Induces Metabolic Transformation Resulting in Insulin-Independence in Human Breast Cancer Cells* .PLoS One, 2011. **6**(3):p.17959.
48. McCune, K., et al., *Prognosis of hormone-dependent breast cancers: implications of the presence of dysfunctional transcriptional networks activated by insulin via the immune transcription factor T-bet* *Cancer Res.*, 2010. **70**(2): p.685-696.
49. Martinelli, C.E., Custódio, R.J., Aguiar, O.M.H., *Fisiologia do eixo GH-sistema IGF*. *Arq Bras Endocrinol Metab* .2011.**52**(5): p.717-725.
50. Key, T.J., Appleby, P.N.,Reeves, G.K., Roddam, A.W., *Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies*. *Lancet Oncol*, 2010.**11**(6):p.530-42.
51. Verheus, M., et al., *IGF1, IGFBP1, and IGFBP3 genes and mammographic density: the Multiethnic Cohort*. *Int J Cancer*, 2010. **127**(5):p.1115-23.
52. Ulanet, D.B., Ludwig, D.L., Kahn, C.R., Hanahan, D., *Insulin receptor functionally enhances multistage tumor progression and conveys intrinsic resistance to IGF-1R targeted therapy*. *Proc Natl Acad Sci U.S.A*, 2010.**107**(24):p.10791-8.
53. Wolf, I., Sadetzki, S., Catane, R., Karasik, A., Kaufman, B., *Diabetes mellitus and breast cancer*. *Lancet Oncol*,2005. **6**:p.103–11.
54. Irwin, M., et al., *Relationship of obesity and physical activity with c-peptide, leptin, and insulin-like growth factors in breast cancer survivors*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2005. **14**(12): p.2881–2888.
55. Ingermann, A.R., et al., *Identification of a novel cell death receptor mediating IGFBP-3-induced anti-tumor effects in breast and prostate cancer*. *Biol Chem.* ,2010 . **285**(39):30233-46.
56. Martin, J.L., Lin, M.Z., McGowan, E.M., Baxter, R.C., *Potentiation of growth factor signaling by insulin-like growth factor-binding protein-3 in breast epithelial*

cells requires sphingosine kinase activity. J Biol Chem., 2009. **284**(38):p.25542-52.

57. Fowke, J.H., et al., *Racial differences in the association between body mass index and serum IGF1, IGF2, and IGFBP3.* Endocr Relat Cancer, 2010. **17**(1):p.51-60.

58. Patel, A.V., et al., *IGF-1, IGFBP-1, and IGFBP-3 polymorphisms predict circulating IGF levels but not breast cancer risk: findings from the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3).* Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. PLoS One, 2008. **3**(7):p.2578

59. Park, J., et al., *Leptin Receptor Signaling Supports Cancer Cell Metabolism through Suppression of Mitochondrial Respiration in Vivo.* Am J Pathol. 2010. **177**(6): p.3133–3144.

60. Jeong, Y.J., et al., *Expression of leptin, leptin receptor, adiponectin, and adiponectin receptor in ductal carcinoma in situ and invasive breast cancer.* J Breast Cancer, 2011. **14**(2):p.96-103.

61. Fusco, R., *Cellular and molecular crosstalk between leptin receptor and estrogen receptor- α in breast cancer: molecular basis for a novel therapeutic setting.* Endocr Relat Cancer, 2010. **17**(2):p.373-82. .

62. Guo, S., *IL-1 and leptin crosstalk outcome (NILCO) is critical for leptin-induced proliferation, migration and VEGF/VEGFR-2 expression in breast cancer.* PLoS One, 2011. **6**(6):p.21467.

63. Gonzalez, R.R., et al., *Leptin signaling promotes the growth of mammary tumors and increases the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor type two (VEGF-R2).* J Biol Chem, 2006.; **281**(36):p.26320-8

64. Surmacz, E., *Obesity hormone leptin: a new target in breast cancer?* Breast Cancer Res. , 2007. **9**(1):p. 301.

65. Kim, H.S., *Leptin and leptin receptor expression in breast cancer.* Cancer Res Treat., 2009. **41**(3):p.155-63.

66. Grisouard, J., et al., *Targeting AMP-activated protein kinase in adipocytes to modulate obesity-related adipokine production associated with insulin*

resistance and breast cancer cell proliferation.,Diabetol Metab Syndr.2011.
20(3):p.16.

67. Osório, C.F., *Epidemiological and molecular mechanisms aspects linking obesity and cancer.* Arq Bras Endocrinol Metab., 2009.**53**(2):p.213-226.

68. Mantzoros, C.,et al., *Adiponectin and breast cancer risk.* J Clin Endocrinol Metab., 2004.**89**(3):p.1102-7.

69. Gunter, M. J. *Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women.*J Natl Cancer Inst., 2009.**101**(1):p.48–60.

70. Carmichael, A.R., *Obesity and prognosis of breast cancer.* Obes Rev.,2006.
7 :p.333–340.

71. Alokail, M.S., Al-Daghri, N.M., Al-Attas, O.S., Hussain, T., *Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women.* Cardiovasc Diabetol.2009.**23**(8):p.33.

72. Fair, A.M. et al., *Energy balance, insulin-resistance biomarkers and breast cancer risk.* Cancer Detect Prev., 2007.**31**(3):p.214–219.

73. Eliassen, A.H., et al., *Circulating insulin and c-peptide levels and risk of breast cancer among predominately premenopausal women.*,Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 2007.**16**(1):p.161-4.

74. Wu, M., et al., *Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk,* Br J Cancer., 2009.**100**(4):p.578–582.

75. Ahima, R.S., et al., *Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting.* Nature,1996. **382** (6588):p.250–252

76. Sedlacek, S.M., et al., *Effect of a low fat versus a low carbohydrate weight loss dietary intervention on biomarkers of long term survival in breast cancer patients ('CHOICE'): study protocol.* BMC Cancer, 2011.**11**: p.287

77. Maskarinec, G., Woolcott, C., Steude, J.S., Franke, A.A., Cooney, R.V.,*The relation of leptin and adiponectin with breast density among premenopausal women.* Eur J Cancer Prev., 2010.**19**(1):p.55-60.

78. Stuedal, A., et al., *Plasma levels of leptin and mammographic density among postmenopausal women: a cross-sectional study.* 2006.**8**(5):p.55.

79. Rahmati-Yamchi, M., Zarghami, N., Rahbani, M., Montazeri, A., *Plasma Leptin, hTERT Gene Expression, and Anthropometric Measures in Obese and Non-Obese Women with Breast Cancer*. *Breast Cancer*, 2011.**(1)**5:p.27-35.
80. Han, C., *Serum levels of leptin, insulin, and lipids in relation to breast cancer in China*. *Endocrine*, 2005.**26**(1):p.19-24.
81. Mattila, M. M.T., Ruohola, J. K., Karpanen, T., Jackson, D. G., Alitalo, K. and Härkönen, P. L., *VEGF-C induced lymphangiogenesis is associated with lymph node metastasis in orthotopic MCF-7 tumors*. *International Journal of Cancer*, 2002, **98**:p. 946–951.
82. Zhang, X., *Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer*. *BMC Cancer*, 2008; **8**:p. 4.
83. Macciò, A., Madeddu, C., *Obesity, inflammation, and postmenopausal breast cancer: therapeutic implications*. *ScientificWorldJournal*, 2011.**11**:p.2020-36.
84. Borugian, M.J, et al., *Waist-to-hip ratio and breast cancer mortality*. *American Journal of Epidemiology*, 2003.**158**(10):p.963–968.
85. Amaral, P., et al., *Body fat and poor diet in breast cancer women*. *Nutr. Hosp.*, 2010.**25**(3):p. 456-461.
86. Lovegrove, J.A., *Obesidade de distribuição de gordura corporal e câncer de mama*. *Nutr Res Rev.*, 2002.**15** (2):p.389-412.
87. Folsom, A.R., et al., *Associations of general and abdominal obesity with multiple health outcomes in older women: the Iowa Women's Health Study*. *Arch Intern Med*, 2000. **160** :p. 2117 - 2128 .
88. Huang, Z., et al., *Waist circumference, waist:hip ratio, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study*. *Am J Epidemiol.* ,1999.**150**(12):p.1316-24.
89. Friedenreich, CM., *Review of anthropometric factors and breast cancer risk*.*Eur J Cancer Prev.*,2001.**10**(1):p.15-32.
90. Han, D., et al., *Lifetime adult weight gain, central adiposity, and the risk of pre- and postmenopausal breast cancer in the Western New York exposures and breast cancer study*.*Int J Cancer*, 2006.**119**(12):p.2931-7.
91. Leite, L.D.,Rocha, E.D., Neto, J.B., *Obesity: an inflammatory disease*. *Revista Ciência & Saúde*, 2009.**2**(2): p. 85-95.

92. Kouidhi, S., et al., *Relationship between subcutaneous adipose tissue expression of leptin and obesity in Tunisian patients*. Tunis Med., 2010.**88**(8):p.569-72.
93. Healy, L.A., et al., *Metabolic syndrome, central obesity and insulin resistance are associated with adverse pathological features in postmenopausal breast cancer*. Clin Oncol., 2010.**22**(4):p.281-8.
94. Sung, M.K., et al., *Obesity-induced metabolic stresses in breast and colon cancer*. Ann N Y Acad Sci., 2011.**1229**:p.61-8.:
95. Healy, L.A., et al., *Metabolic syndrome, central obesity and insulin resistance are associated with adverse pathological features in postmenopausal breast cancer*. Clin Oncol (R Coll Radiol), 2010.**22**(4):p.281-8.
96. Stoll, B.A., *Upper abdominal obesity, insulin resistance and breast cancer risk*. International Journal of Obesity, 2002. **26**:p.747-753.
97. Stoll, B.A., *Oestrogen/insulin-like growth factor-I receptor interaction in early breast cancer: clinical implications*. Ann Oncol., 2002.**13**(2):p.191-6.
98. Stoll, B.A., *Adiposity as a risk determinant for postmenopausal breast cancer*. Int J Obes Relat Metab Disord., 2000.**24**(5):p.527-33.
99. Yu H., *Insulin-like growth factors and breast cancer risk in Chinese women*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 2002.**11**(8):p.705-12.
100. Zumkeller, W., *IGFs and IGF-BPs: surrogate markers for diagnosis and surveillance of tumour growth?* Mol Pathol., 2001.**54**(5):p.285-8.
101. Allen, N.E., *A prospective study of serum insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-3 and breast cancer risk*. Br J Cancer, 2005.**92**(7):p.1283-7.
102. Pazaitou-Panayiotou, K., et al., *Growth hormone-binding protein indirectly and IGF-BP-3 is inversely associated with risk of female breast cancer*. Eur J Endocrinol., 2007.**156**(2):p.187-94.
103. Trinconi, A.F., Filassi, J.R., Soares, J.M., Baracat, E.C., *Evaluation of the insulin-like growth factors (IGF) IGF-I and IGF binding protein 3 in patients at high risk for breast cancer*. Fertil Steril., 2011.**95**(8):p.2753-5.
104. Castro, A.M. S., Guerra-Júnior, G., *GH/IGF e neoplasia: o que há de novo nesta associação*. Arq Bras Endocrinol Metab., 2005.**49**(5):p. 833-842.
105. Probst-Hensch, N.M., et al., *IGFBP2 and IGF-BP3 protein expressions in human breast cancer: association with hormonal factors and obesity*. Clin Cancer Res., 2010.**16**(3):p.1025-32.
106. Goodwin, P.J., *Insulin-like growth factor binding proteins 1 and 3 and breast cancer outcomes*. Breast Cancer Res Treat., 2002.**74**(1):p.65-76.

107. Kahán Z., et al., *Elevated levels of circulating insulin-like growth factor-I, IGF-binding globulin-3 and testosterone predict hormone-dependent breast cancer in postmenopausal women: a case-control study*. Int J Oncol., 2006.**29**(1):p.193-200.

108. Coutinho, D.C., *Estudo do gene do fator de crescimento insulina-símile 1 (IGF1) e de receptor (IGF1R) em crianças nascidas pequenas para a idade gestacional*, 2009, disponível em : <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5135/tde-31082009-150428/pt-br.php> acessado em dezembro 2011.

ARTIGO

Association among levels of growth factors, insulin and leptin and histological prognostic factors in patients with newly diagnosed breast cancer

Melissa da Silva Terres Boucinha¹, Paloma Tusset¹, Huander Andreolla² Juliana Kühne³, Mauren Minuzzo⁴, Fernanda Reiniger da Luz⁵, Nathalia Costa⁶, Rejane Tavares⁷, Daniela Dornelles Rosa^{1,8,9}

¹Post-graduation Program in Medicine: Medical Sciences, UFRGS, Brazil

² (Sta Casa)

³ Biomedicine: FEVALE, Brazil

⁴ UFRGS

⁵ UFRGS

⁶ School of Medicine, Pontifia Universidade Catolica of Rio Grande do Sul (PUCRS)

⁷ (UFCSPA)

⁸ Oncology Unit, Hospital Fêmeina, Grupo Hospitalar Conceição, Porto Alegre, Brazil

⁹ Oncology Unit, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil

Abstract

Introduction: There is growing evidence that sedentary lifestyle, high caloric intake, overweight, obesity and its related growth factors have an important role in the risk of developing breast cancer. **Objectives:** to evaluate the relation among serum levels of insulin, IGF-1, IGFBP3 and leptin with clinical and pathologic breast cancer prognostic factors. **Material and methods:** a transversal study was performed at a public hospital in Southern Brazil, from August 2009 to September 2010. Body composition measurements were performed, pathologic review of specimens were done and blood samples were taken before chemotherapy to evaluate insulin, IGF-1, IGFBP3 and leptin. **Results:** 77 patients entered the study. There were higher levels of IGFBP3 in ER-positive and PR-positive tumors when compared to those ER-negative and PR-negative ($p=0.004$ and $p=0.005$, respectively). There were no differences in the levels of IGF-1 and IGFBP3 according to BMI classification. There was a positive correlation of insulin and leptin levels with BMI classification. There was a negative correlation of IGF-1 levels and waist-to-hip (WTH) ratio (Pearson's correlation= - 0.348; $p=0.007$). There was a positive correlation of insulin and leptin levels with waist, hip, abdominal and umbilical circumferences. **Conclusion:** we found positive correlations of growth factors and leptin with anthropometric measurements in patients with breast cancer, suggesting a role of these factors in overweight and obese patients. Higher levels of IGFBP3 were found in patients with hormone receptor-positive breast cancer when compared with those with no expression of hormone receptors. Although we need further research on the clinical significance of this finding, we suggest that hormonal status may contribute to the behavior of IGFBP3 and its pathways.

Introduction

There is growing evidence that sedentary lifestyle, high caloric intake, overweight and obesity have an important role in the risk of developing breast cancer.[1,2,3,4]. Insulin resistance as a consequence of obesity and its associated hyperinsulinemia may also act stimulating the proliferation of breast cancer cells. [5] Insulin levels are related to other potential risk factors for breast

cancer like high body mass index (BMI) and increasing concentrations of abdominal fat [6,7,8,9,10], [11,12,13,14,15,16,17].

The insulin-like growth factor (IGF) system is composed by insulin, IGF-1, IGF-2 and their receptors (IR, IGF-1R, IGF-2R) as well as by their binding proteins (IGFBPs). This system has a role in cell growth, differentiation and proliferation. [18,19]. IGF-1 acts stimulating mytosis and inhibiting apoptosis. There may be an association between IGF-1 levels and breast cancer risk [20,21]. IGFBP3 has anti-apoptotic effects, inhibiting IGF-1R activation in the cell surface.

Leptin is involved in the regulation of food intake and energetic homeostasis. High levels of leptin in obese individuals have been associated to breast cancer risk. [22,23] Studying the relation among serum levels of some members of the IFG system, leptin and clinical and pathologic breast cancer prognostic factors may be important to the better understanding and managing of breast cancer.

Material and methods

A transversal study was performed at Hospital Femina, a public hospital in Southern Brazil, from August 2009 to September 2010. Patients with a recent diagnosis of stage I to IV invasive breast cancer and indication of adjuvant, neoadjuvant or palliative chemotherapy entered the study. Patients with diabetes mellitus or glucose intolerance were excluded. All study subjects provided written informed consent and the protocol was approved by the local Ethics Committee of Grupo Hospitalar Conceição.

Body Composition

Body composition measurements were performed during the morning, after 8h fasting. Patients were wearing lightweight clothing and were shoeless. Height was measured in centimeters using a stadiometer and weight was determined in kilograms using a high precision scale (FILIZOLA®). Body mass index (BMI) was then calculated using the formula [weight (kg)/height (m)²] and classified according to WHO's criteria as: normal (18.5-24.9 kg/m²), overweight

(25- 29.9 kg/m²), class I obesity (30-34,9 kg/m²), class II obesity (35-39,9 kg/m²) and class III obesity (≥ 40 kg/m²). [24]

Waist circumference (WC) was measured midpoint between the lower margin of the last rib and the iliac crest, in a horizontal plane using a non-stretchable flexible tape; values were further categorized as normal if < 80 cm and central obesity if ≥ 88 cm. [24,25]

Hip circumference was measured with the patient in the stand position using a non-stretchable flexible tape around the maximum circumference of the buttocks. [25]

Waist-to-hip ratio (WHR) is the ratio of the circumference of the waist to that of the hips. The WHR has been used as an indicator or measure of the health of a person, and the risk of developing serious health conditions. A WHR $\geq 0,85$ was used to define central obesity (the accumulation of fat around the waist. [25]

Blood Collection And Laboratory Assays

Blood samples were taken by trained health professionals before chemotherapy administration to measure insulin, IGF-1, IGFBP3 and leptin. IGF-1 was analyzed with an ELISA active IGF1 without extraction DSL 10-2800 (Genese Products and Diagnosis); leptin was analyzed with an ELISA human leptin EZHL-80SK (Genese Products and Diagnosis), IGFBP3 with an ELISA IGFBP3 KAP1171 (Genese Products and Diagnosis) and insulin with an ELISA human insulin KAP1251 (Genese Products and Diagnosis).

Tumor Characteristics

Pathological sections of paraffin-embedded tissue (breast biopsies or surgical specimens from the patients included in the study) were selected from the archives of the Pathology Unit at Hospital Nossa Senhora da Conceição (Grupo Hospitalar Conceição). Tumor size, histological grade, estrogen and progesterone receptors status, c-erbB2 status, nodal status and the presence of distant metastasis were evaluated. TNM staging was used for classification of clinical and pathological tumor stage. [26]

Statistical analysis

Descriptive statistics was used for data analysis. Quantitative variables were analyzed using T Student test. Qualitative analysis was performed using Fisher exact test. Parametric statistics were used for IGF-1 and IGFBP3 and non-parametric statistics were used for insulin and leptin. Variables were correlated using Pearson and Spearman's coefficient correlation test. P-values of ≤ 0.05 were considered statistically significant. All analyses were performed with SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Results

Seventy-seven patients entered the study. The baseline characteristics are described in table 1 and 2.

There were no differences in the levels of IGF-1, leptin and insulin according to ER, PR and HER2 status. We found higher levels of IGFBP3 in ER-positive and PR-positive tumors when compared to those ER-negative and PR-negative, respectively ($p=0.004$ and $p=0.005$, respectively).

There were no differences in the levels of IGF-1 and IGFBP3 according to BMI classification. There was a positive correlation of insulin and leptin levels with BMI classification ($p<0.001$ for both serum markers).

There was a negative correlation of IGF-1 levels and waist-to-hip (WTH) ratio (Pearson's correlation= - 0.348; $p=0.007$). There was a positive correlation of insulin and leptin levels with waist, hip, abdominal and umbilical circumferences (table 3).

Discussion

We found a high prevalence of overweight and obesity in our sample of patients with breast cancer. There is a well-known link of worse prognosis of breast cancer with overweight and obesity, mainly in estrogen receptor-positive postmenopausal women. [27,28,29] The prognosis seems to be worse when these patients gain weight after diagnosis. [30]. Obesity may cause hormonal

imbalance, which influence breast cancer growth, including changes in estrogens, androgens, insulin-like growth factors, and insulin levels. [30]

Breast cancer seems to be associated with insulin resistance [31,32,33], metabolic syndrome [33,34] and adipokine levels. [35,36,37] Leptin is one of the most investigated adipokines and is implicated as having a pro-carcinogenic effect in breast cancer development. [38,39,40] We did not find any association between leptin and breast cancer prognostic factors (tumor size, tumor staging, hormonal receptors and HER2 status). We found a positive correlation of insulin and leptin levels with BMI classification, what is in accordance to the literature. There was a positive correlation of insulin and leptin levels with waist, hip, abdominal and umbilical circumferences, which are surrogates of obesity.

IGF-I has been found in stromal fibroblasts derived from malignant and benign breast tissue and it is a mitogen for several breast cancer cell lines. It circulates bound to specific high-affinity binding proteins, which could act as either positive or negative modulators of tumorigenesis. [41] We did not show any differences in the levels of IGF-1 according to BMI classification or to breast cancer prognostic factors. These could have happened due to our small sample size and probably due to the complex physiological regulation of IGF-1. Only a small portion of IGF-1 circulates in the free form in blood; the remainder is regulated by a series of six IGF-binding proteins (IGFBP-1 through IGFBP-6), which have a somewhat stronger affinity for IGF-1 than the receptor [42,43,44]. More than 90% of serum IGF-1 is bound in a ternary complex with IGFBP-3 and an acid-labile subunit (ALS).

The measure of IGFBP-3 could be of interest in patients with breast cancer.[42,43,44]. We found no association of IGFBP3 levels and BMI. However, there were higher levels of IGFBP3 in patients whose tumors were positive for hormonal receptors when compared to those with absence of hormonal receptors. There is evidence that estrogen signaling pathways are interrelated with insulin and some adipokines like leptin, tumor necrosis factor- α , and interleukin-6. [45,46] In a study evaluating 855 primary breast carcinomas the immunohistochemical expression of IGF-1 receptor, IGFBP2, and IGFBP3, the latest was associated with estrogen receptor status, suggesting that the

prognostic relevance of IGFBP3 protein expression in breast cancer may depend on the hormonal context. [47] IGFBP3 was also positively correlated with body mass index and premenopausal in another study status. [47] However, the clinical significance of these findings remains to be defined.

In conclusion, we found positive correlations of growth factors and leptin with anthropometric measurements in patients with breast cancer, suggesting a role of these factors in overweight and obese patients. Higher levels of IGFBP3 were found in patients with hormone receptor-positive breast cancer when compared with those with no expression of hormone receptors. Although we need further research on the clinical significance of this finding, we suggest that hormonal status may contribute to the behavior of IGFBP3 and its pathways.

Acknowledgements

This work was supported by a 2008 L'Oréal-UNESCO Award for Women in Science.

Conflicts of interests

None to declare

References

1. Vrieling, A., et al., *Adult weight gain in relation to breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis*. Breast Cancer Res Treat, 2010. **123**(3): p. 641-9.
2. Sestak, I., et al., *Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial*. J Clin Oncol, 2010. **28**(21): p. 3411-5.
3. Chlebowski, R.T., E. Aiello, and A. McTiernan, *Weight loss in breast cancer patient management*. J Clin Oncol, 2002. **20**(4): p. 1128-43.
4. Wolin K.Y., Carson K., Colditz G.A., *Obesity and cancer*. Oncologist, 2010. **15**(6): p. 556-65.

5. Grisouard, J., Dembinski, K., Mayer, D., Keller, U., Müller, B., *Targeting AMP-activated protein kinase in adipocytes to modulate obesity-related adipokine production associated with insulin resistance and breast cancer cell proliferation*. *M.Diabetol Metab Syndr.* ,2011. **20**: p.3:16.
6. Amaral, P., et al., *Body fat and poor diet in breast cancer women*. *Nutr. Hosp.*, 2010.**25**(3):p. 456-461.
7. Kouidhi, S., et al., *Relationship between subcutaneous adipose tissue expression of leptin and obesity in Tunisian patients*.*Tunis Med.*, 2010.**88**(8):p.569-72.
8. Folsom, A.R., et al., *Associations of general and abdominal obesity with multiple health outcomes in older women: the Iowa Women's Health Study*. *Arch Intern Med*, 2000. **160** :p. 2117 - 2128 .
9. Healy, L.A., et al., *Metabolic syndrome, central obesity and insulin resistance are associated with adverse pathological features in postmenopausal breast cancer*. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2010.**22**(4):p.281-8.
10. Stoll, B.A., *Oestrogen/insulin-like growth factor-I receptor interaction in early breast cancer: clinical implications*. *Ann Oncol.*,2002.**13**(2):p.191-6.
11. Mantzoros, C.,et al., *Adiponectin and breast cancer risk*. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2004.**89**(3):p.1102-7.
- 12 . Gunter, M. J. *Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women*.*J Natl Cancer Inst.*, 2009.**101**(1):p.48–60.
13. Carmichael, A.R., *Obesity and prognosis of breast cancer*. *Obes Rev.*,2006. **7** : p.333–340.
14. Alokail, M.S., Al-Daghri, N.M., Al-Attas, O.S., Hussain, T., *Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women*. *Cardiovasc Diabetol*.2009.**23**(8):p.33.
15. Fair, A.M. et al., *Energy balance, insulin-resistance biomarkers and breast cancer risk*. *Cancer Detect Prev.*, 2007.**31**(3):p.214–219.

16. Eliassen, A.H., et al., *Circulating insulin and c-peptide levels and risk of breast cancer among predominately premenopausal women.*, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2007.**16**(1):p.161-4.
17. Zhang, X., *Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer.* *BMC Cancer*, 2008; **8**:p. 4.
18. Braun, S., Bitton-Worms, K., Leroith, D. *The Link between the Metabolic Syndrome and Cancer.* *Int J Biol Sci*, 2011.**7**(7):1003-15.
19. Martinelli, C.E., Custódio, R.J., Aguiar, O.M.H., *Fisiologia do eixo GH-sistema IGF.* *Arq Bras Endocrinol Metab* .2011.**52**(5): p.717-725.
20. Godsland, I. F., *Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer.* *Clin Sci (Lond)*, 2009. **118**(5): p.315-32.
21. Key, T.J., Appleby, P.N.,Reeves, G.K., Roddam, A.W., *Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies.* *Lancet Oncol*, 2010.**11**(6):p.530-42.
22. Park, J., et al. ,*Leptin Receptor Signaling Supports Cancer Cell Metabolism through Suppression of Mitochondrial Respiration in Vivo.* *Am J Pathol.* 2010. **177**(6): p.3133–3144.
23. Surmacz, E., *Obesity hormone leptin: a new target in breast cancer?* *Breast Cancer Res.* ,2007.**9**(1):p. 301.
24. Marmot, M., Atinmo, T., et al., *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective.* 2007Washington DC: AICR, acess <http://eprints.ucl.ac.uk/4841>, january,2012.
25. T.A.P.p.R.O.a.i., *The Asian Pacific perspective: Redefining Obesity and its treatment.*, W.H.O.-W.P. Region, Editor. 2000
26. Ministério da Saúde, B., *Controle de Câncer de Mama - Documento de Consenso*, I.N.d.C. (INCA), Editor. 2004: Rio de Janeiro

27. Majed B, et al., B. Increased risk of contralateral breast cancers among overweight and obese women: a time-dependent association. *Breast Cancer Res Treat*. 2011. **126**(3):p.729-38.
28. Vrieling, A., et al., *Adult weight gain in relation to breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis*. *Breast Cancer Res Treat*, 2010. **123**(3): p. 641-9.
29. Sestak, I., et al., *Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(21): p. 3411-5.
30. Chlebowski, R.T., E. Aiello, and A. McTiernan, *Weight loss in breast cancer patient management*. *J Clin Oncol*, 2002. **20**(4): p. 1128-43.
31. Bruning PF, Bonfrer JM, van Noord PA, Hart AA, de Jong-Bakker M, Nuijten WJ: Insulin resistance and breast-cancer risk. *Int J Cancer*, 1992. **52**: p.511-516
32. Del Giudice ME, Fantus IG, Ezzat S, McKeown-Eyssen G, Page D, Goodwin PJ: Insulin and related factors in premenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 1998, 47: 111-120.
33. Xue F, Michels KB: Diabetes, metabolic syndrome, and breast cancer: a review of the current evidence. *Am J Clin Nutr* 2007, 86: s823-835.
34. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, Krogh V: Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: A nested case-control study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009.
35. Chen DC, Chung YF, Yeh YT, Chaung HC, Kuo FC, Fu OY, Chen HY, Hou MF, Yuan SS: Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. *Cancer Lett* 2006, 237: 109-114.

36. Hou WK, Xu YX, Yu T, Zhang L, Zhang WW, Fu CL, Sun Y, Wu Q, Chen L: Adipocytokines and breast cancer risk. *Chin Med J (Engl)* 2007, 120: 1592-1596.
37. Miyoshi Y, Funahashi T, Kihara S, Taguchi T, Tamaki Y, Matsuzawa Y, Noguchi S: Association of serum adiponectin levels with breast cancer risk. *Clin Cancer Res* 2003, 9: 5699-5704.
38. Paz-Filho G, Lim EL, Wong ML, Licinio J. Associations between adipokines and obesity-related cancer. *Front Biosci.* 2011 Jan 1;16:1634-50.
39. Jardé T, Perrier S, Vasson MP, Caldefie-Chézet F. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *Eur J Cancer.* 2011 Jan;47(1):33-43.
40. Artac M, Altundag K. Leptin and breast cancer: an overview. *Med Oncol.* 2011 Aug 30.
41. Favoni RE, de Cupis A, Perrotta A et al. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins blood serum levels in women with early- and late-stage breast cancer: mutual relationship and possible correlations with patients' hormonal status. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1995;121(11):674-82.
42. Munirah, M.A., Siti-Aishah, M.A., Reena, M.Z., Sharifah, N.A., Rohaizak, M., Norlia, A., Rafie, M.K., Asmiati, A., Hisham, A., Fuad, I., Shahrun, N.S., *Identification of different subtypes of breast cancer using tissue microarray*, *J. Morphol Embryol.* 2011.52(2):p.669-77.
43. Christopher, I. L., Janet, R., Mei-Tzu C., Kathleen, E., *Relationship between Diabetes and Risk of Second Primary Contralateral Breast Cancer.* *Breast Cancer Res Treat.*, 2011.125(2): p.545–551.
44. Srokowski, T.P., Fang, S., Hortobagyi, G.N., Giordano, S.H., *Impact of diabetes mellitus on complications and outcomes of adjuvant chemotherapy in older patients with breast cancer.* *J Clin Oncol.* 2009. 27:p.2170–6.
45. Vona-Davis L, Rose DP: Adipokines as endocrine, paracrine, and autocrine factors in breast cancer risk and progression. *Endocr Relat Cancer* 2007,

14: 189-206.

46. Lorincz AM, Sukumar S: Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006, **13**:p. 279-292.

47. Probst-Hensch NM, Steiner JH, Schraml P et al. IGFBP2 and IGFBP3 protein expressions in human breast cancer: association with hormonal factors and obesity. *Clin Cancer Res.* 2010.**16**(3):p.1025-32.

Table 1 – Baseline characteristics of the 77 patients.

	% of patients
TNM tumor classification (T)	
1	20,8%
2	39,0%
3	29,9%
4	10,4%
TNM nodes classification (N)	
0	41,3%
1	32,0%
2	24,0%
3	2,7%
TNM metastasis classification (M)	
0	93,4%
1	6,6%
TNM staging	
1	13,0%
2	46,8%
3	35,1%
4	5,2%

Estrogen receptor (ER)-positive	77,9%
Progesterone receptor (PR)-positive	66,2%
ER and PR-positive	66%
HER2-positive	22,1%
Post-menopausal	56,2%
Currently smoking	14,3%
Chemotherapy regimen indicated	
Adjuvant	36,4%
Neoadjuvant	62,3%
Palliative	1,3%
Chemotherapy drugs prescribed	
Anthracycline only	36,4%
Anthracycline plus taxane	63,6%
BMI class (kg/m ²)	
< 18.5 (low weight)	2.7%
18.5-24.9 (eutrophic)	35.6%
25-29.9 (overweight)	37%
≥30 (obesity)	24.6%

Table 2 – Anthropometric measures and growth factors levels.

	Mean (\pm DP)
Waist circumference (cm)	85.96 (11.8)
Abdominal circumference (cm)	92.34 (12.3)
Umbilical circumference (cm)	94.69 (12.1)
Hip circumference (cm)	102.99 (9.57)
WTH ratio	
Leptin (ng/ml)	13.27 (10.7)
Insulin (uUI/ml)	32.39 (31.8)
IGF-1 (ng/ml)	84.72 (29.8)
IGFBP3 (ng/ml)	2603.24 (828.2)

Table 3 – Spearman's correlation of insulin and leptin with waist, abdominal, umbilical and hip circumferences'.

	Spearman's test	Mean insulin levels	Mean leptin levels
Waist circumference	Correlation coefficient	0.611	0.715
	Significance (2-tailed)	< 0.001	< 0.001
Abdominal circumference	Correlation coefficient	0.605	0.729
	Significance (2-tailed)	< 0.001	< 0.001
Umbilical circumference	Correlation coefficient	0.568	0.729
	Significance (2-tailed)	< 0.001	< 0.001

Hip circumference	Correlation coefficient	0.442	0.700
	Significance (2-tailed)	< 0.001	< 0.001

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O Rio Grande do Sul, representado pela sua capital Porto Alegre possui um dos maiores índices de CM do Brasil. Esse dado causa muita preocupação e os dados continuam a crescer, em 2012 são esperados 980 casos novos em Porto Alegre.

Nesse estudo foram avaliados fatores de risco descritos na literatura e suas correlações com os fatores prognósticos para o CM. Na amostra as mulheres com sobrepeso e obesidade apresentaram 35% e 23% de prevalência o que indica que 58% delas estavam acima do peso considerado ideal. Essa relação veio acompanhada de associações positivas com os níveis de leptina e insulina amparados por vários estudos que os descrevem como importantes fatores de riscos para o desenvolvimento do CM. A obesidade está fortemente relacionada com o aparecimento, desenvolvimento e progressão do CM e os estudos dos mecanismos envolvidos nesse processo estão em pleno vapor.

Outros parâmetros para se verificar sobrepeso e obesidade são através das medidas métricas da região abdominal. Todas as medidas abdominais citadas foram correlacionadas positivamente com os níveis de insulina e leptina evidenciando a relação entre indicadores de obesidade e o CM, visto que em vários estudos a insulina e leptina foram associados com a progressão do CM.

O IGFBP3 se comporta de forma ambígua quando se relaciona com os tumores, nesse estudo os maiores níveis foram associados com os receptores de estrogênio e progesterona positivos. O IGFBP3 pode desenvolver efeitos que beneficiem ou bloqueiem o crescimento das neoplasias. A sua associação com o RE+ confere, nesse caso, uma associação positiva com a malignidade, visto que, esse tipo de receptor está relacionado com um pior prognóstico do CM. No entanto, o estudo sobre o IGFBP3 ainda deve ser fomentado no que diz respeito a seus efeitos ambíguos na relação com os tumores.

Podemos afirmar que nesse estudo foram encontradas algumas correlações que reforçam a tendência da literatura atual no que diz respeito à relação da obesidade, hiperinsulenemia, IGF e IGFBP3 com os fatores

prognósticos do CM. Essas associações vêm de encontro com uma tendência mundial para o controle de peso, pois além de estar fortemente relacionado a vários tipos de câncer, está associado com outras patologias clínicas.

Conhecer os mecanismos das variáveis sobre o crescimento tumoral pode auxiliar no desenvolvimento de tratamentos para o bloqueio das mesmas nesse processo. Essas variáveis estão ligadas a fatores modificáveis que incluem dieta uma saudável, pobre em gorduras e calorias, atividade física regular e controle do peso. Diante do exposto é possível afirmar que algumas medidas podem ser preventivas no que diz respeito ao aparecimento de câncer ou na piora do prognóstico, melhorando a sobrevida.

ANEXOS

Anexo 1

Termo de consentimento livre e esclarecido

Você está prestes a colaborar com uma pesquisa; assim, queremos cientificar-lhe quanto aos aspectos do trabalho que estamos desenvolvendo, e saber de sua disposição em participar.

1- Informação quanto à pesquisa e grupos de pacientes

Você tem diagnóstico de câncer de mama e vai necessitar de tratamento e acompanhamento clínico com o médico oncologista. Estamos propondo que você participe de um estudo que irá avaliar inúmeros dados de sua história clínica, ginecológica e social. Você deverá realizar revisões semestrais por um período de cinco anos e após anualmente até completar 10 anos de seguimento. Será aplicado um questionário sobre seus hábitos alimentares, o qual levará em torno de 40 minutos. Após, será realizada uma coleta de sangue para realização de dosagens bioquímicas. Posteriormente, o sangue será armazenado para que possa ser utilizado em outras pesquisas que sejam aprovadas pelo comitê de ética do Grupo Hospitalar Conceição e que não envolvam pesquisas genéticas.

2- Riscos e desconfortos da pesquisa clínica

Você fará um exame de sangue semestralmente que poderá lhe ocasionar dor no local da coleta e hematoma, que aliviam com uso de analgésicos e gelo no local. Caso haja necessidade, o estudo fornecerá para essa finalidade o analgésico sem ônus a você.

3 - Benefícios da Pesquisa

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar os fatores de risco que levaram você a ter essa doença. Sendo assim, podemos sugerir mudanças de hábitos a você e orientar outras pacientes a modificarem também seus hábitos para diminuir o risco de doença. Ao mesmo tempo, irá mostrar a mais médicos quais os principais fatores de risco para desenvolvimento desta doença no nosso estado.

4- Confidencialidade

Esse estudo se compromete a manter sigilo absoluto do seu nome em qualquer publicação científica que venha ocorrer após o término da pesquisa, assim como lhe informar sobre todos os resultados dos exames realizados e do tratamento instituído à sua pessoa.

5- Indenizações e assistência integral

Em caso de ocorrência de qualquer dano físico relacionado à pesquisa, os pesquisadores se comprometem não apenas a indenizar-lhe, como também em prestar assistência integral no tratamento de eventuais complicações. Da mesma forma você deve estar ciente que não lhe é devido qualquer tipo de ressarcimento financeiro pela participação na pesquisa.

6- Voluntariedade na aceitação e possibilidade de abandono sem restrições ou conseqüências

É importante você estar ciente de que, caso aceite participar dessa pesquisa, terá total liberdade de abandoná-la a qualquer momento, ainda que já submetida ao primeiro procedimento, sem que lhe seja imposta qualquer conseqüência ou restrição por sua decisão. Da mesma forma, ainda que opte por não dar continuidade na pesquisa, seguirá tendo assistência integral no tratamento da sua doença.

Eu, _____
fui informada dos objetivos e justificativas desta pesquisa de forma clara e detalhada como consta a cima.

Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas, tendo-me sido garantido sigilo absoluto sobre as informações prestadas e dados de caráter pessoal; fui, também, informada da inexistência de gastos e da disponibilidade de avaliação médica com assistência integral à minha saúde.

Da mesma forma estou ciente que posso afastar-me do estudo a qualquer momento.

Assim, declaro a baixo a minha decisão:

() não concordo em participar da pesquisa.

() concordo em participar da pesquisa na sua íntegra, ou seja, realizando o exame clínico, respondendo a anamnese e o questionário de frequência alimentar, realizando a coleta sanguínea e permitindo o armazenamento deste sangue coletado para ser utilizado em estudos posteriores com aprovação prévia do comitê de ética.

() concordo em participar da pesquisa, realizando o exame clínico, respondendo a anamnese e o questionário de frequência alimentar, realizando a coleta sanguínea, porém não concordo que seja armazenado o sangue coletado.

Paciente _____

Pesquisador _____

Contato com a equipe de pesquisa: Dr. Daniela Dornelles Rosa f: 3214-5312, Nut. Paloma Tusset f: 9323-0300.

Porto Alegre, ____/____/____

Anexo 2

Aprovação CEP – GHC



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO
GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO
CEPHNSC – GHC**

RESOLUÇÃO

Porto Alegre, 14 de janeiro de 2009.

O Comitê de Ética em Pesquisa do HNSC/GHC, em 14 de janeiro de 2009, analisou o seguinte projeto de pesquisa:

Nº CEP/GHC: 222/08

FR: 234195

Título Projeto: Associação entre hábitos alimentares e fatores prognósticos no câncer de mama

Pesquisador(a): Paloma Tusset

Orientador(a): Daniela Dornelles Rosa

PARECER:

Documentação: Aprovados

Aspectos Metodológicos: Aprovados

Aspectos Éticos: Aprovado

Parecer final: Este projeto, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde, obteve o parecer de **APROVADO**, neste CEP.

Grupo e área do conhecimento: Projeto pertencente ao Grupo III. Área do conhecimento: Ciências da Saúde – Medicina 4.01.

Considerações finais: Toda e qualquer alteração do projeto, deverá ser comunicados imediatamente ao CEP/GHC. Somente poderão ser utilizados os Termos de Consentimento onde conste a aprovação do CEP/GHC. Após conclusão do trabalho, o pesquisador deverá encaminhar relatório final ao Centro de Resultados onde foi desenvolvida a pesquisa e ao Comitê de Ética em Pesquisa.


Vitto Giancristoforo dos Santos
Coordenador-geral do CEP - GHC

Comitê de Ética em Pesquisa do HNSC/GHC fone/fax: (51) 3357-2407 – e-mail: pesquisas-gep.@ghc.com.br
Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP (31/out/1997) – Ministério da Saúde
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número – IRB 00001105

ANEXO 3

Estadiamento Clínico Tumoral (TNM) [27, 153]

TAMANHO DO TUMOR (T)

Tx - tumor não pode ser avaliado

Tis - carcinoma *in situ*

T1 - tumor com até 2 cm em sua maior dimensão

T1 mic - carcinoma microinvasor (até 1 mm)

T1a - tumor com até 0,5 cm em sua maior dimensão

T1b - tumor com mais de 0,5 e até 1 cm em sua maior dimensão

T1c - tumor com mais de 1 cm. e até 2 cm em sua maior dimensão

T2 - tumor com mais de 2 e até 5 cm em sua maior dimensão

T3 - tumor com mais de 5 cm. em sua maior dimensão

T4 - qualquer T com extensão para pele ou parede torácica

T4a extensão para a parede torácica

T4b edema (incluindo *peau d'orange*), ulceração da pele da mama, nódulos cutâneos satélites na mesma mama

T4c associação do T4a e T4b

T4d carcinoma inflamatório

LINFONODOS REGIONAIS (N)

Nx - Os linfonodos regionais não podem ser avaliados

N0 - Ausência de metástase

N1 - Linfonodo(s) homolateral(is) móvel(is) comprometido(s)

N2 - Metástase para linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is), fixos uns aos outros ou fixos a estruturas vizinhas ou metástase clinicamente aparente somente para linfonodo(s) da cadeia mamária interna homolateral

N2a - Metástase para linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is) fixo(s) uns aos outros ou fixos à estruturas vizinhas

N2b - Metástase clinicamente aparente somente para linfonodo(s) da cadeia mamária interna homolateral, sem evidência clínica de metástase axilar

N3 - Metástase para linfonodo(s) infraclavicular(es) homolateral(is) com ou sem comprometimento do(s) linfonodo(s) axilar(es), ou para linfonodo(s) da mamária interna homolateral clinicamente aparente na presença de evidência clínica de metástase para linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is), ou metástase para linfonodo(s) supraclavicular(es) homolateral(is) com ou sem comprometimento do(s) linfonodo(s) axilar(es) ou da mamária interna

N3a - Metástase para linfonodo(s) infraclavicular(es) homolateral(is)

N3b - Metástase para linfonodo(s) da mamária interna homolateral e para linfonodo(s) axilar(es)

N3c - Metástase para linfonodo(s) supraclavicular(es) homolateral(is)

METÁSTASES (M)

Mx metástase à distância não pode ser avaliada

M0 ausência de metástase à distância

M1 presença de metástase à distância (incluindo LFN supraclaviculares)

ESTADIAMENTO

Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio I	T1*	N0	M0
Estádio IIA	T0	N1	M0
	T1*	N1	M0
	T2	N0	M0

Estádio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estádio IIIA	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
Estádio IIIB	T4	N0,N1,N2	M0
Estádio IIIC	Qualquer T	N3	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1