



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

MARIA LÚCIA SOUZA SIQUEIRA

**PARÂMETROS DE SAÚDE METABÓLICA E VISUAL EM
PACIENTES DIAGNOSTICADAS COM CÂNCER DE MAMA
EM TRATAMENTO ANTICÂNCER**

BELÉM – PARÁ
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

MARIA LÚCIA SOUZA SIQUEIRA

**PARÂMETROS DE SAÚDE METABÓLICA E VISUAL EM
PACIENTES DIAGNOSTICADAS COM CÂNCER DE MAMA
EM TRATAMENTO ANTICÂNCER**

Tese de Doutorado submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neurociências e Biologia Celular – Área de concentração Biologia Celular.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Chagas Monteiro

Co-orientador: Prof. Dr. Givago da Silva Souza

BELÉM – PARÁ

2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Siqueira, Maria Lúcia Souza.
Parâmetros de Saúde Metabólica e Visual em Pacientes
Diagnosticadas com Câncer de Mama em Tratamento Anticâncer /
Maria Lúcia Souza Siqueira. — 2021.
116 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^ª. Dra. Marta Chagas Monteiro
Coorientador(a): Prof. Dr. Givago da Silva Souza
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em
Neurociências e Biologia Celular, Belém, 2021.

1. Câncer de mama. 2. Terapias anticâncer. 3. Tamoxifeno
e quimioterápicos. 4. Retina. 5. Metabolismo lipídico. I.
Título.

CDD 571.6

MARIA LÚCIA SOUZA SIQUEIRA

Parâmetros de Saúde Metabólica e Visual em Pacientes Diagnosticadas com Câncer de Mama em Tratamento Anticâncer

Tese de Doutorado submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neurociências e Biologia Celular – Área de Concentração Biologia Celular.

Data: 30 de setembro de 2021.

Orientação:

Profa. Dra. Marta Chagas Monteiro – Orientadora

Laboratório de Imunologia Clínica e Estresse Oxidativo (LABEIM) - UFPA

Prof. Dr. Givago da Silva Souza – Coorientador

Laboratório de Neurologia Tropical – NMT - UFPA

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão

Laboratório de Imunologia – UFCSPA

Profa. Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia

Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento – ICS - UFPA

Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira

Laboratório de Toxicologia – ICS – UFPA

Às pessoas queridas, alicerces de minha vida: pai Salomão, minha mãezinha Flordoalda e minha tia Ritinha, sem vocês não estaria aqui escrevendo minha história.

Dedico esta tese a minha mãe, que se estivesse viva, teria muito orgulho em receber esta homenagem, mas não deu tempo para expressar tamanha gratidão. Obrigada mãezinha por tudo que me deste, inclusive a vida.

Aos meus irmãos: Lucila, Higinia, Honorato, Roberto, Rômulo, Socorro, Manoel e Estélio. Obrigada pelo carinho e por sempre cuidarem da caçulinha.

Aos meus sobrinhos e demais familiares.

Ao meu companheiro, esposo e amigo, Marcelo Negrão Silva.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos vão para todos, que aceitaram embarcar na grande experiência do conhecimento científico, que contribuíram direta e indiretamente sendo parceiros e que mais tarde transformaram uma pergunta em uma resposta:

✚ Primeiramente a Deus, nosso pai celestial e espiritual. Fé e ciência, fazem uma combinação perfeita.

- 1) À Universidade Federal do Pará, pela PROPESP e PROGEP através dos programas PADT e PROQUALI de apoio a qualificação docente.
- 2) Laboratório de Imunologia Clínica e Estresse Oxidativo (UFPA) – Profa. Dra. Marta Chagas Monteiro e seus colaboradores: Farmacêutica-Bioquímica Lúcia Carla. Os mestrandos e doutorandos: Kely, Rose, Bruno, Sávio, João Paulo e Ana Lúgia – pelo apoio na realização das atividades experimentais, estresse oxidativo e demais atividades.
- 3) Aos alunos de graduação e iniciação científica – PIBIC: Sara, Denilson e Jonathan. Aprendemos juntos com o sofrimento humano. Vocês jamais esquecerão a vivência e a experiência de trabalhar com pessoas.
- 4) Laboratório de Toxicologia/ UFPA) – Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira – determinação dos metabólitos do Tamoxifeno e apoio ao projeto.
- 5) Laboratório de Neurologia Tropical/ NMT (UFPA) – Prof. Dr. Givago Souza e Railson Salomão – realização dos testes visuais. Obrigada por aceitarem apoiar o projeto e acolherem as pacientes.
- 6) Hospital Ophir Loyola (Belém/PA): divisão de pesquisa, setor de mastologia, farmácia oncológica, laboratório de análises clínicas, departamento de arquivos médicos, APAC e setor de quimioterapia: aos profissionais médicos, farmacêuticos, enfermeiros, biomédicos, téc. de laboratório, assistentes administrativos e serviços gerais, nosso respeito e agradecimento pelo desenvolvimento da pesquisa: seleção e entrevista das pacientes, guarda de material, coleta de dados, processamento de material biológico e determinação dos exames laboratoriais. Obrigada por abrirem as portas para a pesquisa e tornarem a vida do pesquisador menos complicada.

- 7) Laboratório de Imunologia (UFRGS) – Prof. Dr. Pedro Romão e Gilson Dorneles – realização das dosagens de citocinas e apoio ao projeto.
- 8) Ao Prof. Dr. Romel Burbano, no Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Ophir Loyola, pelo apoio inicial ao projeto.

Agradecimentos Especiais

- A todas as pacientes, mulheres adoecidas que aceitaram participar da pesquisa, muito obrigada (Marias, Éricas, Joanas, Cristinas, Nazarés, Andréias, ...).
- Minha orientadora Marta Chagas, além de orientadora uma grande amiga. Obrigada pela força, coragem e determinação.
- Ao José Luiz Vieira, amigo e colega de trabalho. Grande contribuição ao projeto. Obrigada por contribuir por mais este degrau na minha formação.
- Ao Givago, pela sua disponibilidade e aceitação à pesquisa.
- A todos os colegas da faculdade de Farmácia, muito obrigada pelo apoio.

“As espécies que sobrevivem não são as mais fortes, nem as mais inteligentes, e sim aquelas que se adaptam melhor às mudanças”.

Charles Darwin, 1809 – 1882.

RESUMO

O câncer de mama feminino, segundo as estimativas atuais, ainda vem atingindo um nível de incidência e prevalência bem elevado no Brasil e no Pará. A necessidade por estudos que venham ampliar o conhecimento sobre as opções terapêuticas e mitigar os danos sofridos pelo câncer, torna-se inovador em nossa região. Desta forma, objetivamos determinar e avaliar parâmetros de saúde metabólica e visual em pacientes diagnosticadas com câncer de mama expostas a terapias anticâncer. Os objetivos específicos foram divididos em três seções: Seção I: determinar marcadores lipídicos, antropométricos, estresse oxidativo e citocinas pró-inflamatórias para avaliar a saúde metabólica; Seção II: determinar os metabólitos de tamoxifeno (4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno) e correlacionar com lipídios sanguíneos para avaliar a interação e metabolismo da droga com lipídios; Seção III: realizar testes visuais para avaliar o efeito das terapias anticâncer na espessura da retina. Pesquisa aprovada pelo comitê de ética com parecer nº 1.915.051 (CEP-HOL) e 1.897.057 (CEP-ICS-UFPA) no período de março de 2017 a setembro de 2019. Foi constituída por 40 mulheres diagnosticadas com câncer de mama (Carcinoma Ductal Grau II e III) em um hospital público de referência oncológica em Belém do Pará e que consentiram participar da pesquisa. Um grupo de 20 pacientes formaram o grupo que estavam em quimioterapia (GQt), 20 pacientes o grupo em hormonioterapia com tamoxifeno (GTam) e um outro grupo de mulheres sem câncer foi constituído como controle comparativo (GC) a partir dos critérios de inclusão. Para a determinação dos marcadores bioquímicos, foi utilizado o método automatizado; a antropometria seguiu o manual do Ministério da Saúde; para o estresse oxidativo o método colorimétrico; para a dosagem de citocinas o método de ELISA; para a determinação do tamoxifeno e metabólitos no plasma foi utilizado a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE); para as análises da retina, foi utilizado a tomografia de coerência óptica (TCO). Os resultados obtidos, mostraram que as pacientes eram mulheres predominantemente com idade entre 40 a 50 anos, pardas, com renda de 1 a 3 salários mínimos, estavam na pré e pós-menopausa; apresentaram sobrepeso/ obesidade com IMC elevado, entre 25 a 29,9 kg/m², circunferência abdominal acima de 80 cm e não realizavam atividade física regular; os níveis médios de lipídios mostraram-se alterados em ambos os grupos estudados, mas com destaque para o grupo quimioterápico com elevação do Colesterol total, LDL e Triglicerídeos e baixos níveis de HDL colesterol, (p<0,05); os parâmetros antioxidantes (TEAC, GSH, CAT e SOD) mostraram baixos níveis de GSH e elevada atividade da CAT, para o grupo quimioterápico e em menor atividade para o grupo de tamoxifeno em relação ao controle (p<0,01); os parâmetros pró-oxidantes (MDA e NO),

mostraram que pacientes de quimioterapia apresentaram maior nível de peroxidação lipídica diferente das pacientes de tamoxifeno comparado ao controle ($p < 0,05$); a razão GSH/MDA mostrou maior sensibilidade aos danos oxidantes para as pacientes de quimioterapia ($p < 0,01$); quanto as citocinas, TNF- α e IL-6, mostraram-se elevadas tanto no grupo de quimioterapia quanto no grupo tamoxifeno ($p < 0,05$). As concentrações plasmáticas médias de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno foram 62 ng/mL, 1.04 ng/mL and 8.79 ng/mL; níveis de triglicerídeos variaram de 59 a 352 mg/dL, Colesterol total de 157 a 321 mg/dL, LDL-c de 72 mg/dL a 176 mg/dL e HDL-c de 25.1 mg/dL a 62.8 mg/dL; não houve associação significativa entre tamoxifeno e os metabólitos com os níveis de colesterol e triglicerídeos; houve fraca associação entre tamoxifeno e seus metabólitos ativos com HDLc, LDLc e VLDLc. A média da espessura macular da retina revelou não ter diferença significativa entre as pacientes que receberam quimioradioterapia e tamoxifeno com controle ($p > 0,05$); a espessura macular regional revelou que somente um campo macular apresentou diferença significativa entre dois grupos; no campo macular nasal externo, as pacientes de quimioradioterapia mostraram a espessura da retina mais fina em relação ao controle. Concluímos que pacientes de câncer de mama, expostas a quimioterapia e hormonioterapia, apresentaram: perfil lipídico desfavorável com níveis elevados de colesterol total, LDL, triglicerídeos e baixo HDL, sobrepeso e obesidade, menor capacidade antioxidante para as pacientes que receberam quimioterapia e níveis sistêmicos de citocinas inflamatórias, TNF- α e IL-6, elevados; houve fraca associação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno e seus metabólitos ativos com os níveis de HDL-c, LDL-c e VLDL-c, com baixo impacto dos níveis de lipoproteínas na exposição ao tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno; um campo macular foi alterado no grupo quimioterápico, que apresentou retina mais fina em comparação com o grupo controle, no entanto a estrutura da retina mostrou-se sensível à presença dos metabólitos do tamoxifeno no sangue.

Palavras-chave: Câncer de mama. Terapias anticâncer. Tamoxifeno e quimioterápicos. Retina. Metabolismo lipídico.

ABSTRACT

Female breast cancer, according to current estimates, is still reaching a very high level of incidence and prevalence in Brazil and Pará. The need for studies that expand knowledge about therapeutic options and mitigate the damage suffered by cancer becomes innovative in our region. Thus, we aim to determine and assess metabolic and visual health parameters in patients diagnosed with breast cancer exposed to anti-cancer therapies.

The specific objectives were divided into three sections: Section I: determine lipid, anthropometric, oxidative stress and pro-inflammatory cytokine markers to assess metabolic health; Section II: determine tamoxifen metabolites (4-hydroxy tamoxifen and endoxifen) and correlate with blood lipids to assess drug interaction and metabolism with lipids; Section III: Perform visual tests to assess the effect of anticancer therapies on retinal thickness. Research approved by the ethics committee with opinion number 1.915.051 (CEP-HOL) and 1.897.057 (CEP-ICS-UFPA) from March 2017 to September 2019. It consisted of 40 women diagnosed with breast cancer (Ductal Carcinoma Grade II and III) in a public cancer reference hospital in Belém of Pará and who consented to participate in the research. A group of 20 patients formed the chemotherapy group (GQt), 20 patients the tamoxifen hormone therapy group (GTam) and another group of women without cancer was constituted as a comparative control (GC) based on the inclusion criteria. For the determination of biochemical markers, the automated method was used; anthropometry followed the Ministry of Health manual; for oxidative stress the colorimetric method; for the measurement of cytokines the ELISA method; for the determination of tamoxifen and metabolites in plasma, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used; for retinal analyses, optical coherence tomography (OCT) was used. The results obtained showed that the patients were predominantly women aged between 40 and 50 years, brown, with an income of 1 to 3 minimum wages, were in pre- and post-menopause; were overweight/obese with high BMI, between 25 to 29.9 kg/m², waist circumference above 80 cm and did not perform regular physical activity; the mean levels of lipids were altered in both groups studied, but with emphasis on the chemotherapy group with elevation of total cholesterol, LDL and triglycerides and low levels of HDL cholesterol, ($p < 0.05$); the antioxidant parameters (TEAC, GSH, CAT and SOD) showed low levels of GSH and high CAT activity for the chemotherapy group and less activity for the tamoxifen group compared to the control ($p < 0.01$); the pro-oxidant parameters (MDA and NO) showed that chemotherapy patients had a higher level of lipid peroxidation than tamoxifen patients compared to control ($p < 0.05$); the GSH/MDA ratio showed greater sensitivity to oxidative

damage for chemotherapy patients ($p < 0.01$); as for cytokines, TNF- α and IL-6, they were elevated both in the chemotherapy group and in the tamoxifen group ($p < 0.05$). Mean plasma concentrations of tamoxifen, 4-hydroxy tamoxifen, and endoxifen were 62 ng/mL, 1.04 ng/mL and 8.79 ng/mL; triglyceride levels ranged from 59 to 352 mg/dL, total cholesterol from 157 to 321 mg/dL, LDL-c from 72 mg/dL to 176 mg/dL and HDL-c from 25.1 mg/dL to 62.8 mg/dL; there was no significant association between tamoxifen and metabolites with cholesterol and triglyceride levels; there was a weak association between tamoxifen and its active metabolites with HDLc, LDLc and VLDLc. Mean retinal macular thickness revealed no significant difference between patients who received chemoradiotherapy and control tamoxifen ($p > 0.05$); regional macular thickness revealed that only one macular field showed a significant difference between two groups; in the external nasal macular field, the chemoradiotherapy patients showed thinner retinal thickness compared to the control. We conclude that breast cancer patients exposed to chemotherapy and hormone therapy presented: unfavorable lipid profile with high levels of total cholesterol, LDL, triglycerides and low HDL, overweight and obesity, lower antioxidant capacity for patients who received chemotherapy and systemic levels of inflammatory cytokines, TNF- α and IL-6, elevated; there was a weak association between plasma concentrations of tamoxifen and its active metabolites with levels of HDL-c, LDL-c and VLDL-c, with a low impact of lipoprotein levels on exposure to tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and endoxifen; a macular field was altered in the chemotherapy group, which had a thinner retina compared to the control group, however the retinal structure was sensitive to the presence of tamoxifen metabolites.

Keywords: Breast cancer. Anti-cancer therapy. Tamoxifen and metabolites. Retinal thickness. Lipid metabolism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Unidades ductais lobulares com destaque para a unidade lobular ductal terminal e o local de origem em vários tipos de câncer de mama	24
Figura 2 – Esquema de um corte transversal ductal, representando a progressão do câncer de mama	25
Figura 3 – Resumo dos mecanismos que associam excesso de tecido adiposo (obesidade) com o desenvolvimento do tumor de mama.....	26
Figura 4 – Vias de sinalização do câncer produzido por estresse oxidativo	29
Figura 5 – Mecanismo de cardiotoxicidade da doxorubicina	32
Figura 6 – Metabolismo do tamoxifeno e principais metabólitos	34
Figura 7 – Efeitos do Tamoxifeno na indução da esteatose hepática	35
Figura 8 – Estrutura da retina neurossensorial	37
Figura 9 – Seleção das participantes da pesquisa e critérios de inclusão	52
Figura 10 – Fluxo de funcionamento das etapas de procedimentos e avaliações realizadas com as pacientes para inclusão na pesquisa e obtenção dos dados	53
Figura 11 – Fluxo de coleta de sangue e separação em alíquotas das amostras de sangue em soro e plasma para respectivas análises laboratoriais	54
Figura 12 – Equipamento de CLAE, sistema de dosagem por cromatografia líquida de alta definição para determinação das concentrações plasmáticas do tamoxifeno e metabólitos	55
Figura 13 – Autoanalisador COBAS® 6000 utilizado para as análises bioquímicas	56
Figura 14 – Aparelhagem do Tomógrafo de Coerência Óptica (OTC)	58
Figura 15 – Níveis de lipídeos em pacientes que receberam quimioterapia e hormonioterapia.....	64
Figura 16 – Mediadores antioxidantes de estresse oxidativo de pacientes em tratamento quimioterápico e com tamoxifeno	65
Figura 17 – Mediadores pró-oxidantes de estresse oxidativo de pacientes em tratamento quimioterápico e com tamoxifeno	67
Figura 18 – Níveis de citocinas pró-inflamatórias em amostras de pacientes submetidas a quimioterapia e tratamento hormonal.....	68

Figura 19 – Campos maculares da retina usados para medir a espessura da retina das participantes da pesquisa	79
Figura 20 – Espessura da retina de olhos de pacientes em quimiorradioterapia e tamoxifeno comparada ao grupo controle	79
Figura 21 – Espessuras de retinas relacionadas aos nove campos maculares de olhos de pacientes que receberam quimiorradioterapia e tamoxifeno comparada ao grupo controle	80

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 –	Características socioantropométricas e clínicas das pacientes, no período de março de 2017 a setembro de 2019 no hospital oncológico em Belém do Pará, Brasil	62
Tabela 2 –	Razão entre os mediadores antioxidantes com os pró-oxidantes entre os grupos que receberam tratamento quimioterápico e hormonioterápico	68
Tabela 3 –	Correlação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno com colesterol total e triglicerídeos	75
Tabela 4 –	Matriz de análise de regressão múltipla com concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno como variáveis de resultados	75
Quadro 1 –	Estadiamento do câncer de mama de acordo com os estágios	30
Quadro 2 –	Principais fármacos utilizados em esquemas de quimioterapia	30
Quadro 3 –	Fármacos moduladores seletivos de receptor de estrógeno (SERMS): principais grupos farmacológicos	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - 2,2-azino-bis (3- Etilbenzotiazolina, 6-sulfonato)
APAC - Sistema de autorização de procedimentos de alta complexidade);
CA - Circunferência Abdominal
CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAT - Catalase
CNS - Conselho Nacional de Saúde
CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CT - Colesterol total
DAME - Departamento de Arquivos Médicos
DNA - Ácido Desoxirribonucleico
DTNB - ácido-5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico
EROS - Espécies reativas de oxigênio
GSH - Glutathiona Reduzida
HDL-c - High-Density Lipoprotein Cholesterol
HOSPUB - Sistema Integrado de Informatização do Ambiente Hospitalar
IMC - Índice de Massa Corporal
LDL-c - Low-Density Lipoprotein Cholesterol
MDA - Malondialdeído
OMS - Organização Mundial da Saúde
NO - Óxido Nítrico
SOD – Superóxido Dismutase
TAM - Tamoxifeno
TBARS - Espécies Reativas de Ácido Tiobarbitúrico
TCO - Tomografia de Coerência Óptica
TEAC - Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox
TNB - Ácido Nitrobenzóico
UFPA - Universidade Federal do Pará
VLDLc - Very Low-Density Lipoprotein Cholesterol

LISTA DE SÍMBOLOS/ UNIDADES

L - litro

mL – mililitro

mg – miligramas

mg/dl – miligramas por decilitro

Nm – nanomoles

µm – micrómetros

pg/ml – picogramas por mililitro

mmol/L – milimol por litro

µmol/ml – micromol por mililitro

µmol/L – micromol por litro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Saúde e doença: a luta pela sobrevivência.....	21
1.2 O câncer de mama	22
1.2.1 Aspectos epidemiológicos	22
1.2.2 Aspectos clínicos	22
1.3 Fatores envolvidos na progressão do câncer de mama.....	25
1.3.1 Inflamação e obesidade: predisposição para o câncer de mama	25
1.3.2 Estresse e câncer.....	27
1.4 Terapias anticâncer adjuvantes e neoadjuvantes utilizadas no tratamento das pacientes com câncer de mama.	29
1.4.1 Quimioprevenção com quimioterápicos: antraciclina, ciclofosfamida e taxanos.....	29
1.4.2 Quimioprevenção com antiestrogênios ou hormonioterapia.....	31
1.4.3 Mastectomia: total ou parcial	36
2 OBJETIVOS.....	48
2.1. Objetivo Geral	48
2.2 Objetivos Específicos	48
2.2.1 Seção I: Marcadores lipídicos, antropométricos, estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e alterações metabólicas.	48
2.2.2 Seção II: Impacto dos níveis de lipoproteínas na exposição aos metabólitos do tamoxifeno durante a hormonioterapia.	48
2.2.3 Seção III: Influência dos tratamentos anticâncer na espessura da retina.....	48
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
3.1 Análise ética	51
3.2 Participantes da pesquisa	51
3.3 Medidas antropométricas.....	53
3.4 Amostras de sangue.....	53
3.5 Análise laboratorial das amostras	54
3.5.1. Determinação das concentrações plasmáticas de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e Endoxifeno por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	54
3.5.2. Determinação das concentrações plasmáticas de citocinas: TNF- α , IL-1- β e IL-6.....	55
3.5.3. Determinação das concentrações de Colesterol Total, HDLc, LDLc e Triglicérido.....	55
3.5.4. Determinação das enzimas de estresse oxidativo.....	56
3.6 Análise dos testes visuais	57
3.6.1. Avaliação da retina por Tomografia de Coerência Óptica (TCO) realizado no laboratório de eletrofisiologia do NMT/UFPA	57
3.7 Drogas, Reagentes e Kits.....	59
3.8 Análise Estatística.....	59
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1 Seção I: Marcadores lipídicos, antropométricos, estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e alterações metabólicas	62

4.1.1 Caracterização das pacientes	62
4.1.2 Marcadores de lipídios circulantes	64
4.1.3 Marcadores antioxidantes e pró-oxidantes de estresse oxidativo	65
4.1.4 Níveis sistêmicos de citocinas pró-inflamatórias	68
4.2 Seção II: Impacto dos níveis de lipoproteínas na exposição aos metabólitos do tamoxifeno durante a hormonioterapia	74
4.2.1 Correlação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno com os níveis de triglicerídeos, colesterol total e lipoproteínas nas pacientes	74
4.3 Seção III: Influência dos tratamentos anticâncer na espessura da retina.....	79
4.3.1 O impacto da quimiorradioterapia e hormonioterapia sobre a espessura da retina	79
5 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS	86
ANEXOS	97
APÊNDICES	112

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Saúde e doença: a luta pela sobrevivência

A maioria dos processos fisiológicos só pode operar sob uma gama restrita de condições, que são mantidas por mecanismos homeostáticos especializados frente a variações no ambiente e ajustadas em resposta a mudanças nas demandas funcionais e nas prioridades biológicas (LOMELI *et al.*, 2017).

Além do desafio em manter a constância do meio interno, a sobrevivência bem sucedida no mundo real depende de como o organismo tenta lidar com níveis flutuantes de estressores internos e ambientais, que incluem: estresse por calor, pelo frio, exercícios exaustivos, estresse oxidativo, privação de alimentos, estresse hipóxico ou anóxico, toxinas químicas, agentes microbianos, metais pesados, drogas, estresse mecânico, sal, álcool, osmolaridade e até mesmo estresse emocional e psicológico (CHROUSOS, 2009).

Todos esses estressores contribuíram para mudanças no estilo de vida da população humana no mundo moderno. Impactaram nas condições de saúde e qualidade de vida e de certa forma mudaram o perfil das doenças que mais incidem e modificam a saúde humana (SAHA *et al.*, 2017; THONG *et al.*, 2019).

Os genes envolvidos na proteção da inanição, infecções, lesões e danos ao organismo podem agora, na ausência de alguns desses desafios, contribuir para o aumento da incidência de doenças humanas modernas, incluindo a obesidade, diabetes tipo 2, aterosclerose, autoimunidade, alergia, câncer e certos transtornos psiquiátricos (KOTAS e MEDZHITOV, 2015).

Dentre as doenças com maior perfil de morbimortalidade, o câncer apresenta uma etiologia associada com o avanço da idade, cujo declínio frente a adaptações desregulam a homeostase e tornam o organismo vulnerável. A inflamação e o estresse crônico, embora interligados, envolvem uma ruptura com o microambiente interno e se estabelecem a medida que o organismo em face ao envelhecimento tendem a se ajustar em prol de uma adaptação a essas mudanças (KOTAS e MEDZHITOV, 2015; POMATTO e DAVIES, 2017).

1.2 O câncer de mama

1.2.1 Aspectos epidemiológicos

No mundo todo, o câncer de mama é o câncer mais diagnosticado com frequência em mulheres em todas as regiões do mundo independentemente da renda per capita. 1,7 milhões de casos de câncer de mama são diagnosticados a cada ano ou aproximadamente um novo caso reconhecido a cada 18 segundos. No entanto, as taxas de incidência variam quatro vezes, com maior incidência registrada em regiões de maior renda (92 por 100.000 na América do Norte) e menor incidência em regiões de baixa renda (27 por 100.000 na África Central e Ásia Oriental). Nos Estados Unidos, o câncer de mama é responsável por 14% dos cânceres identificados. Uma em cada oito mulheres americanas será diagnosticada com câncer em sua vida, com o maior percentual ocorrendo na faixa etária de 55-64 anos (WINTERS *et al.*, 2017).

No Brasil as estimativas não são diferentes. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2019), estimam-se que 66.280 casos novos de câncer de mama, para cada ano do triênio 2020-2022. Esse valor corresponde a um risco estimado de 61,61 casos novos a cada 100 mil mulheres. Para a região Norte do país, no estado do Pará a incidência seria de 780 novos casos no Pará e em Belém 320 novos casos, com uma taxa bruta de incidência de 37,8 para cada 100 mil habitantes (INCA, 2019).

Atualmente é o primeiro maior tipo de câncer que acomete as mulheres na fase de mudança fisiológica da menopausa e pela expectativa de vida. Mesmo sendo as mulheres mais acometidas, o câncer de mama masculino já aparece mesmo que em proporções menores (ALDOSSARY *et al.*, 2019).

1.2.2 Aspectos clínicos

O câncer de mama é uma doença causada pela multiplicação desordenada de células anormais da mama, que forma um tumor com potencial de invadir outros órgãos (INCA, 2019). As características das células cancerosas incluem perda da inibição do contato com outras células, resistência à apoptose e insensibilidade aos sinais de parada de crescimento celular (NOURAZARIAN *et al.*, 2014). No câncer, o componente apoptótico possui uma relação direta com alterações no equilíbrio entre os processos de morte celular programada e de proliferação onde uma vez a apoptose sendo inibida maior será o estado de proliferação celular e vice-versa (IRACHETA, 2007).

O câncer de mama envolve vários fatores considerados de risco sendo de natureza biológica e endócrina, tais como o envelhecimento, fatores relacionados à vida reprodutiva da mulher, história familiar de câncer de mama, alta densidade do tecido mamário (razão entre o tecido glandular e o tecido adiposo da mama) (STEINER e KLUBERT, 2008).

Com relação à idade, as taxas de incidência aumentam rapidamente até os 50 anos. Após essa idade, o aumento ocorre de forma mais lenta, que reforça a participação dos hormônios femininos na etiologia da doença. Entretanto, o câncer de mama observado em mulheres jovens apresenta características clínicas e epidemiológicas bem diferentes das observadas em mulheres mais velhas. Geralmente são mais agressivos, apresentam uma alta taxa de presença da mutação dos genes *BRCA1* e *BRCA2*, além de superexpressarem o gene do fator de crescimento epidérmico humano receptor 2 (*HER2*) (HIRATA *et al.*, 2014; INCA, 2019).

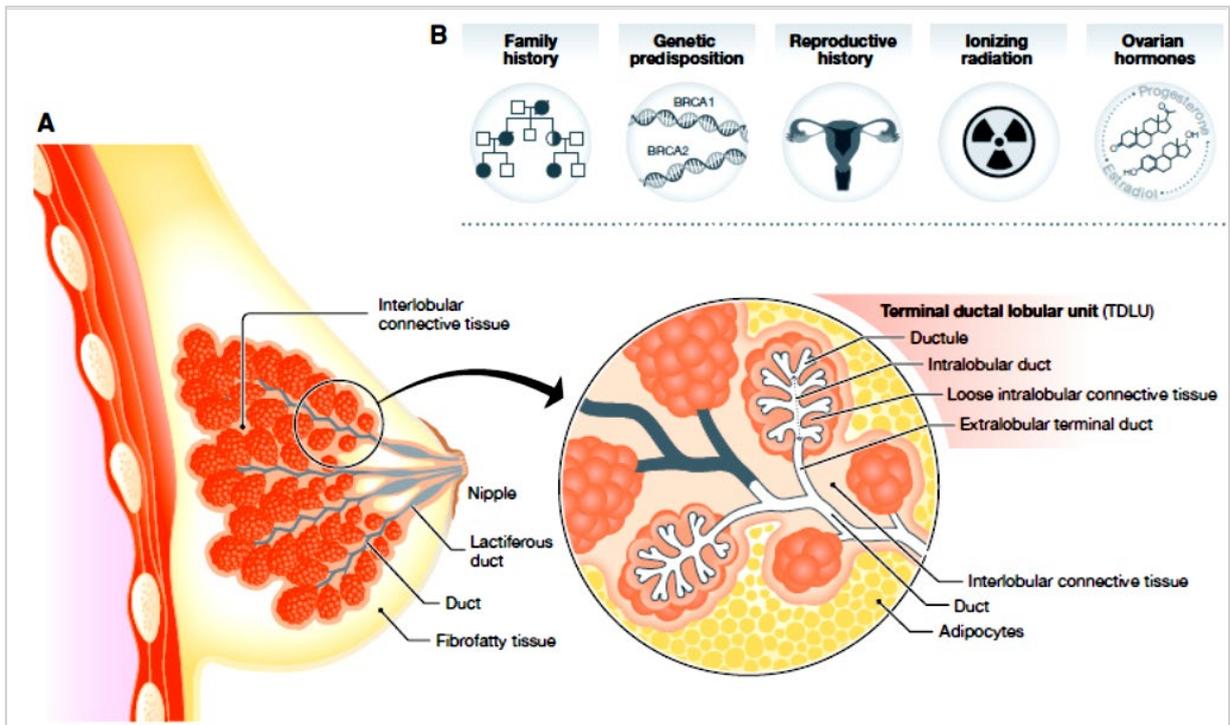
A exposição cumulativa da mama aos estrogênios e a progesterona configuram outro fator de risco preocupante quanto ao desenvolvimento do câncer. Estes hormônios ovarianos estimulam a divisão celular, levando a proliferação acentuada das células epiteliais da mama. A relação dos estrogênios com o desenvolvimento de tumores mamários na indução e promoção desses tumores foi demonstrado em estudos em roedores ovariectomizadas ou administração de antiestrogênicos (FEIGELSON e HENDERSON, 1996).

Os tumores de mama são classificados histologicamente de acordo com o local de origem: os tumores ductais se desenvolvem nos ductos mamários e representam 80% dos tumores, enquanto o tumor lobular se desenvolve dentro dos lobos mamários e correspondem a 10 a 15% dos casos. Outros subtipos representam menos de 10% dos casos diagnosticados por ano (HIRATA *et al.*, 2014).

Segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) 2012, os tumores epiteliais foram agrupados de forma diferente, com o reconhecimento de nove tipos especiais e suas variantes e 11 tipos muito raros de tumores mamários, além do carcinoma ductal invasivo sem outra especificação. Entre os subtipos especiais, foram incluídos os carcinomas lobulares invasivos, tubular e cribriforme, carcinomas com características medulares, carcinoma metaplásico, carcinoma com diferenciação apócrina, tumores tipo glândula salivar/anexos cutâneos, carcinoma adenoide cístico, carcinoma mucoepidermóide, carcinoma polimorfo, carcinomas mucinosos e com diferenciação em células em anel de sinete, carcinomas com elementos neuroendócrinos, carcinoma papilar invasivo e os tipos excepcionalmente raros e suas variantes. Dois padrões clínicos, carcinoma inflamatório e carcinomas mamários bilaterais sincrônicos e não sincrônicos, também foram incluídos na abordagem dos subtipos especiais (GOBBI, 2012).

Tharmapalan *et al.*, (2019), considerou o local e a origem dos vários tipos de câncer de mama (ductais e lobulares) para novas estratégias de prevenção e tratamento do câncer de mama. É pertinente conhecer a estrutura da mama, os fatores de risco e os estágios de desenvolvimento do câncer, pois são essenciais para a classificação e avaliação de estratégias de tratamento, prevenção e detecção de pacientes de alto risco, como mostra a Figura em a, b e c (Figuras 1 e 2).

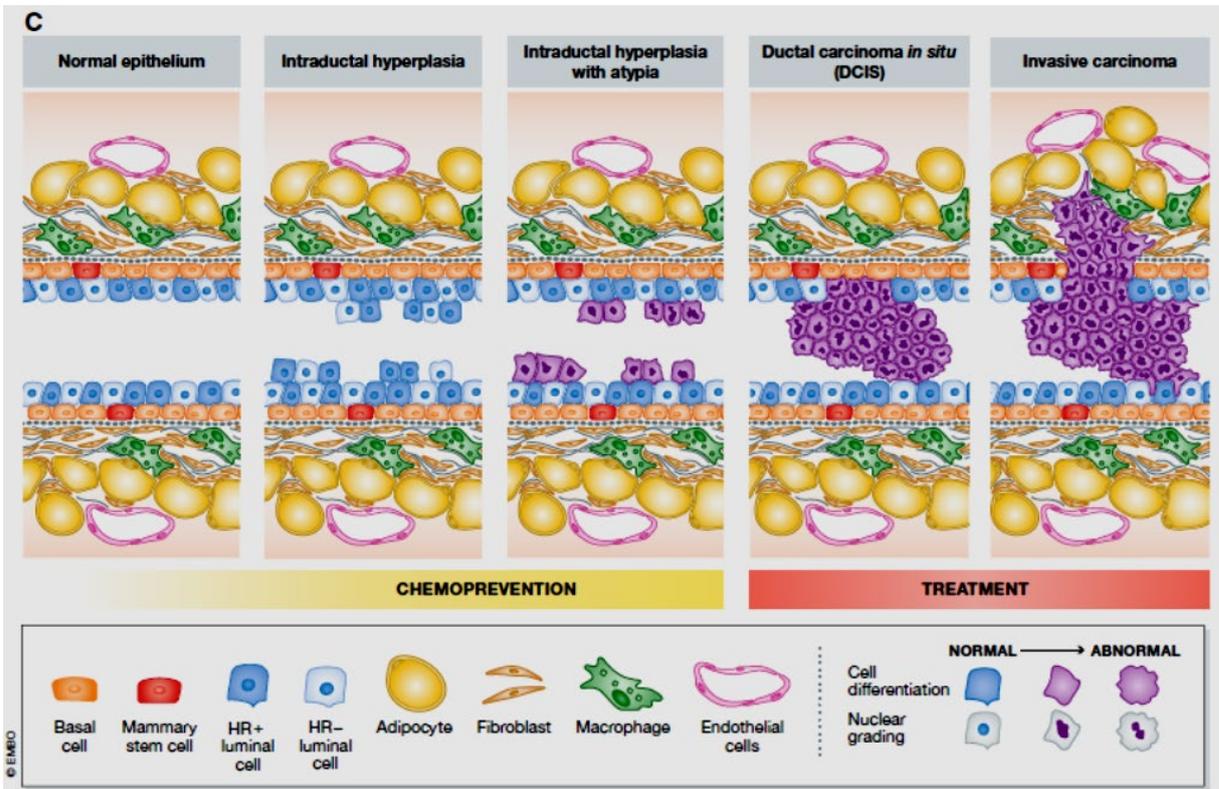
Figura 1 – Unidades ductais lobulares



Fonte: Tharmapalan *et al.*, 2019.

Nota: Destaque para a unidade lobular ductal terminal (TDLU), o local de origem em vários tipos de câncer de mama (a). Alguns dos principais fatores de risco que conferem o status de alto risco para câncer de mama (b).

Figura 2 – Esquema de um corte transversal ductal, representando a progressão do câncer de mama do epitélio de camada dupla normal para hiperplasia, de hiperplasia com atipia para carcinoma ductal *in situ* e finalmente, para doença invasiva



Fonte: Tharmapalan *et al.*, 2019.

A História familiar, predisposição genética, história reprodutiva, radiações ionizantes e hormônios ovarianos, configuram o que ainda é recomendado para uma triagem de alto risco.

1.3 Fatores envolvidos na progressão do câncer de mama

1.3.1 Inflamação e obesidade: predisposição para o câncer de mama

A obesidade é um novo fator de risco, para o qual mais pesquisas são necessárias para investigar a relação com o desenvolvimento do câncer (MODZELEWSKA, *et al.*, 2019).

Tanto o sobrepeso quanto a obesidade parecem estar inversamente relacionados à incidência de câncer de mama em mulheres na pré-menopausa, no entanto, no desenvolvimento do câncer de mama pós-menopausa, como ocorre com outros tumores, a obesidade tem sido considerada um importante fator de risco. Uma meta-análise de estudos observacionais prospectivos revelou essa relação, concluindo que há um risco elevado de 12% de câncer de mama em mulheres na pós-menopausa para cada aumento de 5 kg /m² no índice de massa corporal (IMC) (SÁNCHEZ-JIMENEZ *et al.*, 2019).

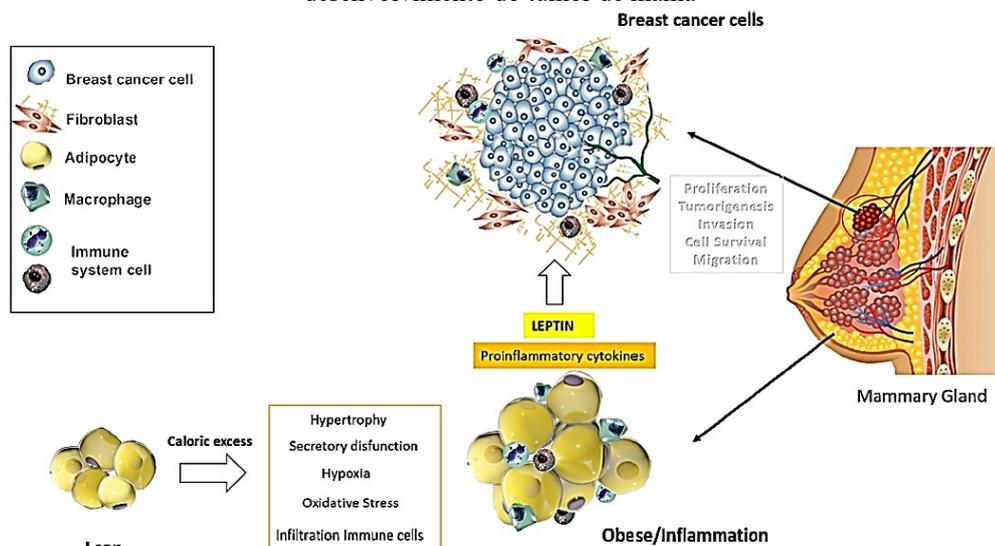
Na obesidade, o sistema imunológico responde por ativação de macrófagos e outras células que infiltram o tecido adiposo em resposta ao acúmulo de lipídios e do estresse nos adipócitos (KOTAS, M. E. e MEDZHITOV, E., 2015).

Os adipócitos produzem citocinas inflamatórias que são capazes de mudar pontos de referência homeostáticos em estados de inflamação crônica, assim como fazem em estados inflamatórios agudos. A justificativa para ajustar transitoriamente a resposta à insulina por exemplo, na inflamação aguda é presumida na mudança da alocação de nutrientes dos tecidos que têm menor prioridade durante a infecção (tecido adiposo e esquelético) para as defesas imunológicas de maior prioridade (KOTAS, M. E.; MEDZHITOV, E., 2015).

Park *et al.*, (2014) e Iyengar *et al.*, (2016) demonstraram que a inflamação crônica adiposa aumenta a sobrevivência e proliferação de células cancerígenas, promove angiogênese, disseminação metastática, altera a resposta imune antitumoral e interfere com os efeitos dos tratamentos hormonais ou quimioterápicos tendo um papel no prognóstico do câncer uma vez que envolve pontos de inflamação no sítio tumoral com infiltrados de macrófagos, produção de cicloxigenases 2, citocinas TNF-alfa, IL-1beta e IL-6 e proteína quimiotática de monócitos.

Para Sánchez-Jimenez (2019), a inflamação crônica assim como a desregulação dos hormônios sexuais, insulina e adipocinas como a leptina, compreendem os principais mecanismos que explicam a associação da obesidade com o câncer de mama, o que torna a leptina um potencial alvo terapêutico para tratamento do câncer de mama (Figura 3).

Figura 3 – Resumo dos mecanismos que associam excesso de tecido adiposo (obesidade) com o desenvolvimento do tumor de mama



Fonte: Sánchez-Jimenez, 2019.

Ahima *et al.*, (2004) descreveu que tanto a secreção quanto a circulação sistêmica de leptina possuem flutuações que seguem um ritmo circadiano e se modificam com o estado nutricional. Níveis circulantes de leptina comunicam o estado de armazenamento de energia ao cérebro. Estes níveis refletem a quantidade de tecido adiposo existente, aumentando a proporção do IMC. O que faz a leptina ser além de um hormônio (uma adipocina) é sua função de manter o balanço energético, participando da via anorexigênica através de um mecanismo de feedback central ao nível do hipotálamo.

Além disso, foi demonstrado que os níveis séricos de leptina são maiores nas mulheres em comparação aos homens, mesmo depois da correção do peso corporal. Isso pode ser explicado pela regulação da síntese subcutânea de estrogênios e androgênios. Essas variações no ganho de peso corporal comprometem a longo prazo a resposta terapêutica nos tratamentos anticâncer.

1.3.2 Estresse e câncer

Chrousos (2009), descreveu que o sistema de estresse é pertencente a uma atividade circadiana basal e que responde a estressores sob demanda. Uma atividade basal inadequada ou a responsividade do sistema, dependendo da magnitude e duração, pode prejudicar o crescimento, desenvolvimento e composição assim como pode ser responsável por muitas alterações comportamentais, endócrinas, metabólicas, cardiovasculares, autoimune e distúrbios alérgicos.

No nível molecular, os fatores de estresse induzem a produção e a secreção de hormônios tais como catecolaminas, glicocorticoides e dopamina como parte da resposta adaptativa do corpo. Os efeitos específicos exercidos por essas moléculas sobre as células cancerosas em culturas *in vitro* incluíram alterações na proliferação, susceptibilidade à apoptose e potencial de migração/invasão. Contudo, os autores sugeriram que os hormônios do estresse podem ser responsáveis pela progressão da malignidade e acelerar a formação de metástases em pacientes com câncer (SURMAN e JANIK, 2017).

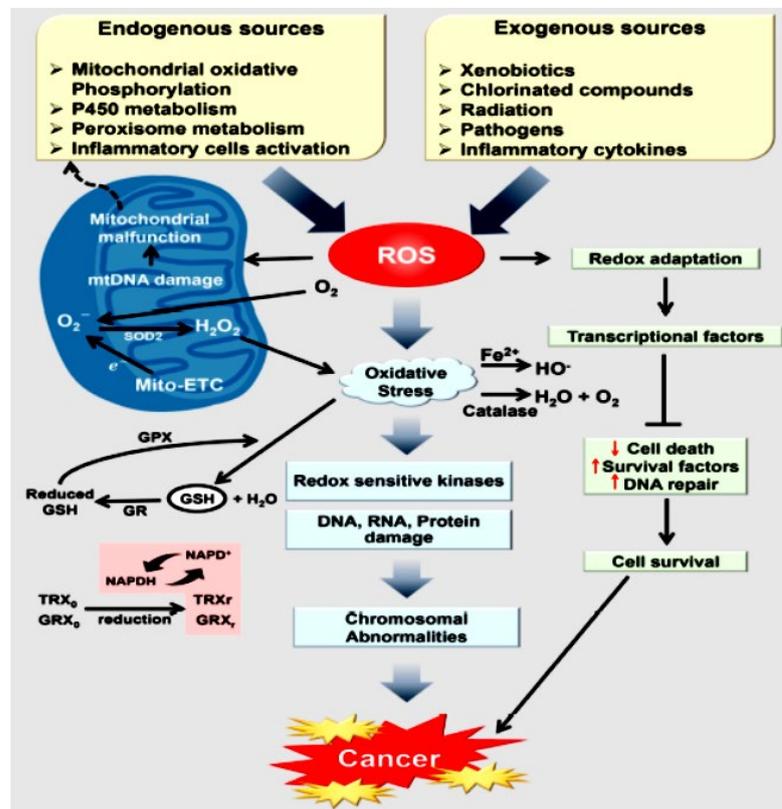
Tanto a adrenalina quanto noradrenalina exemplificam os sinais que amplificam o estresse durante o câncer, pois estimulam o crescimento tumoral uma vez evidenciado em pacientes com câncer de ovário, onde os níveis de norepinefrina no tumor correlacionou-se positivamente com o seu tamanho, grau e estágio da doença (LUTGENDORF *et al.*, 2008).

Saha *et al.* (2017) relacionou a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) com câncer. Uma associação entre estresse oxidativo e alteração celular foi reconhecida pela

primeira vez em 1981, quando foi identificado que a insulina elevou os níveis intracelulares de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a proliferação de células tumorais. O aumento nos níveis de EROS do estresse oxidativo, como consequência da ativação de vias de sinalização oncogênica, podem estimular a mutagênese e a variabilidade genômica nas células cancerosas e estimular a progressão do câncer. As células cancerosas exigem altos níveis de ATP porque atua como "combustível" para proliferação de células anormais.

EROS também estão relacionados como mediadores de efeitos adversos de algumas drogas anticâncer e radiação ionizante, contudo as células tronco podem ser selecionadas agressivamente por ações que dependem dos níveis de EROS aumentados. Além disso, o estresse oxidativo pode causar mais mutações e danos ao DNA, resultando na expansão do câncer resistente a drogas. A Figura 4 mostra as vias de sinalização do câncer estimuladas por fatores endógenos e exógenos que levam a formação de EROS e estresse oxidativo.

Figura 4 – Vias de sinalização do câncer produzido por estresse oxidativo



Nota: SOD: superóxido dismutase; Mito-ETC: cadeia de transporte de elétrons mitocondrial; GSH: glutatona; GR: glutatona redutase; GPX: glutatona peroxidase; GRX $_o$: glutaredoxina (oxidada); GRXr: glutaredoxina (reduzida); GSHr: glutatona (reduzida); TRX $_o$, tioredoxina (oxidada); TRXr: tioredoxina (reduzida). As setas em preto representam ativação e em T representam inibição. Setas coloridas em vermelho representam regulação para cima e para baixo.

1.4 Terapias anticâncer adjuvantes e neoadjuvantes utilizadas no tratamento das pacientes com câncer de mama.

De acordo com o American Cancer Society (2016), o estadiamento dos tumores de mama, seguem uma classificação que definem o tratamento conforme o Quadro 1.

Quadro 1 – Estadiamento do câncer de mama de acordo com os estágios

Estágio 0	Estágio I a III	Estágio IV
<p>Carcinoma lobular <i>in situ</i></p> <p>Carcinoma ductal <i>in situ</i></p>	<p>Cirurgia e radioterapia, muitas vezes junto com a quimioterapia ou outras terapias medicamentosas antes ou após a cirurgia.</p> <p>Estágio I: são pequenos e não se disseminaram para os linfonodos.</p> <p>Estágio II: são maiores que os do estágio I e/ou se disseminaram para alguns linfonodos.</p> <p>Estágio III: o tumor é maior ou está crescendo nos tecidos próximos ou se disseminou para vários linfonodos próximos.</p>	<p>Câncer de mama avançado</p> <p>Disseminação para outros órgãos.</p> <p>Requer quimioterapia, terapia hormonal, terapia alvo e imunoterapia.</p>

Fonte: American Cancer Society, 2016.

1.4.1 Quimioprevenção com quimioterápicos: antraciclinas, ciclofosfamida e taxanos.

A quimioterapia, de acordo com seu objetivo, pode ser curativa (quando usada com o objetivo de obter o controle completo do tumor), adjuvante (quando realizada após a cirurgia, com objetivo de eliminar as células cancerígenas remanescentes, diminuindo a incidência de recidiva e metástases à distância), neoadjuvante (quando realizada para reduzir o tamanho do tumor, visando que o tratamento cirúrgico possa ter maior sucesso) e paliativa (sem finalidade curativa, é utilizada para melhorar a qualidade da sobrevivência do paciente) (ONCOGUIA, 2019).

Na quimioterapia do câncer de mama estão incluídas diferentes opções de combinações de fármacos e diferem dependendo da fase da doença. O Quadro 2 apresenta as classes farmacológicas dos principais quimioterápicos utilizados:

Quadro 2 – Principais fármacos utilizados em esquemas de quimioterapia

Fármacos Quimioterápicos/ Grupos farmacológicos	
Antraciclínas	Doxorrubicina, epirubicina, idarrubicina
Alquilantes	Ciclofosfamida, Ifosfamida
Antimicrotúbulos/ Taxanos	Docetaxel Paclitaxel
Fluoropirimidinas	5-Fluorouracil

Fonte: SBOC, 2011.

Os esquemas terapêuticos, podem variar em combinação de dois a três quimioterápicos por esquema terapêutico. Como exemplo: FAC (5-Fluorouracil + Adriamicina (Doxorrubicina) + Ciclofosfamida); FEC (5-Fluorouracil + Epirubicina + Ciclofosfamida). Outros esquemas compreendem: Quimioterapia Adjuvante e Neoadjuvante (Doxorrubicina e epirubicina, Paclitaxel e docetaxel, 5-fluorouracil, Ciclofosfamida, Carboplatina); Quimioterapia do Câncer Avançado (Docetaxel, Paclitaxel, Cisplatina, Carboplatina, Vinorelbina, Capecitabina, Doxorrubicina, Gemcitabina, Mitoxantrona, Ixabepilona, Eribulin).

A quimioterapia é administrada em ciclos, com cada período de tratamento seguido por um período de descanso, para permitir que o corpo possa se recuperar. Cada ciclo de quimioterapia dura em geral algumas semanas.

Quanto aos efeitos adversos, a falta de seletividade celular desses fármacos está associada a ocorrência de efeitos adversos, devido sua ação em células normais e tecidos (YAACOB, 2014; ADÃO, 2013).

As antraciclínas (doxorrubicina, epirubicina, idarrubicina, mitoxantrone e daunorrubicina) são utilizadas para tratamento oncológico de leucemias agudas, Linfoma Hodgkin e não Hodgkin e câncer de mama. Os protocolos para administração de antraciclínas e taxanos se tornaram esquemas padrão de quimioterapia adjuvante e neoadjuvante para a maioria dos pacientes com câncer de mama, devido a maior eficácia clínica e redução de recorrências. Estes quimioterápicos têm eliminação complexa e envolvem várias enzimas metabolizadoras e transportadores, cujos genes são polimórficos e assim levam a maior variabilidade individual e ao perfil de resposta diferenciado a cada fármaco (PIRANDA *et al.*, 2013).

Além do polimorfismo, a cardiotoxicidade causada principalmente por antraciclina, desenvolvem toxicidade cardiovascular, devido as lesões nos cardiomiócitos mediada pelo estresse oxidativo ocasionado pela elevada produção de EROS e apoptose (ADÃO *et al.*, 2013).

Os alquilantes (ciclofosfamida) que são utilizados no tratamento de câncer de bexiga, endométrio, câncer de mama, ovário, pulmão e neoplasias hematológicas também são cardiotoxicos e produzem EROS.

Os fármacos antimicrotúbulos (paclitaxel, docetaxel) utilizado para tratamento oncológico de câncer de mama, ovário, pulmão, próstata, dentre outros, estão relacionados com lesões nos cardiomiócitos.

Os efeitos adversos provocados por quimioterápicos, ou seja, as diferentes drogas em diferentes esquemas terapêuticos, não apresentam mecanismos de indução de toxicidade bem esclarecidos. Um dos mecanismos bem descritos é de cardiotoxicidade, onde a formação de um metabólito tóxico, o doxorubicinol, quando acumulado no cardiomiócito, leva a modificações na função com formação de EROS, peroxidação lipídica e disfunção celular proveniente do uso da doxorubicina (Figura 5).

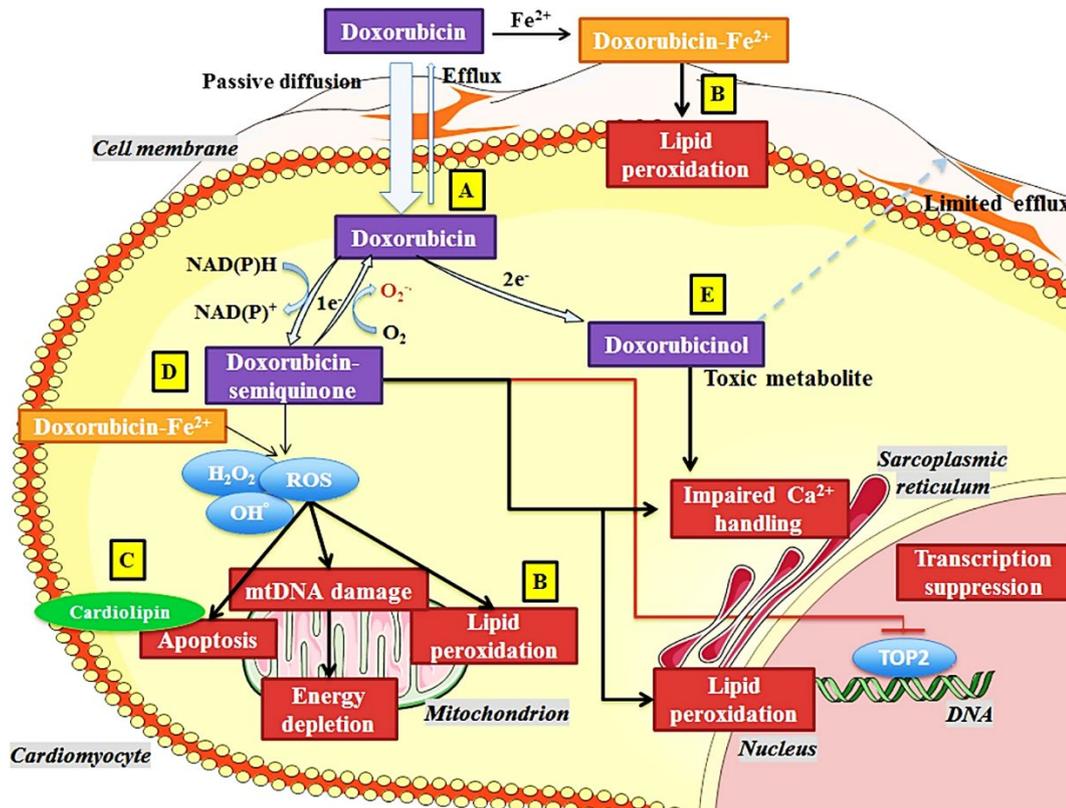
1.4.2 Quimioprevenção com antiestrogênios ou hormonioterapia

Dentre os cânceres de mama, 67% são receptores hormonais positivos. Suas células têm receptores que se ligam aos hormônios estrogênio (RE+) e/ou progesterona (RP+), contudo formam os tipos de câncer de mama dependentes de estrogênio. A classe terapêutica utilizada atualmente são os Moduladores Seletivos de Receptor Estrogênico (SERMS), tendo o tamoxifeno o mais prescrito para quimioprevenção e profilaxia.

Tamoxifeno (TAM)

O tamoxifeno é um agente adjuvante na terapia do câncer de mama, foi o primeiro a pertencer à classe dos SERMS. Eles atuam competitivamente com os receptores de estrógeno, podendo ser agonistas ou antagonistas de acordo com o tecido e com a estimulação ou não dos receptores (BURSTEIN *et al.*, 2010); (JORDAN *et al.*, 2007). São classificados em vários grupos químicos: Trifeniletileno, benzotiofeno, tetrahidronaftileno, indóis e benzopiranos (Quadro 3).

Figura 5 – Mecanismo de cardiotoxicidade da doxorubicina



Fonte: Corremans *et al.*, 2018.

Nota: (A): DOX entra facilmente nas células por difusão passiva e se acumula no cardiomiócito; (B): DOX induz a peroxidação lipídica na célula e nas membranas mitocondriais por meio de complexação com Fe^{2+} ; (C): DOX se acumula na mitocôndria devido à alta afinidade pela cardiolipina; (D): redução de um elétron de DOX a um intermediário semiquinona resulta em estresse oxidativo, levando a danos ao DNA, esgotamento de energia e apoptose. Prejudica o processamento de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático e inibe a transcrição de importantes elementos contráteis. (E): a redução de dois elétrons resulta na produção de doxorubicinol (metabólito tóxico) - efluxo limitado - potente inibidor da bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático e outras bombas de troca iônica. TOP2 (Topoisomerase).

Quadro 3 – Fármacos moduladores seletivos de receptor de estrógeno (SERMS): principais grupos farmacológicos

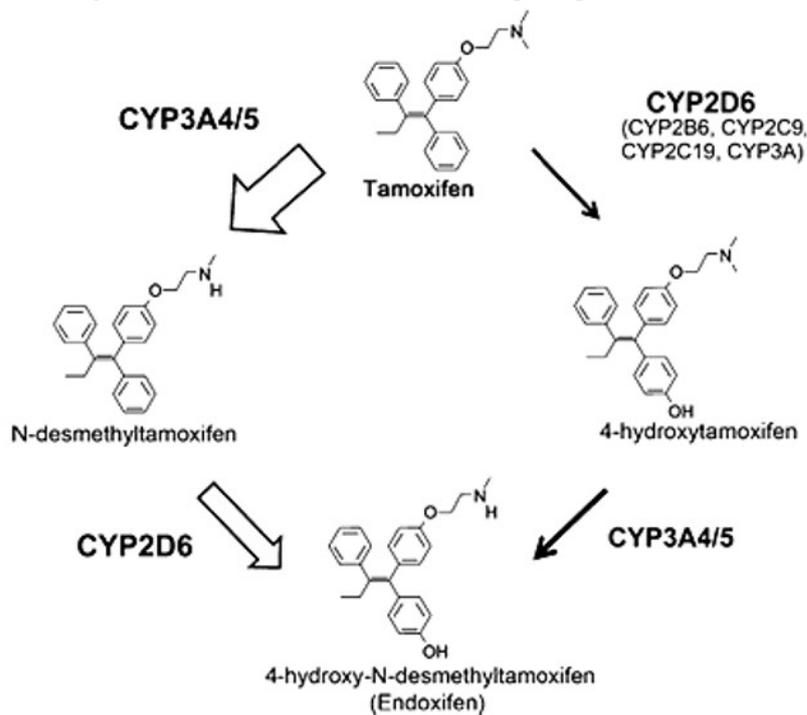
GRUPOS QUÍMICOS	
Trifeniletílenos	Tamoxifeno, Idoxifeno, Clomifeno, Toremifeno
Benzotiofenos	Raloxifeno, Arzoxifeno
Tetrahidronaftílenos	Lasoxifeno, Nafoxidino
Indois	Basedoxifeno
Benzopiranos	EM-800, Levormeloxifeno

Fonte: DIEZ-PEREZ, 2006.

O tamoxifeno pode ser iniciado após a cirurgia (terapia adjuvante) ou antes da cirurgia (terapia neoadjuvante) e geralmente é administrado por 5 a 10 anos. Por ser clinicamente mais utilizado, reduz o risco de recorrência de câncer de mama em todas as idades (BRIEST e WOLFF, 2007) e também em homens (GIORDANO et al., 2005). É considerado fármaco padrão ouro na terapia endócrina para mulheres na pré-menopausa e pode ser usado como agente preventivo em mulheres na pré-menopausa e pós-menopausa com alto risco de câncer de mama.

O Tamoxifeno, após administração oral é absorvido rapidamente, atingindo concentrações séricas máximas em 3 a 7 horas. Uma dose oral de 10 mg produz um pico sérico de 20 a 30 ng TAM / ml em 4 a 7 horas após a administração. Em terapia contínua com 10 ou 20 mg, o tamoxifeno pode atingir o estado estacionário em 4 semanas. O fármaco é altamente lipofílico e possui alta ligação proteica à albumina sérica (> 99%), atravessa a barreira hematoencefálica e o volume de distribuição alcança 20L/kg (JORDAN, 2007). O metabolismo ocorre por hidroxilação, desmetilação e conjugação, resultando em vários metabólitos ativos, que possuem um perfil farmacológico semelhante ao do fármaco original, contribuindo para o efeito terapêutico. O tamoxifeno é metabolizado 4-hidroxitamoxifeno e 4-hidroxi-N-desmetiltamoxifeno (endoxifeno), que é o principal metabólito com uma meia-vida longa (JORDAN, 2007) (Figura 6).

Figura 6 – Metabolismo do tamoxifeno e principais metabólitos



Fonte: JORDAN, 2007; ANTUNES et al., 2013.

O tamoxifeno é metabolizado por tipos específicos de isoenzimas do citocromo P-450. Neste processo a droga sofre N-desmetilação e hidroxilação, sendo então metabolizada respectivamente para N-desmetiltamoxifeno e 4- hidroxitamoxifeno, onde este segundo composto possui uma atividade antiestrogênica muito mais potente do que o fármaco original.

Ambos os metabólitos ainda podem sofrer uma conversão em 4-hidroxi-N-desmetiltamoxifeno. As isoenzimas responsáveis pela metabolização do tamoxifeno são CYP2D6, CYP3A4 e a CYP2C9. O tamoxifeno é hidrolisado pela CYP2D6, sendo que a CYP3A4 e a CYP2C9 também participam do processo hidroxilando o tamoxifeno para 4-hidroxitamoxifeno que possui meia-vida curta por causa do metabolismo de fase II. A CYP3A4 age na formação do 4-Hidroxi-N-desmetiltamoxifeno (endoxifeno), metabólito principal que apresenta uma meia-vida longa (JORDAN, 2007).

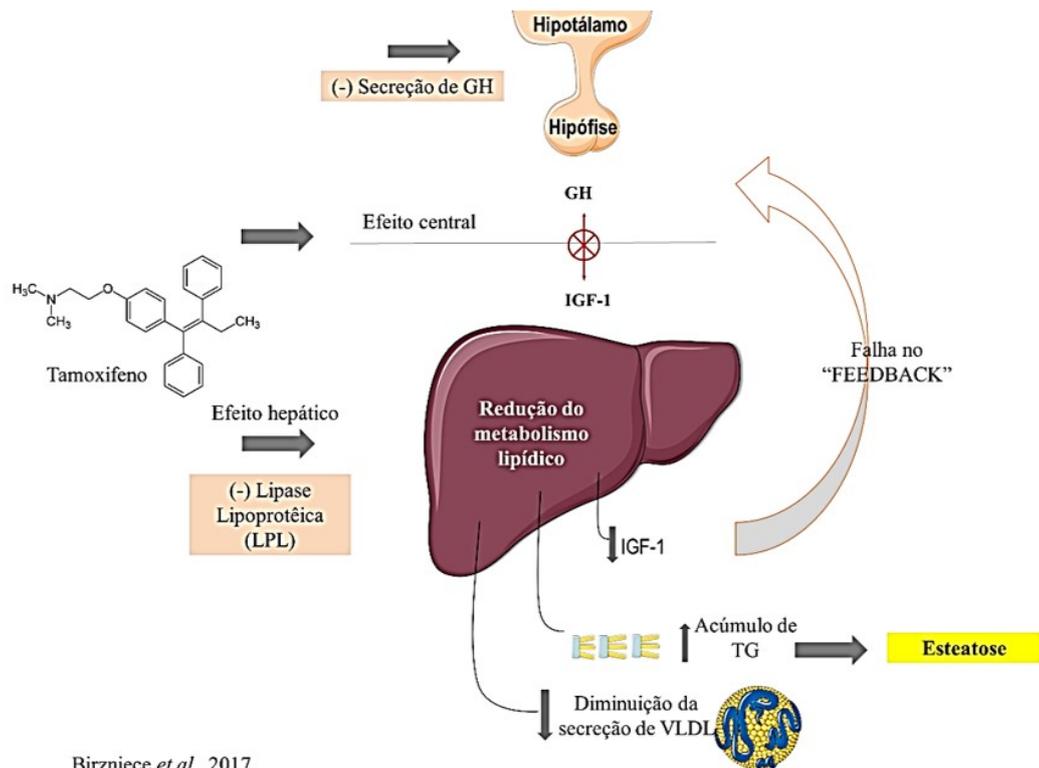
O tratamento com tamoxifeno, envolve reações adversas significativas, cujos efeitos compreendem alteração no metabolismo de lipídios com hipertrigliceridemia, um dos mais relatados na literatura. O mecanismo está relacionado com a supressão do eixo hormônio do crescimento (GH) – Fator de Crescimento semelhante a Insulina-1 (IGF-1), causando inibição no metabolismo lipídico, da secreção de VLDL hepático e aumento de triglicerídeos (BIRZNIECE *et al.*, 2017). Assim como, inibição da Lipase Lipoproteica (LPL) (HOZUMI *et al.*, 2000) (Figura 7).

Radioterapia

Conforme o Instituto Oncoguia (2016), os procedimentos de radioterapia, compõem a terapia por raios eletromagnéticos (Raios X ou Raios gama) e os elétrons (disponíveis em aceleradores lineares de alta energia). A indicação terapêutica é necessária quando:

- Nenhum linfonodo comprometido: será irradiada a parede torácica e os locais de saída dos drenos.
- Se cirurgia conservadora da mama: será irradiada toda a mama para evitar uma recidiva nessa região.
- Se diagnosticado câncer nos linfonodos axilares: essa área também é irradiada. Em alguns casos, a área tratada também pode incluir os linfonodos supraclaviculares e os linfonodos mamários internos.

Figura 7 – Efeitos do tamoxifeno na indução da esteatose hepática



Fonte: OZUMI *et al.*, 2000.

Nota: Efeito central: Tamoxifeno inibe a secreção do GH, suprime o eixo GH-IGF-1: diminuição de IGF-1 no fígado, redução do metabolismo lipídico, diminuição da secreção de VLDL, acúmulo de TG – esteatose (BIRZNIECE *et al.*, 2017). Efeito hepático: inibição da atividade da LPL – aumento de TG.

A radioterapia é administrada 5 vezes por semana (segunda a sexta-feira) por cerca de 5 a 6 semanas ou hipofracionada (doses maiores num período mais curto), sendo:

- Radioterapia Hipofracionada: administrada em altas doses por 3 semanas – outros esquemas usam doses maiores de radiação, administradas a cada dia, mas o ciclo da radiação é reduzido para apenas 5 dias.
- Radioterapia Intraoperatória: uma única alta dose de radiação é administrada na sala cirúrgica logo após a cirurgia conservadora da mama.
- Radioterapia Conformacional 3D: a radioterapia é administrada com equipamentos especiais, direcionada para a área do tumor. Isso permite que mais mama saudável seja poupada. Os tratamentos são administrados duas vezes ao dia durante 5 dias.

1.4.3 Mastectomia: total ou parcial

Corresponde aos procedimentos cirúrgicos de remoção da mama:

- Mastectomia Simples: remoção de toda a mama, incluindo o mamilo, mas não remove os linfonodos axilares e o tecido muscular sob a mama. Às vezes, os linfonodos são removidos em um procedimento diferente durante a mesma cirurgia.
- Mastectomia Dupla: se a mastectomia é feita em ambas as mamas é denominada mastectomia dupla ou bilateral. Esse procedimento é muitas vezes considerado como uma cirurgia preventiva para mulheres com alto risco de desenvolver câncer na outra mama, como àquelas que têm uma mutação no gene BRCA.
- Mastectomia Poupadora da Pele: Neste procedimento, a maior parte da pele da mama é preservada.
- Mastectomia Poupadora do Mamilo: é uma variação da mastectomia poupadora de pele.
- Mastectomia Radical Modificada: combina a mastectomia simples com a remoção dos linfonodos axilares, denominada dissecação do linfonodo axilar.
- Mastectomia Radical: o cirurgião remove toda a mama, os linfonodos axilares e os músculos peitorais (parede torácica) sob a mama, porém pouco realizada.

Todas as terapias anticâncer impactam de alguma forma no organismo, levando a modificações em diferentes sistemas biológicos.

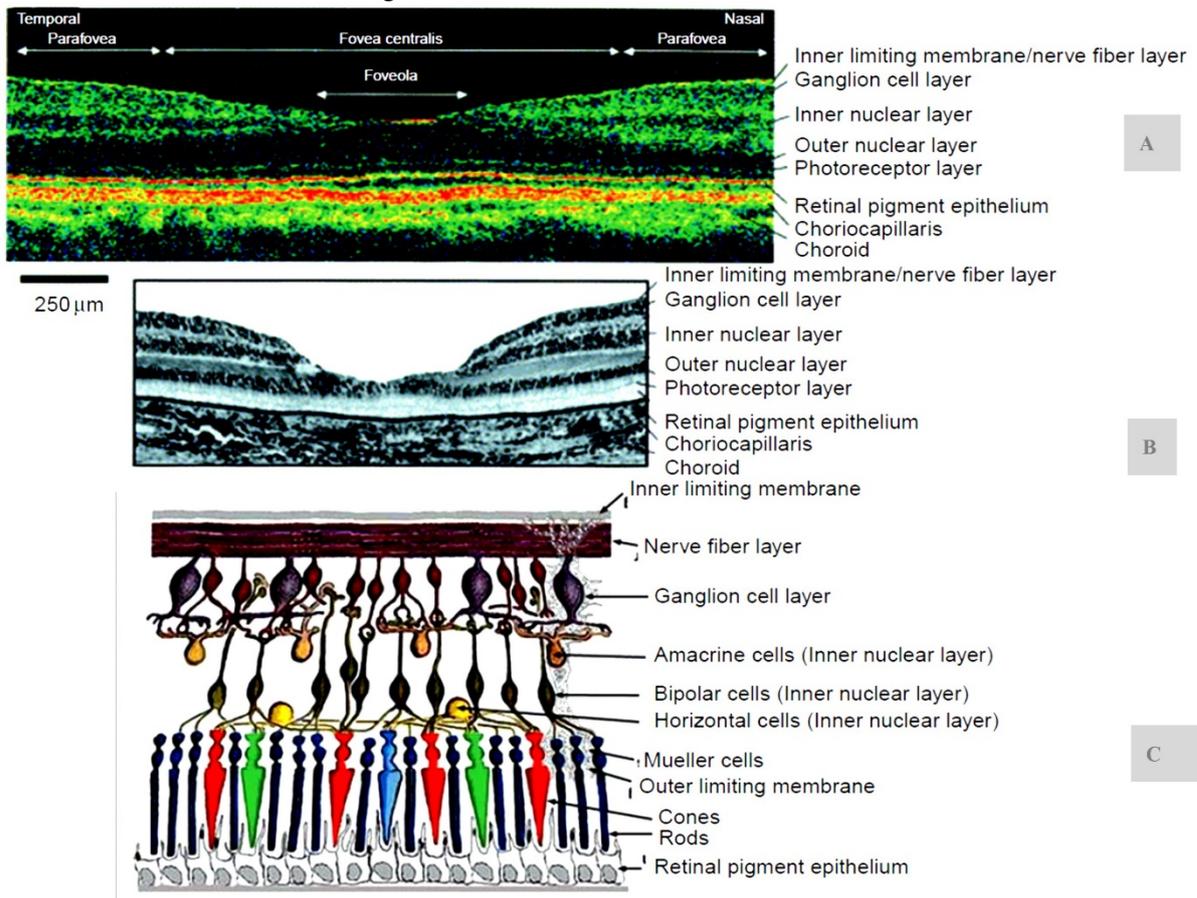
1.4 Sistemas biológicos e os efeitos das terapias anticâncer

A forma como cada sistema biológico responde a determinadas agressões de natureza química, física e biológica é muito complexa e depende do nível de sensibilidade para cada estressor.

1.4.1 Sistema visual

A retina é a parte neural e contém os fotorreceptores e vários outros tipos de células que atuam na tradução das ondas de luz em informação visual. A Figura 8 ilustra as camadas de células da retina.

Figura 8 – Estrutura da retina neurosensorial.



Fonte: PRASAD, 2011.

Nota: (A) Imagem por Tomografia de coerência óptica de alta resolução (TCO); (B) Imagem de secção histológica; (C) representação esquemática das camadas da retina.

O corte ilustrativo da retina neurosensorial é composto com suas diferentes camadas (camada de fibra nervosa, camada de células ganglionares, camada nuclear interna, camada nuclear externa, camada de fotorreceptores e camada pigmentar) visualizadas por metodologia de tomografia de coerência óptica (OCT) muito usada para medidas da espessura macular e importante para estimar o dano neural.

Os efeitos deletérios de fármacos na visão, tornam o olho muito sensível, visto que apresenta uma vascularização muito rica e suscetível aos transtornos associados com a administração de medicamentos de uso tópico, local e sistêmico. Estes efeitos podem ser rápidos ou transitórios como a deterioração da acomodação visual, reflexos pupilares, diminuição transitória da acuidade visual e alteração na visão de cores. Do contrário pode levar a efeitos graves como anomalias dos movimentos oculares, glaucoma, cataratas e retinopatias. A maioria dos efeitos adversos são leves e desaparecem com a suspensão do tratamento ou podem levar a danos irreversíveis (ANDRÉS *et al.*, 2008).

Reações tóxicas oculares são relativamente raras, com uma incidência na literatura, variando de 0,9 a 12%, consistindo de retinopatia cristalina, depósitos na córnea, neurite óptica e edema macular cistóide. O tempo e administração do fármaco que pode induzir a toxicidade ocular são variáveis, sendo que na maioria dos casos de complicações na retina ocorreram em pelo menos um ano após o início do tratamento (INNADA *et al.*, 2005).

Um fator importante é a idade e as respostas oculares e visuais associadas aos fármacos. Pacientes com idade avançada seriam maiores candidatos a terem comprometimentos de retina como a degeneração macular relacionada à idade, ou seja, menor área de retina saudável, o que aumentaria o risco de uma possível toxicidade da droga. Além disso, poderia dificultar o diagnóstico precoce do que é uma alteração degenerativa de uma doença secundária ao uso do medicamento (LACAVA, 2010).

O sistema visual, contudo, é usado com frequência em estudos como um indicador de neurotoxicidade a solventes orgânicos, metais e drogas (CHEN, *et al.*, 2013; MELA, *et al.*, 2012; YUSUF *et al.*, 2017). Chen *et al.* (2013) relatou que o tamoxifeno pode ser tóxico para várias células do sistema nervoso central.

A primeira revisão de estudos clínicos de Aisner e Luoh (2011) sobre os efeitos da quimioterapia na visão em pacientes com câncer de mama, mostrou efeitos gerais como: taxanos associados a neuropatias sensoriais periféricas e a distúrbios que afetam a função visual e formação de edema macular cistóide; o 5-fluorouracil (5-FU) formando estenose de canais lacrimais e olhos secos; metotrexato com inflamação da superfície ocular; o anti-estrogênio tamoxifeno na indução de catarata subcapsular e toxicidade retinal (NAYFIELD e GORIN, 1996), embora seu efeito em doenças da retina, devido à neuroinflamação e perda de fotorreceptores tenha sido conduzido como um neuroprotetor no resgate de fotorreceptores expostos a drogas citotóxicas (WANG *et al.*, 2017).

Tuxen e Hansen, (1994), mostraram que no sistema nervoso periférico e central, a quimioterapia, incluindo 5-FU, doxorrubicina, metotrexato, paclitaxel e tamoxifeno, administrada como parte do regime de terapia adjuvante para mulheres com câncer de mama, além de neurotoxicidade, estava envolvido com processo inflamatórios e aumento de citocinas.

Concomitantemente à neurotoxicidade, a inflamação progressiva presente nos estágios avançados do câncer, leva a alterações cognitivas e comportamentais observadas após o tratamento com quimioterapia. Ganz *et al.*, (2012), estudaram pacientes com câncer de mama na fase pós-quimioterapia e demonstraram que níveis elevados de TNF α teriam um papel importante na disfunção cognitiva. Kesler *et al.*, (2012), também mostraram que altas

concentrações de IL-6 e TNF-alfa estão associadas a redução do desempenho da memória em pacientes.

Além das modificações no sistema nervoso central e especificamente no sistema visual, os quimioterápicos e hormonioterápicos podem levar a outros efeitos no organismo dos pacientes que comprometem o metabolismo, predispondo a disfunção cardiovascular.

1.4.2 *Metabolismo lipídico*

Segundo Machado (2015), o câncer de mama tem em comum as vias fisiopatogênicas semelhantes com disfunções cardiovasculares cujos fatores de risco como obesidade, diabetes, dislipidemia e tabagismo, envolvem um estado pró-inflamatório crônico, alteração no metabolismo de hormônios, citocinas e fatores de crescimento.

As dislipidemias compreendem as alterações no metabolismo normal dos lipídios e configuram um dos critérios clínicos para a síndrome metabólica, caracterizada pela reunião de vários componentes como disglicemia, níveis pressóricos elevados, níveis de triglicerídeos elevados, colesterol HDLc baixo e obesidade, particularmente adiposidade central. Huang (2009), baseado nas diretrizes da NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III) definem os critérios para diagnóstico clínico: resistência insulínica, disfunção endotelial, adiposidade visceral e dislipidemia aterogênica.

Dois dos critérios determinantes chamam a atenção para a síndrome, os baixos níveis de colesterol HDL e aumento de triglicerídeos. Essas anormalidades lipídicas são comumente observadas em pacientes com resistência a insulina e aqueles com diabetes tipo 2 (BORENA, 2012).

Dieli-Conwright *et al.*, (2016), destacou que mulheres com câncer de mama na pré e pós-menopausa, desenvolveram mudanças nos componentes da síndrome metabólica durante a quimioterapia adjuvante e neoadjuvante apresentando dislipidemia, resistência à insulina, ganho de peso e obesidade (DIELI-CONWRIGHT *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2018; BIKACLI *et al.*, 2014).

França *et al.*, (2013), descreveu que a obesidade e as complicações metabólicas, sejam os fatores mais negativos, para que uma mulher com câncer de mama possa responder de forma positiva em um tratamento quimioterápico, visto que mulheres obesas apresentam um desequilíbrio entre gordura, peso corporal, lipoproteínas e lipídios, o que as tornam mais susceptíveis a lesões oxidativas e a aterosclerose. A obesidade abdominal, gera resposta

inflamatória devido a liberação de citocinas pró-inflamatórias oriundas dos adipócitos e geração de EROS.

Na hormonioterapia, estudos mostram que o tamoxifeno apresentou vários efeitos relacionados com a síndrome metabólica em mulheres na pós-menopausa contribuindo com tal condição, haja vista os resultados de pesquisas clínicas e básicas voltadas para a compreensão sobre sua interferência potencial no diabetes, nas dislipidemias e esteatose hepática, pois anormalidades metabólicas são observadas em mulheres na menopausa que já apresentam fatores de risco muito antes de iniciarem tratamento, tais como IMC acima de 22 kg/m², dislipidemias e diabetes, levando as sobreviventes a baixo prognóstico de sobrevida (CHANG *et al.*, 2017).

Haas *et al.*, (2010) destacou a quimioterapia para câncer de mama como indutora de menopausa prematura em cerca da metade das mulheres sobreviventes do câncer e está relacionada com aumento da gordura corporal, do colesterol total, da lipoproteína LDL colesterol e triglicerídeos, embora essas mudanças associadas com o aumento da prevalência de síndrome metabólica não estão bem elucidadas, apesar de que a deficiência estrogênica é uma complicação comum depois da radioterapia e quimioterapia por alquilantes.

As esteatohepatites induzidas por drogas, consideradas de origem não alcoólica inseridas em um grupo de doenças como a doença da gordura no fígado de origem não alcoólica (NAFLD) é outra complicação, que pressupõe esteatose hepática, inflamação, fibrose e cirrose e acometem pacientes que fazem tratamento anticâncer a longo prazo com tamoxifeno (WANG, 2018).

Yan *et al.*, (2017) num estudo com 221 pacientes de câncer de mama usuárias de tamoxifeno e que apresentavam NAFLD devido ao medicamento, mostrou que a NAFLD teve um efeito negativo sobre a sobrevivência das pacientes com um escore de ≥ 3 considerado de alto risco para esta doença, uma vez que os marcadores de IMC, perfil lipídico e hepático apresentavam-se alterados.

Sendo o tamoxifeno uma das drogas mais relacionadas com indução de NAFLD, o medicamento de outra forma pode atuar como protetor cardiovascular (YANG *et al.*, 2014), contudo os mecanismos mais prováveis, relacionados com modificações no perfil lipídico de origem hepática é o aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos e da secreção hepática do principal carreador do triglicerídeo o VLDL o que se contrapõe ao efeito cardioprotetor.

De outra forma, tamoxifeno inibe as enzimas responsáveis pelo metabolismo do triglicerídeo, diminuindo a atividade da Lipase lipoproteica e triglicerídeo-lipase hepática, em tratamentos de mulheres com câncer (FILIPPATOS *et al.*, 2009). O acúmulo destes em

capilares pancreáticos, resulta em isquemia e necrose. Como resposta, as células pancreáticas liberam lipases e a consequente liberação de ácidos graxos gerando resposta inflamatória vascular (SHAPIRO *et al.*, 2001; EWALD *et al.*, 2009; ELISAF *et al.*, 2000).

Na ingestão alimentar e no ganho de peso, mulheres com câncer de mama em terapias anticâncer, tiveram os níveis de leptina sérica aumentados, diferentes de mulheres sem tratamento (OZET *et al.*, 2001). Um outro estudo com leptina, em mulheres recebendo tamoxifeno por três meses, a leptina sérica aumentou somente em pacientes que desenvolveram gordura no fígado. De outra forma, conseguiu reduzir o ganho de peso corporal em mulheres sem câncer possivelmente por um efeito anoréxico (LOPEZ *et al.*, 2006).

A regulação neuroendócrina de hormônios que influenciam o metabolismo basal tem relação com o comprometimento do eixo hipotálamo-hipófise-ovários e hipotálamo-hipófise-adrenal. Tamoxifeno e estradiol, tem efeitos opostos sobre a expressão de receptores β de estrógeno no núcleo paraventricular do hipotálamo. É um antagonista de estrógenos em circuitos neurais controlando a regulação neuroendócrina em macacos fêmeas ovariectomizadas (WILSON *et al.*, 2003). Além de elevar os níveis de cortisol em mulheres (KAILAJÄRVI *et al.*, 2000; VAN DER POMPE *et al.*, 1996), também os do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) hipotalâmico e arginina vasopressina (AVP) em estudos com ovelhas (WOOD *et al.*, 2001). Como o tamoxifeno, por 5 a 10 anos de tratamento, afeta a regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em condições basais e metabólicas, ainda é pouco esclarecido.

1.4.3 Sistema de defesa anti-oxidante – estresse oxidativo

Estresse oxidativo é o resultado de um desequilíbrio entre espécies reativas instáveis, com elétrons desemparelhados denominadas pró-oxidante e o sistema de defesa antioxidante. O não emparelhamento de elétrons, referente a um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, é conhecido como radical livre, que confere elevada reatividade a átomos e moléculas que a possuem (FERREIRA E MATSUBARA, 1997; JEZIERSKA-DRUTEL, 2013; JONES, 2006).

O organismo humano está sujeito ao estresse oxidativo causado EROS e espécies reativas de nitrogênio (ERN) provenientes do meio ambiente ou geradas pelo próprio organismo. Elas são conhecidas por efetuarem dupla função tanto benéficas como prejudiciais para o organismo. Essas espécies, EROS e ERN, são normalmente geradas por enzimas, como oxido nítrico sintase (NOS) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH).

Seja através da cadeia respiratória mitocondrial ou excessiva estimulação de NADPH, a superprodução da ERO resulta em estresse oxidativo, que se trata de um processo prejudicial que pode ser um importante mediador de danos para as estruturas celulares, incluindo lipídeos e membranas, proteínas, ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA).

Em contrapartida os efeitos benéficos podem envolver funções biológicas em respostas a agentes nocivos, sinalização celular e indução de resposta mitogênica. São exemplos de ERO: hidroxila ($\text{HO}\bullet$), superóxido ($\text{O}_2\bullet^-$), peroxila ($\text{ROO}\bullet$) e alcóxila ($\text{RO}\bullet$); e de ERN, incluem-se: óxido nítrico ($\text{NO}\bullet$), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (VALK, 2006; BARREIROS, 2006).

Os mecanismos de defesa em função do estresse oxidativo envolve principalmente a ação de defesa dos antioxidantes. As principais enzimas antioxidantes são: Superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx), catalase (CAT). Além das enzimas, existem os antioxidantes não enzimáticos, representados por: ácido ascórbico (Vitamina C), Tocoferol (Vitamina E), glutatona (GSH), carotenoides, flavonoides e outros antioxidantes. A homeostase desses antioxidantes é de essencial importância para a sobrevivência de organismos e sua saúde (VALK, 2006).

Biomarcadores de dano oxidativo

Quando ocorre o estresse oxidativo, em geral, as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio por terem meia vida extremamente curta ficam, em sua grande maioria, impossibilitadas de serem dosadas. Por essa razão torna-se mais fácil avaliar os metabólitos específicos, oriundos da oxidação de biomoléculas, presentes nos meios biológicos. Esses produtos se tornam marcadores que são derivados, sobretudo, da oxidação de lipídeos, proteínas e DNA. Podendo também fazer parte dessa avaliação, a capacidade antioxidante que pode ser realizada por meio da determinação da atividade enzimática antioxidante (atividade enzimática da catalase, da superóxido dismutase e da glutatona peroxidase), ou através da avaliação das concentrações de micronutrientes antioxidantes no sangue, como a vitamina E, β -caroteno e vitamina C (CARIOCA, 2014).

A glutatona, um tripeptídeo (L-glutamil-L-cisteinil-glicina), existe no organismo em duas formas: reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), essenciais à manutenção da integridade do ciclo catalítico da glutatona. Existe uma importante correlação entre os níveis de GSSG e os mecanismos enzimáticos de defesa. Em condições de desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes (estresse oxidativo), haverá mudanças no estado redox da glutatona,

caracterizando-se um desequilíbrio entre a produção de GSSG e o consumo GSH. Assim, a magnitude do estresse oxidativo pode ser monitorada pelas dosagens de GSSH e/ou pela razão GSSG/GSH (BARBOSA et al., 2008)

As reações de peroxidação lipídica, tendo o malonaldeído (MDA) como produto, são importantes, pois a membrana é um dos compostos celulares mais atingidos pelas EROS, pois produzem alterações na estrutura e permeabilidade das membranas celulares. Conseqüentemente, perde-se algumas funções, resultando em liberação de conteúdo das organelas e formação de produtos citotóxicos, como o MDA, levando a morte celular. Estão relacionados também à lipoperoxidação, os mecanismos de envelhecimento, de câncer e à exacerbação da toxicidade dos xenobióticos.

Mesmo diante dessas ações prejudiciais, os produtos da lipoperoxidação são importantes na formação das prostaglandinas e, conseqüentemente, na resposta inflamatória. A lipoperoxidação pode ser catalisada por íons ferro, por conversão de hidroperóxidos lipídicos (LOOH) em radicais altamente reativos (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

1.4.4 Sistema imunológico e resposta inflamatória

Quando um tecido é lesionado, seja por trauma químico, biológico ou mecânico, em resposta desencadeia uma infecção e inflamação. Esta é imediatamente detectada pelas plaquetas do sangue que se aglutinam em torno do local danificado levando subseqüentemente a produção do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) que irá ativar as células brancas do sistema imunológico. Estas, por sua vez, irão produzir uma série de mediadores químicos: citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos que têm múltiplos efeitos, e irão orientar o processo de reparação tecidual (BARRETO *et al.*, 2011).

Os mediadores da inflamação podem ser divididos em: citocinas pró-inflamatórias, citocinas anti-inflamatórias, adipocinas, chemocinas, marcadores de inflamação derivados de hepatócitos, marcadores de consequência da inflamação e enzimas. Dentre as citocinas pró-inflamatórias destacamos a IL-6, a IL-1 e o TNF- α (VOLP *et al.*, 2008; BARRETO *et al.*, 2011).

A IL-6 é uma citocina que desempenha uma variedade de funções nos efeitos imunes celulares e humorais relacionados à inflamação, defesa do hospedeiro e injúria tecidual. Esta citocina é mediadora central da resposta de fase aguda e a principal citocina pró-coagulante, pois determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas de fibrinogênio, Proteína Amilóide Sérica A e em especial, da proteína C reativa (PCR) (VOLP *et al.*, 2008).

A IL-1 é uma família de citocinas. A IL-1 β pertence a grande família das IL-1, e é geralmente produzida por monócitos e macrófagos, mas também por outras células, como as células endoteliais, musculares lisas e plaquetas ativadas. A IL-1 β induz à ativação transcricional do gene do Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B) para a expressão de moléculas de adesão e citocinas (VOLP *et al.*, 2008).

O TNF- α é uma citocina com ação autócrina, parácrina e endócrina. Por causa de sua atividade biológica pleiotrópica, esta citocina está envolvida no processo de inflamação, pois desempenha um papel principal na cascata das citocinas e estimula a síntese de outras citocinas. Assim como a IL-6, o TNF- α é mediador central da resposta de fase aguda, pois também determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas estimuladas pelo fígado de fibrinogênio, SAA, inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1) e, em especial, da PCR (VOLP *et al.*, 2008).

A quimioterapia e radioterapia e a destruição tecidual por cirurgias leva a um padrão molecular associado ao dano sobre tecidos lesionados, que se associam a receptores de reconhecimento sobre leucócitos, especificamente em macrófagos, levando a expressão de fatores de transcrição como NF- κ B e a produção de citocinas inflamatórias incluindo IL-1, Interferon- α (INF- α), IL-6 e TNF- α (SMITH, 2015).

Durante o tratamento antineoplásico, os quimioterápicos podem levar a várias alterações sistêmicas decorrentes de sua toxicidade que resulta no estado de saúde do paciente. Estudos realizados com pacientes fazendo uso de quimioterápicos e com nível alto de caquexia, ou seja, em estado debilitado e com desnutrição, mostrou que os pacientes caquéticos se mostraram intolerantes ao tratamento antineoplásico e são mais sensíveis aos efeitos secundários desenvolvidos por quimioterápicos (SILVA, 2006).

A caquexia decorrente da toxicidade pelos quimioterápicos e do processo tumoral, provocam respostas provenientes do sistema imune através das citocinas produzidas pelos macrófagos e linfócitos do paciente. Atualmente, listam-se várias citocinas envolvidas na caquexia como: interleucinas, TNF α , linfotoxinas, interferons tipo I (a/b) e tipo II, dentre outras. As citocinas têm sido associadas como a chave principal de fatores humorais envolvidos na caquexia do câncer (SILVA, 2006).

Outra manifestação é a neuropatia periférica. Estudos recentes têm demonstrado associação entre moléculas inflamatórias, estresse oxidativo e o desenvolvimento da neuropatia periférica induzida por quimioterápicos. Os sintomas como dormências e formigamentos nos membros são as mais frequentes, sendo a dor neuropática de maior impacto significativo na funcionalidade dos pacientes em terapia antineoplásica. Dentre os mecanismos fisiopatológicos

da neuropatia induzida por esses tratamentos se reconhece atualmente o papel da interação neuroimune, uma vez que a liberação de citocinas e quimiocinas capazes de desencadear lesão neural periférica parece ser um dos mecanismos primários de desenvolvimento (SIMÃO *et al.*, 2015).

Estudos experimentais também demonstraram, que em resposta à lesão tóxica desencadeada pela quimioterapia, pode ocorrer infiltração neural de monócitos/macrófagos com produção de várias citocinas (TNF α , IL1 β , IL6), quimiocinas (CX3, CL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 e CXCL8) e outros mediadores inflamatórios como bradicinina, prostaglandinas e óxido nítrico. As células de Schwann podem sofrer alteração fenotípica e também passar a liberar TNF α , IL1 β , IL6 e prostaglandinas (PGE2).

Fármacos como os derivados da platina (oxaliplatina, cisplatina e carboplatina) são agentes alquilantes que inibem a síntese e a replicação do DNA por meio de ligações cruzadas estabelecidas pelo complexo de platina e podem, contudo, reduzir o transporte axonal e, conseqüentemente, induzir apoptose de neurônios sensoriais (SIMÃO *et al.*, 2015).

Além da quimioterapia, outros tratamentos com radiações ionizantes são capazes de estimular a via NF-kB independente de dano tecidual, uma vez que é uma das vias de sinalização celular que quanto ativada, eleva a expressão de mediadores inflamatórios. O estresse psicossocial pelo qual passam os doentes de câncer e mesmo em pessoas saudáveis tem sido considerado como um indutor da expressão de NF-kB (SMITH, 2015).

Vários são os efeitos produzidos pelas terapias do câncer, contudo uma das manifestações que mais chama atenção, além da cardiotoxicidade, neurotoxicidade e alterações metabólicas, são as modificações que acometem a função visual, o que levou a realização da pesquisa, pelo fato de comprometer diretamente as atividades de vida diária das pacientes, segundo relatos de mulheres que estavam em tratamento do câncer de mama e em sala de espera de quimioterapia. As mesmas relatavam prurido ocular, embassamento visual e lacrimejamento excessivo quando estavam recebendo quimioterápicos.

Desta forma, as terapias oncológicas apesar de serem utilizadas com muita eficácia terapêutica, levam a um sofrimento nos pacientes que a recebem, devido as reações adversas ora descritas. Alterações subclínicas, nem sempre são tidas como prioridade, mas podem predizer possíveis comprometimentos na recuperação dos pacientes.

Na hormonioterapia e quimioterapia, não se observa a exigência de avaliações oftalmológicas e de função e acuidade visual periodicamente pelos protocolos clínicos, visto a relação que existe destas manifestações com a segurança e a qualidade de vida das pacientes a um longo período extensivo. As mudanças de peso e alterações metabólicas não são vistas com

certa urgência para que os fatores de risco modificáveis sejam melhorados a fim de diminuir as chances de desenvolver doenças cardiovasculares.

Os estudos voltados para a eficácia e efetividade dos tratamentos são escassos, considerando o polimorfismo genético dos pacientes tratados no Pará. É importante ampliar o nível de conhecimento sobre o que essas condições podem repercutir no sucesso das terapias, contudo é desafiador realizar estudos com essa perspectiva, o que motivou investigar parâmetros de avaliação de saúde metabólica e visual nas pacientes de câncer de mama em tratamento anticâncer.

II Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Determinar e avaliar os parâmetros de saúde metabólica e visual em mulheres com diagnóstico de câncer de mama expostas a tratamentos em terapias anticâncer.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Seção I: Marcadores lipídicos, antropométricos, estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e alterações metabólicas.

- Determinar e avaliar o perfil lipídico pela quantificação do colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol e triglicerídeos assim como o IMC e circunferência abdominal.
- Determinar e avaliar os parâmetros de estresse oxidativo através da atividade enzimática das enzimas antioxidantes GSH, SOD, CAT e do estado antioxidante de inibição da formação de radicais livres através de TEAC, NO e MDA.
- Determinar e avaliar os parâmetros de resposta inflamatória pela quantificação de níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias: TNF- α , IL-1 β e IL-6.

2.2.2 Seção II: Impacto dos níveis de lipoproteínas na exposição aos metabólitos do tamoxifeno durante a hormonioterapia.

- Determinar e avaliar as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno e correlacionar com os níveis de triglicerídeos, colesterol total e lipoproteínas nas pacientes.

2.2.3 Seção III: Influência dos tratamentos anticâncer na espessura da retina.

- Avaliar a influência da terapia com tamoxifeno em baixa dose no sistema visual em pacientes com câncer de mama que receberam apenas quimiorradioterapia para verificar se a existência de alterações retinianas associadas ao tamoxifeno poderia ser por lesão neural durante o estágio de quimioterapia do tratamento do câncer de mama.
- Comparar a espessura macular da retina de mulheres saudáveis, de pacientes com câncer de mama em quimiorradioterapia e pacientes com câncer de mama que foram tratadas

com um regime de quimiorradioterapia e seguidos por uma terapia de baixa dose de tamoxifeno por um período de até 5 anos.

- Correlacionar a espessura da retina dos pacientes com câncer de mama com a idade, duração do tratamento e a presença da concentração sanguínea dos metabólitos do tamoxifeno.

III Materiais e Métodos

3 MATERIAIS E MÉTODOS

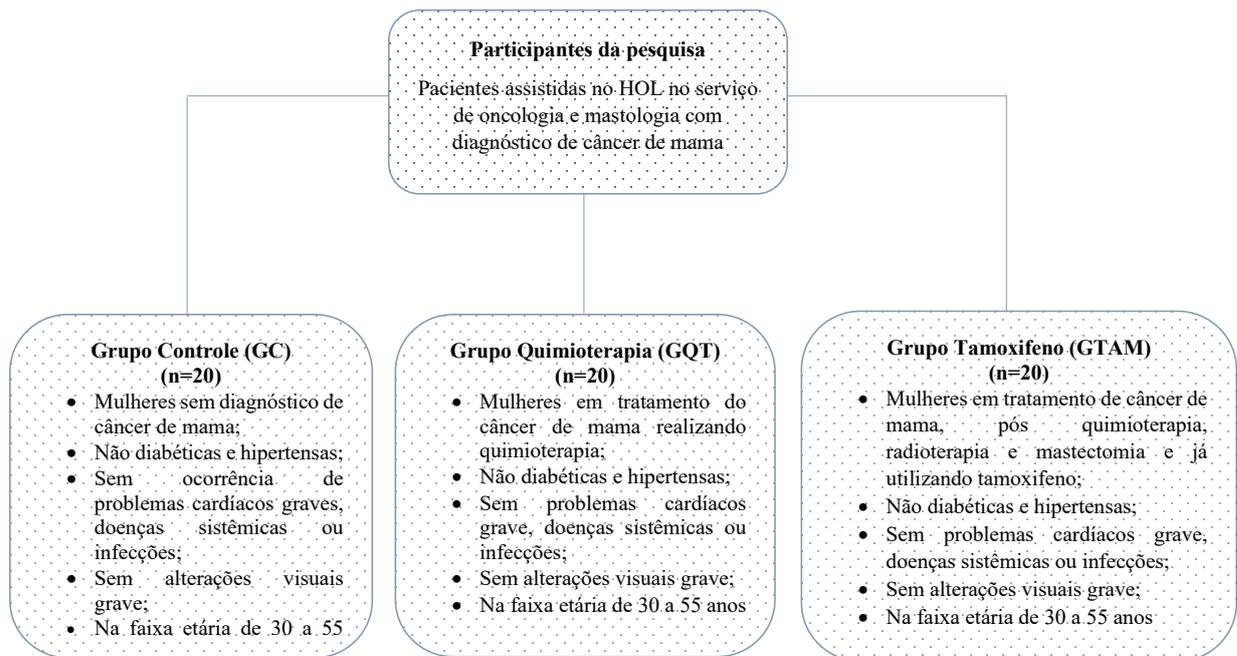
3.1 Análise ética

O estudo se fundamentou nos princípios básicos da bioética, presente na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que dispõe sobre a pesquisa envolvendo seres humanos. Antes da coleta, todos os pacientes incluídos no estudo, ou seus responsáveis, foram esclarecidos sobre o objetivo da pesquisa e a coleta foi realizada mediante a concordância e do Termo de Consentimento Livre Esclarecido. Esta pesquisa obteve o parecer ético nº 1.915.051 (CEP-HOL) e 1.897.057 (CEP-ICS-UFPA) disponíveis em anexos.

3.2 Participantes da pesquisa

Estudo realizado no período de março de 2017 a setembro de 2019. Foram incluídas na pesquisa, 40 pacientes do sexo feminino provenientes do serviço de oncologia do Hospital Ophir Loyola com diagnóstico de câncer de mama que estavam em tratamento quimioterápico e radioterápico. 20 pacientes que estavam em quimioterapia, compuseram o grupo quimioterápico (GQt) e 20 pacientes ambulatoriais o grupo de terapia hormonal com tamoxifeno 20 mg/dia (GTam) como medicação adjuvante em recidivas durante cinco anos em diferentes tempos de tratamento. Ambas se enquadraram nos critérios de inclusão, não apresentavam diabetes mellitus, problemas cardíacos graves, doenças sistêmicas ou co-infecções e alterações visuais graves. Candidatas sem diagnóstico de câncer de mama e sem diabetes mellitus, problemas cardíacos graves, doenças sistêmicas ou co-infecções e sem alterações visuais graves, sem uso de quimioterápicos e tamoxifeno foram selecionadas aleatoriamente para comporem o grupo controle ou saudável, residentes em Belém e adjacências. Todos os grupos foram formados de acordo com os critérios de inclusão para cada um conforme a Figura 9.

Figura 9 – Seleção das participantes da pesquisa e os critérios de inclusão

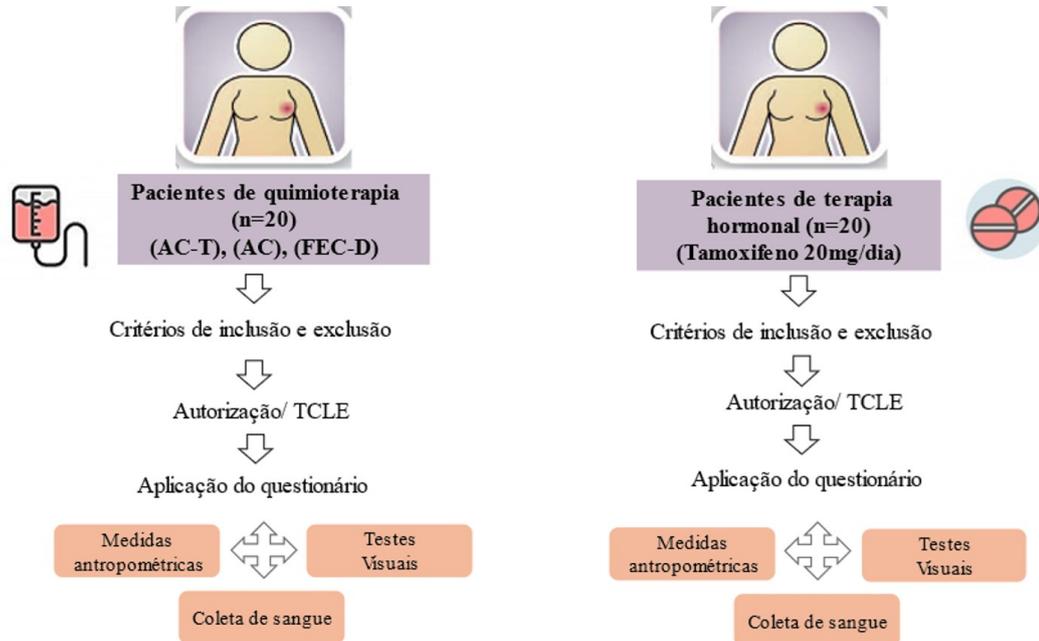


Fonte: Pesquisa (2017-2019).

As participantes foram recrutadas nos locais de sala de espera do setor de quimioterapia, da farmácia oncológica e a partir da busca ativa realizada nos sistemas de informação do hospital como o Sistema integrado de informatização do ambiente hospitalar (HOSPUB), Sistema de autorização de procedimentos de alta complexidade (APAC) e no Departamento de Prontuários Médicos (DAME) os quais continham as informações sobre dados pessoais, clínicos, medicamentoso e o contato telefônico e endereço. De posse dessas informações, elas foram contatadas e agendadas para iniciarem a pesquisa.

As participantes foram esclarecidas sobre a pesquisa e que seriam doadoras de amostras de sangue assim como seu compromisso com todos os procedimentos terapêuticos como avaliação da função visual, medidas antropométricas, após autorização em termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e que preencheriam um formulário para a obtenção de dados socioantropométricos e clínicos. A Figura 10 representa o fluxo de funcionamento e etapas de procedimentos avaliativos que foram realizadas no decorrer da pesquisa.

Figura 10 – Fluxo de funcionamento das etapas de procedimentos avaliativos realizados com as pacientes para inclusão na pesquisa e obtenção dos dados



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

Nota: AC-T (Adriamicina, Ciclofosfamida, Paclitaxel), AC (Adriamicina e Ciclofosfamida), FEC-D (5-Fluorouracil, Epirrubicina, Ciclofosfamida, Docetaxel).

3.3 Medidas antropomtricas

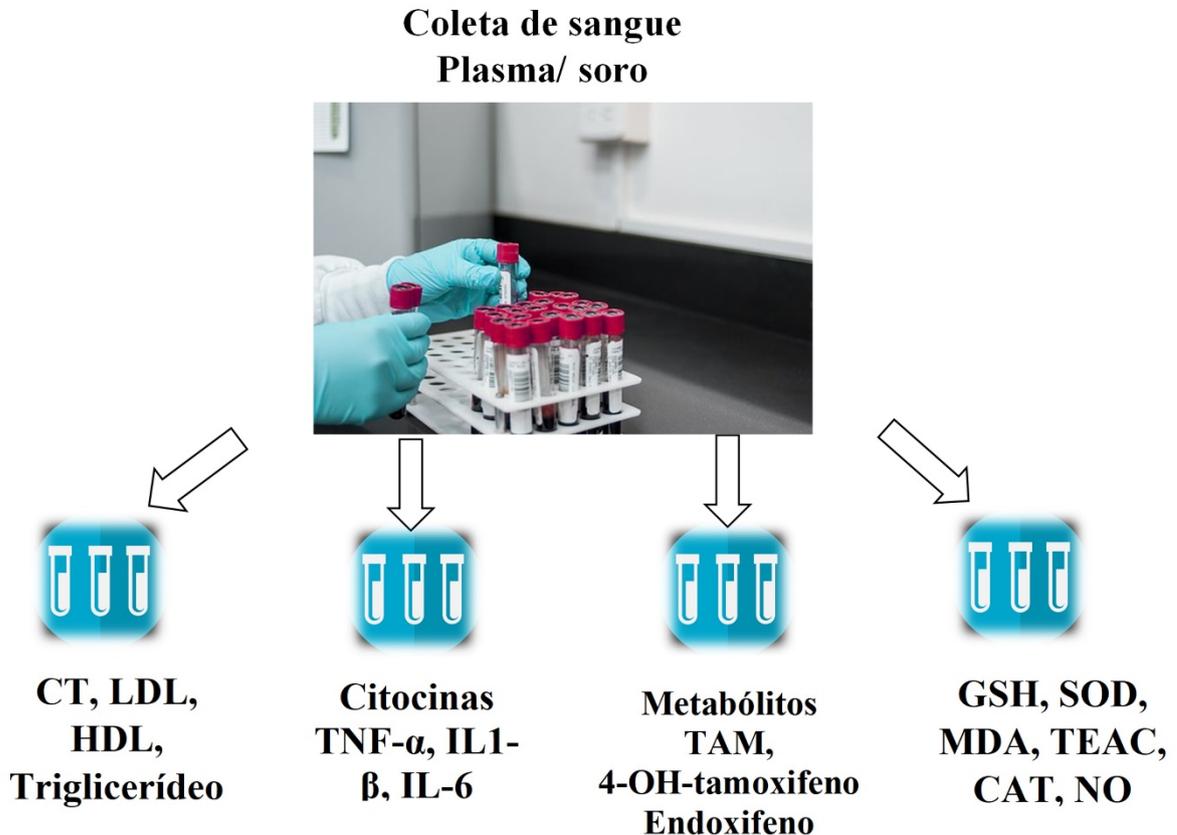
Para a obteno das medidas antropomtricas, o peso foi aferido em balana ONRO® com capacidade para 200kg e o resultado em kg; altura em escala mtrica vertical e o resultado em metros; circunferncia abdominal atravs de fita mtrica de 0 a 2m e foi colocada na altura do quadril tendo como referncia a borda superior da crista ilíaca. Os clculos de Índice de Massa Corporal (IMC) foram feitos de acordo com a frmula: $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Altura (m}^2\text{)}$ e a classificao foi feita de acordo com o recomendado pelo manual de orientao para coleta de dados antropomtricos do Ministrio da Saude (Ministrio da Saude, 2011).

3.4 Amostras de sangue

Foram realizadas coletas de sangue por puno venosa na fossa antecubital usando tubos vacutainer (Becton Dickinson – BD®), um para coleta de soro sem EDTA e outro para a coleta de plasma com EDTA totalizando 8 mL de sangue. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos a 4°C e logo depois soro e plasma foram alquotados em diferentes tubos de 1,5ml e congelados em freezer -80 °C para posterior dosagens bioqumicas de colesterol total, LDL-

c, HDL-c, triglicerídeos, enzimas do estresse oxidativo, citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6) e metabólitos (Figura 11).

Figura 11 – Fluxo de coleta de sangue e separação em alíquotas das amostras de sangue em soro e plasma para suas respectivas análises laboratoriais



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

3.5 Análise laboratorial das amostras

3.5.1. Determinação das concentrações plasmáticas de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e Endoxifeno por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência CLAE)

Tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno foram medidos por cromatografia líquida de alto desempenho (Figura 12), após um processo líquido-líquido de duas etapas de extração, seguindo o procedimento proposto por Antunes *et al.*, (2013). A coluna era uma RP-18 (150 mm \times 4,6 mm i.d \times 5 μ m, X-Terra, Waters TM, Milford, MA, EUA) a 25 °C e a fase móvel consistia em tampão de fosfato de trietilamônio 5 mM pH 3,3 e acetonitrila (57:43, v / v). A eluição foi isocrática, a uma taxa de fluxo de 1,0 mL / min, e o eluato foi monitorado a 288 nm. O limite de detecção foi de 0,7 ng / mL para todos os analitos. A faixa de ensaio linear foi de 2,0 ng / mL a 200 ng / mL para tamoxifeno e 0,8 ng / mL a 20 ng / mL para os metabólitos

(endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno). A mediana e o coeficiente de variação, variaram de 8,3% para 14,5% e de 10,5% para 18%, respectivamente.

Figura 12 – Equipamento de CLAE, sistema de dosagem por cromatografia líquida de alta definição para determinação das concentrações plasmáticas do tamoxifeno e metabólitos



Fonte: Laboratório de Toxicologia/ UFPA, 2019.

3.5.2. Determinação das concentrações plasmáticas de citocinas: $TNF-\alpha$, $IL-1-\beta$ e $IL-6$

Os níveis de $IL-1\beta$, $IL-6$ e $TNF-\alpha$ foram quantificados por ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) usando um kit comercial para humano com placa não revestida (Kit ELISA humano, Ebioscience, Thermo Fisher Scientific, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. Os limites de detecção de cada citocina era $IL-1\beta$, 2 - 150 pg / mL com sensibilidade de 2 pg / mL; $IL-6$, 2 - 200 pg / mL com sensibilidade de 2 pg / mL; $TNF-\alpha$, 4 - 500 pg / mL com sensibilidade de 4 pg / mL.

3.5.3. Determinação das concentrações de Colesterol Total, HDLc, LDLc e Triglicérideo

Os testes foram realizados no laboratório de análises clínicas do Hospital Ophir Loyola e os valores foram obtidos através da metodologia de autoanalisador Cobas® 6000 (Figura 13): Colesterol total – colorimétrico enzimático; HDL - colorimétrico enzimático; LDL – calculado por fórmula de Friedewald; Triglicérideo – enzimático automatizado. Os valores de referência

utilizados para comparação foram baseados na V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e prevenção da Aterosclerose (2017).

Figura 13 – Autoanalisador COBAS® 6000 utilizado para as análises bioquímicas



Fonte: Laboratório de Análises Clínicas do HOL, 2017.

3.5.4. Determinação das enzimas de estresse oxidativo

Parâmetros antioxidantes (TEAC, GSH, SOD e CAT) e pro-oxidantes (NO e MDA) foram analisados. A determinação da peroxidação lipídica foi medida pela quantificação das espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) tendo como produto o Malondialdeído (MDA). O resultado da reação é um composto de cor rósea formado pelo complexo MDA-TBA (ácido tiobarbitúrico) que pode ser detectado no espectrofotômetro com absorvância em 535 nm (HAGE, 2008). A peroxidação foi expressa como nanomoles de MDA por litro (nmoles/l).

A Capacidade de Antioxidante Total foi avaliada pela Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), técnica colorimétrica baseada na reação entre o 2,2-azino-bis (3-Etilbenzotiazolina, 6-sulfonato) (ABTS) com persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$), produzindo o radical cátion ABTS, cromóforo de coloração verde/azul com leitura de absorvância a 740 nm.

A determinação de NO foi baseada na reação de Griess por espectrofotometria. A reação de nitrito presente no soro e o reagente de Griess (sulfanilamida e N-1-naftiletlenodiamina) origina um cromógeno de cor rosa, que é detectado por leitor de ELISA em comprimento de onda de 540 nm.

A determinação dos níveis intracelulares da forma reduzida da GSH baseia-se na capacidade da GSH em reduzir o ácido-5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) para ácido

nitrobenzóico (TNB), o qual foi quantificado por espectrofotometria em comprimento de onda de 412 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/ml}$.

A SOD foi determinada segundo a técnica preconizada por McCord e Fridowich (1969) adaptada. É feita a detecção indireta da atividade da SOD, pois, a presença desta enzima na amostra, promove a conversão do $\text{O}_2\cdot^-$ em H_2O_2 e O_2 , impedindo conseqüentemente a redução do citocromo C, que que é detectada por espectrofotometria em comprimento de onda 60 de 550nm. A atividade da enzima SOD foi expressa em nmol/ mL de sangue.

A determinação da atividade da enzima CAT foi realizada segundo a técnica adaptada de Beutler (1975). Através desta metodologia, avaliou-se a capacidade da enzima presente na amostra converter o H_2O_2 em água e oxigênio. A leitura do decaimento do H_2O_2 foi realizada por espectrofotometria no ultravioleta a 240nm e os valores de CAT foram expressos em unidade de catalase por g de proteínas (quantidade de catalase necessária para hidrolisar $1\mu\text{mol}$ de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min.}/\text{g}$ de proteína, à 37°C , pH 8).

Um cálculo de razão entre oxidantes e antioxidantes foram realizados tendo o grupo controle avaliado em relação ao grupo de quimioterapia com a finalidade de expressar quais pacientes sofreram mais danos oxidativos.

3.6 Análise dos testes visuais

3.6.1. Avaliação da retina por Tomografia de Coerência Óptica (TCO) realizado no laboratório de eletrofisiologia do NMT/UFPA

As participantes da pesquisa foram informadas sobre os objetivos da avaliação visual a cada exame realizado. Cada paciente era conduzida para o teste no período em que estavam realizando quimioterapia e/ou em administração oral de tamoxifeno.

Todas as participantes foram submetidas a tomografia de coerência óptica de domínio espectral (OCT) Heidelberg Engineering® (Spectralis), Heidelberg (Alemanha) para medir a espessura da retina. Foi usado o software Heidelberg Eye Explore (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha). Imagens retinianas de OCT foram capturadas de cada olho sem dilatação pupilar (Figura 14).

Figura 14 – Aparelhagem do Tomógrafo de Coerência Óptica (OTC)



Fonte: Laboratório de Neurofisiologia (NMT/UFPA), 2018.

Nota: (a) Tomógrafo analisando um olho esquerdo; (b) Monitor de controle.

Foram adquiridas duas imagens de cada olho, contando quatro imagens por paciente. Para a análise final, uma das quatro imagens de cada paciente foi aleatoriamente selecionada. O mesmo operador adquiriu as imagens de OCT. Um protocolo macular foi realizado. Foram avaliadas as espessuras da retina como um todo, da camada de fibras do nervo óptico, da camada de células ganglionares e da camada nuclear externa em nove diferentes campos maculares: mácula, temporal interna, temporal externa, nasal interna, nasal externa, superior interna, superior externa, inferior interna e inferior externa, como recomendado no Estudo do Tratamento Precoce de Retinopatia Diabética.

3.7 Drogas, Reagentes e Kits

Citrato de Tamoxifeno, 20mg – medicamento de referência - NOLVADEX (Astra-Zeneca®) Citrato de Tamoxifeno, 20mg – medicamento genérico – SANDOZ-Novartis®; 4-hidroxitamoxifeno® - padrão SIGMA (USA); Endoxifeno® - padrão SIGMA (USA); Ácido fosfórico – VETEC; Acetonitrila – Merck; Metanol – IMPEX; MTBE-methyl tert-butyl ether (SIGMA- USA); Tampão fosfato trietilamônio 5 mM; Reagente de Griess (sulfanilamida e N-1-naftiletilenodiamina); Ácido-5,5- ditiobis - 2-nitrobenzóico; (ABTS) 2,2-azino-bis (3-Etilbenzotiazolina, 6-sulfonato); Persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$); Solução fisiológica 0,9% - Cristália®; Água MilliQ Ultra pura - (Milli-Q®); Kit ELISA humano, Ebioscience, Thermo Fisher Scientific, EUA.

3.8 Análise Estatística

As informações coletadas durante a realização da pesquisa foram armazenadas em banco de dados Microsoft Excel 2019. Foram utilizados dois programas estatísticos para avaliação dos dados: o Graphpad Prism 8.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA) e BIOESTAT 5.0.

Para os testes bioquímicos (mediadores lipídicos, estresse oxidativo e citocinas) foi utilizado o ANOVA de uma via para comparação entre grupos e diferença significativa $p < 0,05$.

Para descrição das características socioantropométricas e clínicas das pacientes, foi utilizado a estatística descritiva com dados categóricos expressos em frequência absoluta e relativa.

Para avaliar a associação dos metabólitos do tamoxifeno com lipídios, os dados foram expressos como porcentagem ou mediana e intervalo. O coeficiente de correlação de Spearman foi usado para estimar a correlação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno ou endoxifeno com níveis sanguíneos de triglicérides ou colesterol total. Uma análise de regressão múltipla foi usada para associar as concentrações de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno ou endoxifeno com os níveis de HDL-c, LDL-c e VLDL-c. O nível de significância aceito foi de 5%.

Para os testes visuais, foi usada a análise de variância de uma via (ANOVA) para comparar a espessura total da retina macular medida em cada grupo. Para comparar a espessura macular em diferentes campos retiniais medidos em cada grupo, foi utilizada a ANOVA de uma via, considerando o campo macular e o grupo de estudo. O teste ANOVA seguido de

comparação múltipla de Tukey foi feito e os valores de p foram ajustados para comparações múltiplas. A análise de regressão linear múltipla foi usada para avaliar a interação entre a espessura macular das pacientes submetidas à terapia com tamoxifeno, com a idade, a duração da quimiorradioterapia, a duração da terapia com tamoxifeno e os níveis sanguíneos de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno.

IV Resultados e Discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seção I: Marcadores lipídicos, antropométricos, estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e alterações metabólicas

4.1.1 Caracterização das pacientes

As pacientes participantes da pesquisa apresentaram as seguintes características sociais, antropométricas e clínicas (Tabela 1). A faixa etária predominante foi de 40 a 50 anos em ambos os grupos, com 80% (n=16) para as pacientes do GQT e 90% (n=18) para as pacientes GTAM. Quanto a raça ou cor da pele, 65% (n=13) do GQT e 75% (n=15) do GTAM se autodeclararam pardas e a renda salarial concentrou-se entre 1 e 3 salários-mínimos (65% (n=13) e 75% (n=15) respectivamente.

Quanto aos parâmetros antropométricos avaliados pelo índice de massa corporal (IMC), as pacientes de GQT, 50% (n=10) apresentaram peso normal (IMC = 18,5 a 24,9 kg/m²), porém 20% (n=4) estavam com sobrepeso (IMC = 25 a 29,9 kg/m²), 25% (n=5) com obesidade grau I (IMC=30 a 34,9 kg/m²) e 5% (n=1) com obesidade grau II. Embora, as pacientes do GQT estejam a metade com peso normal, as demais apresentaram alteração de peso, tais como as pacientes do GTAM 65% (n=13). Ao serem avaliadas quanto as medidas da circunferência abdominal, todas (100%) estavam com circunferência acima de 80cm correspondente a 75% (n=15) e 70% (n=14) de pacientes GQT e GTAM respectivamente, que não realizavam atividades físicas regulares adequadas durante o tratamento. Desta forma, tanto o IMC quanto a circunferência abdominal estavam elevados em ambos os grupos de pacientes. 50% (n=10) em ambos os grupos são de pacientes na pré e pós menopausa.

As características do diagnóstico de acordo com a classificação histológica do tumor, apontaram para 65% e 90% de pacientes com carcinoma Ductal Grau II e em menor número para carcinoma Ductal Grau III. Para o tratamento, o procedimento padrão disponível pelos protocolos clínicos foram as terapias quimioterápica, radioterápica, mastectomia e hormonioterapia com tamoxifeno 20mg/dia quando comprovado em teste de imunohistoquímica positiva para receptores hormonais ER (+) de estrógeno e progesterona.

Tabela 1. Características socioantropométricas e clínicas das pacientes no período de março de 2017 a setembro de 2019 no hospital oncológico em Belém do Pará, Brasil.

Características	GC (n=20) FA/FR (%)	GQt (n=20) FA/FR (%)	GTam (n=20) FA/FR (%)
<i>Idade (anos)</i>			
30-39	05/25	02/10	02/10
40-50	13/65	16/80	18/90
≥ 51	02/10	02/10	-
<i>Cor da Pele/Raça</i>			
Branca	08/40	06/30	03/15
Preta	02/10	01/5	02/10
Parda	10/50	13/65	15/75
<i>Renda Familiar</i>			
<1 SM	02/10	07 (35)	03/15
1a 3 SM	08/40	13 (65)	15/75
> 3 SM	10/50	-	02/10
<i>IMC (kg/m²)</i>			
Eutrófico	08/40	10/50	04/20
Sobrepeso	05/25	04/20	13/65
Obesidade grau I	06/30	05/25	01/5
Obesidade grau II	01/5	01/5	02/10
<i>Circunferência Abdominal (cm)</i>			
<80 cm	01/5	-	-
≥80 cm	19/95	20/100	20/100
<i>Atividade Física Regular</i>			
Sim	07/35	05/25	06/30
Não	13/65	15/75	14/70
<i>Estado de Menopausa</i>			
Pré	11/55	10/50	08/40
Pós	03/15	10/50	12/60
Não entraram	06/30	-	-
<i>Tipo histológico do tumor</i>			
Ductal G-II	-	13/65	18/90
Ductal G-III	-	07/35	02/10
<i>Tratamentos</i>			
Q+R+M+H	-	09/45	14/70
Q+R+H	-	-	06/30
Q+R	-	10/50	-
Q+M	-	01/5	-

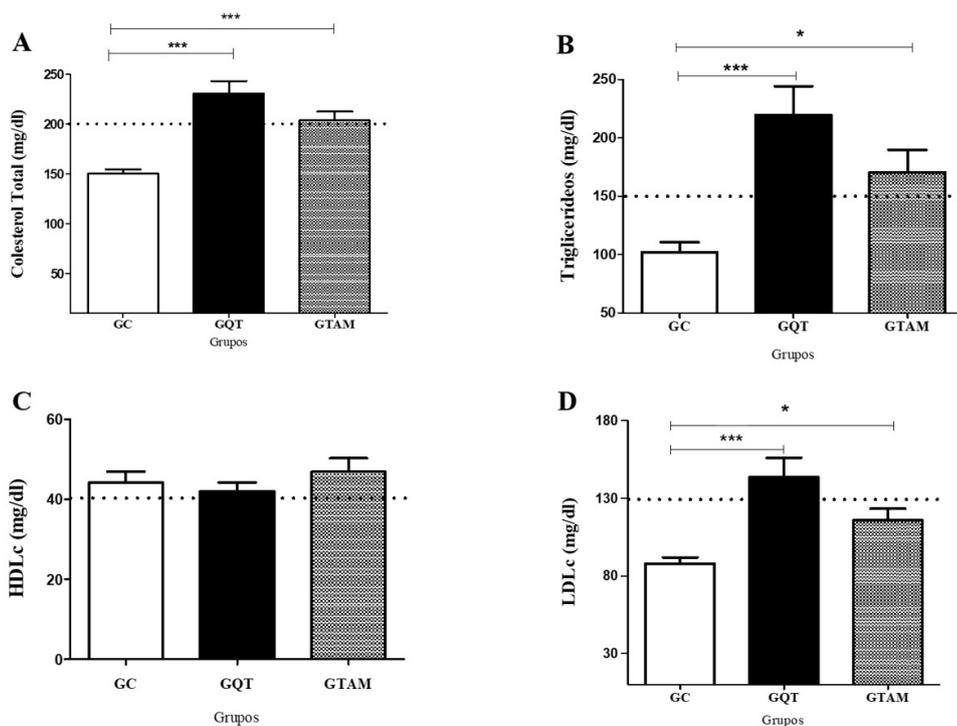
*SM (salário mínimo). Os dados foram apresentados em FA (frequência absoluta), FR (frequência relativa %) nos grupos. GC (Grupo Controle) GQt(Grupo quimioterapia); GTam(Grupo tamoxifeno). Tratamentos: Q+R+M(quimioterapia+radioterapia+mastectomia); Q+R+M+H(quimioterapia+radioterapia+mastectomia+hormonioterapia); Q+R+H(quimioterapia+radioterapia+hormonioterapia); Q+M (quimioterapia+mastectomia). Fonte: Pesquisa (2017-2019)

Esses tratamentos foram destacados e diferenciados por paciente de acordo com o momento da realização da pesquisa: 50% (10) do grupo GQT estavam em quimioterapia e já haviam feito radioterapia contra os outros 50% que estavam em quimioterapia e já haviam se submetido a mastectomia e radioterapia. As pacientes do grupo GTAM, embora todas estarem em tratamento hormonal (100%), 70% (n=14) delas tinham passado por quimioterapia, radioterapia e mastectomia e 30% (n=6) fizeram quimioterapia, radioterapia e tratamento hormonal sem mastectomia na época da pesquisa. A duração do tratamento para as pacientes de quimioterapia foi de 4 a 31 meses e de hormonioterapia foi de 12 a 50 meses, variando entre o tratamento e o acompanhamento.

4.1.2 Marcadores de lipídios circulantes

As pacientes apresentaram as seguintes concentrações séricas médias e desvio padrão de colesterol total (CTc), HDL colesterol (HDLc), LDL colesterol (LDLc) e triglicerídeos (TG), ambos expressos em mg/dl para os grupos de estudo, quando comparado ao controle saudável, conforme a Figura 15.

Figura 15 – Níveis de lipídeos em pacientes que receberam quimioterapia e hormonioterapia



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

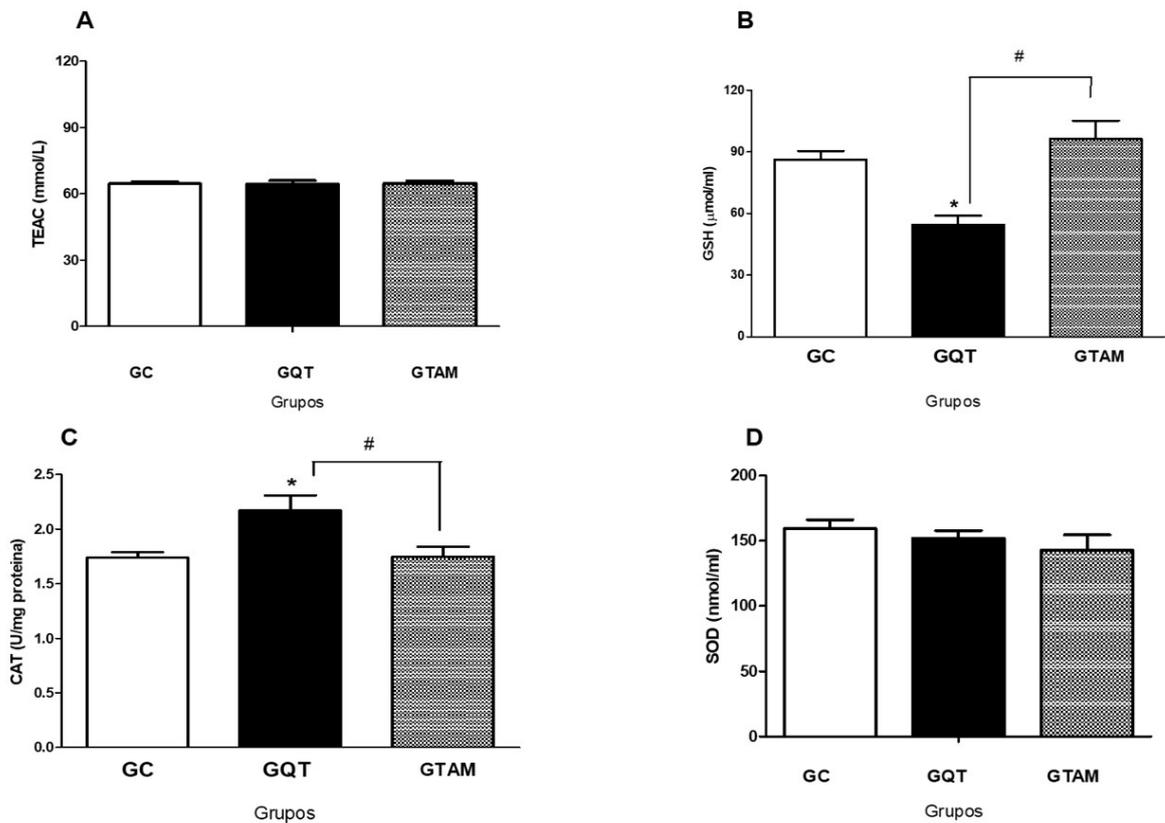
Nota: Valores expressos em média \pm DP quando comparados o grupo controle e grupos de estudo com base nos valores de referência para normalidade: (A) Colesterol total (desejável até 200mg/dl); (B) Triglicerídeos (desejável < 150 mg/dl); (C) HDL (desejável > de 60 mg/dl); (D) LDL (desejável < 130 mg/dl). Diferenças estatísticas significantes * p <0,005.

As concentrações médias de CT em ambos os grupos (GQT = $230,7 \pm 56$; GTAM = $203,6 \pm 39,91$) apresentaram-se acima dos valores limítrofes recomendados ($>200\text{mg/dl}$) quando comparadas com as concentrações do grupo controle (GC = $150,1 \pm 18,6$) consideradas baixas $<200\text{mg/dl}$, sendo diferentes estatisticamente ($p < 0,005$). Para o HDLc, todas apresentaram concentrações médias entre $42,06$ a $46,84$ mg/dl sem diferenças significativas (GQT = $42,06 \pm 9,48$; GTAM = $46,84 \pm 15,22$; GC = $44,09 \pm 11,89$) abaixo do limite desejável recomendado que deveria ser acima de 60mg/dl , apresentando risco aumentado para doença cardiovascular. O LDLc apresentou-se elevado, acima de 130mg/dl para o GQT ($143,5 \pm 55,16$) em relação ao GTAM ($115,9 \pm 32,82$) e controle ($88,01 \pm 16,85$) considerada estatisticamente significativa ($p^* < 0,005$), o que sugere maior risco para as pacientes de quimioterapia desenvolverem doença cardiovascular do que as que fizeram hormonioterapia com TAM. Os valores médios de triglicérides também se apresentaram bem elevados entre os grupos, acima do limite desejável de 150mg/dl (GQT = $219,6 \pm 107,2$; GTAM = $170,5 \pm 83,84$) comparados ao controle (GC = $101,9 \pm 37,18$) que estava dentro dos valores preconizados.

4.1.3 Marcadores antioxidantes e pró-oxidantes de estresse oxidativo

Os parâmetros antioxidantes avaliados nas amostras de pacientes em tratamento quimioterápico e hormonal foram o TEAC, GSH, CAT e SOD cujas concentrações são expressas por média e desvio padrão observado na Figura 16.

Figura 16 – Mediadores antioxidantes de estresse oxidativo de pacientes em tratamento quimioterápico e com tamoxifeno



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

Nota: (A) TEAC, (B) GSH, (C) CAT, (D) SOD. Os dados são apresentados em média ± DP.

* diferença com o controle, # diferença entre grupos de estudo. $p < 0,05$.

A avaliação da capacidade antioxidante total através da atividade antioxidante equivalente ao TROLOX (TEAC), mostrou que tanto o grupo de pacientes que receberam quimioterapia (GQT = $64,37 \pm 7,26$ mmol/L) quanto as de tamoxifeno (GTAM = $64,76 \pm 5,16$ mmol/L) não apresentaram alteração na capacidade antioxidante em relação ao controle (GC = $64,58 \pm 4,39$ mmol/L) que não recebeu nenhum tratamento farmacológico, expressando uma resposta inibitória considerável na geração de radicais livres mesmo estando expostas ao tratamento.

Os níveis GSH nas pacientes que receberam quimioterapia (GQT) apresentaram valores reduzidos em relação ao grupo controle saudável com diferença estatística $*p > 0,05$ e ao grupo com tamoxifeno (GC = $86,3 \pm 15,48$ µmol/ml; GQT = $54,49 \pm 18,98$ µmol/ml; GTAM = $96,45 \pm 31,64$ µmol/ml), contudo as pacientes com tamoxifeno não mostraram níveis elevados significativamente quando comparados com o controle mas com o grupo de quimioterapia os valores foram elevados ($p > 0,05$) sugerindo que as pacientes de quimioterapia foram as que mais sofreram o impacto do dano oxidativo por conta dos subsequentes ciclos de quimioterápicos e

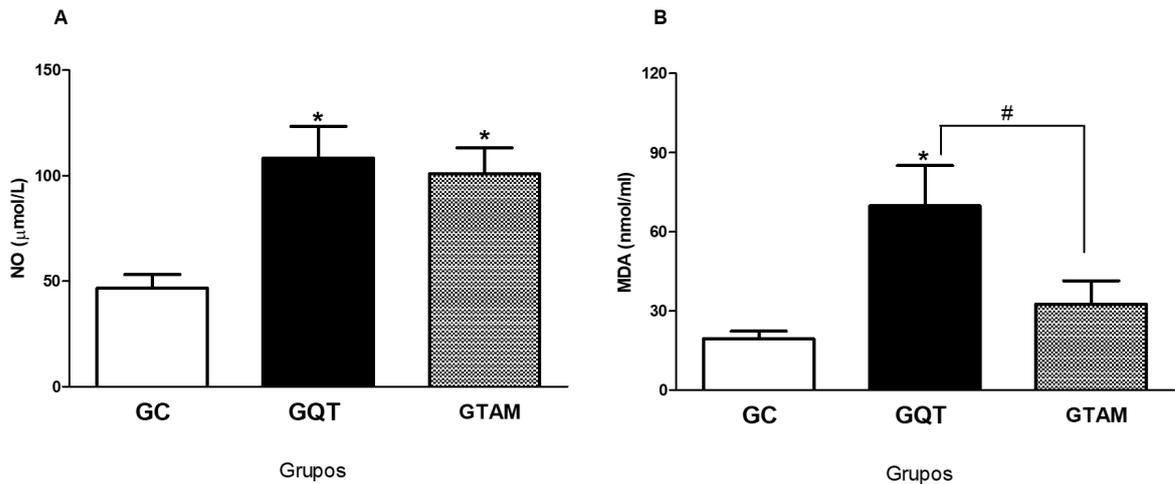
as pacientes com tamoxifeno a longo prazo de tratamento resgatam o efeito antioxidante com elevação na concentração sanguínea de GSH retomando as condições de defesa do organismo.

A enzima CAT foi avaliada quanto a sua atividade no plasma das pacientes que receberam quimioterapia e hormonioterapia com tamoxifeno. A atividade enzimática mostrou-se elevada no plasma de pacientes de quimioterapia de forma significativa ($*p<0,05$) em relação às pacientes saudáveis do grupo controle (GC = $1,73 \pm 0,15$ U/mg de proteína; GQT = $2,17 \pm 0,33$ U/mg de proteína; GTAM = $1,75 \pm 0,21$ U/mg de proteína), contudo nas pacientes de tamoxifeno houve uma inibição significativa da atividade da CAT em relação as pacientes de quimioterapia, sugerindo que na fase de quimioterapia, por ser de grande exposição aos esquemas com diferentes citotóxicos, o desgaste oxidativo é maior sendo modificado a medida que terminam a quimioterapia e entram em tratamento com tamoxifeno apresentando diferença significativa ($p<0,05$).

Quanto a atividade da SOD nos grupos que receberam quimioterapia e tamoxifeno, não houve atividade desta enzima quando comparado com o grupo de pessoas saudáveis (GC = $159,45 \pm 18,7$ nmol/ml; GQT = $151,74 \pm 16,05$ nmol/ml; GTAM = $142,78 \pm 30,97$ nmol/ml), porém uma redução não considerada significativa estatisticamente.

Os parâmetros pró-oxidantes foram avaliados pelo Malondialdeído (MDA) e NO observados na Figura 17. O MDA foi quantificado como um índice de peroxidação lipídica no plasma das pacientes que receberam quimioterapia, tamoxifeno e controle. As pacientes de quimioterapia (GQT = $69,77 \pm 64,8$ nmol/ml) apresentaram maior nível de peroxidação lipídica comparado com as do grupo controle (GC = $19,35 \pm 13,19$ nmol/ml) ($p<0,05$), contudo nas pacientes com tamoxifeno (GTAM = $32,57 \pm 35,5$ nmol/ml), esses valores foram reduzidos em relação as de quimioterapia, sugerindo uma possível reversão significativa do dano oxidante às biomembranas pelo uso do tamoxifeno ($p<0,05$). Os níveis de óxido nítrico no soro das pacientes que receberam quimioterápicos e tamoxifeno mostraram uma elevação significativa (GC = $46,62 \pm 24,14$ μ mol/L; GQT = $108,2 \pm 64,07$ μ mol/L; GTAM = $100,8 \pm 42,75$ μ mol/L) quando comparados às pacientes saudáveis do grupo controle ($p<0,05$) (Figura 17).

Figura 17 – Mediadores pró-oxidantes de estresse oxidativo de pacientes em tratamento quimioterápico e com tamoxifeno



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

Nota: (A) NO, (B) MDA. Os dados são apresentados em média \pm DP.

* diferença com o controle, # diferença entre grupos de estudo. p<0,05.

Considerando a razão entre os parâmetros antioxidantes com os pró-oxidantes, as pacientes que receberam quimioterápicos tais como a doxorubicina, ciclofosfamida, docetaxel e paclitaxel, mostraram-se mais sensíveis aos danos oxidativos (GSH/MDA = 0,78) em relação as do grupo GTAM (GSH/MDA = 2,96), sugerindo que TAM possa ser mais brando do que os quimioterápicos, quanto à indução de danos oxidativos ao organismo das pacientes (Tabela 2).

Tabela 2 – Razão entre os mediadores antioxidantes com os pró-oxidantes entre os grupos que receberam tratamento quimioterápico e hormonioterápico

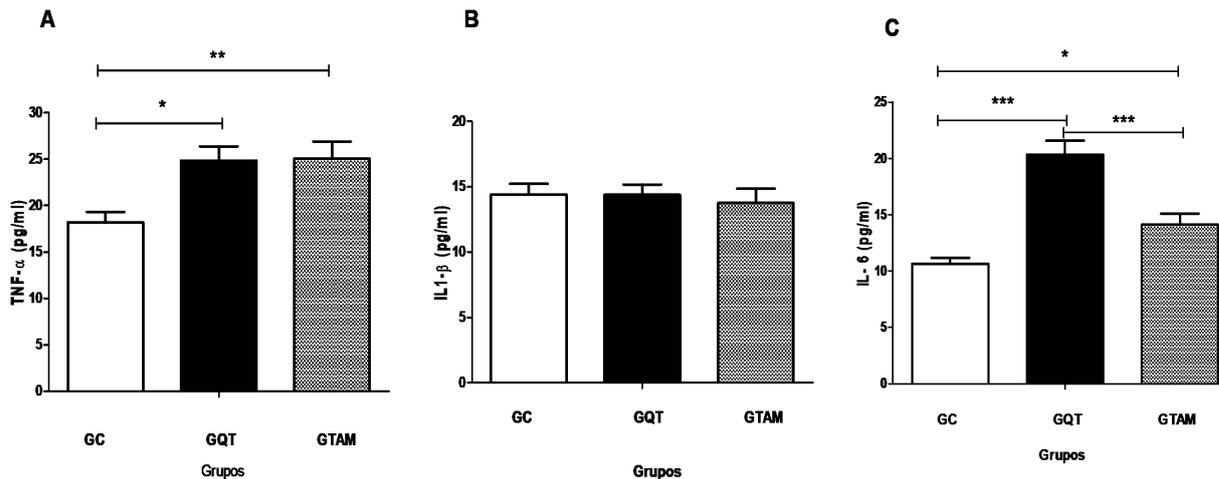
GRUPOS	GSH	MDA	GSH/MDA	p-valor
GC	86.3	19.35	4.45	
GQT	54.49	69.77	0.78	p<0,01
GTAM	96.45	32.56	2,96	

Fonte: Pesquisa (2017-2019)

4.1.4 Níveis sistêmicos de citocinas pró-inflamatórias

As pacientes avaliadas, apresentaram níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias expressas em média e desvio padrão em pg/ml entre os grupos, observadas na Figura 18.

Figura 18 – Níveis de citocinas pró-inflamatórias em amostras de pacientes submetidas a quimioterapia e tratamento hormonal com TAM



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

Nota: (A) TNF- α ; (B) IL-1 β ; (C) IL-6. Resultados expressos em média, DP e EP.

Diferença estatística *** $p < 0,05$.

As concentrações médias de TNF- α apresentaram elevação significativa nas pacientes que receberam quimioterapia comparada com controle (GC = $18,20 \pm 4,70$ pg/ml; GQT = $24,84 \pm 6,68$ pg/ml) $p < 0,05$ e também nas que faziam tratamento hormonal prolongado com tamoxifeno (GTAM = $25,06 \pm 7,98$ pg/ml) ($p < 0,05$), mostrando o quanto as pacientes podem estar tendo uma resposta inflamatória decorrente do tratamento ou da própria doença somada ao tratamento.

Concentrações médias de IL-1 β mostraram-se sem alteração nos dois grupos comparados com o controle (GC = $14,41 \pm 3,45$ pg/ml; GQT = $14,38 \pm 3,39$ pg/ml; GTAM = $13,74 \pm 4,82$ pg/ml). As concentrações médias de IL-6 apresentaram-se elevadas significativamente nas pacientes que receberam quimioterápicos e tamoxifeno, comparadas com o controle (GC = $10,62 \pm 2,36$ pg/ml; GQT = $20,34 \pm 5,39$ pg/ml; GTAM = $14,12 \pm 4,29$ pg/ml), isto é, grupo controle com quimioterápicos ($p < 0,05$) e grupo controle com tamoxifeno ($p < 0,05$). Quando comparados quimioterápicos e tamoxifeno entre si a diferença foi altamente significativa ($p < 0,05$) quanto a redução dos níveis de IL-6 nas pacientes de tamoxifeno, mostrando que a severidade da inflamação possa estar mais pronunciada na fase ativa do câncer e no tratamento quimioterápico.

A partir dos resultados da pesquisa apresentados, torna-se importante ressaltar, que os efeitos das terapias anticâncer em sistemas biológicos são complexos em qualificar, pois envolve uma abordagem cuidadosa sobre a poliquimioterapia com diferentes quimioterápicos. São medicamentos com perfil de toxicidade elevada, prescritos em diferentes combinações,

com a finalidade de intervir na progressão do câncer. Ao mesmo tempo que se objetiva uma eficácia máxima do tratamento é necessário garantir ao paciente o máximo possível de benefícios com o mínimo de efeitos tóxicos e resistência farmacológica, diminuindo a recorrência do câncer e melhorando a qualidade de vida das pacientes (FISUSI e OKALA, 2019).

O câncer traz consigo vários fatores de risco associados. Os quimioterápicos uma vez administrados por via sistêmica, além de atuarem no seu local de ação, levam a uma resposta imunológica inflamatória, com liberação de mediadores inflamatórios como as citocinas pró-inflamatórias. Disso depende do tipo da droga, tipo do regime, intensidade da dose e duração do tratamento (CHEUNG, 2013).

Nesta pesquisa, foi explorado as principais alterações apresentadas pelas pacientes durante os diferentes tratamentos a que foram submetidas e suas características socioantropométricas e clínicas. A faixa etária predominante foi de risco, de 40 a 50 anos (variação=35 a 51 anos). De acordo com o National Cancer Institute a partir dos 40 anos, o risco do câncer de mama se manifestar nessa faixa etária é maior, principalmente os tipos dependentes de estrogênios. No Brasil, o óbito de mulheres por câncer de mama é alto com 16.724 óbitos por câncer de mama feminina registrados em 2017, o equivalente a um risco de 16,16 por 100 mil mulheres (INCA, 2016). Pacientes de câncer de mama nessa faixa etária são as que mais apresentam diagnóstico para o tipo de câncer receptor (ER+) e também possuem modificações hormonais que interferem no metabolismo em fase de pré e pós menopausa, pois mais da metade estavam na fase de pós-menopausa. No entanto, podemos destacar, que como essas mulheres já passaram pela quimioterapia e radioterapia, essas terapias por si só já levam a diminuição da função ovariana. De acordo com Dohou *et al.*, (2017), pacientes jovens acima de 43 anos com câncer de mama e sob quimioterapia correm mais riscos de menopausa precoce induzida por quimioterápicos.

O perfil social, mostrou que a maioria são pardas, com ensino médio completo, trabalhadoras autônomas e comerciárias com renda média mensal de 1 a 3 salários-mínimos para manutenção de suas vidas em alimentação, gastos com tratamento e moradia. Esses dados, quando comparados com um estudo realizado com mulheres com câncer de mama no Brasil e usuárias do Sistema Único de Saúde, destacou que as mulheres negras e pardas tem um perfil de incidência elevada de câncer de mama, visto as condições socioeconômicas, culturais e religiosas relacionadas ao autoexame, o acesso a mamografia e ao diagnóstico tardio, haja visto, que o tipo de tumor diagnosticado foi o carcinoma ductal em grau II e III, o mais comum tipo

tumoral. Se esse tipo de câncer fosse diagnosticado na fase inicial (I) e não na fase II, o diagnóstico seria precoce e os prognósticos seriam melhores (SILVA *et al.*, 2013).

Considerando que todas as pacientes foram submetidas ao tratamento com quimioterápicos nas combinações Adriamicina, Ciclofosfamida e Paclitaxel (AC-T) e Adriamicina, Ciclofosfamida (AC) e subsequentemente realizaram radioterapia, mastectomia e hormonioterapia, estudos mostram que os quimioterápicos associados a radioterapia e a procedimentos cirúrgicos de reparação da mama impactam diretamente na saúde e bem estar físico e psicológico das pacientes, incapacitando para a sobrevivência (YEO *et al.*, 2017).

Cohen *et al.*, (2019), em um estudo de coorte com mulheres submetidas a quimioterapia, radioterapia e outros tratamentos, 83% relataram sintomas de fadiga com dificuldades para o convívio social e ocupacional, incluindo diminuição da produtividade nas atividades diárias e redução da qualidade de vida, atribuídos aos sintomas após a quimioterapia.

Ao avaliarmos o peso das pacientes, vimos que as que receberam os quimioterápicos na combinação doxorrubicina, ciclofosfamida e paclitaxel, metade estavam com sobrepeso, obesidade grau I e II, sem diferença para as que receberam tamoxifeno, onde 80% também apresentaram resultado semelhante, com IMC acima de 25 e 30 kg/m². A circunferência abdominal, aonde se avalia a adiposidade visceral, estava acima de 80cm em todas as pacientes, o que pode diferenciar as pacientes com peso normal, mas com acúmulo de gordura na região abdominal, um indicador ruim para risco cardiometabólico.

Para Lima *et al.* (2017), mudanças no peso corporal durante a quimioterapia e o tratamento hormonal influenciam negativamente no prognóstico, sobrevida e qualidade de vida de mulheres com câncer de mama. Mulheres em terapia endócrina aumentam de 1 a 2 kg em comparação com aquelas em quimioterapia, pois ganham de 3 a 7 kg.

Além do ganho de peso, o perfil lipídico das pacientes mostrou-se desfavorável ao comparar com as mulheres do controle saudável, principalmente para as pacientes do grupo quimioterápico, com elevações nos níveis de colesterol total, LDL-c e triglicérides acima dos valores de normalidade, diferente dos níveis de HDL-c que foram baixos. Para Ivanova *et al.*, (2017), o LDL-c elevado configura-se como um biomarcador de aterosclerose, no entanto pressupõe-se que um perfil lipídico desfavorável possa ser decorrente do estilo de vida, condições clínicas, distúrbios nutricionais decorrentes do próprio tratamento, menopausa, além da agressividade provocada pelos quimioterápicos (DEMARK-WAHNEFRIED, 2015).

Outros autores em pesquisa da mesma natureza viram que a dislipidemia, o ganho de peso e alterações metabólicas são apresentadas por pacientes em diferentes tipos de câncer, inclusive de mama, em tratamentos com quimioterápicos (YEO *et al.*, 2017); (DIELI-

COUWRIGHT *et al.*, 2016); (ARPINO *et al.*, 2015). Um outro estudo realizado com mulheres brasileiras com câncer de mama em terapia com paclitaxel mostrou uma alteração no metabolismo lipídico, com redução da lipoproteína HDL e aumento de hidroperóxidos no plasma, contribuindo para o surgimento de doenças cardiovasculares no tratamento (PANIS *et al.*, 2017).

Hoogeveen *et al.* (2014) observou que pacientes também apresentaram alteração nesses parâmetros, no entanto adverte que a prática de exercícios físicos é importante no sentido de reverter a condição, pois além de melhorar a qualidade de vida do paciente, aumentam as taxas do colesterol HDL e diminui o sobrepeso. As pacientes não praticavam exercícios físicos regulares, principalmente as do grupo quimioterapia, o que pode ser justificado pelo estado de saúde e condições do tratamento (GUEDES *et al.*, 2016).

Os resultados, apesar da limitação metodológica, com um número menor de pacientes e por não realizarmos a pesquisa antes e depois das terapias e sim durante, não são tão diferentes dos achados de alguns autores com um desenho diferente sobre alterações lipídicas e ganho de peso na quimioterapia. Um estudo de cohort de Fredslund *et al.*, (2019), com 13 mulheres na pré-menopausa e 20 pós menopausa, mostrou que os componentes da síndrome metabólica, tais como medidas antropométricas, perfil lipídico, níveis de glicose, pressão sanguínea, mudaram consideravelmente durante a quimioterapia e após um ano continuavam alterados levando a crer que o status da menopausa, principalmente em mulheres na pré-menopausa estariam mais propensas a desenvolver essas alterações.

Li *et al.*, (2018), em um cohort retrospectivo, comparou os níveis de lipídios e lipoproteínas entre 1054 pacientes com câncer de mama e 2483 controles normais. Pacientes com câncer tinham menor incidência de dislipidemia em relação a população de mulheres sem o câncer, no entanto a dislipidemia se manifestou após a quimioterapia, ressaltando o monitoramento dos lipídios como prevenção durante o tratamento.

Além das alterações metabólicas, estudou-se os níveis de defesa antioxidante e os mediadores de resposta inflamatória. Sabemos que na biologia do câncer, o estresse oxidativo desempenha um papel negativo na severidade da doença, contudo os taxanos e antraciclina aumentam a gravidade, pois levam a geração de ROS e a mudanças no padrão de mediadores inflamatórios (PANIS *et al.*, 2017) e (RAMANATHAN *et al.*, 2005).

Em relação aos parâmetros de estresse oxidativo apresentados, houve diferenças entre os valores médios dos níveis anti e pró-oxidantes nas pacientes de quimioterapia comparadas com controle. Amin *et al.* (2012), em sua pesquisa sobre estresse oxidativo na quimioterapia do câncer de mama, encontrou resultados semelhantes ao relatar aumento significativo de MDA

e NO e diminuição dos níveis de GSH ao comparar pacientes normais com pacientes com câncer de mama. Assim como Yeh *et al.*, (2005) em seu estudo sobre estresse oxidativo no sangue de pacientes com câncer de mama. Sener *et al.* (2007), ao avaliar a peroxidação lipídica e estado antioxidante total, observou aumento dos níveis de MDA e diminuição da capacidade total antioxidante nas pacientes com câncer de mama em comparação com mulheres saudáveis.

Ao se avaliar a razão entre as médias dos indicadores anti e pró-oxidantes em cada grupo da pesquisa, vimos que as pacientes de quimioterapia apresentaram os menores valores entre a razão descrita acima (GSH/MDA = 0,78), bem diferente das mulheres saudáveis (GSH/MDA = 4,45) e que faziam tamoxifeno (GSH/MDA = 2,96). O grupo do tamoxifeno, apesar de ser um grupo que passou pela quimioterapia, radioterapia e mastectomia, apresentou também valores consideráveis de marcadores antioxidantes mostrando um possível resgate dos valores normais. As pacientes de quimioterapia, no entanto, foram as que mais apresentaram dano oxidante, possivelmente devido ao tratamento com os citotóxicos, que por si só é considerado um fator indutor de estresse oxidativo (CONKLIN *et al.* 2004).

Agunbiade *et al.* (2019) reitera que a produção de EROS durante a quimioterapia pode contribuir para o desenvolvimento ou agravamento de doenças cardiometabólicas. Semelhante consideração foi feita por Kong *et al.* (2000), em que os quimioterápicos exercem seus efeitos tóxicos sobre as células cancerosas produzindo radicais livres, levando à lesão celular irreversível e que a superprodução de ROS nas células cancerosas pode levar ao consumo excessivo das defesas antioxidantes.

Nesse contexto, níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias foram investigadas nas pacientes a fim de avaliar mais um parâmetro relacionado com os efeitos da quimioterapia. Segundo Gabay (2006), a inflamação é um mecanismo de defesa complexo no qual os leucócitos migram da vasculatura para os tecidos danificados, para destruir os agentes que podem causar lesões nos tecidos. Ao avaliarmos as pacientes de quimioterapia com o controle saudável, observamos que o TNF- α e IL-6 apresentaram-se elevados, diferente da IL-1 β que não houve modificação significativa. Resultados complementares foram obtidos por Cohen *et al.* (2019), onde houveram sintomas de fadiga crônica, estresse oxidativo e neuropatia periférica em resposta a terapia com quimioterápico para câncer de mama. Aluisse *et al.* (2011) demonstrou que certos quimioterápicos levam à lesão oxidativa tecidual resultando em resposta inflamatória com liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF-alfa e IL-6.

Uma das explicações para estes parâmetros alterados é que a IL-6 é mais liberada na fase aguda do câncer e induz à liberação de proteínas de fase aguda como a PCR, porém durante o tratamento esse perfil de resposta se mantém, pois o processo inflamatório segue uma

progressão ou não dependendo do prognóstico da doença e o estado metabólico da paciente (MAJESDI *et al.*, 2018).

Desta forma, podemos considerar que os quimioterápicos e a doença ativa, exercem um impacto maior no organismo para a resposta inflamatória relacionado com o câncer em tratamento, no entanto deve-se considerar que a obesidade leva a liberação de citocinas inflamatórias pelos adipócitos e de ROS. Kolb e Zhang (2020) mostraram evidências em que muitas citocinas inflamatórias que são reguladas positivamente no tecido adiposo inflamado em obesos, como TNF, IL-6 e IL-1, uma vez elevados em pacientes obesas com câncer de mama estão associados à maior progressão e resultados ruins.

Gilbert e Slingerland (2013) recomendam que mulheres com câncer de mama não podem ter ganho de peso, visto o comprometimento do tratamento e pela obesidade ser um fator negativo para metástase e aumento da mortalidade por câncer. Carr (2003) destacou que as variações estrogênicas da menopausa, leva a uma condição de fragilidade, pois os estrógenos são os maiores reguladores do equilíbrio metabólico.

Assim, a combinação de excesso de peso, dislipidemia com aumento do perfil oxidante e inflamatório e os tratamentos anticâncer em curso estabelecem uma condição desfavorável para a sobrevivência dessas pacientes com qualidade de vida. Todavia, os mecanismos de sinalização celular ativados por drogas citotóxicas e hormonais, que expliquem essas mudanças negativas na terapia, ainda precisam ser bem elucidados a fim de contribuir para os ajustes terapêuticos.

O monitoramento das pacientes durante o tratamento, identificando e notificando em protocolos clínicos os efeitos adversos, poderiam contribuir para o controle e avanço dos problemas advindos da terapia, garantindo maior adesão terapêutica. Encorajar as pacientes a realizarem exercícios físicos moderadamente, assim como, uma dieta equilibrada com alimentos antioxidantes, poderiam ajudar a diminuir os danos sofridos no tratamento.

4.2 Seção II: Impacto dos níveis de lipoproteínas na exposição aos metabólitos do tamoxifeno durante a hormonioterapia

4.2.1 Correlação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno com os níveis de triglicérides, colesterol total e lipoproteínas nas pacientes

Neste estudo, 20 pacientes utilizando tamoxifeno 20mg/dia, por 25 meses (intervalo: 13–50 meses), foram incluídas. A média de idade foi de 43 anos (variação: 32-50 anos). O índice de massa corporal foi de 26,43 (intervalo: 21,2 - 35,25). Um total de 20% dos pacientes

eram eutróficas, 65% com sobrepeso e 15% obesos. A dose média diária administrada foi 0,314 mg / kg (intervalo: 0,213 – 0,371 mg /kg).

O nível plasmático médio no estado estacionário foi de 62 ng / mL para tamoxifeno (intervalo: 38-140 ng / mL) 1,04 ng / mL para o metabólito 4-hidroxitamoxifeno (intervalo: 0,8-2,67 ng / mL) e 8,79 ng / mL para endoxifeno (intervalo: 6,5-16,8 ng / mL). A proporção média de 4-hidroxitamoxifeno para tamoxifeno foi de 0,016 (intervalo: 0,005-0,04) e o de endoxifeno para tamoxifeno foi de 0,129 (intervalo: 0,008–0,27).

Os triglicerídeos variaram de 59 mg / dL a 352 mg / dL, sendo que 35% dos pacientes apresentavam níveis acima da normalidade. Colesterol total variou de 157 mg / dL a 321 mg / dL, e 40% dos pacientes apresentaram valores acima dos valores da faixa normal. Os níveis de LDL-c variaram de 72 mg / dL a 176 mg / dL, e 10% dos pacientes apresentaram valores acima dos valores da faixa normal. Os níveis plasmáticos de HDL-c variaram de 25,1 mg / dL a 62,8 mg / dL, e eles estavam abaixo dos valores da faixa normal em 35% dos pacientes. O valor médio de VLDL foi de 26,65 mg / dL (intervalo: 11,34-67,69 mg / dL).

Os resultados mostraram que não houveram correlações significativas entre as concentrações de tamoxifeno com os níveis de triglicerídeos e com os níveis de colesterol total. Os metabólitos apresentaram resultados semelhantes (Tabela 3).

Tabela 3 – Correlação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno com colesterol total e triglicerídeos

Variáveis	Coefficiente de Correlação de Spearman	p-valor
Tamoxifeno		
Colesterol Total (mg/dl)	-0.106	0.6647
Triglicerídeos (mg/dl)	0.2535	0.3320
4-hydroxytamoxifeno		
Colesterol Total (mg/dl)	0.1843	0.450
Triglicerídeos (mg/dl)	0.2353	0.3320
Endoxifeno		
Colesterol Total (mg/dl)	-0.041	0.8696
Triglicerídeos (mg/dl)	-0.2439	0.3143

Fonte: Pesquisa (2017-2019).

A análise de regressão múltipla mostrou correlações fracas entre concentrações plasmáticas de tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno com níveis de lipoproteínas (HDL-c, LDL-c e VLDL-c) (Tabela 4).

Tabela 4 – Matriz de análise de regressão múltipla com concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno como variáveis de resultados

Variável	Coefficiente de regressão padronizado	Erro Padrão	Coefficiente de regressão	Coefficiente de determinação	Erro Padrão	t	p-valor
Tamoxifeno							
HDL-c (mg/dl)	-0.615	0.3370	-1.0708		0.5756	-1.860	0.0825
LDL-c (mg/dl)	-0.2614	0.2627	-0.2155		0.2154	-0.995	0.3355
VLDL (mg/dl)	-0.4077	0.3128	-0.6818	0.1886	0.5231	-1.303	0.2121
4-hidroxitamoxifeno							
HDL-c (mg/dl)	0.1723	0.3624	0.0061		0.012	0.4755	0.6412
LDL-c (mg/dl)	0.0038	0.2879	0.0006		0.004	0.0131	0.9894
VLDL (mg/dl)	0.0181	0.3428	0.0006	0.0257	0.011	0.0530	0.9583
Endoxifeno							
HDL-c (mg/dl)	0.2293	0.3449	0.0521		0.078	0.6648	0.5162
LDL-c (mg/dl)	0.0280	0.2740	0.0030		0.029	0.1023	0.9198
VLDL (mg/dl)	-0.1558	0.3262	-0.0341	0.117	0.071	-0.4776	0.6398

Fonte: Pesquisa (2017-2019).

O tamoxifeno tem sido usado por mais de 40 anos para câncer de mama com receptor estrogênico positivo em mulheres na pré-menopausa, reduzindo anualmente taxas de recaída e mortalidade no câncer de mama primário (FORBES, 1997). A alta variação inter-paciente nas concentrações plasmáticas da droga e os metabólitos ativos são relevantes porque podem levar a uma eficácia subótima em alguns pacientes.

A maioria dos estudos que avaliaram os preditores de concentrações plasmáticas de tamoxifeno foram voltadas para a influência de Polimorfismos do CYP2D6 na formação dos metabólitos ativos; conseqüentemente, a influência de outros parâmetros farmacocinéticos, como a capacidade de se ligar a lipoproteínas, o que altera sua distribuição para o tecido-alvo, tem sido pouco explorado (KLOPP-SCHULZE *et al.*, 2018; CHAO *et al* 2019; VRIES SCHULTINK *et al.*, 2017).

As concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno e as proporções de metabólitos ativos para o fármaco original estavam de acordo com estudos anteriores em pacientes usando a mesma dose diária. Por exemplo, as concentrações de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno após uma dose única de 20 mg foram estimados em 40 ng / mL, 12,9 ng / mL, e 1,9 ng / mL, respectivamente (SANCHEZ-SPITMAN *et al.*, 2019; KLOPP-SCHULZE *et al.*, 2018; CHAO *et al* 2019; VRIES SCHULTINK *et al.*, 2017).

Como esperado, houve uma alta variação interindividual nas concentrações plasmáticas dos compostos e nas razões dos metabólitos ativos para a droga original, mas este achado não modifica a exposição ao endoxifeno, pois as concentrações do metabólito estavam acima do limite terapêutico proposto de 5,97 ng / mL em todos os pacientes do estudo (SANCHEZ-SPITMAN *et al.*, 2019; KLOPP-SCHULZE *et al.*, 2018; CHAO *et al.* 2019; VRIES SCHULTINK *et al.*, 2017).

Vários estudos relataram um efeito protetor da terapia com tamoxifeno contra doenças coronárias devido à redução do colesterol total e LDL-c, acompanhado pelo aumento do HDL-c (BOURASSA *et al.*, 2016; LIN *et al.*, 2014; HOZUMI *et al.*, 1998).

A diminuição do LDL-c tem sido relacionado com a capacidade do tamoxifeno de estimular a expressão de genes que codificam os receptores LDL-c, reduzindo os níveis desta lipoproteína, e o aumento de HDL-c em pacientes com uso a longo prazo de tamoxifeno foi associado a um provável efeito da droga sobre o fígado (BOURASSA *et al.*, 2016; CHAO *et al.* 2019; VRIES SCHULTINK *et al.*, 2017; BRÜNING *et al.*, 2003).

Algumas descobertas deste estudo preliminar contrastam com o padrão relatado de alterações lipídicas em pacientes em terapia de longo prazo com tamoxifeno (LIN *et al.*, 2014); (LOVE *et al.*, 1990; SAHEBKAR *et al.*, 2017). Por exemplo, a porcentagem de pacientes com os níveis de colesterol total acima do valor normal eram 40%, e os níveis de HDL-c estava abaixo do valor normal em 35% dos pacientes do estudo. Além disso, a proporção de pacientes com níveis de LDL-c acima do valor normal foi 10%. Os níveis de triglicérides estavam acima da faixa normal com valores em 35% dos pacientes do estudo. O aumento dos triglicérides é um achado comum em pacientes em uso de tamoxifeno devido à capacidade da droga de inibir a atividade hidrolítica da lipase lipoproteica e por sua vez, o metabolismo dos triglicérides, aumentando assim seus níveis no plasma (BIRZNIECE *et al.*, 2017).

Não houve correlações significativas entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno ou 4-hidroxitamoxifeno com os níveis do colesterol total ou triglicérides. Além disso, a análise multivariada também mostrou correlações fracas ou não significativas entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno ou 4-hidroxitamoxifeno e HDL-c, LDL-c e VLDL-c, o que sugere uma baixa capacidade de ligação de tamoxifeno e seus metabólitos ativos em lipoproteínas em comparação com albumina e outras proteínas plasmáticas (PATERSON *et al.*, 2003).

Esses dados são clinicamente relevantes porque sugerem uma falta de influência da variação dos níveis desses lipídios nas concentrações plasmáticas da droga e seus metabólitos e, por sua vez, na exposição a esses compostos. A direção da correlação, se positiva ou negativa,

e a ampla faixa do coeficiente β pode estar relacionada às diferentes propriedades físico-químicas do tamoxifeno e seus metabólitos que influenciam a capacidade de ligação aos lipídios plasmáticos e têm um padrão diferente de distribuição para os tecidos (KLOPP-SCHULZE *et al.*, 2018; PASQUALINE *et al.*, 1988; VRIES SCHULTINK *et al.*, 2017; SAHEBKAR *et al.*, 2017; PATERSON *et al.*, 2003).

Apesar da ausência de correlações significativas entre as concentrações plasmáticas do fármaco e seus metabólitos com lipídeos, alguns achados interessantes do estudo devem ser melhor elucidados. Por exemplo, a associação positiva e fraca entre os níveis de HDL-c com o plasma e níveis de metabólitos ativos sugerem que os pacientes com HDL-c alto podem ter uma alta exposição à droga; a associação negativa dos níveis plasmáticos de tamoxifeno e endoxifeno com VLDL-c podem sugerir uma secreção hepática reduzida de VLDL-c relatada em mulheres pacientes saudáveis na pós-menopausa devido à inibição do hormônio do crescimento pelo tamoxifeno, que contribui para a deposição de gordura no fígado; e a influência sobre resultados clínicos da associação negativa entre triglicerídeos com endoxifeno (BIRZNIECE *et al.*, 2017).

As limitações do estudo foram o pequeno número de pacientes incluídos e a falta de quantificação seletiva do isômero Z de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno, bem como os níveis de 4-hidroxi N-desmetiltamoxifeno, que têm concentração plasmática semelhante ao endoxifeno, mas baixa atividade sobre o receptor de estrogênio, que pode levar a uma superestimativa nas concentrações dos metabólitos (JAGER *et al.*, 2012).

A ampla gama de níveis de lipídios encontrados nos pacientes do estudo, devido a vários fatores intrínsecos, como os polimorfismos das enzimas envolvidas no metabolismo lipídico, idade, raça, hábitos alimentares, exercícios, função da tireóide e fatores hormonais fortalece a ausência de associação de tamoxifeno e seus metabólitos com os níveis de lipídios no sangue (SAHEBKAR *et al.*, 2017).

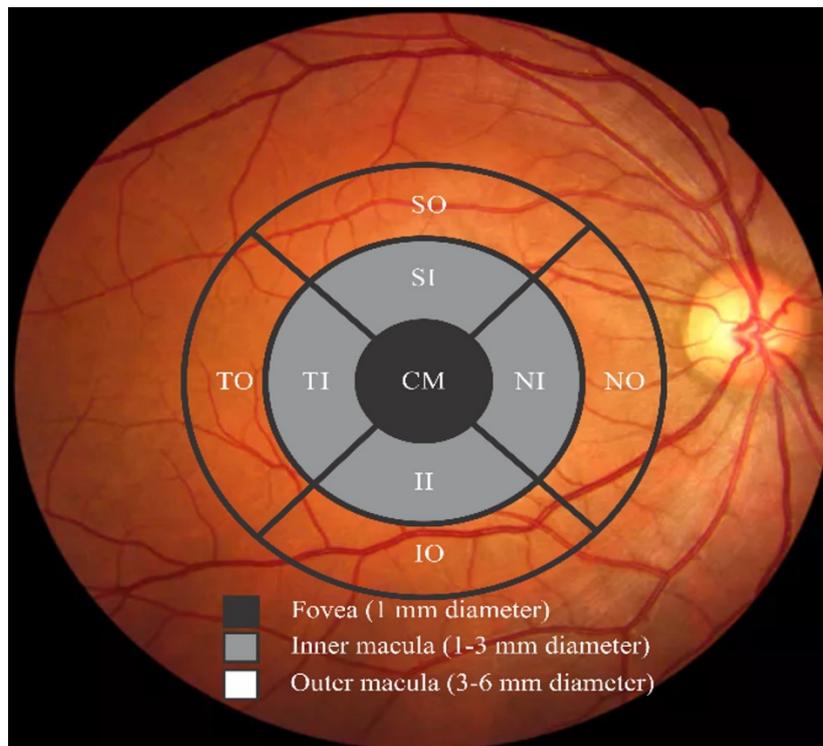
Estes dados preliminares sugerem que as concentrações plasmáticas de tamoxifeno, endoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno não estão correlacionados com lipídios. Assim, a taxa de drogas não ligadas e sua distribuição nos tecidos corporais provavelmente não são afetados pela variação nos níveis de lipídios devido ao uso a longo prazo de tamoxifeno.

4.3 Seção III: Influência dos tratamentos anticâncer na espessura da retina

4.3.1 O impacto da quimiorradioterapia e hormonioterapia sobre a espessura da retina

A espessura da retina de olhos das participantes da pesquisa, foram medidas em nove campos maculares: CM: campo macular central; II: campo inferior interno; IO: campo inferior externo; TI: campo temporal interno; TO: campo temporal externo; SI: campo superior interno; SO: campo superior externo; NI: campo nasal interno; NO: campo nasal externo, em destaque na figura (Figura 19).

Figura 19 – Campos maculares da retina usados para medir a espessura da retina das participantes da pesquisa

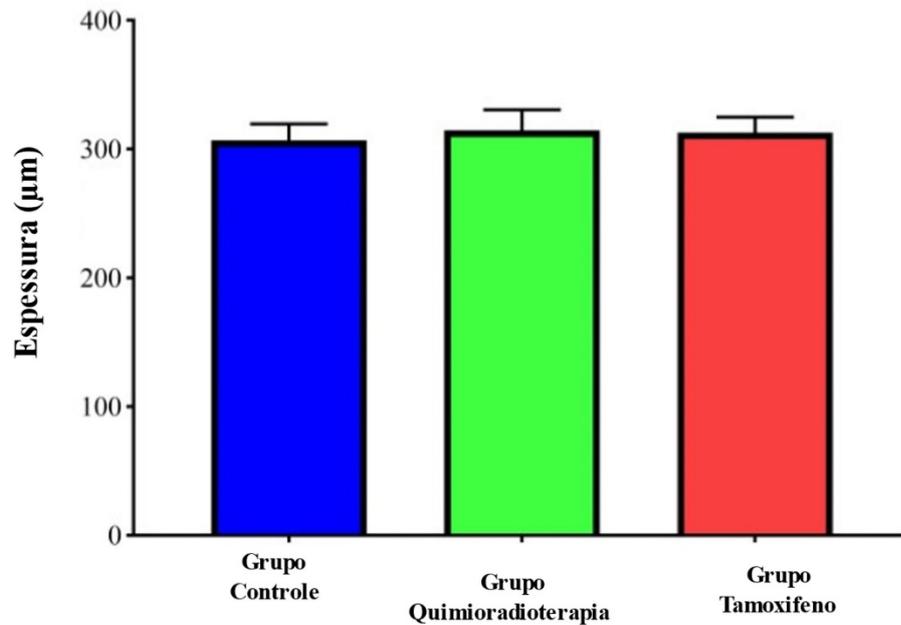


Fonte: Pesquisa (2017-2019).

Nota: CM: campo macular central; II: campo inferior interno; IO: campo inferior externo; TI: campo temporal interno; TO: campo temporal externo; SI: campo superior interno; SO: campo superior externo; NI: campo nasal interno; NO: campo nasal externo.

A comparação da espessura macular média mostrou que não houve diferença entre os grupos ($F = 1,533$, $p > 0,05$). A Figura 20 mostra a comparação da espessura macular média dos grupos de controle, quimiorradioterapia e terapia com tamoxifeno.

Figura 20 – Espessura da retina de olhos de pacientes em quimiorradioterapia e tamoxifeno comparada ao grupo controle. Resultado expresso em média \pm DP

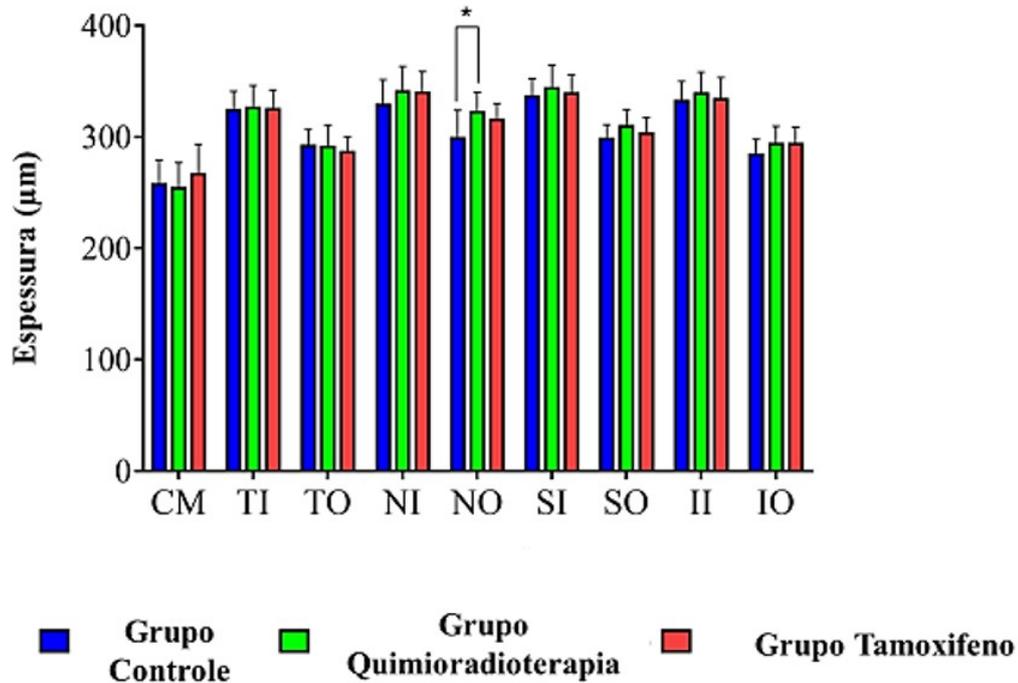


Fonte: Pesquisa (2017-2019).

A comparação da espessura macular regional mostrou que apenas um campo apresentou diferença significativa entre os dois grupos. No campo macular nasal externo, observamos que os pacientes em quimiorradioterapia apresentaram espessura retiniana mais fina em comparação com controles (valor p ajustado = 0,02). Nenhuma outra comparação múltipla da espessura da retina para o mesmo campo macular encontrou significância estatística. A Figura 21 mostra as comparações múltiplas para os diferentes campos maculares entre os três grupos analisados.

Os resultados da análise de regressão linear múltipla mostraram que apenas para espessura macular central a adição das variáveis melhorou significativamente o ajuste do modelo linear aos dados ($F = 4,34$ $p = 0,02$). A espessura macular central foi um preditor significativo de idade, concentração sanguínea de tamoxifeno e concentração sanguínea de 4-hidroxitamoxifeno ($p < 0,05$). O modelo de regressão linear múltipla final considerou que 70% da variação na espessura macular central é contabilizada pelas variáveis investigadas (idade: 34% concentração sanguínea de tamoxifeno: 5%; 4-hidroxitamoxifen: 31%).

Figura 21 – Espessuras de retinas relacionadas aos nove campos maculares de olhos de pacientes que receberam quimiorradioterapia e tamoxifeno comparada ao grupo controle



Fonte: Pesquisa (2017-2019).

Nota: CM: (campo macular central); II: campo inferior interno; IO: campo inferior externo; TI: campo temporal interno; TO: campo temporal externo; SI: campo superior interno; SO: campo superior externo; NI: campo nasal interno; NO: campo nasal externo. Resultado expresso em média, barras de erro representam o desvio padrão de cada banco de dados do grupo. $P^* < 0,05$.

O principal resultado foi que tanto a terapia do câncer de mama (quimiorradioterapia seguida ou não por terapia com dose baixa de tamoxifeno) teve poucos efeitos na espessura macular da retina. Não observamos alterações estatisticamente significativas na média da espessura macular retiniana ou nos campos locais da mácula observadas no grupo de terapia com tamoxifeno e apenas um campo macular foi alterado no grupo quimioterápico, que apresentou retina mais fina em comparação com o grupo controle. No entanto, observamos que pacientes que receberam tamoxifeno tiveram a espessura macular central influenciada pela concentração plasmática dos metabólitos do tamoxifeno.

Lim *et al.* (2018) avaliaram pacientes em uso de tamoxifeno no tratamento de câncer de mama quanto à espessura macular da retina. O entendimento sobre os resultados de Lim *et al.* (2018) tem diferentes razões. Além das medidas de espessura macular total, como foi feito pelos autores, o presente estudo avaliou a espessura de nove diferentes campos maculares da retina desses pacientes para verificar a existência de alterações locais que poderiam ser compensadas por medidas retinianas maiores.

Descobrimos também que a espessura macular central foi influenciada pela idade e pela concentração plasmática dos metabólitos do tamoxifeno. Mesmo considerando que a variação da espessura macular central nos pacientes com tamoxifeno ocorreu na faixa do grupo controle, o resultado da análise de regressão linear múltipla mostra que a estrutura retiniana é sensível à presença desses metabólitos no sangue e indica a necessidade de cuidados com o uso prolongado da droga.

Embora alguns relatos descrevam a presença de queixas visuais em pacientes que receberam drogas incluídas no regime de quimioterapia (KENDE *et al.*, 1979; MOLONEY *et al.*, 2014; HAQ *et al.*, 2016), as pacientes que receberam apenas a quimioterapia tinha apenas um campo macular retiniano alterado que tinha espessura mais fina que os controles.

Os resultados das pacientes com tamoxifeno indicaram que quaisquer alterações na retina, ocorrido durante a quimioterapia seria temporário e haveria uma recuperação total, já que não foram encontradas diferenças na espessura da retina entre os controles e o grupo de pacientes com tamoxifeno.

Assim sendo, medidas de monitoramento tornam-se necessárias para detectar as primeiras alterações subclínicas com o uso prolongado da droga e iniciar ações de controle para que não haja exacerbação de efeitos futuros.

V Conclusões

5 CONCLUSÕES

- Pacientes de câncer de mama, expostas a quimioterapia e hormonioterapia, apresentaram perfil lipídico desfavorável com níveis elevados de colesterol total, LDL, triglicérides e baixo HDL; medidas antropométricas, apontaram para sobrepeso/obesidade; diferenças significativas entre o estado antioxidante e pró-oxidante, resultaram em menor capacidade antioxidante para as pacientes que receberam quimioterapia; as citocinas inflamatórias, TNF- α e IL-6 mostraram-se elevadas nas pacientes em terapia anticâncer.
- Houve fraca associação entre as concentrações plasmáticas de tamoxifeno e seus metabólitos ativos com os níveis de HDL-c, LDL-c e VLDL-c, com baixo impacto dos níveis de lipoproteínas na exposição ao tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno.
- Apenas um campo macular foi alterado no grupo quimioterápico, que apresentou retina mais fina em comparação com o grupo controle; não houve diferença significativa na espessura da retina entre pacientes com câncer de mama que receberam a quimioradioterapia e hormonioterapia em relação ao grupo controle, no entanto a estrutura da retina mostrou-se sensível à presença dos metabólitos do tamoxifeno.

Referências

REFERÊNCIAS

- ADÃO, R.; DE KEULENAER, G.; LEITE-MOREIRA, A.; BRÁS-SILVA, C. Cardiotoxicity associated with câncer therapy: pathophysiology and prevention strategies. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 32, n. 5, p. 395-409, 2013.
- AGUNBIADE, T. A.; ZAGHLOL, R.Y.; BARAC, A. Heart Failure in Relation to Anthracyclines and Other Chemotherapies. **Methodist DeBakey Cardiovascular Journal**, v. 15, n. 4, p. 243-249, 2019.
- AHIMA, R. S.; OSEI, S.Y. Leptin signaling, **Physiology & Behavior**, v. 81, n. 2, p. 223-241, 2004.
- ALDOSSARY, M. Y., ALQURAISH, F., ALAZHRI, J. A Case of Locally Advanced Breast Cancer in a 59-Year-Old Man Requiring a Modified Approach to Management. **American Journal of Case Reports**, v. 20, p. 531-536, 2019.
- ALUISE, C. D. *et al.* 2-Mercaptoethane sulfonate prevents doxorubicin-induced plasma protein oxidatioand TNF- α release: Implications for the reactive oxygen species-mediated mechanisms of chemobrain. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 50, n. 11, p. 1630-1638, 2011.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. Breast cancer facts and figures 2007-2008. Atlanta: American Cancer Society, 2007.
- AMIN, K.A., MOHAMED, B.M., EL-WAKIL, M.A.M., IBRAHEM, S.O. Impact of Breast Cancer and Combination Chemotherapy on Oxidative Stress, Hepatic and Cardiac Markers. **J Breast Cancer**.15(3): 306-312, 2012.
- ANDRÉS, S.; HIGUERAS, M. I.; MOZAZ, T. Efectos adversos oculares asociados a medicamentos y produtos oftálmicos. Vocalía de óptica. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. 2008.
- ANTUNES, M. V.; ROSA, D. D.; VIANA, T. S.; ANDREOLLA, H.; FONTANIVE, T. O.; LINDEN, R. Sensitive HPLC-PDA determination of tamoxifen and its metabolites N-desmethyltamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and endoxifen in human plasma. **J Pharm Biomed Anal**, 76:13–20, 2013.
- ARPINO, G., De ANGELIS, C., BUONO, G., *et al.* Metabolic and anthropometric changes in early breast câncer patients receiving adjuvant therapy. **Breast Cancer Res Treat**, 154:127–132, 2015.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MININ, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: avaliação de marcadores. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 33, n. 2, p. 111-128, 2008.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M., DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p.113-123, 2006.

BARRETO, R. C.; PEREIRA, G. A. S.; COSTA, L. J.; CAVALCANTI, H. R. B. B. O Duplo Papel da Inflamação no Surgimento das Lesões Cancerígenas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. v.14, n.4, p.107-114. 2011.

BEUTLER, E. The preparation of red cells for assay. In Beutler, E. (ed.) *Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods*. p.8-18, Grune Straton, New York, 1975.

BICAKLI, D.H., VAROL, U., DEGIRMENCI, M., et al. Adjuvant chemotherapy may contribute to an increased risk for metabolic syndrome in patients with breast cancer. **J Oncol Pharm Practice**, 0(0) 1–8, 2014.

BIRZNIECE, V., BARRETT, P. H. R., HO, K. K. Y. Tamoxifen reduces hepatic VLDL production and GH secretion in women: a possible mechanism for steatosis development. **Eur J Endocrinol**, 177 (2) 137–143, 2017.

BORENA, W., STOCKS, T., JONSSON, H., *et al.* Serum triglycerides and cancer risk in the metabolic syndrome and cancer (Me-Can) collaborative study. **Cancer Causes Control**, 22: 291–299, 2012.

BOURASSA, P., THOMAS, T. J., TAJMIR, RIAHI, H. A. A Short review on the delivery of breast anticancer drug tamoxifen and its metabolites by serum proteins. **J Nanomed Res**, 4 (2) 00080, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, Diário Oficial da União, 12 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 76 p.: il. – (Série G. Estatística e Informação em Saúde).

BRIEST, S; WOLFF, A. C. Insights on adjuvant endocrine therapy for premenopausal and postmenopausal breast cancer. **Expert Rev Anticancer Ther**, 7:1243–1253, 2007.

BRÜNING, J. C., LINGOHR, P., GILLETTE, J. *et al.*, Estrogen receptor-alpha and Sp1 interact in the induction of the low- density lipoprotein-receptor. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 86 (2) 113–121, 2003.

BURSTEIN, H. J; PRESTRUD, A. A; SEIDENFELD, J. *et al.*, American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline: Update on adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor–positive breast cancer. **J Clin Oncol**, 28:3784–3796, 2010.

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

CARR, M.C. The Emergence of the Metabolic Syndrome with Menopause. **J Clin Endocrinol Metab**, 88(6):2404–2411, 2003.

- CHANG, H-T., PAN, H-J., LEE, C-H., Prevent tamoxifen-related nonalcoholic fatty liver disease in breast cancer patients, **Clinical Breast Cancer**, 2017.
- CHAO, T. C., PAN, W. C., TSAI, Y. F. *et al.*, Plasma endoxifen and 4-hydroxytamoxifen levels in CYP2D6 (C100T) carrying breast cancer patients and association with serum cholesterol. **Toxicol Appl Pharmacol**, 378, 114619, 2019.
- CHEN, H-Y., YANG, Y. M., HAN, R., NOBLE, M. Inhibition Suppresses Tamoxifen Toxicity on CNS Glial Progenitor Cells. **The Journal of Neuroscience**, 18, 33(38):15069 –15074, 2013.
- CHEUNG, Y.T., LIM, S.R., HO, H.K., *et al.* Cytokines as Mediators of Chemotherapy-Associated Cognitive Changes: Current Evidence, Limitations and Directions for Future Research. **PLOS ONE**, 8 (12), e81234, 2013.
- CHROUSO, G.P. Stress and disorders of the stress system. **P Nat Rev Endocrinol**, 5, 374–381, 2009.
- COHEN, R.A., GULLETT, J.M., WOODS, A.J., *et al.* Cytokine-associated fatigue prior to, during, and post-chemotherapy for breast cancer. **J Neuroimmunol**, 15; 334: 577001, 2019.
- CONKLIN, K.A. Chemotherapy-Associated Oxidative Stress: Impact on Chemotherapeutic Effectiveness. **Integrative Cancer Therapies**, (4): 294-300, 2004.
- CORREMANS, R., ADÃO, R., KEULENAER, G.W., LEITE-MOREIRA, A.F., BRÁS-SILVA, C. Update on pathophysiology and preventive strategies of anthracycline-induced cardiotoxicity. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 46: 3, 204-215, 2018.
- DE VRIES SCHULTINK, A. H., ALEXI, X., VAN WERKHOVEN, E. *et al.*, An antiestrogenic activity score for tamoxifen and its metabolites is associated with breast cancer outcome, **Breast Cancer. Res Treat**, 161 (3) 567–574, 2017.
- DIELI-CONWRIGHT, C.M., WONG, L., WALIANY, S., *et al.* An Observational Study to Examine Changes in Metabolic Syndrome Components in Patients With Breast Cancer Receiving Neoadjuvant or Adjuvant Chemotherapy. **Cancer**, 1, 2016. 2646-2653, 2016.
- DIEZ-PEREZ, A. Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMS). **Arq Bras Endocrinol Metab** vol.50, no 4. 2006.
- DOHOU, J., MOURET-REYNIER, M. A., KWIATKOWSKI, F., *et al.* A Retrospective Study on the Onset of Menopause after Chemotherapy: Analysis of Data Extracted from the Jean Perrin Comprehensive Cancer Center Database Concerning 345 Young Breast Cancer Patients Diagnosed between 1994 and 2012. 2017. p. 255–63.
- EISNER, A.; LUOH, S. W. Breast Cancer Medications and Vision: Effects of Treatments for Early-stage Disease. **Current Eye Research**. 36(10): 867–885p, 2011.
- ELISAF, M.S., NAKOU, K., LIAMIS, G., PAVLIDIS, N.A. Tamoxifen-induced severe hypertriglyceridemia and pancreatitis. **Ann Oncol.**, 11:1067–9, 2000.

EWALD, N., HARDT, P.D., KLOER, H.U. Severe hypertriglyceridemia and pancreatitis: Presentation and management. **Curr Opin Lipidol.**, 20:497–504, 2009.

FEIGELSON, H. S.; HENDERSON, B. E. Estrogens and breast cancer. **Carcinogenesis**. vol. 17, no.II, pp. 2279-2284. 1996.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n.1, p.61-8, 1997.

FILIPPATOS, T.D., LIBEROPOULO, E.N., PAVLIDIS, N., ELISAF, M.S., MIKHAILIDIS, D.P. Effects of hormonal treatment on lipids in patients with cancer. **Cancer Treat Rev**, 35(2):175-84, 2009.

FISUSI, F.A., AKALA, E.O. Drug Combinations in Breast Cancer Therapy. **Pharmaceutical Nanotechnology**, 7, 3-23, 2019.

FORBES, J. F. The control of breast cancer: the role of tamoxifen. **Semin Oncol**, 24 (1) S1–S19, 1997.

FRANÇA, B.K., ALVES, M.R.M., SOUTO, F.M.S., *et al.* Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **J Port Gastrenterol**, 20(5):199-206, 2013.

FREDSLUND, S.O., GRAVHOLT, C.H., LAURSEN, B.E., *et al.* Key metabolic parameters change significantly in early breast cancer survivors: an explorative PILOT study. **J Transl Med**, 17:105, 2019.

GANZ, P.A., BOWER, J.E., KWAN, L., *et al.* Does tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) play a role in postchemotherapy cerebral dysfunction? **Brain Behav Immun**, 30: S99–S108, 2012.

GILBERT, C.A. & SLINGERLAND, J.M. Cytokines, Obesity, and Cancer: New Insights on Mechanisms Linking Obesity to Cancer Risk and Progression. **Annu Rev Med**, 64:45–57, 2013.

GIORDANO, S. H; PERKINS, G. H; BROGLIO, K; GARCIA, S. G; MIDDLETON, L. P; BUZDAR, A. U; HORTOBAGYI, G. N. Adjuvant systemic therapy for male breast carcinoma. **Cancer**, 104:2359–2364p, 2005.

GUEDES, D. P. *et al.*, Fatores de risco cardiovasculares em adolescentes: indicadores biológicos e comportamentais. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. vol.86 n.6 São Paulo. 2006.

GOBBI, H. Classificação dos tumores da mama: atualização baseada na nova classificação da Organização Mundial da Saúde. **J Bras Patol Med Lab**, v. 48. n. 6. p. 463-474. 2012

GORIN, M. B.; DAY, R.; COSTANTINO, J. P. *et al.*, Long-term tamoxifen citrate use and potential ocular toxicity. **Am J Ophthalmol**, 125:493–501, 1998.

GOODMAN, A. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 11. Ed. Rio de Janeiro. McGraw-Hill, 2006.

HAAS, E. C., OOSTING, S. F., LEFRANDT, J. D., WOLFFENBUTTEL, B. H. R., SLEIJFER, D. T., GIETEMA, J. A. The metabolic syndrome in cancer survivors. **Lancet Oncol**, 11: 193–203, 2010.

HAGE, R. Efeitos do fracionamento da dose de energia na Terapia fotodinâmica em tumor de cólon em ratos. 68f. Tese de doutorado. (Doutorado em Ciências). Programa de Pós-graduação em Cirurgia e Experimentação. Universidade Federal de São Paulo, 2008.

HAQ, Z. ANDREOLI, M. T., MIELER, W. F. Dark Retinal Lesion in a Young 360 Asymptomatic Man. **JAMA Ophthalmol**, 23: E1-E2, 2016.

HIRATA, B. K. B., ODA, J. M. M., GUEMBAROVSKI, R. L., ARIZA, C. B., OLIVEIRA, C. E. C., WATANABE, M. A. E. Molecular Markers for Breast Cancer: Prediction on Tumor Behavior. **Hindawi Publishing Corporation**. Article ID 513158, 12 p. 2014.

HOOGEVEEN, R.C., GAUBATZ, J.W., SUN, W., *et al.* Small Dense Low-Density Lipoprotein-Cholesterol Concentrations Predict Risk for Coronary Heart Disease The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 114.303284, 2014.

HOZUMI, Y., KAWANO, M., SAITO, T., MIYATA, M. Effect of tamoxifen on serum lipid metabolism. **J Clin Endocrinol Metab**, 83 (5) 1633–1635, 1998.

HUANG, PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. **Disease Models & Mechanisms**, 2, 231 – 237, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. 122 p. Rio de Janeiro (RJ): INCA, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2019.

INSTITUTO Oncoguia. **Estimativas de câncer no Brasil**. Disponível em: www.oncoguia.org.br/conteudo/estimativasnobrasil/1705/1. Acesso em: 18 out. 2016.

INSTITUTO Oncoguia. **Causas do câncer**. Disponível em: www.oncoguia.org.br/conteudo/causas-do-cancer/80/1/. Acesso em: 27 agosto de 2021.

INADA, E. T.; WATANABE, K. P.; TANAKA, S. G.; SAKAKISBARA, L. A. Ocular toxicity caused by tamoxifen: case report. **Arq Bras Oftalmol**, 68(4):554-6, 2005.

IRACHETA, M.A.L. El suicidio y la muerte celular. **Rev R Acad Cienc Exact Fís Nat**, 101, (2), pp, 2007.

- IVANOVA, E.A., MYASOEDOVA, V.A., MELNICHENKO, A.A., *et al.* Small Dense Low-Density Lipoprotein as Biomarker for Atherosclerotic Diseases. **Oxid Med Cell Longev**, 1273042, 1-10, 2017.
- JAGER, N. G., ROSING, H., LINN, S. C., SCHELLENS, J. H., BEIJNEN, J. H. Importance of highly selective LC-MS/MS analysis for the accurate quantification of tamoxifen and its metabolites: focus on endoxifen and 4-hydroxytamoxifen. **Breast Cancer Res Treat**, 133 (2) 793–798, 2012.
- JEZIERSKA-DRUTEL, A., ROSENZWEIG, S. A., NEUMANN, C. A. Papel do estresse oxidativo e do microambiente no desenvolvimento e progressão do câncer de mama. **Adv Cancer Res**, 119: 107–125, 2013.
- JORDAN, V.C. New insights into the metabolism of tamoxifen and its role in the treatment and prevention of breast cancer. **Steroids**. v. 72, p. 829-842, 2007.
- KAILAJÄRVI, M., AHOKOSHI, O., VIRTANEN, A., SALMINEN, E., IRJALA, K. Early effects of adjuvant tamoxifen therapy on serum hormones, proteins and lipids. **Anticancer Res**, 20(2B): 1323-7, 2000.
- KENDE, G, SIRKIN, S. R., THOMAS, P. R., FREEMAN, A. I. Blurring of vision: a previously undescribed complication of cyclophosphamide therapy. **Cancer**, 44(1):69-71, 1979.
- KESLER, S., JANELSINS, M., KOOVAKKATTU, D., *et al.* Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor- α levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors. **Brain Behav Immun**, 2012. doi: 10.1016/j.bbi.2012.05.017.
- KLOPP-SCHULZE, L., JOERGER, M., WICHA, S.G., *et al.*, Exploiting pharmacokinetic models of tamoxifen and endoxifen to identify factors causing subtherapeutic concentrations in breast cancer patients. **Clin Pharm**, 57 (2), 229–242, 2018.
- KOLB, R. & ZHANG, W. Obesity and Breast Cancer: A Case of Inflamed Adipose Tissue. **Cancers**, 12, 1686, 2020.
- KONG, Q., BEEL, J.A., LILLEHEI, K.O. A threshold concept for cancer therapy. **Medical Hypotheses**, 55(1), 29–35, 2000.
- KOTAS, M.E. & MEDZHITOV, R. Homeostasis, Inflammation, and Disease Susceptibility. **Cell**, 26; 160(5): 816–827, 2015.
- LACAVALA, A. C. Ocular complications of chloroquine and derivatives therapy. **Arq Bras Oftalmol**, vol.73 no.4. São Paulo, July/Aug., 2010.
- LI, X., LIU, Z-L., WU, Y-T., *et al.* Status of lipid and lipoprotein in female breast cancer patients at initial diagnose and during chemotherapy. **Lipids in Health and Disease**, 17:91, 2018.
- LIMA, M., TAVARES, M., CARVALHO, K.P., De, MAZZUTI, F.S., MAIA, M.D.A., PHILBERT, P., *et al.*, Temporal influence of endocrine therapy with tamoxifen and

chemotherapy on nutritional risk and obesity in breast cancer patients. **Bio Med Central**. 2017;17(578):1–11.

LIM, I.L., LOO, A.V.P., SUBRAYAN, V. *et al.*, Dosage-dependent reduction of macular pigment optical density in female breast cancer patients receiving tamoxifen adjuvant therapy. **The Breast**. 39, 117-122, 2018. doi:10.1016/j.breast.2018.04.003.

LIN, C., CHEN, L. S., KUO, S. J., CHEN, D. R. Adjuvant tamoxifen influences the lipid profile in breast cancer patients. **Breast Care**, 9 (1) 35–39, 2014.

LOMELI, N., BOTA, D.A., DAVIES, K.J.A. Diminished stress resistance and defective adaptive homeostasis in age-related diseases. **Clinical Science**. 131, 2573–2599, 2017.

LOVE, R. R., NEWCOMB, P. A., WIEBE, D. A., SURAWICZ, T. S., JORDAN, V.C., CARBONE, P.P., DeMETS, D. L. Effects of tamoxifen therapy on lipid and lipoprotein levels in postmenopausal patients with node-negative breast cancer. **J Natl Cancer Inst**, 82 (16) 1327–1332, 1990.

LOPEZ, M., LELLIOTT, C. J., TOVAR, S., KIMBER, W., GALLEGO, R., VIRTUE, S., VIDAL-PUIG, A. J. Tamoxifen-induced anorexia is associated with fatty acid synthase inhibition in the ventromedial nucleus of the hypothalamus and accumulation of malonyl-CoA, **Diabetes**, 55 (5):1327-1336, 2006.

LUTGENDORF, S.K., LAMKIN, D.M., JENNINGS, N.B., *et al.*, Biobehavioral influences on matrix metalloproteinase expression in ovarian carcinoma. **Clin Cancer Res**, 14: 6839-6846, 2008.

MACHADO, C. A. C. Associação entre fatores de risco cardiovasculares e câncer de mama: um estudo de caso controle. / César Augusto Costa Machado – Salvador: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. 2015.

MASJEDI, A., HASHEMID, V., HOJJAT-FARSANGIE, M., *et al.*, The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 108:1415–1424, 2018.

Mc CORD, J.M. & FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: AN ENZYMIC FUNCTION FOR ERYTHROCUPREIN (HEMOCUPREIN). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 244, n.22, 6049-6065, 1969.

MELA, M., GRÖTZNER, S. R., LEGEAY, A., *et al.* Morphological evidence of neurotoxicity in retina after methylmercury exposure. **Neuro Toxicology**, 33, 407-415, 2012.

MODZELEWSKA, P., CHLUDZINSKA, S., LEWKO, J., RESZEC, J. The influence of leptin on the process of carcinogenesis. **Contemp Oncol (Pozn)**. 23 (2): 63–68, 2019.

MOLONEY, T.P., XU, W., RALLAH-BAKER, K., OLIVEIRA, N., WOODWARD, N., FARRAH, J. J. Toxic optic neuropathy in the setting of docetaxel chemotherapy: a case report. **BMC Ophthalmol**, 14:18, 1-6, 2014. DOI:10.1186/1471-2415-14-18.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2001. Executive Summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert Carr Menopause and the Metabolic Syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, June 2003, 88(6):2404–2411 2409 Downloaded from <https://academic.oup.com/jcem/article/88/6/2404/2845159> by guest on 08 December 2020 panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). **JAMA** 285:2486–2497.

NAYFIELD, S. G; GORIN, M. B. Tamoxifen-associated eye disease. A review. **J Clin Oncol**, 14:1018–1026, 1996.

NOURAZARIAN, A. R.; KANGARI, P.; SALMANINEJAD, A. Roles of Oxidative Stress in the Development and Progression of Breast Cancer. **Asian Pac J Cancer Prev**, v.15 n12, p. 4745-4751, 2014.

OZET, A., ARPACI, F., YILMAZ, M. I., AYTA, H., OZTURK, B., KOMURCU, S., ACIKEL, C. (2001). Effects of tamoxifen on the serum leptin level in patients with breast cancer, **Jpn J Clin Oncol**, 31 (9): 424-427, 2001.

PARK, I.H., LEE K.S., RO, J. Effects of Second and Subsequent Lines of Chemotherapy for Metastatic Breast Cancer. **Clinical Breast Cancer**, 15, 1, e55-62^a, 2015.

PASQUALINI, J. R., SUMIDA, C., GIAMBIAGI, N. Pharmacodynamic and biological effects of anti-estrogens in different models. **J Steroid Biochem**, 31 (4B) 613–643, 1988.

PATERSON, S. C., LIM, C. K., SMITH, K. D. Analysis of the interaction between alpha-1-acid glycoprotein and tamoxifen and its metabolites. **Biomed Chromatogr**, 17 (2–3) 143–148, 2003.

PIRANDA, D. N., FREITAS-ALVES, D. R., VIANNA-JORGE, R. Pharmacogenetics and Therapeutic Implications in Breast Cancer Farmacogenética y las Implicaciones Terapéuticas en el Cáncer de Mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**. 59(3): 449-452. 2013.

POMATTO, L.C.D. e DAVIES, K.J.A. The role of declining adaptive homeostasis in ageing. **J Physiol**, 595.24 (2017) pp 7275–7309.

PRASAD, S. & GALETTA, S. L. Anatomy and physiology of the afferent visual system. *In*: Handbook of Clinical Neurology. Vol. 102 (3rd series), Neuro-ophthalmology, 2011.

RAMANATHAN, B., JAN, K-Y., CHEN, C-H., *et al.* Resistance to Paclitaxel Is Proportional to Cellular Total Antioxidant Capacity. **Cancer Res**, 65: (18). 8455-8460, 2005.

SAHA, S.K., LEE, S.B., WON, J., *et al.*, Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation. **Int J Mol Sci**, 18, 1544, 2017.

SAHEBKAR, A., SERBAN, M. C., PENSON, P. *et al.*, Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration (LBPMC) Group, The effects of tamoxifen on plasma lipoprotein(a) concentrations: systematic review and meta-analysis. **Drugs**, 77 (11) 1187–1197, 2017.

SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F., PÉREZ-PÉREZ, A., CRUZ-MERINO, L de la., SÁNCHEZ-MARGALET, V. Obesity and Breast Cancer: Role of Leptin. **Front Oncol**, 9:596, 2019.

SANCHEZ-SPITMAN, A. B., SWEN, J. J., DEZENTJE, V. O., MOES, D. J. A. R., GELDERBLOM, H., GUCHELAAR, H. J. Clinical pharmacokinetics and pharmacogenetics of tamoxifen and endoxifen. **Expert Rev Clin Pharmacol**, 12 (6) 523–536, 2019.

SBOC – SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA. Manual de Condutas. 61 – 72 p, 2011.

SENER, D.E., GÖNENÇ, A., AKINCI, M., *et al.* Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer. **Cell Biochem Funct**, 25: 377–382, 2007.

SHAPIRO, C.L. & RECHT, A. Side effects of adjuvant treatment of breast cancer. **N Engl J Med.**, 344:1997–2008, 2001.

SILVA, M. P. N. Síndrome da anorexia-caquexia em portadores de câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**. 52(1): 59-77. 2006.

SILVA, P.F., AMORIM, M.H.C., ZANDONADE, E., VIANA, K.C.G. Associação entre Variáveis Sociodemográficas e Estadiamento Clínico Avançado das Neoplasias da Mama em Hospital de Referência no Estado do Espírito Santo. **Rev Bras Cancerol**. 2013;59(3):361–7.

SIMÃO, D. A. S.; MURAD, M.; MARTINS, C.; FERNANDES, V. C.; CAPTEIN, K. M.; TEIXEIRA, A. L. Neuropatia periférica induzida por quimioterapia: revisão para a prática clínica. **Rev Dor**, 16(3):215-20. 2015.

SMITH, H. Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment (Review). **Oncology Letters**, 9: 1509-1514. 2015.

STEINER, E.; KLUBERT, D. Assessing Breast Cancer Risk in Women. **American Family Physician**, v.78, n12. 2008

SURMAN, M. & JANIK, M.E. Stress and its molecular consequences in cancer progression. **Postepy Hig Med Dosw (online)**. 71: 485-499, 2017.

Técnicas para coleta de sangue. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS. 1997. 63 p. II. (série TELELAB). 1. Coleta de Sangue. I. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS (Brasil). II. Série TELELAB.

THARMAPALAN, P., MAHENDRALINGAM, M., BERMAN & RAMA KHOKHA, H.K. Mammary stem cells and progenitors: targeting the roots of breast cancer for prevention. **The EMBO Journal**, 38: e100852, 2019.

THONG, T., FORTÉ, C.A., HILL, E. M., COLACINO, J. A. Environmental exposures, stem cells, and cancer. **Pharmacology and Therapeutics**. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107398>. 2019.

TUXEN, M.K. & HANSEN, S.W. Neurotoxicity secondary to antineoplastic drugs. **Cancer Treat Rev**, 20:191–214, 1994.

- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, n.1, p.44-84, 2007.
- VAN der POMPE, G., ANTONI, M. H., HEIJNEN, C. J. Elevated basal cortisol levels and attenuated ACTH and cortisol responses to a behavioral challenge in women with metastatic breast cancer. **Psychoneuroendocrinology**, 21(4):361-74, 1996.
- VOLP, A. C. P.; ALFENAS, R. C. G.; COSTA, N. M. B.; MINIM, V. P. R.; STRINGUETA, P. C.; BRESSAN, J. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Prever a Síndrome Metabólica – perspectiva. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 52/3. 2008.
- WANG, T., YANG, W., KARAKAS, S., SARKAR, S. NASH in Nondiabetic Endocrine Disorders. **Metabolic syndrome and related disorders**, v XX, n XX,1-6, 2018.
- WANG, X., ZHAO, L. ZHANG, Y. *et al.*, Tamoxifen Provides Structural and Functional Rescue in Murine Models of Photoreceptor Degeneration. **The Journal of Neuroscience**. 22, 37(12):3294, 2017.
- WILSON, ME., MOOK, D., GRAVES, F., FELGER, J., BIELSKY, IF., WALLEN, K. Tamoxifen Is an Estrogen Antagonist on Gonadotropin Secretion and Responsiveness of the Hypothalamic–Pituitary– Adrenal Axis in Female Monkeys. **Endocrine**, v.22, n. 3, 305–315, 2003.
- WINTERS, S., MARTIN, C., MURPHY, D., SHOKAR, N.K. Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening. **Progressin Molecular Biology and Translational Science**, Volume 151.
- WOOD, C.E., SAOUD, C. J., STONER, T. A., KELLER-WOOD, M. Estrogen and androgen influence hypothalamic AVP and CRF concentrations in fetal and adult sheep. **Regul Pept**, 2;98(1-2):63-8, 2001.
- YAACOB, N.S., ISMALL, N.F. Comparison of cytotoxicity and genotoxicity of 4-hydroxytamoxifen in combination with *Tualang honey* in MCF-7 and MCF-10A cells. **BMC Complementary & Alternative Medicine**, v. 14: 106, p.1-8, 2014.
- YAN, M., WANG, J., XUAN, Q., DONG, T., HE, J., ZHANG, Q. The relationship between tamoxifen-associated nonalcoholic fatty liver disease and the prognosis of early stage breast cancer patients, **Clinical Breast Cancer**, 2017, doi: 10.1016/j.clbc.2016.12.004.
- YANG, T. L., WU, T. C., HUANG, C. H. *et al.*, Association of Tamoxifen Use and Reduced Cardiovascular Events Among Asian Females With Breast Cancer. **Circulation Journal**, 78: 135 - 140, 2014.
- YEH, C-C., HOU, M-F., TSAI, S-M., *et al.* Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. **Clinica Chimica Acta**, 361 104–111, 2005.

YEO, W., MOL, F.K.F., PANG, E., *et al.* Profiles of lipids, blood pressure and weight changes among premenopausal Chinese breast cancer patients after adjuvant chemotherapy. **BMC Women's Health**, 17:55, 2017.

YUSUF, I. H., SHARMA, S., LUQMANI, R., DOWNES, S. M. Hydroxychloroquine retinopathy. **Eye**,31, 828–845, 2017.

ANEXOS

ANEXO A

HOSPITAL OPHIR LOYOLA -
HOL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS METABÓLITOS DO TAMOXIFENO NA SAÚDE OCULAR E VISUAL DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA EM USO DE TAMOXIFENO

Pesquisador: Maria Lúcia Souza Siqueira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 60259416.7.3001.5550

Instituição Proponente: Hospital Ophir Loyola

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.119.456

Apresentação do Projeto:

O câncer de mama é a segunda causa de morte por câncer nos países desenvolvidos (atrás do câncer de pulmão) e a maior causa de morte em países em desenvolvimento. Dados do INCA para a região norte, especificamente no estado do Pará, para 2016, revelaram 830 novos casos de câncer de mama feminino com destaque para Belém do Pará com 410 novos casos. O uso da terapia anti-neoplásica e com seus efeitos terapêuticos e adversos, induz a realização de estudos que possam aliviar ou amenizar os danos aos pacientes. O Tamoxifeno é um fármaco que faz parte do arsenal da terapêutico utilizado nessa enfermidade, utilizado com o objetivo de diminuir as recorrências do câncer mamário feminino e reduzidos efeitos adversos causados por seus metabólitos. Além dos efeitos adversos clássicos produzidos pelo Tamoxifeno chama atenção as alterações oculares. A partir da quantificação das concentrações plasmáticas de seus metabólitos, é possível avaliar se seus efeitos apresentam relação com alterações oculares em pacientes com câncer de mama em uso de tamoxifeno.

A pesquisa incluirá 50 pacientes do gênero feminino em tratamento de câncer de mama provenientes de um hospital de referência especializada em oncologia em Belém/PA após aprovação do projeto pelo Comitê de ética e Pesquisa e o consentimento do paciente por escrito

Endereço: GOVERNADOR MAGALHAES BARATA 523/1075

Bairro: SAO BRAS

CEP: 66.063-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3265-6645

E-mail: cepophirloyola.pa@gmail.com

UFPA - INSTITUTO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS METABÓLITOS DO TAMOXIFENO NA SAÚDE OCULAR E VISUAL DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA EM USO DE TAMOXIFENO

Pesquisador: Maria Lúcia Souza Siqueira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60259416.7.0000.0018

Instituição Proponente: Universidade Federal do Pará

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.015.710

Apresentação do Projeto:

O câncer de mama é a segunda causa de morte por câncer nos países desenvolvidos (atrás do câncer de pulmão) e a maior causa de morte por câncer nos países em desenvolvimento. Estimativas do INCA para a região norte, no estado do Pará para 2016, apontam 830 novos casos de câncer de mama feminino e especificamente em Belém do Pará 410 novos casos estarão incidindo na população feminina. A utilização frequente de medicamentos na terapia anti-neoplásica e seus efeitos terapêuticos e adversos, induz a estudos cada vez mais voltados para a minimização de danos aos pacientes. O Tamoxifeno é um medicamento que faz parte da terapia hormonal adjuvante para diminuir as recorrências do câncer mamário feminino e se tem obtido efeitos terapêuticos benéficos assim como adversos induzidos por seus metabólitos. Este fármaco chama especial atenção pelo seu uso a longo prazo e a incidência de efeitos adversos decorrentes da inibição estrogênica como tromboembolismo, cardiotoxicidade, alterações endometriais, dentre outras. Além dos efeitos adversos clássicos produzidos pelo Tamoxifeno e seus metabólitos, as alterações oculares e visuais, além das descritas na literatura, são motivos para uma extensa investigação. A partir da quantificação das concentrações plasmáticas de seus metabólitos, poderemos avaliar se seus efeitos apresentam relação com alterações oculares e visuais em pacientes com câncer de mama e em uso de tamoxifeno e como um biomarcador poderá auxiliar na detecção precoce do efeito adverso. Realizaremos a pesquisa com 30 a 50 mulheres em

Endereço: Rua Augusto Corrêa nº 01-SI do ICS 13 - 2º and.

Bairro: Campus Universitário do Guamá **CEP:** 66.075-110

UF: PA **Município:** BELEM

Telefone: (91)3201-7735 **Fax:** (91)3201-8028 **E-mail:** cepccs@ufpa.br

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARÁ - ICS/



Continuação do Parecer: 1.054.374

proteção oferecida pelo Sistema CEP/CONEP aos participantes. Devem ser analisadas possibilidades de danos imediatos ou posteriores, no plano individual ou coletivo. A análise de risco é componente imprescindível à análise ética, dela decorrendo o plano de monitoramento que deve ser oferecido pelo Sistema CEP/CONEP em cada caso específico.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado, com as recomendações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

BELEM, 07 de Maio de 2015

Assinado por:
Wallace Raimundo Araujo dos Santos
(Coordenador)

Endereço: Rua Augusto Corrêa nº 01-SI do ICS 13 - 2º and.
Bairro: Campus Universitário do Guamã **CEP:** 66.075-110
UF: PA **Município:** BELEM
Telefone: (91)3201-7735 **Fax:** (91)3201-8028 **E-mail:** cepccs@ufpa.br

ANEXO B

Artigos Publicados

(1)

Biomedicine & Pharmacotherapy 142 (2021) 111972



Contents lists available at ScienceDirect

Biomedicine & Pharmacotherapy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bioph

A preliminary study on the association of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen with blood lipids in patients with breast cancer

Maria Lucia Souza Siqueira^a, Sara Michelli Vieira Andrade^b, José Luiz Fernandes Vieira^{c,*},
Marta Chagas Monteiro^d

^a Neuroscience and Cellular Biology Post Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil

^b Laboratory of Clinical Immunology and Oxidative Stress, School of Pharmacy, Health Science Institute, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil

^c Pharmaceutical Science Post-Graduation Program, Neuroscience and Cellular Biology Post Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil

^d Pharmaceutical Science Post-Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Tamoxifen
Chemotherapy
Lipids
Triglyceride
Lipoproteins

ABSTRACT

The long-term treatment with tamoxifen can alter the lipid profile of patients with breast cancer. Only a few studies associated the plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen with blood lipids, which is relevant as the distribution of these compounds for the tissues can be changed, negatively affecting the treatment. The variations in lipids also can account for the high interindividual variation in plasma concentrations of these compounds. The aim of this preliminary study was to associate the plasma levels of tamoxifen and the active metabolites with the lipid levels. An observational study of cases was conducted in patients with breast cancer using tamoxifen in a daily dose of 20 mg. The lipids were measured by spectrophotometric methods and the plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen by high-performance liquid chromatography. A total of 20 patients were included in the study. The median plasma concentrations of tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and endoxifen were 62 ng/mL, 1.04 ng/mL and 3.79 ng/mL. Triglycerides levels ranged from 59 to 352 mg/dL, total cholesterol from 157 to 321 mg/dL, LDL-c from 72 mg/dL to 176 mg/dL and HDL-c from 25.1 mg/dL to 62.8 mg/dL. There were no significant associations between the plasma concentrations of tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen, and endoxifen with the levels of triglycerides and total cholesterol. The multivariate analysis revealed a weak association between plasma concentrations of tamoxifen and the active metabolites with HDL-c, LDL-c and VLDL-c. This finding provides preliminary evidence of the low impact of lipoproteins levels in the exposure to tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and endoxifen.

1. Introduction

Tamoxifen is a non-steroidal drug used in adjuvant hormonal therapy for primary breast cancer [1]. Several isoforms of cytochrome P-450 (CYP) metabolize tamoxifen into active metabolites, such as endoxifen and 4-hydroxytamoxifen. The most important active metabolite is endoxifen, which has a 30–100-fold higher affinity for the estrogen receptor than the parent compound [2,3].

There is considerable inter-individual variation in the therapeutic response to tamoxifen, which can be due to genetic and environmental determinants that alter the concentration of the drug and the active

metabolites in the plasma. For instance, the polymorphism of cytochrome P-450 (CYP) 2D6, menopausal state, body mass index, circadian rhythm, use of other drugs, concomitant food ingestion, and non-adherence to the treatment promoted significant variations in plasma concentrations of the drug and the active metabolites [2–4].

Moreover, the intrinsic properties of anti-estrogen drugs, such as the reduced solubility in aqueous solution and the ability to bind to low-density lipoproteins, may also alter the concentrations of tamoxifen and the active metabolites in plasma [5,6]. This issue is relevant because the long-term use of tamoxifen provokes an estrogen-like effect on lipid metabolism [7–10]. The association of the concentrations of tamoxifen

* Correspondence to: Rua Augusto Correa 01, Campus Universitário do Guamá, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém, Pará 66075740, Brazil.

E-mail addresses: mlo@ufpa.br (M.L.S. Siqueira), michelli2.sarah@gmail.com (S.M.V. Andrade), jvieira@ufpa.br (J.L.F. Vieira), martachagas@ufpa.br (M.C. Monteiro).

<https://doi.org/10.1016/j.bioph.2021.111972>

Received 11 May 2021; Received in revised form 20 July 2021; Accepted 23 July 2021

Available online 11 August 2021

0753-3322/© 2021 The Authors. Published by Elsevier Masson SAS. This is an open access article under the CC BY license

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

and the active metabolites with lipid levels has already been investigated in a study that found a positive association between plasma tamoxifen concentrations and serum triglyceride levels, and a negative association between endoxifen or 4-hydroxytamoxifen and total cholesterol [7].

However, there is a paucity of data on the association of these compounds with lipoproteins, which could be relevant, as these proteins are potential binding sites for this class of drug, which could influence the rate of unbound drugs and their distribution to the body tissues, thus affecting the therapeutic effect [5–8]. Therefore, this preliminary study aimed to correlate the plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen with the levels of triglycerides, total cholesterol, and lipoproteins in patients with breast cancer.

2. Methods

This is a preliminary, observational study of cases, carried out between January 2017 and January 2019 in the Cancer Unit of Hospital Ophir Loyola in the municipality of Belem, Brazil. The criteria for inclusion in the study were patients with breast cancer using tamoxifen for at least 12 months. Patients with comorbidities, such as heart or coronary diseases, diabetes mellitus, hypertension, renal or hepatic impairment, smoking, alcohol consumption, and those who did not provide informed consent were excluded from the study. Each patient received an oral daily dose of tamoxifen of 20 mg [1]. The weight and height of patients were recorded on admission to the study, and a blood sample was collected for laboratory analysis.

2.1. Laboratory analysis

Blood samples (4 mL) were collected after 12 h of fasting in sodium-heparinized tubes. Enzymatic colorimetric methods measured triglycerides, total cholesterol, HDL-c, and LDL-c, using diagnostic kits from Merck™, following good laboratory practice. Samples were analyzed in triplicate. The normal ranges of each lipid followed the recommendations of the Brazilian Cardiology Society [11]. A triglyceride to VLDL-c ratio of 5.2 was used to estimate VLDL-c [12]. Tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen were measured by high-performance liquid chromatography after a two-step liquid-liquid extraction, following the procedure proposed by Antunes et al. [13]. The column was an RP-18 (150 mm × 4.6 mm i.d. × 5-μm, X-Terra, Waters™, Milford, MA, USA) at 25 °C, and the mobile phase consisted of triethylammonium phosphate buffer 5 mM pH 3.3 and acetonitrile (57:43, v/v). The elution was isocratic, at a flow rate of 1.0 mL/min, and the eluate was monitored at 288 nm. The limit of detection was 0.7 ng/mL for all analytes. The linear assay range was 2.0 ng/mL to 200 ng/mL for tamoxifen and 0.8 ng/mL to 20 ng/mL for the metabolites. The median between and within-day coefficients of variation ranged from 0.3% to 14.5% and from 10.5% to 18%, respectively.

2.2. Statistical analysis

Data are expressed as percentage or as median and range. Spearman's correlation coefficient was used to estimate the correlation between plasma concentrations of tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen, or endoxifen with blood levels of triglycerides or total cholesterol. A multiple regression analysis was used to associate the concentrations of tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen, or endoxifen with the levels of HDL-c, LDL-c, and VLDL-c. The significance level accepted was 5%.

3. Results

A total of 20 female patients were included in the study. The median age was 43 years (range: 32–50 years). The median time of tamoxifen treatment was 25 months (range: 13–50 months). The median body mass index was 26.43 (range: 21.2–35.25). A total of 20% of patients

were eutrophic, 65% were overweight, and 15% were obese. The median daily dose administered was 0.314 mg/kg (range: 0.213–0.371 mg/kg). The median plasma level at steady state was 62 ng/mL for tamoxifen (range: 38–140 ng/mL), 1.04 ng/mL for the metabolite 4-hydroxytamoxifen (range: 0.8–2.67 ng/mL), and 8.79 ng/mL for endoxifen (range: 6.5–16.8 ng/mL). The median ratio of 4-hydroxytamoxifen to tamoxifen was 0.016 (range: 0.005–0.04) and that of endoxifen to tamoxifen was 0.129 (range: 0.008–0.27).

Triglycerides ranged from 59 mg/dL to 352 mg/dL, and 35% of patients presented levels above the normal range values. Total cholesterol ranged from 157 mg/dL to 321 mg/dL, and 40% of patients presented values above the normal range values. The levels of LDL-c ranged from 72 mg/dL to 176 mg/dL, and 10% of patients presented values above the normal range values. Plasma levels of HDL-c ranged from 25.1 mg/dL to 62.8 mg/dL, and they were below the normal range values in 35% of patients. The median value of VLDL was 26.65 mg/dL (range: 11.34–67.69 mg/dL).

There were no significant correlations between the concentrations of tamoxifen with the levels of triglycerides and with the levels of total cholesterol. The metabolites showed similar results (Table 1). The multiple regression analysis showed weak correlations between plasma concentrations of tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen, or endoxifen with lipoproteins levels (HDL-c, LDL-c, and VLDL-c) (Table 2).

4. Discussion

Tamoxifen has been used for over 40 years for estrogenic receptor-positive breast cancer in pre-menopausal women, reducing yearly relapse rates and mortality in primary breast cancer [14]. The high inter-patient variation in plasma concentrations of the drug and the active metabolites is relevant because it can lead to suboptimal efficacy in some patients. Most of the studies that assessed the predictors of plasma tamoxifen concentrations were focused on the influence of CYP2D6 polymorphisms on the formation of the active metabolites; consequently, the influence of other pharmacokinetic parameters, such as the ability to bind lipoproteins, which alters their distribution to the target tissue, has been little explored [4,7,15].

The plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen and the ratios of active metabolites to parent drug agreed with previous studies in patients using the same daily dose. For instance, the concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen after a 20 mg single dose were estimated at 40 ng/mL, 12.9 ng/mL, and 1.9 ng/mL, respectively [3,4,7,15]. As expected, there was a high inter-individual variation in the plasma concentrations of the compounds and in the ratios of the active metabolites to parent drug, but this finding does not modify the exposure to endoxifen, as the concentrations of the metabolite were above the proposed therapeutic threshold of 5.97 ng/mL in all patients in the study [3,4,7,15].

Several studies reported a protective effect of tamoxifen therapy against coronary diseases due to the reduction in total cholesterol and LDL-c, accompanied by the increase in HDL-c [5,8,9]. The decrease in LDL-c has been related with the ability of tamoxifen to stimulate the

Table 1
Correlations between plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen with total cholesterol and triglycerides.

Variable	Spearman's correlation coefficient	p-value
Tamoxifen		
Total cholesterol (mg/dl)	-0.106	0.6647
Triglycerides (mg/dl)	0.2535	0.3320
4-hydroxytamoxifen		
Total Cholesterol (mg/dl)	0.1843	0.450
Triglycerides (mg/dl)	0.2353	0.3320
Endoxifen		
Total cholesterol	-0.041	0.8696
Triglycerides	-0.2439	0.3143

Table 2
Matrix of multiple regression analysis with tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen plasma concentrations as outcomes variables.

Variable	Standardized Regression Coefficient	Standard Error	Regression Coefficient	Coefficient of determination	Standard Error	t	p-value
Tamoxifen							
HDL-c (mg/dl)	-0.615	0.3370	-1.0708		0.5756	-1.860	0.0825
LDL-c (mg/dl)	-0.2614	0.2827	-0.2155		0.2154	-0.995	0.3355
VLDL (mg/dl)	-0.4077	0.3128	-0.6818	0.1896	0.5231	-1.303	0.2121
4-hydroxytamoxifen							
HDL-c (mg/dl)	0.1723	0.3624	0.0061		0.012	0.4755	0.6412
LDL-c (mg/dl)	0.0038	0.2879	0.0006		0.004	0.0131	0.9894
VLDL (mg/dl)	0.0181	0.3428	0.0006	0.0257	0.011	0.0530	0.9583
Endoxifen							
HDL-c (mg/dl)	0.2293	0.3449	0.0521		0.078	0.6648	0.5162
LDL-c (mg/dl)	0.0280	0.2740	0.0030		0.029	0.1023	0.9198
VLDL (mg/dl)	-0.1558	0.3262	-0.0341	0.117	0.071	-0.4776	0.6398

expression of genes encoding the LDL-c receptors, reducing the levels of this lipoprotein, and the increase in HDL-c in patients with long-term use of tamoxifen has been associated with a probable effect of the drug on the liver [5,7,15–18].

Some findings of this preliminary study contrasted with the reported patterns of lipid changes in patients on long-term therapy with tamoxifen [8,10,17]. For instance, the percentage of patients with total cholesterol levels above the normal value was 40%, and the levels of HDL-c were below the normal value in 35% of study patients. Moreover, the proportion of patients with LDL-c levels above the normal value was 10%.

Furthermore, the levels of triglycerides were above the normal range values in 35% of study patients. The increase in triglycerides is a common finding in patients using tamoxifen due to the ability of the drug to inhibit the hydrolytic activity of lipoprotein lipase and, in turn, the metabolism of triglycerides, thus increasing their levels in the plasma [19].

There were no significant correlations between the plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, or 4-hydroxytamoxifen with the levels of total cholesterol or triglycerides. Moreover, the multivariate analysis also showed weak or non-significant correlations between the plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, or 4-hydroxytamoxifen and HDL-c, LDL-c, and VLDL-c, which suggests a low binding capacity of tamoxifen and its active metabolites to lipoproteins compared to albumin and other plasma proteins [20].

These data are clinically relevant because they suggest a lack of influence of the variation in the levels of these lipids on the plasma concentrations of the drug and its metabolites and, in turn, on the exposure to these compounds. The direction of the correlation, whether positive or negative, and the broad range of the β coefficient could be related to the different physical-chemical properties of tamoxifen and its metabolites that influence the capacity of binding to plasma lipids and have a different pattern of distribution for the tissues [4,6,15,17,20].

Despite the absence of significant correlations between the plasma concentrations of the drug and its metabolites with lipids, some interesting findings of the study should be further elucidated. For instance, the positive and weak association between HDL-c levels with the plasma levels of active metabolites suggests that the patients with high HDL-c could have a high exposure to the drug; the negative association of tamoxifen and endoxifen plasma levels with VLDL-c could suggest a reduced hepatic VLDL-c secretion reported in healthy postmenopausal women due to the inhibition of growth hormone by tamoxifen, which contributes to the deposition of fat in the liver; and the influence on clinical outcomes of the negative association between triglycerides with endoxifen [19].

The limitations of the study were the small number of patients included and the lack of selective quantification of the Z-isomer of tamoxifen, endoxifen and 4-hydroxytamoxifen, as well as the 4-hydroxy-N-desmethyltamoxifen levels, which have a similar plasma concentration to endoxifen, but a low activity on the estrogen receptor, which could lead to an over-estimation in the concentrations of the metabolites [21].

The broad range of lipid levels found in the study patients, due to several intrinsic factors, such as the polymorphisms of enzymes involved in lipid metabolism, age, race, dietary habits, exercise, thyroid function, and hormonal factors, strengthens the absence of association of tamoxifen and its metabolites with blood lipid levels [17].

These preliminary data suggest that the plasma concentrations of tamoxifen, endoxifen, and 4-hydroxytamoxifen are not correlated with lipids. Thus, the rate of unbound drugs and their distribution into body tissues are probably not affected by the variation in lipid levels due to the long-term use of tamoxifen.

Ethical statement

The study was revised and approved by the ethical Committee of

Health Science Institute of the Universidade Federal do Pará, under the number 1.897.057. All patients signed the consent informed to participate of the study.

Funding statement

The author(s) disclosed receipt of financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Author's contribution

All the authors participate equally in the conception and design, acquisition, analysis, and interpretation of data, drafting the article or revising it critically for important intellectual content and approval the final version of the manuscript.

Patient consent statement

All patients signed the consent informed to participate of the study.

Conflict of Interest statement

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

References

- [1] V. Jordan, Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine, *Nat. Rev. Drug Disco* 2 (2003) 205–213.
- [2] P. Saladores, T. Mürdter, D. Eccles, B. Chowbay, N.K. Zgheib, S. Winter, B. Ganchev, B. Eccles, S. Gerty, A. Tfayli, J.S. Lim, Y.S. Yap, R.C. Ng, N.S. Wong, R. Dent, M.Z. Habbal, E. Schaeffeler, M. Eichelbaum, W. Schroth, M. Schwab, H. Brauch, Tamoxifen metabolism predicts drug concentrations and outcome in premenopausal patients with early breast cancer, *Pharm. J.* 15 (2015) 84–94.
- [3] A.B. Sanchez-Spitman, J.J. Swen, V.O. Dezentje, D.J.A.R. Moes, H. Gelderblom, H. J. Guchelaar, Clinical pharmacokinetics and pharmacogenetics of tamoxifen and endoxifen, *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 12 (6) (2019) 523–536.
- [4] L. Klopp-Schulze, M. Joerger, S.G. Wicha, R. Ter Heine, C. Csajka, Z.P. Parra-Guillen, C. Kloft, Exploiting pharmacokinetic models of tamoxifen and endoxifen to identify factors causing subtherapeutic concentrations in breast cancer patients, *Clin. Pharm.* 57 (2) (2018) 229–242.
- [5] P. Bourassa, T.J. Thomas, Tajmir, H.A. Riahi, A short review on the delivery of breast anticancer drug tamoxifen and its metabolites by serum proteins, *J. Nanomed. Res.* 4 (2) (2016) 00080.
- [6] J.R. Pasqualini, C. Sumida, N. Giambiagi, Pharmacodynamic and biological effects of anti-estrogens in different models, *J. Steroid Biochem.* 31 (4B) (1988) 613–643.
- [7] T.C. Chao, W.C. Pan, Y.F. Tsai, Y.C. Chou, Y.R. Liu, S.F. Wang, Y.J. Chen, F. Souček, Y.F. Ueng, Plasma endoxifen and 4-hydroxytamoxifen levels in CYP2D6 (C100T) carrying breast cancer patients and association with serum cholesterol, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 378 (2019), 114619.
- [8] C. Lin, L.S. Chen, S.J. Kuo, D.R. Chen, Adjuvant tamoxifen influences the lipid profile in breast cancer patients, *Breast Care* 9 (1) (2014) 35–39.
- [9] Y. Hozumi, M. Kawano, T. Saito, M. Miyata, Effect of tamoxifen on serum lipid metabolism, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83 (5) (1998) 1633–1635.
- [10] R.R. Love, P.A. Newcomb, D.A. Wiebe, T.S. Surawicz, V.C. Jordan, P.P. Carbone, D. L. DeMets, Effects of tamoxifen therapy on lipid and lipoprotein levels in postmenopausal patients with node-negative breast cancer, *J. Natl. Cancer Inst.* 82 (16) (1990) 1327–1332.
- [11] Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2013; 2013–2015. Rio de Janeiro, Brazil: Sociedade Brasileira de Cardiologia.
- [12] S.S. Martin, M.J. Blaha, M.B. Elshazly, P.P. Toth, P.O. Kwitterovich, R. S. Blumenthal, S.R. Jones, Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile, *JAMA* 310 (19) (2013) 2061–2068.
- [13] M.V. Antunes, D.D. Rosa, S. Viana Tdos, H. Andreolla, T.O. Fontanive, R. Linden, Sensitive HPLC-PDA determination of tamoxifen and its metabolites N-desmethyltamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and endoxifen in human plasma, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 76 (2013) 13–20.
- [14] J.F. Forbes, The control of breast cancer: the role of tamoxifen, *Semin Oncol.* 24 (1) (1997) S1–S19.
- [15] A.H. de Vries Schultink, X. Alexi, E. van Werkhoven, L. Madlensky, L. Natarajan, S. W. Platt, W. Zwart, S.C. Linn, B.A. Parker, A.H. Wu, J.P. Pierce, A.D. Huitema, J. H. Beijnen, An antiestrogenic activity score for tamoxifen and its metabolites is associated with breast cancer outcome, *Breast Cancer Res. Treat.* 161 (3) (2017) 567–574.
- [16] Y. Hozumi, M. Kawano, Y. Hakamata, M. Miyata, V.C. Jordan, Tamoxifen inhibits lipoprotein activity: in vivo and in vitro studies, *Horm. Res.* 53 (1) (2000) 36–39.
- [17] A. Sahebkar, M.C. Serban, P. Penson, C. Gurban, S. Ursoniu, P.P. Toth, S.R. Jones, G. Lippi, K. Kotani, K. Kostner, M. Rizzo, J. Rysz, M. Banach, Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration (LBPfMC) Group, The effects of tamoxifen on plasma lipoprotein(a) concentrations: systematic review and meta-analysis, *Drugs* 77 (11) (2017) 1187–1197.
- [18] J.C. Brüning, P. Lingohr, J. Gillette, B. Hanstein, H. Avci, W. Krone, D. Müller-Wieland, J. Kotzka, Estrogen receptor-alpha and Sp1 interact in the induction of the low-density lipoprotein-receptor, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 86 (2) (2003) 113–121.
- [19] V. Birzniece, P.H.R. Barrett, K.K.Y. Ho, Tamoxifen reduces hepatic VLDL production and GH secretion in women: a possible mechanism for steatosis development, *Eur. J. Endocrinol.* 177 (2) (2017) 137–143.
- [20] S.C. Paterson, C.K. Lim, K.D. Smith, Analysis of the interaction between alpha-1-acid glycoprotein and tamoxifen and its metabolites, *Biomed. Chromatogr.* 17 (2–3) (2003) 143–148.
- [21] N.G. Jager, H. Rosing, S.C. Linn, J.H. Schellens, J.H. Beijnen, Importance of highly selective LC-MS/MS analysis for the accurate quantification of tamoxifen and its metabolites: focus on endoxifen and 4-hydroxytamoxifen, *Breast Cancer Res. Treat.* 133 (2) (2012) 793–798.

Artigos publicados

(2)



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 11, Issue, 05, pp. 46625-46629, May, 2021

<https://doi.org/10.37118/ijdr.21753.05.2021>

RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

CHARACTERIZATION OF BREAST CANCER SURVIVORS REGARDING ADVERSE EFFECTS AND LIFESTYLE DURING HORMONE THERAPY WITH TAMOXIFEN

Siqueira, MLS*1, Andrade, SMV², Freitas, DB², Botelho, JLS² and Monteiro, MC³¹Neuroscience and Cellular Biology Post Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil²Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil³Pharmaceutical Science Post-Graduation Program, Neuroscience and Cellular Biology Post Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil

ARTICLE INFO

Article History:

Received 20th February, 2021

Received in revised form

17th March, 2021Accepted 03rd April, 2021Published online 14th May, 2021

Key Words:

Breast cancer; Tamoxifen;
Adverse effects; Lifestyle.

*Corresponding author:

Siqueira, MLS,

ABSTRACT

Objective: to carry out a study with women diagnosed with breast cancer and under hormone therapy with Tamoxifen (TAM) and to represent the adverse effects and the lifestyle of the patients, as well as their sociodemographic and therapeutic characteristics in a public oncology hospital of Brazil. **Materials and Method:** exploratory, descriptive and quantitative study whose population was composed of women (n = 20) under hormonal treatment. For evaluation, a questionnaire to obtain socio-demographic, therapeutic, anthropometric, lifestyle and adverse effects data was applied and the Excel and BioStat 5.0 programs were used to analyze the results. **Results:** Brown women between 40 and 45 years old, self-employed and commercial, income from 1 to 3 minimum wages, married and in stable union, in the pre and post-menopause, with grade II ductal carcinoma, submitted to chemotherapy and radiotherapy, in treatment with TAM for 2 to 3 years, make up the profile of patients. Gynecological and vasomotor complications comprise the adverse effects that are the most troublesome such as hot flashes, irritation, itching and vaginal bleeding followed by mood changes, body weight gain, gastrointestinal intolerance, visual disturbances and to a lesser extent memory lapses, depression, lipid changes, hepatic and endometrial. Sedentary lifestyle favored overweight and obesity. **Conclusion:** patients undergoing hormonal treatment with tamoxifen had adverse effects suggestive of estrogen deficiency with possible exacerbation due to the use of the drug, with negative variables for overweight and obesity. They should be warned about the possible adverse effects of anticancer treatments so that other therapeutic options can be considered based on the profile and clinical history of the patients.

Copyright © 2021, Siqueira, MLS et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Siqueira, MLS, Andrade, SMV, Freitas, DB, Botelho, JLS and Monteiro, MC. 2021. "Characterization of breast cancer survivors regarding adverse effects and lifestyle during hormone therapy with tamoxifen", *International Journal of Development Research*, 11, (05), 46625-46629.

INTRODUCTION

Breast cancer is currently the neoplasm that most affects and changes the health of women in Brazil and worldwide [1-3]. Hormonal therapies that use antiestrogens to decrease relapses and increase life expectancy are still of great relevance and are used successfully for increasingly long periods ranging from 5 to 10 years [4]. Tamoxifen (TAM) is an antiestrogen and selective estrogen receptor modulator. It works by blocking estrogen receptors, decreasing the proliferation of cancer cells. It was introduced in hormonal therapy to treat ER (+) positive breast cancer in 1978s. It is considered a pioneering drug, and breast cancer patients have been benefiting from its therapeutic effects for more than 50 years, increasing survival and decreasing breast cancer mortality [5].

Clinical studies conducted with women using TAM have shown evidence of adverse effects related to thromboembolism [6], endometrial carcinoma [7], uterine sarcoma in humans and animals [8,9], ocular toxicity and retinopathy [10-13], hepatotoxicity in humans and animals [14,15], hepatocarcinogenicity in rats [16] and lipid changes with hypertriglyceridemia and acute pancreatitis [17-19]. Women who use TAM for many years may experience changes in the metabolism and distribution of body fat. Age, menopausal status, weight gain with an increase in the Body Mass Index (BMI), and changes in lipid levels that are common due to the decline in ovarian and estrogenic function, are factors that add to the profile of women with continued use of this drug [20-22]. Although TAM therapy is safe and therapeutic benefits are decisive for anticancer use, adverse effects must be carefully studied and reported and require monitoring by pharmacovigilance agencies in order to improve treatment adherence

and quality of life for survivors of cancer [23]. Thus, we present a study conducted with women undergoing hormone therapy with TAM and its sociodemographic and therapeutic characteristics, adverse effects and lifestyle during outpatient treatment at a public oncology reference hospital in the Brazilian Unified Health System.

MATERIALS AND METHODS

Study participants: An exploratory, descriptive and quantitative study was carried out with female patients who had been diagnosed with breast cancer and were undergoing outpatient treatment at the Oncology Service of the Hospital Ophir Loyola located in Belém do Pará, Brazil. The patients had undergone chemotherapy, radiotherapy and mastectomy and were candidates for treatment with tamoxifen citrate (20 mg/day), based on immunohistochemistry tests for estrogen and progesterone positive receptors according to the clinical protocol established at the hospital. The process of recruiting patients was based on an active search and spontaneous demand based on the analysis of medical records, the Hospital Information system and the authorization service for highly complex procedures for medicines of the specialized component of the Ministry of Health. The interviews and other procedures were performed in the mastology sector. After the first part of the selection process, inclusion and exclusion criteria were applied: women diagnosed with breast cancer, non-diabetic, without serious heart problems, without systemic diseases, co-infections, serious visual changes and who were using tamoxifen citrate under medical prescription were included in the research. Candidates who did not fit this profile were excluded.

Application of the questionnaire: After authorization and signing of the Free and Informed Consent Form, the candidates were invited to fill out the survey questionnaire with questions about personal data, lifestyle (type of diet, physical exercise, smoking and drinking), comorbidities, history of other medications used and adverse effects occurring while using tamoxifen. Anthropometric measurements (weight, height, waist circumference) were obtained using instruments such as a digital scale (OMRON®), tape measure and metric height scale. To collect data on the adverse effects of tamoxifen, an adapted questionnaire was adopted on monitoring and recording of self-reported adverse effects by patients with daily administration of tamoxifen citrate related to the frequency and severity of the adverse effect (common occurrence reaction, uncommon, rare and very rare) according to the manufacturer's original package insert. Adverse effects that were not included in the manufacturer's package insert were also recorded. Questions about the use of tamoxifen citrate included: name of the drug under medical prescription, dose, start and duration of treatment, route of administration, place of access to the drug and if the patient had any complaints related to the medication (yes or no). If the patient answered yes, the list of adverse effects already known was given and for each of them the answer option: yes (occurred) and no (did not occur).

Statistical analysis: The results were processed using Excel and Biostat 5.0 software. The frequency of distribution was used for absolute and relative values and percentages.

Ethical analysis: The information collected from patients during the research was based on the principles of bioethics, present in Resolution 466/2012 of the National Health Council, which provides for research involving human beings. All patients included in the study, or their guardians, were informed about the objectives and development of the research in order to authorize data collection and subsequent signing of the Free and Informed Consent Form. The research received ethical approval, numbers 1.897.057 (CEP-ICS-UFPA / PA) and 7.915.051 (CEP Hospital Ophir Loyola / PA).

RESULT AND DISCUSSION

The characteristics of the patients participating in the research who underwent hormonal treatment with TAM are listed in Table 1. Half

of them had a risk age of 40 to 45 years (50%, n = 10). According to the National Cancer Institute, the risk of breast cancer manifesting itself is higher from the age of 40, especially estrogen-dependent types. As for color, 75% (n = 15) declared themselves brown. Sixty percent (n = 12) had completed high school. Self-employed and employed professionals accounted for the majority of occupations (75%, n = 15) and 35% were housewives (n = 7). Regarding family income, 75% (n = 15) reported a monthly income of 1 to 3 minimum wages, which contributed to their treatment, food, and housing expenses. These data, when compared to a study of women with breast cancer in Brazil and users of the Unified Health System, highlighted that black and brown women have a high incidence of breast cancer, given the socioeconomic, cultural and social conditions related to self-examination, access to mammography and late diagnosis [24]. Given the socioeconomic situation, the fact of earning a living as a self-employed trader or freelancer generates a stress factor, since the daily struggle for sales and the exhausting workload compromise the quality of life and the time available for rest. The marital status of the patients is a positive factor, with more than half (55%, n = 11) claiming to be married or living in a stable union, reinforcing the importance of the partner in treatment compliance and psychological support and in the woman's self-esteem, since the participation of the spouse in consultations, medical examinations and domestic activities is essential for the treatment and the hopes for recovery. A study by Cecilio *et al.*, (2013) [25] of male companions of women with breast cancer in Divinópolis (MG) in Brazil confirmed that the life expectancy of female companions was associated with fears, uncertainties and hopes about the improvement of health felt by their companions.

Table 1. Characteristics of the patients participating in the study (N=20)

Characteristics	N	%
Age (years)		
35 a 39	2	10
40 a 45	10	50
45 a 50	8	40
Race		
White	3	15
Black	2	10
Brown	15	75
Indigenous	-	-
Marital status		
Single	9	45
Married / stable relationship	11	55
Widow	-	-
Divorced	-	-
Education		
Illiterate	-	-
Elementary School	4	20
High school	12	60
University education	4	20
Occupation		
From home	4	20
Commercial / Autonomous	7	35
Teacher	2	10
Administrator	3	15
Housekeeper	1	5
Others	3	15
Family income		
<1 minimum wage	3	15
1 a 3 minimum wage	15	75
> 3 minimum wage	2	10
Menopause status		
Pre-menopause	8	40
Postmenopause	12	60
Tumor type		
Ductal G-II	18	90
Ductal G-III	2	10
Tamoxifen treatment time (years)		
1 a 2		
2 a 3	7	35
3 a 5	10	50
	3	15

The physiological state of the respondents varied, with 60% (n = 12) of postmenopausal women and 40% (n = 8) in the pre-menopause. However chemotherapy and radiotherapy themselves can lead to a decrease in ovarian function. According to Dohou *et al.*, (2017) [26], young patients over 43 years of age with breast cancer and undergoing chemotherapy are at increased risk of chemotherapy-induced early menopause. As for the type of tumor diagnosed, grade II ductal carcinoma (90%, n = 18) was the most commonly found and only two patients received a diagnosis of grade III. According to the American Cancer Society it is the most common type diagnosed and affects the cells of the breast ducts. Studies show that if this type of cancer were diagnosed in the initial phase (I) and not in phase (II), the prognosis would be better, but socioeconomic conditions, inadequate access to mammography and the lack of information due to the majority having a low education and income, hinder the chances of an early diagnosis and a good prognosis [24]. As for hormone therapy with TAM, all patients interviewed used the drug both before and after menopause, as its therapeutic indication is for low-risk breast cancer [27]. It is known that TAM reduces the recurrence of breast cancer, however a study by Lorzio *et al.*, (2012) [28] highlighted that despite its beneficial effects, the use of TAM may be limited due to its adverse effects, and confirmed the participation of endoxifene, the active metabolite of the drug, in the induction of these effects. Because it has a complex action and acts in an antagonistic manner towards the estrogen receptor in the breast cell, it can act as a partial agonist, inhibiting bone demineralization in postmenopausal women, thus strengthening its protective effect.

Table 2. Adverse effects self-reported by the patients participating in the study during hormonal treatment with TAM at the oncology hospital (Brazil). (N = 20)

Adverse effect	N	%
<i>Complaints of adverse effects</i>		
Yes	20	100
No	-	-
<i>Hot flushes / heatwaves</i>		
Yes	18	90
No	02	10
<i>Vaginal changes (itching, discharge, bleeding)</i>		
Yes	18	90
No	2	10
<i>Irritability</i>		
Yes	14	70
No	6	30
<i>Forgetfulness / Memory lapse</i>		
Yes	5	25
No	15	75
<i>Weight gain</i>		
Yes	12	60
No	8	40
<i>Gastrointestinal intolerance (feeling sick / vomiting)</i>		
Yes	11	55
No	9	45
<i>Depression</i>		
Yes	5	25
No	15	75
<i>Eye changes (itchy eyes / visual embarrassment)</i>		
Yes	13	65
No	7	35
<i>Changes in cholesterol and triglyceride levels</i>		
Yes	4	20
No	16	80
<i>Liver changes</i>		
Yes	4	20
No	16	80
<i>Endometrial changes</i>		
Yes	4	20
No	16	80
<i>Headache / dizziness</i>		
Yes	8	40
No	12	60
<i>Cramps</i>		
Yes	12	60
No	8	40

Among the respondents 100% reported having complaints and/or discomfort when taking the medication, even over different durations of treatment (1 to 2 years, 2 to 3 years and 3 to 5 years), unlike the findings of Love *et al.*, (2015) [29], who compared placebos (without use of TAM) with the use of TAM for 3, 6 and 12 months. Hot flushes bothered 90% (n = 18) of our patients, followed by vaginal changes, including itching, discharge and vaginal bleeding. Data in the literature provide evidence that the undesirable effects related to gynecological and vasomotor complications produced by TAM can be confused with those already known in the female climacteric, and appear most frequently in the ranking of undesirable effects during treatment with TAM according to Day *et al.*, (1999) [30] and Mouritis *et al.*, (2001) [31]. Honna *et al.*, (2015) [32] showed that women after menopause and above 60 years old suffer the negative consequences of the reduction in estrogen, which regulates both the breasts and uterus and other organs, reinforcing the importance of the hormone. Vasomotor symptoms such as hot flushes and night heat are due to hormonal block, as estrogen participates in hypothalamic thermoregulation. Table 2 shows the adverse effects self-reported by the patients.

Irritability or mood change was reported by 70% (n = 14) of patients, who mentioned having episodes of lack of patience and irritation regardless of the treatment time after a year or more, which contrasts with the findings of Love *et al.*, (2015) [29], who reported that these effects occur from 3 months of treatment onwards. Irritability was increased in most patients, but depression was only mentioned by 25% (n = 5), although this adverse effect is important as it can compromise quality of life and follow-up treatment [33]. Weight gain was another adverse effect reported by 60% (n = 12) of the patients. Lima *et al.* (2017) [34] found that changes in body weight during chemotherapy and hormonal treatment negatively influence the prognosis, survival and quality of life of women with breast cancer. The weight of women undergoing endocrine therapy often increases by 1 to 2 kg, whereas those undergoing chemotherapy gain 3 to 7 kg. As they are usually menopausal women, this condition is unfavorable given the usual increase in weight in this life stage. Gastrointestinal intolerance such as nausea and vomiting were very pronounced (55%, n = 11), which can be attributed to the pharmacodynamics of TAM. Visual changes occurred in 65% (n = 13) of patients, with reports of itchy eyes, excessive tearing and blurred vision. Kashiwagi, (2010) [35] made reference to anticancer treatments and the risk of eye disorders. Despite being uncommon reactions, changes can occur in the location of the anterior segment (eyelid, conjunctiva, cornea), retina, optic nerve and lacrimal duct. TAM and docetaxel, both used by patients, are drugs that can lead to tear disorders. Irreversible changes can occur during treatment if they are not detected early, although the option of stopping treatment or not should be evaluated in patients with an unfavorable history together with the ophthalmologist [36]. As for the occurrence of cramps and discomfort in the legs, these were mentioned by 60% (n = 12) of the patients.

Other less frequent effects corroborate reports of symptoms during long-term treatment with TAM presented by Love *et al.*, (2015) [29] and Jordan VC, (2003) [5]. Headache associated with dizziness was reported by 40% (n = 8) of patients. Memory lapses with forgetfulness episodes including related to taking the medication were reported by 25% (n = 5); depression was reported by 25% (n = 5) of the patients who used antidepressants; changes in cholesterol levels with hypertriglyceridemia were confirmed by 20% (n = 4) patients who had their lipid profile tested and were taking medications such as statins and fibrates; changes of a hepatic nature such as in transaminases and suspected hepatic steatosis were reported by only 20% (n = 4) of them; endometrial changes such as uterine polyps were also reported by 20% (n = 4) of the patients interviewed. Previous studies on the adverse effects of TAM have also reported loss of memory and cognition [37,38], lipid changes and hypertriglyceridemia [18,39,40], thromboembolism in menopausal women [41], pancreatitis at 4 years of treatment [42], hepatic changes due to TAM [43], and mood disorders, depression and altered cognition in endocrine and chemotherapy therapies [44]. Thus, TAM is associated with a series of adverse effects and its use depends on

whether patients with a menopause profile, undergoing breast cancer treatment and who develop symptoms of estrogen deficiency have a therapeutic indication for hormonal treatment that is associated with a long treatment time with menopausal discomfort^[45]. To assess the patients' lifestyle we used several factors as a reference: when asked about their diet, 14 (70%) patients claimed to eat healthily with fruits and vegetables on their daily menu; 100% of them confirmed that they did not smoke, however 7 (35%) stated that they consumed alcoholic beverages even during the use of TAM; 6 (30%) reported performing regular physical activities recommended by the doctor such as walking and light exercises versus 14 (70%) who did not do any type of physical activity, being very sedentary; the abdominal circumference, via which central obesity is assessed, was high, above 80 cm in 100% of the patients; 16 (80%) of them were overweight and obese, as demonstrated by a BMI above 25 kg/m² (Figure 1).

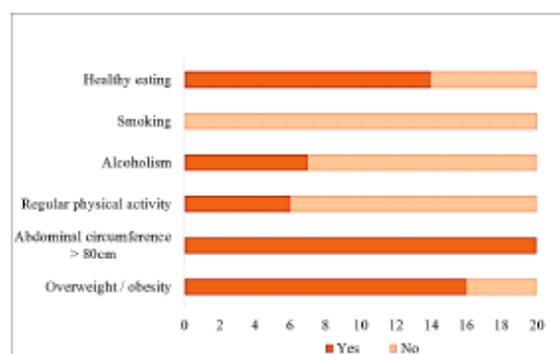


Figure 1. Distribution of the sample regarding the variables related to the lifestyle of patients undergoing TAM treatment at the oncology hospital (Brazil)

Our lifestyle results reveal a negative effect on survival and quality of life for anthropometric parameters such as a high BMI and waist circumference. Lima *et al.*, (2017)^[34] pointed to the importance of good nutrition and reduced body weight. An imbalanced food intake is an important modifiable risk factor and contributes to the nutritional profile and risk of obesity in women with breast cancer. Although 70% of our patients claimed to have a healthy diet during chemotherapy and the use of TAM, the majority revealed that they were overweight and obese and did not do physical activity or did not have a regular physical activity program. Patients undergoing chemotherapy and hormonal treatment may experience changes in body weight and are liable to metabolic complications such as glycemic and lipid changes, which may have a negative impact on treatment. In a study of pre-menopausal women Hojan *et al.*, (2013)^[46] highlighted that aerobic exercise reduced the percentage of body fat mass and improved the quality of life, reinforcing the importance of physical activity in reducing adverse effects of endocrine therapy with TAM, in addition to improving mood and the expectation of treatment success; however physical activity programs should be specifically designed for such patients. Regarding alcohol intake and tobacco use, despite little or no use by patients, these factors precede a reorientation due to the negative interaction with the treatment in question. Due to the importance of quality of life in anticancer treatment, more investigations are needed to clarify the results of this research.

CONCLUSION

Most of the women in our sample were brown, aged between 40 and 45 years old, self-employed or employed, with a low income, married or in a stable union, in pre- or post-menopause, diagnosed with grade II ductal carcinoma, and treated with chemotherapy, radiotherapy and mastectomy, followed by TAM in hormone therapy for 2 to 3 years. Gynecological and vasomotor complications such as hot flashes, irritation, itching and vaginal bleeding followed by mood changes,

body weight gain, gastrointestinal intolerance, visual disturbances and to a lesser extent memory lapses, depression, and lipid, liver, and endometrial changes, among others, were the most reported adverse effects that bother patients during hormonal treatment. A sedentary lifestyle with little or no physical activity favors overweight and obesity. Even with a healthy diet, modifiable risk factors still compromise patients' well-being. Although these results have some methodological limitations, we have described a profile of women with breast cancer that does not differ much from that reported by other studies referenced in this research. Many of the adverse effects of hormone therapy with TAM are exacerbated by the estrogenic deficiency present in the studied age group, but we cannot say by what mechanisms they arise. Because our sample comprised patients who were exposed to chemotherapy and later to TAM, we cannot rule out the possibility that the adverse effects of TAM are exclusive, since cytotoxic agents are also responsible for some of the reported effects. Women undergoing breast cancer treatment should be warned about the possible adverse effects of different anticancer treatments, while paying attention to individual characteristics and being able to choose therapeutic options that best suit their profile, strengthening treatment adherence and therapeutic expectations.

Acknowledgments: We thank the Hospital Ophir Loyola to permit we developed this research there. We thank the patient women who contributed to the research.

REFERENCES

- Rojas K, Stuckey A. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clin Obstet Gynecol.* 2016;59(4):651-72.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *2017;67(1):7-30.*
- Estimativa do Câncer no Brasil. Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação. Rio de Janeiro: INCA; 2018. 130 p.
- Abrams JS. Tamoxifen: Five Versus Ten Years — Is the End in Sight? *J Natl Cancer Inst.* 2001. 2;93(9):662-4.
- Jordan VC, Lurie TRH. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. *Nature review/ Drug Discovery.* v.2, 2003.
- Cuppone F, Bria E, Verma S, Pritchard KI, Carlini P, Milella M, et al. Do Adjuvant Aromatase Inhibitors Increase the Cardiovascular Risk in Postmenopausal Women With. *Am Cancer Soc.* 2007; p:260-7.
- Bergman L, Beelen MLR, Gallee MPW, Hollema H, Benraadt J, Leeuwen FE Van. Risk and prognosis of endometrial cancer after tamoxifen for breast cancer. *Lancet.* 2000;356:881-7.
- Altaras MM, Aviram R, Cohen I, et al. Role Of Prolonged Stimulation of Tamoxifen Therapy in the Etiology of Endometrial Sarcomas. *Gynecol Oncol.* 1993. 49 (2): 255-8.
- Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Burgos E. et al. Uterine carcinoma in mice treated neonatally with tamoxifen. *Carcinogenesis.* 1997. 18(12): 2293-8.
- Kaiser-Kupfer MI & Lippman ME. Tamoxifen retinopathy. *Cancer Treat Rep.* 1978. 62(3):315-20.
- Nayfield BSG, Gorin MB. Tamoxifen-Associated Eye Disease: A Review. *J Clin Oncol.* 2016;14(3):1018-26.
- Gorin MB, Day R, Constantino JP, Fisher B, Redmond CK, Wickerham L, et al. Long-term Tamoxifen Citrate Use and Potential Ocular Toxicity. *Am J Ophthalmol.* 1998;493-501.
- Eisner A, Luoh S. Breast Cancer Medications and Vision: Effects of Treatments for Early-stage Disease. *Curr Eye Res.* 2011;36(May):867-85.
- Elefsiniotis LS, Pantazis KD, Ilias A. et al. Tamoxifen induced hepatotoxicity in breast cancer patients with pre-existing steatosis: the role of glucose intolerance. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004; 16 (6): 593-8.
- Srivastava A, Maggs JL, Antoine DJ, Williams DP, Smith DA, Park BK. Role of Reactive Metabolites in Drug-Induced Hepatotoxicity. *Handb Exp Pharmacol.* 2010;(196):165-94.

16. Carthew P, Lee N, Edwards RE, Heydon RT, Martin EA. Cumulative exposure to tamoxifen: DNA adducts and liver cancer in the rat. *Genotoxicity*. 2001;75:375-80.
17. Hozumi Y. Severe Hypertriglyceridemia Caused by Tamoxifen-Treatment after Breast Cancer Surgery. *Endocr J*. 1997;44(5):745-9.
18. Filippatos TD, Liberopoulos EN, Pavlidis N, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Effects of hormonal treatment on lipids in patients with cancer. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2009;35(2):175-84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.09.007>
19. Kim JH, Cho HT, Kim YJ. The role of estrogen in adipose tissue metabolism: insights into glucose homeostasis regulation. *Endocr J*. 2014;61(11):1055-67.
20. Hesselbarth N, Pettinelli C, Gericke M, Berger C, Kunath A, Stumvoll M, et al. Biochemical and Biophysical Research Communications Tamoxifen affects glucose and lipid metabolism parameters, causes browning of subcutaneous adipose tissue and transient body composition changes in C57BL/6N-Tac mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015. 28;464(3):724-9.
21. Xu B, Lovre D, Mauvais-jarvis F. Effect of selective estrogen receptor modulators on metabolic homeostasis. *Biochimie* [Internet]. 2016;124:92-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2015.06.018>
22. Xu B, Lovre D, Mauvais-jarvis F. The effect of selective estrogen receptor modulators on type 2 diabetes onset in women: Basic and clinical insights. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2017; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.12.010>
23. Antimisiaris D, Bae KG, Morton L, Medicine G, Gully Z. HHS Tamoxifen Pharmacovigilance: Implications for Safe Use in the Future. *Consult Pharm*. 2017;32(9):535-46.
24. Silva PF, Amorim MHC, Zandonade E, Viana KCG. Associação entre Variáveis Sociodemográficas e Estadiamento Clínico Avançado das Neoplasias da Mama em Hospital de Referência no Estado do Espírito Santo. *Rev Bras Cancerol*. 2013;59(3):361-7.
25. Cecilio SG, Sales JB, Pereira NPA, Maia LLGGN. A visão do companheiro da mulher com histórico câncer de mama. *Rev Min Enferm*. 2013;17(1):23-31.
26. Dohou JI, Mouret-Reynier MA, Kwiatkowski F, Arbre M, Herviou P, Pouget M, Abrial C P-LF. A Retrospective Study on the Onset of Menopause after Chemotherapy: Analysis of Data Extracted from the Jean Perrin Comprehensive Cancer Center Database Concerning 345 Young Breast Cancer Patients Diagnosed between 1994 and 2012. 2017. p. 255-63.
27. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, Guant M, Dubsy P, Loibl S, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017 Cancer 2017 Special article. *Ann Oncol*. 2017;28(June):1700-12.
28. Lorizio W, Wu AHB, Beattie MS et al. Clinical and biomarker predictors of side effects from tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;132(3):1107-18.
29. Love RR, Cameron L, Connell BL, Leventhal H. Symptoms Associated With Tamoxifen Treatment in Postmenopausal Women Tamoxifen. *Arch Intern Med*. 2015; 151:1842-7.
30. Day R, Ganz PA, Costantino JP, Cronin WM, Wickerham DL, Fisher B. Health-Related Quality of Life and Tamoxifen in Breast Cancer Prevention: A Report From the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Clin Oncol*. 1999;17(9):2659-69.
31. Mourits MJE, Vries EGE De, Willemse PHB, Hoor KA Ten, Hollema H. Tamoxifen treatment and gynecologic side effects: A review. *Obstet Gynecol*. 2001;97(5):855-66.
32. Honma N, Hosoi T, Arai T, Takubo K. Estrogen and cancers of the colorectum, breast, and lung in postmenopausal women. *Japanese Soc Wiley Publ Asia Pty Ltd*. 2015;65(May):451-9.
33. Ganz PA. Impact of Tamoxifen Adjuvant Therapy on Symptoms, Functioning, and Quality of Life. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001;6900(30).
34. Lima M, Tavares M, Carvalho KP De, Mazzutti FS, Maia MDA, Philbert P, et al. Temporal influence of endocrine therapy with tamoxifen and chemotherapy on nutritional risk and obesity in breast cancer patients. *Bio Med Central*. 2017;17(578):1-11.
35. Kashiwagi H. Lesões oculares causadas por drogas anticâncer. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2010. 37(9):1639-44.
36. DM W, VC J. Complicações ginecológicas associadas à terapia adjuvante a longo prazo com tamoxifeno para câncer de mama. *Ginecol Oncol*. 1992;45(2):2015-6.
37. Suzuki S, Brown CM, Wise PM. Mechanisms of Neuroprotection by Estrogen. *Endocrine*. 2006;29(2):209-15.
38. Boele FW, Schilder CMT, Roode M De, Deijen JB, Schagen SB. Cognitive functioning during long-term tamoxifen treatment in postmenopausal women with breast cancer. *Menopause J North American Menopause Soc*. 2015;22(1):17-25.
39. Singh HK, Prasad MS, Kandasamy AK, Dharanipragada K. Case Report Tamoxifen - induced hypertriglyceridemia causing acute pancreatitis. *J Pharmacol Pharmacother*. 2016;38-40.
40. Kataria PSC, Kendre PP, Patel AA, et al. Tamoxifen Induced Pancreatitis: An Unusual Complication of Commonly used Drug. *J Clin Diagnostic Res*. 2017;11(8):5-6.
41. Lin H, Liao K, Chang C, Lin C, Lai S. Correlation of the tamoxifen use with the increased risk of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in elderly women with breast cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2018;1-6.
42. Tey TT, MBBS, MRCP et al. Acute Pancreatitis Caused by Tamoxifen- Induced Severe Hypertriglyceridemia After 4 Years of Tamoxifen Use. *ACG Case Reports J*. 2019;6:1-3.
43. Liu C, Huang J, Cheng S, Chang Y, Lee J, Liu T. Fatty liver and transaminase changes with adjuvant tamoxifen therapy. *Clin Rep*. 2006;17:709-13.
44. Selikta N, Polek C, Brooks U, Hardie T. Cognição em sobreviventes de câncer de mama: hormônios versus depressão. *Psicooncologia*. 2015; 24 (4): 402-7.
45. Moon Z, Hunter MS, Moss-morris R, Hughes LD. Factors related to the experience of menopausal symptoms in women prescribed tamoxifen. *J Psychosom Obstet Gynaecol*. 2017;38(3):226-35.
46. Hojan K, Molińska-ghura M, Milecki P. Physical activity and body composition, body physique, and quality of life in premenopausal breast cancer patients during endocrine therapy - a feasibility study. *Acta Oncol (Madr)*. 2013;52:319-26.

ANEXO C**Manuscritos Submetidos****(1)****The impact of Tamoxifen on lipid metabolism: high risk for developing metabolic syndrome**

Maria Lúcia Souza Siqueira; Sarah Michelli Vieira Andrade; Camila Fernanda Rodrigues Romeiro; Marta Chagas Monteiro

Elsevier Editorial System(tm) for **Journal of Clinical Lipidology**

<https://www.lipidjournal.com/>

Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: The impact of Tamoxifen on lipid metabolism: high risk for developing metabolic syndrome.

Article Type: **Review**

Keywords: Tamoxifen, adverse effects, lipid metabolism, metabolic syndrome, breast cancer, Corresponding Author: Dr. Marta Chagas Monteiro, PhD

Corresponding Author's Institution: Universidade Federal do Pará

First Author: Maria Lúcia S Siqueira, Ms

Order of Authors: Maria Lúcia S Siqueira, Ms; Sarah Michelli V Andrade; Camila Fernanda R Romeiro; Marta Chagas Monteiro, PhD

Abstract: Tamoxifen (TAM) is a non-steroidal triphenylethylene used as the gold standard drug for the treatment of breast cancer in postmenopausal women, and prescribed worldwide. It acts as an estrogen receptor (ER) antagonist, blocking the estrogenic effect and preventing the proliferation of cancer cells. It is also used, in addition to decreasing the recurrence of breast cancer, to reduce fractures by improving bone turnover, and to decrease menopausal symptoms and induce ovulation. However, this drug is also associated with several adverse effects, including thromboembolism, endometrial cancer, the formation of uterine polyps, lipid changes with hypertriglyceridemia, hepatic steatosis and pancreatitis, cataracts and retinopathy. Lipid alterations are a serious effect, and may be related to risk factors that predispose to the metabolic syndrome. This syndrome is characterized by multiple dysfunctions such as dysglycemia, elevated blood pressure, elevated triglyceride levels, low HDL cholesterol, and obesity, particularly central adiposity, leading to the development of atherosclerotic cardiovascular disease. This review highlights the importance of TAM on lipid metabolism; thus, we have undertaken a critical review of the role of TAM, since the mechanisms that explain its action on dyslipidemia and metabolic syndrome require further study.

Manuscriptos submetidos

(2)

Thickness of Retinal Macular Fields in Patients Undergoing Different Breast Cancer Treatments

Maria Lúcia S. Siqueira, Railson C. Salomão, Flávia F. Monteiro, Newton Q. Feitosa Júnior, Sarah Michelle V. Andrade, José Luiz Fernandes Vieira, Marta C. Monteiro, Givago S. Souza*

1Universidade Federal do Pará, Brazil, 2Núcleo de medicina tropical, Universidade Federal do Pará, Brazil

Submitted to Journal: **Frontiers in Oncology**

www.frontiersin.org

Specialty Section: Women's Cancer

Article type: Original Research

Article Manuscript ID: 438585

Received on: 23 Nov 2018

Frontiers website link: In review

Keywords: breast cancer, chemo - radiotherapy, Tamoxifen (TAM), Retina, Retinal thickness

Abstract

Purpose: To compare retinal thickness in breast cancer patients undergoing chemoradiotherapy or tamoxifen therapy with healthy individuals. **Methods:** Fifty-two women were divided into three groups: control (n=20); those who underwent radio- and chemotherapy (n=14); and those treated with tamoxifen after one cycle of radio- and chemotherapy (n=18). Retinal thickness was measured using optical coherence tomography. Tamoxifen metabolites in the blood of breast cancer patients undergoing tamoxifen therapy were quantified using high-performance liquid chromatography. Analysis of variance was used to compare retinal thicknesses among the groups, and multiple linear regression analysis was used to investigate the interaction between retinal thickness and age, duration of previous chemoradiotherapy, duration of tamoxifen therapy, and blood levels of tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and endoxifen of the patients undergoing tamoxifen therapy. **Results:** There was no significant difference in retinal thickness between breast cancer patients and controls; however, central retinal thickness in the tamoxifen group was significantly influenced by age and blood levels of tamoxifen metabolites. **Conclusion:** Although variation in central macular thickness in the tamoxifen patients was in the range of that in the control group, results suggested that retinal structure is sensitive to the presence of these metabolites in the blood, and emphasize the need for care with prolonged use of the drug.

ANEXO D

Manuscrito em preparação

(1)

A Preliminary Study on Metabolic Health of Women Breast Cancer Survivors on Chemotherapy

Maria Lúcia Souza Siqueira¹, Sarah Michelli Vieira Andrade², Gilson Pires Dorneles³, Pedro R. T. Romão³, Marta Chagas Monteiro³

¹Neuroscience and Cellular Biology Post Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil.

²Laboratory of Clinical Immunology and Oxidative Stress, School of Pharmacy, Health Science Institute, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil.

³Department of Basic Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre / Rio Grande do Sul, Brazil

⁴Pharmaceutical Science Post-Graduation Program, Neuroscience and Cellular Biology Post Graduation Program, Health Science Institute, School of Pharmacy, Federal University of Pará/UFPA, Belém, PA, Brazil.

ABSTRACT

Cytotoxic chemotherapy is still widely used in clinical protocols that combine anthracyclines, cyclophosphamide and taxanes to treat Breast Cancer (BC), a condition that affects the health of thousands of women worldwide. However, the undesirable effects of chemotherapy have a negative impact and compromise the survival and quality of life of women with BC. Neurotoxicity, cardiotoxicity, fatigue, cognitive deficit, depression, dyslipidemia, metabolic syndrome, among others, are undesirable changes already reported in other clinical studies. Here, to assess the impact of overweight/obesity on circulating lipid levels, oxidative stress markers and pro-inflammatory cytokines in BC patients who received chemotherapy. An observational study of a case series started with 20 women diagnosed with ductal carcinoma type I and II breast tumor and receiving chemotherapy, with treatment duration of 4 to 31 months was developed in a public hospital that is a reference in oncology. A control group of matched-age healthy women were recruited. Markers of obesity and visceral fat dysfunction such as VAI (visceral adiposity index) and LAP (lipid accumulation product) were determined from anthropometric data (BMI and waist circumference) and lipid biochemical parameters (HDL cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides) were quantified by electrochemiluminescence. The pro-oxidant (MDA and NO) and antioxidant (TEAC, GSH, SOD and CAT) profiles were measured by spectrophotometry. Cytokine levels (TNF- α , IL-1 β and IL-6) were determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Results: (processing)

Keywords: Breast cancer, VAI, LAP, Lipids, Lipoproteins, Chemotherapy, Oxidative stress, Cytokine.

APÊNDICES

APÊNDICE A

FORMULÁRIO DE OBTENÇÃO DE DADOS E AVALIAÇÃO DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA

1. Dados Pessoais:

Nome: _____

Sexo: F () M () Data de nascimento: ____/____/____ Fone: _____

WhatsApp: _____

Cor/Raça: () Branca () Preta () Amarela () Parda () Indígena

Estado Civil: () Solteiro () Casado () Viúvo () Divorciado

Endereço residencial: _____

Cidade/Estado _____

Nº. de pessoas na residência: _____ Nome e Grau de parentesco do acompanhante: _____

Filhos? Sim () quantos? _____ Não ()

Casamentos? Um (), Dois (), Três ()

Escolaridade:

() Analfabeto

() Alfabetizado

() Alfabetizado (Funcional)

Estudo formal:

() Fundamental

Médio ()

Graduação ()

() Pós-graduação: mestrado ()

Doutorado ()

Pós-doutorado ()

Profissão/Ocupação: _____

Renda familiar: _____

2. Condições gerais:

Apresentação do paciente (como ele está fisicamente): _____

Atividades de Vida Diária (AVDs): _____

Atividades de Vida Profissional (AVPs): _____

3. Patologias Diagnosticadas (história anterior e atual)

() Sim*

() Não

() ignorado

() Histerectomia () Ooforectomia

() neoplasia

() diabetes mellitus

() cardiopatia

() hipercolesterolemia atual ou
passada

() *angina pectoris*

() hipotireoidismo

() hipertireoidismo

() hipertensão arterial sistêmica

() arteriosclerose

() depressão

() asma

() Trauma crânio-encefálico

() alergias

() doença reumática

() doença ortopédica

() doença pulmonar obstrutiva
crônica

() episódio de *delirium*

() doença renal crônica

() Infecções recorrentes

() desnutrição

() labirintite

() demência

() Encefalites

Glaucoma/catarata,outras: _____

*Especifique qual: _____

4. É paciente de câncer de mama?

Sim, foi diagnosticado Não, não foi diagnosticado Tudo indica que sim, mas não foi diagnosticado

Tipo/Grau do câncer: _____ Início dos 1^{os} sintomas: _____ Início e final do tratamento: _____

Realizou quimioterapia?

Sim quais quimioterápicos:

Não

Realizou radioterapia?

Sim Não

Realizou terapia endócrina com Tamoxifeno?

Sim Não

É paciente em: pré-menopausa , pós-menopausa

5. Hábitos:

Água consumida:

Poço artesiano Cosanpa Tratamento Foi analisada pela COSANPA?
caseiro?

Obs:

Etilismo: sim nega

Anterior . Quantia e tempo: _____ Atual. Quantia e tempo: _____

Tabagismo: sim nega

Anterior .Cigarros/dia e tempo: _____ Atual. Cigarros/dia e tempo: _____

Hábito de lazer :

leitura filmes trabalhos manuais

Outros _____

Hábitos alimentares: _____

6. História de medicamentos utilizados? (Fazer registro também dos medicamentos naturais)

sim não

Reposição Hormonal: Sim Não

Droga/dose: _____ / _____

_____ / _____

_____ / _____

Medicamentos utilizados atualmente:

Anti-inflamatório () Antibióticos () Antidepressivos () Antihipertensivos () Antidiabéticos ()
 Antitussígeno () Antiglaucomatosos () Antiparasitários () Para Tireóide ()
 Para tuberculose/hanseníase () Para osteoporose () Antiácidos () Hormônios ()
 Suplementos minerais e vitamínicos () Composto de produtos naturais () Outros ()

Nome/Dose/Tempo

7. Saúde visual:

Realiza (ou) exames oftalmológicos? () sim () não

Qual? _____ Com qual frequência? _____

Utiliza óculos? _____ Qual o grau? _____

Já desenvolveu alguma doença nos olhos?

Catarata () Estrabismo () Miopia () Neurite óptica () Alteração na visão de cor ()

Retinopatia () Edema macular () Hemorragia () Glaucoma () Opacidade da córnea ()

Miopia () Diminuição da acuidade visual () Lacrimejamento excessivo () Prurido ocular ()

() Vista seca

Outros incômodos na visão: _____

Atualmente tem alguma queixa da visão? () sim () não

Queixa 01: _____ Com qual frequência e duração? _____

Há quanto tempo iniciou? _____

Queixa 02: _____ Com qual frequência e duração? _____

Há quanto tempo iniciou? _____

Obs: _____

8. Informações da terapia hormonal com Tamoxifeno

a) Nome do medicamento prescrito: _____

b) Dose _____ Tempo previsto para utilização _____

c) Início de administração: _____

d) Via de Administração: _____ Como toma? _____

e) Local de acesso ao medicamento: farmácia do SUS _____ farmácia comercial _____
 hospital _____

f) Apresenta alguma queixa quanto ao uso desse medicamento? Sim () quais? Não ()

g) Quais das queixas abaixo você considera que começou quando iniciou o uso do Tamoxifeno:

Queixas comuns: Ondas de calor (.....), secura vaginal (), Problemas no sono (), irritabilidade (), depressão (), derrame cerebral (), entupimento de veias profundas da perna e do pulmão (), sangramento vaginal (), corrimento vaginal (), coceira na vagina (), alterações da parede do útero (incluindo espessamento e pólipos) (), intolerância gastrointestinal (transtornos estomacais, incluindo enjoo e vômito) (), queda de cabelo (), erupções cutâneas (erupções na pele ou coceira ou descamação da pele) (), dor de cabeça (), tonturas (), vermelhidão da área do tumor (), retenção de líquidos (possivelmente vistos como tornozelos inchados) e câibras (), alterações de peso ().

Queixas incomuns: catarata (), retinopatia (), miomas uterinos (que também podem ser vistos como desconforto pélvico ou sangramento vaginal) (), câncer de endométrio (revestimento interno da parede do útero) (), reações alérgicas (), diminuição anormal do número de plaquetas no sangue (), diminuição do número de leucócitos

no sangue (), diminuição anormal do número de neutrófilos no sangue (), anemia (), alterações nas taxas de enzimas do fígado e elevação de triglicérides (). Queixas raras: alterações na córnea (), doenças e inflamações do nervo óptico (), sarcoma uterino (tumores malignos) (), endometriose (), cistos ovarianos (), pancreatite (inflamação do pâncreas) (), fígado gorduroso (), diminuição do fluxo da bile (), hepatite () e elevação da quantidade de cálcio no sangue (). Queixas muito raras: inflamação dos pulmões que podem apresentar sintomas como pneumonia, falta de ar e tosse (), alterações graves na pele (como vermelhidão, bolhas e descamação) ().

Belém, ____ de _____ de 2016.

Avaliadores: _____

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE)

Concordo em participar da Pesquisa “**AValiação DOS EFEITOS DOS METABÓLITOS DO TAMOXIFENO NA SAÚDE OCULAR E VISUAL DE PACIENTES COM CâNCER DE MAMA EM USO DE TAMOXIFENO**” cujos objetivos são:

- Dosagem das concentrações plasmáticas de 4-hidroxitamoxifeno e 4-hidroxi-desmetiltamoxifeno, metabólitos do Tamoxifeno, medicamento utilizado no tratamento de câncer de mama.
- Verificar se existe relação entre a administração do Tamoxifeno e o aparecimento de alterações oculares e visuais, através da determinação da concentração sanguínea dos seus metabólitos e avaliação dos efeitos adversos relacionados com sistema imune.
- Avaliar como a administração deste fármaco pode provocar alterações oculares e visuais.

Ressaltamos que, as pacientes que decidirem participar deste estudo, têm assegurados os seguintes itens, conforme resolução 466/12 do Conselho Nacional da Saúde:

- A garantia de receber esclarecimento a qualquer dúvida a respeito da pesquisa;
- A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento da pesquisa;
- A segurança de que não haverá divulgação personalizada das informações;
- As informações sobre o resultado do estudo.

Quanto aos benefícios da pesquisa, as pacientes que decidirem participar terão o esclarecimento dos efeitos do uso de tamoxifeno nas pacientes com câncer de mama e sobre como este estudo beneficiará a criação de conhecimento para embasar as práticas de assistência farmacêutica e clínica dos pacientes com câncer de mama, proporcionando um atendimento holístico e melhor acolhimento nos serviços de saúde. Desta forma, esta pesquisa possibilitará novos estudos com futuros tratamentos as pacientes com câncer de mama, que permitam maior expectativa de vida e melhoria na adesão terapêutica e prognóstica destas pacientes.

Quanto aos riscos, os riscos inerentes, como a divulgação dos dados, nome da paciente e quebra de sigilo das informações importantes coletadas nos formulários da pesquisa ou prontuários das participantes serão evitados com a codificação da paciente através de um número de registro, que ao final da pesquisa, os dados coletados pelo estudo serão destruídos e descartados. Além desses riscos, há o risco moral, advindo da divulgação do material coletado, que buscaremos minimizá-los por meio de descrição codificada dos dados, conforme descrito acima, para não haver exposição de qualquer informação que possa levar à sua identificação, como também descarte do material coletado após a entrega dos resultados à banca examinadora.

Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito. Autorizo a execução do trabalho e fornecimento das amostras de sangue e realização de testes visuais assim como colaborar com a pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Belém, ____ de _____ de 20 ____.

Paciente/Responsável legal
Responsáveis pelo Projeto:

M Sc MARIA LÚCIA SOUZA SIQUEIRA e Dra. MARTA CHAGAS MONTEIRO

Telefone: (91) 999420777 – e-mail: mlss@ufpa.br

Endereço: Trav. Barão do Triunfo, 2215

Pedreira/Belém– PA.

Telefone: (91) 92072276 – e-mail: martachagas@ufpa.br

Endereço: Rua Rodolfo Chermont, 318,

cond. Murtosa, casa 15. Marambaia, Belém/