



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICO-CIRÚRGICAS

JOSÉ WILSON MOURÃO DE FARIAS

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE SUBSTÂNCIAS
ANTIOXIDANTES EM PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DA MAMA
TRATADAS COM DOSES NUTRACÊUTICAS DE GLUTAMINA:
ENSAIO CLÍNICO DUPLOCEGO RANDOMIZADO**

FORTALEZA

2014

JOSÉ WILSON MOURÃO DE FARIAS

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE SUBSTÂNCIAS
ANTIOXIDANTES EM PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DA MAMA
TRATADAS COM DOSES NUTRACÊUTICAS DE GLUTAMINA:
ENSAIO CLÍNICO DUPLOCEGO RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientação: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- F238a Farias, José Wilson Mourão.
Avaliação da concentração sérica de substâncias antioxidantes em pacientes portadoras de câncer da mama tratadas com doses nutracêuticas de glutamina: ensaio clínico duplocego randomizado./ José Wilson Mourão Farias. – 2014.
65 f.: il. color., enc.; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Mestrado em Cirurgia, Fortaleza, 2014.
Área de Concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse.
Orientação: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.
Co-Orientação: Prof. Dr. Antonio Roberto da Silva Filho.
1. Neoplasias da Mama. 2. Glutamina. 3. Estresse Oxidativo. 4. Mulheres.
5. Quimioterapia. I. Título.

CDD 616.99449

JOSE WILSON MOURÃO DE FARIAS

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE SUBSTÂNCIAS
ANTIOXIDANTES EM PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DA MAMA
TRATADAS COM DOSES NUTRACÊUTICAS DE GLUTAMINA: ENSAIO
CLÍNICO DUPLOCEGO RANDOMIZADO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Coorientador: Prof. Dr. Antônio Ribeiro da Silva Filho.

Aprovada em: ____/____/____

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos
(Universidade Federal do Ceará - Orientador)

Prof. Dr. Antônio Ribeiro da Silva Filho
(UNICHRISTUS - Coorientador)

Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães
(Universidade Federal do Ceará)

A DEUS

Primeiramente pela vida. Em segundo lugar, pela força interior para nunca desistir de realizar os sonhos, por maiores que sejam os obstáculos. Em terceiro, pela presença sempre constante em minha vida, me direcionando para o melhor destino. Pela família que tenho, pelos amigos, pela fé em Vós, sempre renovada. Meu muito obrigado.

Aos meus pais **PEDRO BEZERRA DE FARIAS NETO** (*in memorium*) e **ANTÔNIA ZILMAR MOURÃO DE FARIAS**, irmãos e irmã, cunhadas e cunhado, que ao longo de minha vida sempre estiveram do meu lado, participando de forma ativa e me dando força para sempre seguir em frente, jamais desistir, em busca de alcançar objetivos.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial para minha mulher, **ANGELA FARIAS**, aos nossos filhos **IGOR FARIAS**, **PRISCILA FARIAS** e **MADSON FARIAS**, nossas netas **BEATRIZ FARIAS**, **MARIA JÚLIA FARIAS** e **GIOVANNA FARIAS**, que sempre souberam ser compreensivos nos meus momentos de ausência, em função de estudo e trabalho, e sempre foram meus maiores incentivadores para seguir, não me deixando fraquejar em nenhum momento quando pensávamos em desistir em razão das dificuldades para conciliar trabalho com estudo.

Ao meu orientador, **PROFESSOR DOUTOR PAULO LEITÃO DE VASCONCELOS**, que me estimulou quando ainda não pensávamos em pós-graduação, a enveredar pela área da pesquisa, e dando-me oportunidade de desenvolver o estudo dentro de minha área de atuação, e principalmente por ser uma referência na pesquisa científica em nosso País.

Ao meu coorientador, **PROFESSOR DOUTOR ANTÔNIO RIBEIRO DA SILVA FILHO**, grande amigo, incentivador para que eu concluísse este trabalho, e que me abriu as portas para enveredar pela área do ensino e pesquisa.

Ao **PROFESSOR DOUTOR SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES**, por seu apoio e dicas para a conclusão e publicação deste texto dissertativo.

A **DOUTORA ANA ANGÉLICA DA LUZ**, chefe do Serviço de Oncologia Clínica da Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza e do Hospital São Carlos, pelo importante suporte que nos deu para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao **DOUTOR PAULO HENRIQUE WALTER AGUIAR**, chefe do Serviço de Mastologia da Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza, pelo apoio dado para a execução do projeto.

À **SANTA CASA DA MISERICÓRDIA DE FORTALEZA**, onde foi desenvolvida grande parte do projeto de pesquisa.

Ao **CRIO** (Centro Regional de Oncologia), onde também foi desenvolvido parte da pesquisa, e que realizou a radioterapia pós-operatória de todas as pacientes do estudo agora apresentado.

Ao Sr. **FRANCISCO EVANIR GONÇALVES DE LIMA**, técnico do Laboratório da Pós-Graduação da UFC, pela guarda e análise bioquímica das amostras.

Às estudantes do Curso de Medicina da UFC, **AKEMI, VÂNIA E LÚCIA**, pelo importante apoio logístico de acompanhamento de todas as pacientes e coleta das amostras; sem elas este trabalho não teria sido viabilizado.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, **MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA** e **MAGDA MARIA GOMES FONTENELE**, que sempre foram muito solícitas, sobretudo atenciosas e cooperativas durante todo o período de desenvolvimento do trabalho.

Ao Laboratório de **ANATOMOPATOLOGIA PATHUS**, na pessoa de sua diretora, Dr.^a Luciana Rocha Arruda, pela análise histológica dos espécimes de biopsia para diagnóstico.

Ao Laboratório de Patologia Clínica Dr. **EDILSON GURGEL** pela análise das amostras de sangue.

À **FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**, pela oportunidade que me foi dada para o desenvolvimento deste trabalho.

Toda ação humana, quer se torne positiva ou negativa, precisa depender de motivação". (DALAI LAMA)

LISTA DE FIGURAS

1	Estrutura da Glutamina	21
2	Modelo moleculoar da Glutamina	21

LISTA DE GRÁFICOS

1	Glutaciona reduzida (GSH), as concentrações de GSH (micromoles por grama de tecido húmido) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados	31
2	Tiobarbitúrico concentrações de acidoreativas (micromoles de malondialdeído por grama de tecido úmido) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados	32
3	A glutaciona reduzida (GSH), as concentrações de GSH (micromoles por ml de plasma) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados	33
4	Glutaciona reduzida (GSH), as concentrações de GSH (micromoles por ml de plasma) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados	34
5	Tiobarbitúrico concentrações de substâncias acidoreactivas (micromoles de malondialdeído por ml de plasma) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados.	35
6	Tiobarbitúrico concentrações de acidoreactivas (micromoles de malondialdeído por ml de plasma) em GLN (G1) e proteína do leite (G2), tratado pacientes	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anova	Análise e variância
CEA	Antígeno carcinoembriogênico
CAT	Catalase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EC	Estadiamento clínico
EPM	Erro-padrão da média
EROs	Espécies reativas do oxigênio
Gln	Glutamina
GN	Grau nuclear
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione-reductase
GSH	Glutathione (forma reduzida)
GSSH	Glutathione dissulfeto (forma oxidada)
GST	Glutathione-S-transferase
GT	Grau do tumor
H ⁺	Íon hidrogênio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
MAD	Malondialdehyde
ml	Mililitro
mM	Milimolar
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
nm	Nanômetro
OH ⁻	Radical hidroxila
O ₂ ⁻	Superóxido
OFR	Radicais livres do oxigênio
PAAF	Punção aspirativa com agulha fina

PCR	Proteína C reativa
PL	Peroxidação lipídica
ROMs	Metabólitos reativos do oxigênio
SOD	Superóxido dismutase
T	Tumor
TBA	Ac. tiobarbitúrico
T-Bars	Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico
TNM	Tumor nódulo metástase
UICC	União Internacional de Combate ao Câncer

RESUMO

Objetivo. Avaliar os efeitos da administração oral de (GLN) glutamina sobre o estresse oxidativo em mulheres portadoras de câncer mamário submetidas a quimioterapia neoadjuvante pré-operatória com o esquema FAC (5-fluoracil 500 mg/m^2 + doxorubicina 50 mg/m^2 + ciclofosfamida 500 mg/m^2 de superfície corporal). **Métodos.** Vinte mulheres (idade média: 51,7 anos) portadoras de carcinoma ductal invasivo da mama, com tumores classificados como T2b, T3a, T3b, T3c e todos os T4, correspondendo aos estádios clínicos IIb, IIIa, IIIb ou IIIc, foram incluídas no estudo, independentemente do seu estado menstrual. Embalagens contendo 15gr de glutamina ou 15gr de proteína do leite foram preparadas por engenheiro de alimentos. Alocação das pacientes foi feita na sequência gerada por “software”. Pacientes que receberam embalagens do tipo “A” foram incluídas no grupo G1. Pacientes tratadas com a preparação denominada “B” foram incluídas no grupo G2. O material foi misturado com uso de liquidificador em 150 ml de água potável, e administrado por via oral, diariamente, às pacientes durante todo o curso da quimioterapia neoadjuvante (esquema FAC). Amostras de sangue periférico foram coletadas no início dos três ciclos de quimioterapia, antes da infusão das drogas. Amostras de tumor e tecido mamário normal foram colhidas no final do procedimento cirúrgico (cirurgia de Patey). As amostras foram analisadas para determinação das concentrações de glutathiona (GSH) e substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS). **Resultados.** Concentrações de TBARS/GSH não foram diferentes no tumor, tecido mamário ou sangue, comparando os grupos G1 vs. G2. Além disso, não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de TBARS e GSH, comparando momentos diferentes dentro do mesmo grupo. **Conclusão.** GLN (15 gr/dia) administrada por via oral não oferece proteção contra estresse oxidativo sistêmico ou local em mulheres portadoras de câncer de mama, submetidas a quimioterapia neoadjuvante pré-operatória (FAC).

Palavras-Chave: Neoplasia da Mama. Mulheres. Quimioterapia. Estresse Oxidativo. Glutamina.

ABSTRACT

PURPOSE: To evaluate the effects of oral administration of GLN on the oxidative stress in women with breast cancer undergoing neoadjuvant FAC chemotherapy (5fluouracil 500mg/m² + Doxorubicin50 mg/m² + Cyclophosphamide 500 mg/m² body surface area). **METHODS:** Twenty women (mean age: 51.7 years) with breast ductal carcinomas classified as T2b, T3a, T3b, T3c and all of T4 were included in the study, regardless of pre or post menopause status. Sachets containing glutamine 15g (“A”) or milk protein 15g (“B”) were prepared by a registered pharmacist. Allocation of patients was made by software program. Patients who received sachets labeled “A” were included in G1 group. The remaining patients, treated with the preparation labeled “B”, were included in group G2. Sachets contents were blended in 150 ml of drinking water, and were given daily to each patient during the entire course of neoadjuvant chemotherapy. Peripheral blood samples were collected in the first day of each of the three cycles of chemotherapy before drug infusion. Tumor and normal breast samples were collected at the end of Patey’s surgical procedure. Samples were analysed for GSH and TBARS contents. **RESULTS:** TBARS and GSH values were not different in breast healthy and tumor tissues nor blood when comparing control (G-2) and glutamine-treated (G-1) patients. Also, no significant differences were found in TBARS and GSH levels comparing different timepoints within the same group. **CONCLUSION:** Oral GLN (15gr/day) offers no protection against systemic or local oxidative stress in women with breast Ca undergoing neoadjuvant chemotherapy (FAC).

Keywords: Breast Neoplasms. Women. Drug Therapy. Oxidative Stress. Glutamine.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS INTRODUÇÃO	22
2.1	Geral	22
2.2	Específico	22
3	MÉTODO	23
3.1	Casuística	23
3.2	Delineamento do estudo	24
3.2.1	Distribuição e organização dos grupos	25
3.2.2	Coleta e conservação das amostras	26
3.2.3	Substâncias administradas	26
3.3	Análise bioquímica	26
3.4	Análise estatística	27
4	RESULTADOS	28
5	DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40
	APÊNDICES	45
	ANEXOS	55

1 INTRODUÇÃO

O câncer da mama é um problema de saúde pública em todo o Mundo. É o segundo tipo mais frequente, sendo hoje o tipo de câncer mais comum que acomete a população feminina nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, respondendo por 22% dos casos novos de cada ano. Supera o câncer da cervix uterina, sendo portanto a principal causa de morte por câncer no sexo feminino (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2011; RAY;HUSAIN, 2001; AZEVEDO; MENDONÇA, 1993; TOMINAGA; KUROIISHI, 1995). Por ano, são diagnosticados 910 mil novos casos de câncer da mama e 376 mil mulheres morrem em consequência da doença (KUMARAGURUPARAN *et al*, 2002). A estimativa de novos casos para o Brasil em 2012, de acordo com relatório do INCA, foi de 52.680 casos (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER-INCA). Em 2010, ocorreram 12.852 mortes, das quais 147 foram de homens. Para o Estado do Ceará, estimam-se 4,82 novos casos para cada 100 mil mulheres.

Portanto revestem-se de grande importância estudos que possam avaliar as possíveis causas do surgimento destes tumores. Investigação experimental, bem como achados clínicos e epidemiológicos demonstram evidências de a presença de radicais livres atuando como agentes oxidativos no plano celular tem grande importância na etiologia do câncer (KUMARAGURUPARAN *et al*, 2002; PORTAKAL *et al*, 2000; TAMINI *et al*, 2004; DJURIC *et al*, 2001).

Radical livre é a expressão aplicada a toda espécie que possui um ou mais elétrons desemparelhados. O elétron livre pode estar centrado em um átomo de hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, carbono, enxofre ou átomos de metais de transição. Duas substâncias abundantes na natureza podem produzir radicais livres - o oxigênio no estado fundamental (O₂) e óxido nítrico (GUIMARÃES, 2005).

As substâncias reativas do oxigênio (ROS) são moléculas quimicamente reativas, produzidas de forma endógena durante várias atividades celulares metabólicas (HILEMAN *et al*, 2004). A concentração intracelular de espécies reativas do oxigênio (ROS), é, em condições normais, excessivamente baixa, pelo fato de existirem enzimas antioxidantes que as removem ou impedem a sua formação. Estes radicais tendem a ser eliminados do organismo pelo conjunto de enzimas

glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), superóxido dismutase (SOD) e pela catalase (CAT). Assim, em condições fisiológicas, o balanço entre os agentes pró-oxidantes e as defesas antioxidantes se mantêm em equilíbrio (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Portanto, é fácil entender que a quebra desta condição em favor dos radicais livres crie uma situação de desequilíbrio, que é denominada de “estresse oxidativo”. O estresse oxidativo pode ocorrer nas seguintes situações: a) depleção de antioxidantes por má nutrição (ex: ingestão inadequada de alfa-tocoferol, ácido ascórbico, aminoácidos precursores da glutathione (GSH); b) produção excessiva de radicais livres, por exemplo, quando da exposição à elevada concentração de O₂, a existência de toxinas que, metabolizadas, produzem radicais livres ou a ativação excessiva de sistemas naturais produtores de radicais livres (RAY; HUSAIN, 2001; DROGE, 2002).

Quando a situação de estresse oxidativo se estabelece, resta ao organismo três opções: 1) adaptação, por aumento da atividade dos sistemas antioxidantes; 2) dano tecidual, por agressão aos lipídios, carboidratos ou proteínas; 3) morte celular, por necrose ou apoptose. Na luta pela sobrevivência, o sistema de proteção contra a ação lesiva dos radicais livres atua em duas linhas: a) a detoxificadora, constituída pela glutathione reduzida, vitamina E e as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx); b) a linha reparadora, constituída principalmente pelo ácido ascórbico e pelas enzimas glutathione reductase (GR) e glutathione peroxidase (GPx) (GUIMARÃES, 2005).

As situações de estresse oxidativo se caracterizam pela elevada concentração de radicais livres e a diminuição dos níveis de enzimas antioxidativas. Estes radicais têm grandes margens de efeitos celulares e moleculares que resultam em mutagenicidade, citotoxicidade e mudanças nas expressões gênicas, e que estão diretamente envolvidas na iniciação e promoção da carcinogênese, onde ocorre a inativação ou perda de certos gens supressores de tumores (RAY; HUSAIN, 2001; PORTAKAL et al, 2000; TAMINI et al, 2000; HILEMAN et al, 2004; GIBANANANDA et al, 2000; MANJU; BALASUBRAMANIAN; NALINI, 2002). Os radicais livres são produzidos pelo metabolismo do estradiol, das gorduras

polinsaturadas, do etanol e das calorias, sendo considerados potenciais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer da mama (TAMINI *et al*, 2004).

A peroxidação lipídica é um processo oxidativo que conduz à desnaturação das membranas biológicas, e é implicado em diversas condições fisiopatológicas, incluindo o envelhecimento, aterosclerose, doenças reumáticas, câncer, isquemias cerebral e cardíaca, síndrome da angústia respiratória, várias desordens hepáticas, sepse, trauma e queimaduras, entretanto o estresse oxidativo grave pode produzir alterações no metabolismo celular de grande importância, que pode culminar com a morte celular. A peroxidação dos lipídios das membranas celulares é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser promovida pelos radicais livres, uma vez que todas as biomoléculas são suscetíveis a oxidação. Para se protegerem contra oxidações, os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos. No primeiro caso, várias moléculas com propriedades antioxidantes consumidas na dieta, como alfa-tocoferol (vitamina E), betacaroteno, selênio, ácido ascórbico (vitamina C), glutathione redutase (GR), diminuem a ação tóxica das espécies reativas do oxigênio (EROs) produzidas intra e extracelularmente. No segundo caso, quando são expostos as EROs, os organismos sintetizam proteínas (enzimas) antioxidantes (CHUANG *et al*, 2002; SCHIFF, 2000; SENA, 2005).

A taxa de produção de radicais livres, tais como o O_2^- e H_2O_2 , está significativamente elevada em pacientes com câncer de mama, independentemente do estágio clínico e do *status* hormonal de pré ou pós-menopausa (GIBANANANDA *et al*, 2000).

O estresse oxidativo resultante das espécies reativas do oxigênio (EROs) está associado com a indução da quebra do DNA, e é considerado o primeiro estágio para o desenvolvimento de muitas doenças que acometem os seres humanos.

O corpo humano é munido de várias substâncias com efeito antioxidativo, que são as enzimas antioxidativas, entre as quais se destacam superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), e a melandialdehyde (MAD), que podem contrabalançar a ação deletéria dos radicais

livres, protegendo do dano celular e molecular (HILEMAN *et al*, 2004; GIBANANANDA *et al*, 2000; VAN'T VEER *et al*, 1996; POLAT *et al* 2002).

As células se protegem contra o dano oxidativo por sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. SOD, GPx e CAT formam o sistema primário de defesa. A SOD é o maior defensor enzimático primário da célula. A GPx é o primeiro degrau de defesa enzimática contra o peróxido de hidrogênio e outras hidroperoxidases. Em altos níveis de peróxido de hidrogênio, a CAT é mais efetiva do que a GPx (PORTAKAL *et al*, 2000).

O perfil global da expressão gênica das células após exposição a oxidantes pode demonstrar importantes pistas de como as células se defendem do estresse oxidativo (CHUANG *et al*, 2002).

Os antioxidantes prolongam a fase de iniciação ou inibem a fase de propagação da auto-oxidação, entretanto, não previnem completamente a oxidação. O sistema de defesa primário ou inibidor preventivo do mecanismo antioxidante engloba as substâncias que impedem a geração de espécies reativas do oxigênio as sequestram de forma a impedir sua interação com alvos celulares, isto é, bloqueiam a etapa de iniciação da cadeia radicalar. Este grupo de substâncias é representado pelas enzimas antioxidantes, quelatos e proteínas, como transferrina e a ceruloplasmina, e substâncias não enzimáticas. A glutathiona (GSH) participa deste grupo (GIBANANANDA *et al*, 2000).

A glutathiona está no organismo em duas formas: reduzida (GSH) e oxidada (GSSG). Atua direta e indiretamente em muitos processos biológicos importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular (SENA, 2005).

A glutamina é o aminoácido mais abundante encontrado no plasma. É o maior transportador de nitrogênio dos sítios de síntese da glutamina (músculo esquelético, fígado e pulmões) para os sítios de utilização, incluindo rins, intestinos, células do sistema imunológico, em condições apropriadas de equilíbrio ácido-básico (NEWSHOLME *et al*, 2003).

GSH (ácido glutâmico-cisteína-glicina), que é a glutathiona reduzida, é o mais abundante antioxidante dentro da célula. É formado no fígado com base em três aminoácidos - glutamato, cisteína e glicina. Por isso, é tripeptídeo. A glutathiona é derivada da glutamina. É exatamente no fígado que está o mais abundante suprimento de GSH do corpo, do qual é usualmente exportada para a corrente sanguínea, intestinos, células imunológicas e pulmões (SENA, 2005).

A glutamina já foi utilizada em estudos experimentais, tendo sido demonstrada sua importância na síntese proteica, servindo de substrato, e também atuando na diminuição da lise proteica em situação de estresse (NEWSHOLME *et al*, 2003; CARRETERO *et al*, 2000; PENG *et al*, 2004; NAVARRO *et al*, 1997; ALVES, 2000). Não é demonstrado nenhum efeito adverso da glutamina após o seu emprego por via oral ou endovenosa (ALVES, 2004).

A glutamina é conhecida desde 1833, quando foi descrita por Schulze e Bosshard, tendo sido sintetizada com suporte em um amido do ácido glutâmico encontrado na beterraba, degradável em ácido glutâmico e amônia quando aquecido em meio ácido (SENA, 2005; ALVES, 2004). A importância da glutamina para a sobrevivência e proliferação das células *in vitro* foi descrita pela primeira vez por Ehrensverd *et al.* em 1949, mas foi completamente descrito por Eagle *et al.* em 1956 (NEWSHOLME *et al*, 2003).

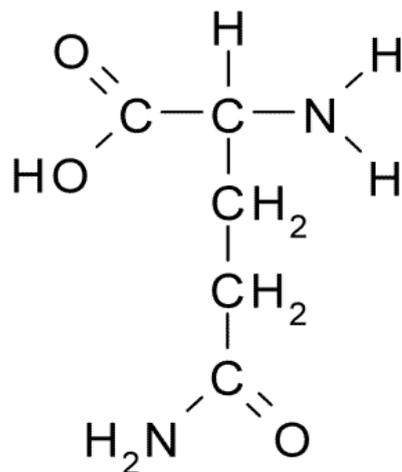
A fórmula empírica da glutamina é $C_5H_{10}O_3N_2$ e sua fórmula molecular é $C_5H_{10}O_3N_2$ (Figura 01 e 02). Seu peso molecular é de 147,1 e pode ser sintetizada virtualmente por todos os tecidos do organismo. Na sua composição química, encontram-se: carbono (41,09%), hidrogênio (6,9%), oxigênio (32,84%) e nitrogênio (17,17%) (SENA, 2005). A glutamina pertence ao grupo dos aminoácidos não essenciais, uma vez que o organismo pode sintetizá-lo em quantidade apropriada, de acordo com as necessidades normais do organismo. Sua biossíntese ocorre principalmente no fígado. A glutaminase, enzima que cataboliza a glutamina, e a glutamato-desidrogenase, enzima que participa de sua síntese, são localizadas na mitocôndria (SENA, 2005).

Estudos demonstram que a modificação permanente do material genético resultante da oxidação induz a carcinogênese (VALKO *et al*, 2006; MARNETT,

2000). Estudos demonstraram que GLN diminui o nível intracelular de glutathiona (forma reduzida) GSH nas células tumorais, tornando as células tumorais mais sensíveis à radioterapia e à quimioterapia, enquanto restaura os níveis baixos de GSH nos tecidos normais, melhorando as condições gerais do paciente, resultando em diminuição da morbidade e mortalidade associada ao câncer e seu tratamento (KLIMBERG *et al*, 1996). Ao contrario de outros aminoácidos, a concentração de Gln no plasma pode chegar a 1 mM, e estes níveis permitem fazer o transporte interórgãos de carbono e nitrogênio. Dados recentes exprimem que o metabolismo do Gln protege as células do estresse oxidativo e bioenergético, funciona como mediador da sinalização inter e intracelular e promove o controle de qualidade em macromoléculas e organelas (SHANWARE *et al*, 2011).

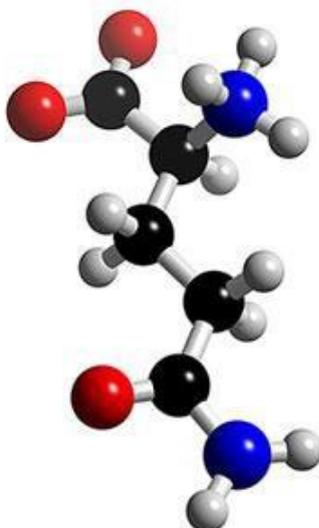
TNF-alfa induz uma mudança para a oxidação no *status* da glutathiona mitocondrial (mtGSH). Este fato é consistente com a hipótese de que a mtGSH tem a chave para o bloqueio das ROMs. Uma hipótese recente sugere que a manutenção de altos níveis circulantes de L-glutamina, para alguns tumores, afeta positivamente o valor terapêutico do TNF-alfa (CARRETERO *et al*, 2000).

Figura 1 - Estrutura da Glutamina



Fonte: www.explicatorium.com

Figura 2 - Modelo molecular da Glutamina



Fonte: www.explicatorium.com

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a concentração sérica de substâncias antioxidantes em pacientes portadoras de câncer da mama tratadas com glutamina com doses de 15,0 gr/dia.

2.2 Específico

Dosar a quantidade de substâncias antioxidantes (GSH e T-bars) no tecido tumoral e tecido mamário normal de pacientes submetidas a tratamento com L-Glutamina e de proteína do leite (grupo-controle).

3 MÉTODO

3.1 Casuística

O estudo foi um experimento-piloto, duplo-cego, randomizado, em um grupo de 20 pacientes portadoras de neoplasia maligna da mama, com tumores de linhagem epitelial, carcinomas ductais infiltrativos, classificados como estádios clínicos IIb ou qualquer III de acordo com o sistema TNM-UICC, independentemente de *status* de pré ou pós-menopausa, e que, de acordo com o protocolo de tratamento, é prevista a quimioterapia neoadjuvante.

Foi realizado o estadiamento clínico das pacientes do estudo, mediante o exame locorregional (palpação da mama para caracterização e dimensionamento do tumor e dos nódulos axilares), mastografia simples bilateral e/ou ultrassonografia mamária bilateral, RX do tórax e ultrassonografia abdominal, de conformidade com o sistema TNM-UICC.

Foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza – COMEPE, Protocolo Nº 01/2005, de 10 de fevereiro de 2005, e realizado de acordo com a declaração de Helsinki de 1975, revisada em 2008 (World Medical Association- www.wma.net/e/policy/b3.htm), e Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil (http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/reso_96htm).

Foram incluídas neste estudo somente as pacientes que apresentaram a doença com as características ora descritas, que, após informadas das finalidades do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídas do estudo as pacientes que apresentaram doença metastática à distância (M1) no ato do diagnóstico (estádio clínico IV); aquelas que pediram para abandonar e/ou não conseguiram seguir regularmente as etapas programadas para o estudo, como também as que expressaram progressão da doença em qualquer fase do tratamento.

As pacientes foram submetidas ao protocolo de tratamento para câncer da mama localmente avançado, que está em curso nos Departamentos de

Mastologia e Serviço de Oncologia Clínica da Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza (Oncocentro), e no CRIO, Centro Regional Integrado de Oncologia.

O protocolo constou de uma biópsia do tumor da mama para confirmação anatomopatológica que foi realizado com agulha (“*core biopsy*”) ou a céu aberto. Confirmado o diagnóstico de carcinoma de linhagem epitelial e o tumor sendo classificado como T2, com axila clinicamente positiva, T3 ou T4, independentemente do estadiamento da axila. Não havendo doença metastática a distância (M0), as pacientes foram submetidas a três ciclos de quimioterapia neo-adjuvante com o esquema FAC (5 fluoracil 500 mg/m² + doxorubicina 50 mg/m² + ciclofosfamida 500 mg/m² de superfície corporal), que foi administrado em “*bolus*” a cada 21 dias.

As pacientes foram avaliadas do ponto de vista hematológico e bioquímico, antes de cada ciclo, para verificação do hematócrito, hemoglobina, contagem de leucócitos e de plaquetas, albumina, PCR, Ca 15.3, CEA, bem como os níveis de ureia e creatinina. Após os três ciclos, foram submetidas ao tratamento cirúrgico-padrão para neoplasia da mama feminina localmente avançada, no caso a cirurgia de Patey, que constou de uma mastectomia total com linfadenectomia axilar nos níveis I, II e III. Após a cirurgia, as pacientes foram submetidas a radioterapia pós-operatória adjuvante, que incluiu a irradiação do plastrão mamário, cadeia da mama interna e da fossa supraclavicular. Concluída a radioterapia, realizaram mais três ciclos de quimioterapia adjuvante pós-operatória, nas mesmas dosagens da quimioterapia neoadjuvante.

3.2 Delineamento do estudo

Este é um estudo clínico, prospectivo, controlado e comparativo entre dois grupos de pacientes do sexo feminino, portadoras de câncer da mama, para as quais foram administradas por via oral a glutamina e a proteína do leite, e que teve por finalidade avaliar os efeitos da glutamina na redução do estresse oxidativo.

3.2.1 Distribuição e organização dos grupos

As pacientes foram distribuídas em dois grupos de dez pacientes cada qual, randomizados, duplo-cego, sendo designado como G1 o grupo que recebeu a substância A, e de G2 o que recebeu a substância B. As substâncias foram administradas por via oral em dose única diária, sendo a L-glutamina 15 gr/dia ou a proteína do leite 15 gr/dia, de forma contínua durante todo o curso do tratamento. Tais substâncias são isoproteicas e isocalóricas, portanto com o mesmo valor nutricional mencionadas substâncias foram preparadas por um engenheiro de alimentos da **NUTRIMED**, sendo ele a única pessoa a conhecer o conteúdo das substâncias distribuídas aos pacientes dos grupos G1 e G2. As substâncias foram acondicionadas em sachês de papel alumínio, contendo cada 15 gr da substância que foi flavolizada com sabor cítrico, em forma de pó, tendo como identificação apenas substância “A” ou “B”, e que foi tomada diariamente diluída em 150 ml de água potável, homogeneizada em liquidificador. As pacientes que receberam a substância “A” foram as do grupo G1 e as que receberam a substância “B” foram as do grupo G2. Antes de cada um dos três ciclos de quimioterapia e da cirurgia, cada paciente foi submetida a análise hematológica e bioquímica do sangue para dosagem da albumina, proteína C reativa (PCR), antígeno carcinoembriogênico (CEA) e Ca 15.3. Foram colhidas três amostras de sangue periférico na primeira fase do tratamento, no primeiro dia de cada um dos três ciclos de quimioterapia, antes do início da medicação. No ato cirúrgico foi colhido também tecido tumoral e tecido mamário normal para análise tecidual de enzimas antioxidativas, nos casos em que houve resposta completa (desaparecimento total do tumor durante a quimioterapia neoadjuvantes), foi colhida amostra do leito do tumor. As pacientes foram operadas pelo grupo de cirurgiões que compõem o Departamento de Mastologia da Santa Casa de Fortaleza. A cirurgia realizada foi a mastectomia radical do tipo Patey (que incluiu a retirada de toda a glândula mamária com a pele que a recobre incluindo o complexo areolomamilar em monobloco com o músculo pequeno peitoral e os três níveis de gânglios linfáticos da axila). Após a realização do ato cirúrgico, cada paciente submeteu-se a radioterapia adjuvante pós-operatória, incluindo o plastrão mamário, cadeia de linfáticos da mamária interna e fossa supraclavicular. Complementaram o tratamento com outros três ciclos de quimioterapia, e as

pacientes com tumores, que expressaram positividade para receptor de estrógeno, foram medicadas, também, com tamoxifeno por cinco anos.

3.2.2 Coleta e conservação das amostras

Cada paciente foi submetida à coleta de quatro amostras de sangue da seguinte forma: 1^a coleta no início da quimioterapia (1^o ciclo); 2^a amostra no dia do 2^o ciclo de quimioterapia; 3^a amostra no dia do 3^o ciclo de quimioterapia; 4^a amostra no dia do ato cirúrgico, na sala de cirurgia. As amostras foram centrifugadas e preservadas a -70° C. Foi também realizada a coleta tecidual, tendo sido colhido $1,0\text{ cm}^3$ de tecido tumoral ou do leito tumoral quando houve resposta completa ao tratamento quimioterápico. A segunda amostra tecidual foi colhida de área do parênquima mamário normal, sendo estes tecidos preservados igualmente a -70° C para os ensaios de dosagem de GSH e TBARS.

3.2.3 Substâncias administradas

A L-Glutamina (L-Gln) foi produzida pela Ajinomoto do Brasil. As outras substâncias foram adquiridas de fontes comerciais, porém com qualidade comprovada.

Ao término do estudo, foi revelado pelo engenheiro de alimentos que, no sachê identificado como A continha a substância L-glutamina, e no sachê identificado como B continha a substância proteína do leite.

3.3 Análise bioquímica

Na análise das concentrações de GSH, foi usado o método de Sedlak e Lindsay, de 1968. Para a análise das concentrações de TBARS, empregou-se o método de Buege e Aust de 1978.

3.4 Análise estatística

A análise entre o grupo-controle (G-2) e o grupo da glutamina (G-1) foi feita usando Mann-Whitney U test. ANOVA (Friedman test) seguido do Dunn's Multiple Comparison Test, aplicado para comparar todas as situações. As dosagens de GSH e TBARS nas amostras de tecidos das mamas foram realizadas com a comparação pelo método de Mann-Whitney U test. Em todos os casos, o nível de significância estabelecido foi 5%. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4 RESULTADOS

A idade média de todas as pacientes do estudo foi de 51,7 anos (variando de 32,9 a 75,4 anos). A idade média das pacientes de Grupo A (G1) foi de 51,9 anos (variando de 32,11 a 75,4 anos), e no Grupo B (G2) foi de 51,5 anos (variando de 32,9 a 69,1 anos).

Quanto à procedência das pacientes 17 (85%) são de Fortaleza, e três de outros municípios (15%) do Estado do Ceará. No Grupo A (G1) nove pacientes (90%) são procedentes de Fortaleza e (10%) de outro município cearense, e no Grupo B (G2) oito pacientes (80%) são de Fortaleza e duas (20%) de outros lugares do Ceará.

Com relação à mama acometida, 11 pacientes (55%) tinham o tumor na mama esquerda e nove (45%) tinham tumor na mama direita. No Grupo A (G1), a localização do tumor em seis pacientes foi 60% na mama esquerda contra quatro (40%) na mama direita; e no Grupo B (G2), cinco pacientes (50%) na mama direita e cinco pacientes (50%) na mama esquerda.

Em relação ao *status* linfonodal, 18 pacientes (90%) tinham axila clinicamente positiva e duas pacientes (10%) tinham axila clinicamente negativa. Os tumores foram classificados como T2 em quatro pacientes (20%), T3 em cinco pacientes (25%), T4a em uma paciente (5%), T4b em oito pacientes (40%) e T4d em duas pacientes (10%). A distribuição em cada grupo foi: no Grupo A (G1), T2 em duas pacientes (20%), T3 em duas pacientes (20%), T4b em quatro pacientes (40%), e T4d em duas pacientes (20%); no Grupo B (G2) tinha como T2 em três pacientes (30%), T3 em duas pacientes (20%), T4a em uma paciente (10%) e T4b em quatro pacientes (40%).

Os linfonodos axilares foram estadiados como N0 em duas pacientes (10%), como N1 em 13 pacientes (65%), como N2a em quatro pacientes (20%), e como N2b em uma paciente (5%). No Grupo A (G1) oito (80%) pacientes tinham linfonodos axilares estadiados como N1, e duas pacientes (20%) como N2a. No Grupo B (G2) duas pacientes (20%) como N0, cinco pacientes (50%) como N1, duas (20%) pacientes como N2a, e uma paciente (10%) como N2b. Todas as pacientes não tinham doença a distância, portanto estadiadas como M0.

Em relação ao *status* hormonal, as paciente foram agrupadas em pré-menopausa, menopausa e pós-menopausa. Na pré-menopausa, havia dez pacientes (50%), sendo seis (60%) no Grupo A (G1) e quatro (40%) no Grupo B (G2). Na menopausa havia cinco pacientes (25%), sendo duas (20%) no Grupo A (G1), e três (30%) no Grupo B (G2). Na pós-menopausa havia cinco pacientes (25%), sendo duas (20%) no Grupo A (G1) e três (30%) no Grupo B (G2).

O estadiamento clínico realizado de acordo com a UICC, pelo sistema TNM, foi: EC IIb cinco pacientes (25%), tendo duas pacientes no Grupo A (G1) e três no Grupo B (G2); ECIIIa quatro pacientes (20%), tendo duas pacientes em cada um dos grupos, e ECIIIb 11 pacientes (55%), tendo seis pacientes no Grupo A (G1) e cinco pacientes no Grupo B (G2). A realização da coleta de tecido para o diagnóstico anátomo patológico foi realizada de duas maneiras: biopsia incisional a céu aberto, ou pela *core biopsy*, que diferentemente da PAAF retira fragmentos do tecido, permitindo inclusive a realização de imunohistoquímica para caracterizar receptores hormonais. A biopsia a céu aberto foi realizada em cinco pacientes (25%), sendo três no Grupo A (G1) e duas no Grupo B (G2). A *core biopsy* foi realizada em 15 pacientes (75%), sendo sete no Grupo A (G1) e oito no Grupo B (G2).

O tipo histológico de todas as 20 pacientes foi o carcinoma ductal infiltrativo. O grau do tumor (GT) foi 1 em duas pacientes (20%), sendo um de cada Grupo. O grau do tumor foi 2 em 13 pacientes (65%), sendo sete no Grupo A (G1) e seis no Grupo B (G2), grau 3 em cinco pacientes (15%), sendo duas no Grupo A (G1) e três no Grupo B (G2). O grau nuclear (GN) foi I em apenas uma paciente do Grupo A (5%). O GN foi II em 16 pacientes (80%), sendo oito no grupo A e oito no Grupo B. O GN foi III em três pacientes (15%).

Com relação à dosagem do Ca 15.3 pré-tratamento, no grupo A (G1), os valores variaram de 6,70 U/ml até 1.142 U/ml, tendo apenas uma paciente (10%) com nível acima do valor de referência, no caso, a paciente que apresentava valor de 1.142 U/ml. No grupo B (G2), os valores iniciais de Ca 15.3 variaram de 9,98 até 145,10 U/ml, tendo três pacientes (30%) com níveis acima dos valores de referência. Ao final do terceiro ciclo de quimioterapia, todas as pacientes do grupo A (G1) estavam com índices de Ca 15.3 dentro da faixa de normalidade; ao contrário, no grupo B (G2), uma paciente permaneceu com o valor do Ca 15.3 elevado, no

entanto a diferença não foi estatisticamente significativa.

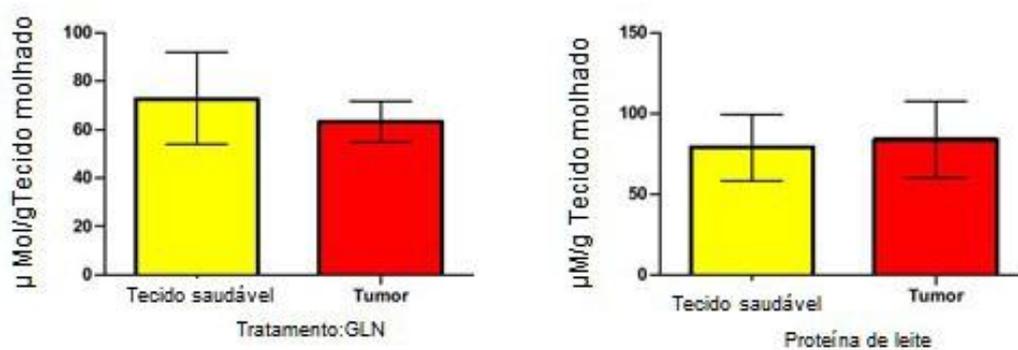
A dosagem pré-tratamento do CEA, no grupo A (G1), variou de 0,59 ng/ml até 10,5 ng/ml. Nesse grupo, havia duas pacientes (20%) com níveis acima dos valores de referência. No grupo B (G2), a dosagem variou de 1,39ng/ml até 12,26 ng/ml, com apenas uma paciente (10%) com nível acima do valor de referência. A análise comparativa entre os dois grupos de estudo demonstrou que, ao final do 3º ciclo de quimioterapia, todas as pacientes demonstraram redução significativa dos níveis de CEA, ficando todos abaixo dos valores de referência, não existindo distinção entre os dois grupos. A redução decorreu da resposta à quimioterapia.

No que diz respeito à avaliação hematológica, antes de cada ciclo de quimioterapia, no caso, as três colheitas, foram feitas análises com relação ao impacto nos valores do hematócrito, contagem de leucócitos e contagem de plaquetas. Não foi observado nenhum impacto positivo ou negativo, com relação aos três parâmetros avaliados, quando se comparados os dois grupos.

A análise dos valores da PCR e da albumina não foi significativa em nenhum dos grupos isoladamente e também não denotaram discrepância quando cotejados os dois grupos de estudo.

Os valores de TBARS e GSH não foram diferentes nos tecidos mamários normais e no tecido tumoral, quando comparados o grupo-controle (G2) com o grupo de pacientes tratados com glutamina (G1) (Gráficos 1-2).

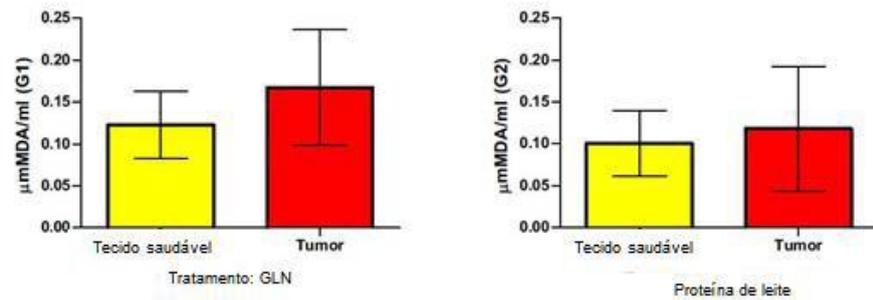
Gráfico 1 – Gutationa reduzida (GSH), as concentrações de GSH (micromoles por grama de tecido húmido) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados.



Fonte: Elaboração própria.

As barras representam a média \pm SD de controle (tecido saudável, as barras amarelas) e do tecido tumoral (barras vermelhas). Níveis de GSH não foram diferentes por Mann Whitney.

Gráfico 2 – Tiobarbitúrico concentrações de acidoreativas (micromoles de malondialdeído por grama de tecido úmido) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados

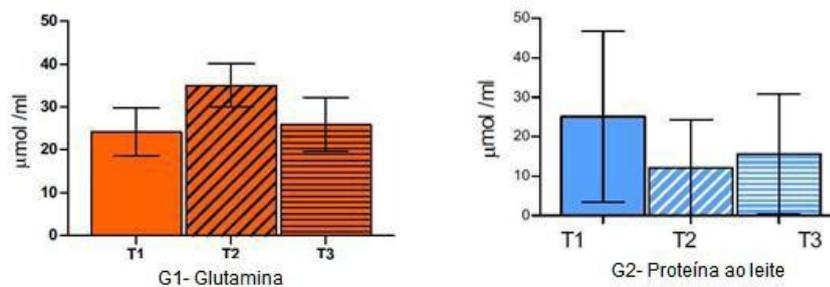


Fonte: Elaboração própria.

As barras representam a média \pm SD de controle (tecido saudável, as barras amarelas) e do tecido tumoral (barras vermelhas). Níveis de TBARS não foram diferentes por Mann Whitney.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos níveis sanguíneos de TBARS e GSH, comparando o grupo-controle (G2) com o grupo de pacientes tratados com glutamina (Gráficos 3 e 5).

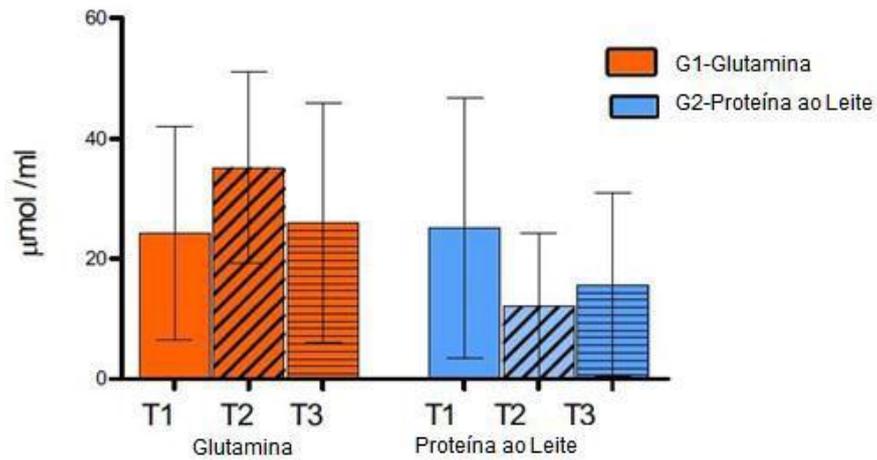
Gráfico 3 – A glutationa reduzida (GSH), as concentrações de GSH (micromoles por ml de plasma) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados



Fonte: Elaboração própria.

Barras representam a média \pm DP de controle (barras azuis) e GLN (barras de laranja) grupos em T1, T2 e T3 time-pontos. Níveis de GSH não foram diferentes nos grupos por ANOVA (Friedman / Dunn teste).

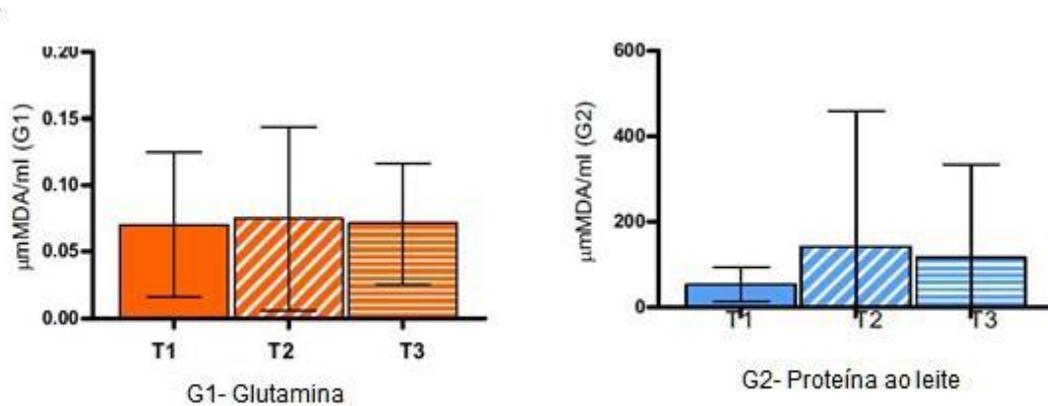
Gráfico 4 – Glutathiona reduzida (GSH), as concentrações de GSH (micromoles por ml de plasma) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados



Fonte: Elaboração própria.

Barras representam a média \pm DP de controle (barras azuis) e GLN (barras de laranja) grupos em T1, T2 e T3 time-pontos. Níveis de GSH não eram diferentes G1 *versus* comparando grupos G2 por ANOVA (Friedman / Dunn teste).

Gráfico 5 – Tiobarbitúrico concentrações de substâncias acidoreactivas (micromoles de malondialdeído por ml de plasma) em GLN (G1) e as proteínas do leite (G2) pacientes tratados

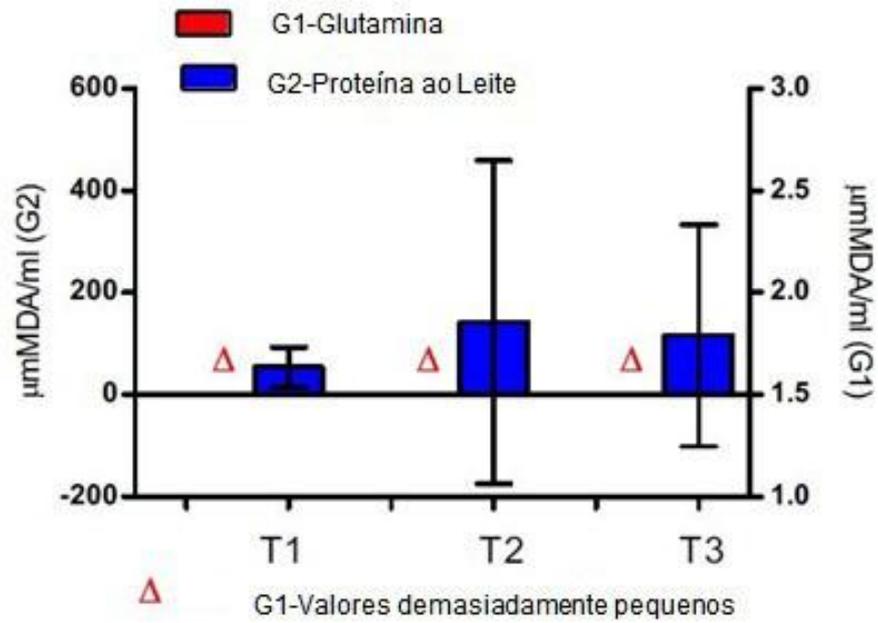


Fonte: Elaboração própria.

As barras representam a média \pm SD de controle (azul bares) e GLN (bares laranja) grupos em T1, T2 e T3 time-pontos. Níveis de TBARS não foram diferentes nos grupos por ANOVA (Friedman / Dunn teste).

Também não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de TBARS e GSH comparando-se momentos diferentes dentro do mesmo grupo (Gráficos 4 e 6).

Gráfico 6 – Tiobarbitúrico concentrações de acidoreactivas (micromoles de malondialdeído por ml de plasma) em GLN (G1) e proteína do leite (G2), tratado pacientes



Fonte: Elaboração própria.

As barras representam a média \pm SD de controle (barras azuis) e GLN (barras de laranja) grupos em T1, T2 e T3 time- pontos. Níveis de TBARS não foram G1 comparando diferente *versus* grupos G2 por O teste ANOVA (Friedman / Dunn teste).

5 DISCUSSÃO

O câncer da mama é a principal causa de morte de mulheres em países industrializados (PARKIN, 2005). Diversas linhas de evidências sugerem fortemente o envolvimento do estresse oxidativo celular nos processos de carcinogênese (DEMOPOULUS, 1980; PERCHELLET, 1989). Estudos realizados em humanos e animais de laboratório mostram que a peroxidação lipídica (PL) tem um papel muito importante na iniciação e promoção da carcinogênese. A análise dos sistemas de defesa demonstra a importância da PL no decurso da carcinogênese (CAPEL; THORNLEY, 1983). Foi demonstrado um aumento dos produtos da PL em tecidos do câncer da mama (HIETANEN *et al.*, 1986).

Estudos mostram níveis anormais de atividade antioxidante em células tumorais, quando comparadas com as células normais (Sun Y, Free radicals). Atividade enzimática não foi avaliada neste estudo. Os níveis de GSH e TBARS, entretanto, dosados em amostras de tecido mamário normal e tecido tumoral não foram diferentes (Gráficos 1 - 2). Publicações mostram a implicação dos radicais livres na transformação celular e no potencial crescimento descontrolado das células tumorais (HIETANEN *et al.*, 1986; KANG, 2002; TAS *et al.*, 2005). Dentre os efeitos bem documentados, os radicais livres são conhecidos por induzir dano no DNA, promovendo a instabilidade genômica, e, com isso, favorecendo o aparecimento de mutações que contribuem para a transformação celular e sobrevivência das células tumorais (HIETANEN *et al.*, 1986; KANG, 2002; OLINSKI *et al.*, 2003). Os EROs modificam os sinais de transdução que contribuem para a transformação, crescimento celular e progressão do câncer (OKOH *et al.*, 2011). A permanente modificação no material genético decorrente do dano oxidativo é um dos principais mecanismos envolvidos na mutagênese que leva à carcinogênese. A estimulação ao dano do DNA pode parar ou induzir a transcrição, transdução das vias de sinalização, replicação de erros e instabilidade genômica, tudo o que está associado a carcinogênese (KANG, 2002; MARNETT, 2000; COOKE *et al.*, 2003).

A proteção promovida pela GLN contra os danos do estresse tem dois mecanismos conhecidos. Primeiro, a GLN libera um íon de carbono e outro de nitrogênio para a glutathione (GSH), que é o principal antioxidante intracelular. Segundo, o metabolismo da GLN proporciona uma fonte de equivalentes redutores

(NADPH), necessários para manter a GSH em estado reduzido. Estudos demonstram que os cânceres da mama mostram altos níveis de estresse oxidativo, como os verificados pela detecção do DNA oxidativo em tecido do câncer da mama (NOWSHEEN *et al.*, 2009) ou o aumento significativo dos marcadores de estresse oxidativo no plasma de pacientes portadoras de câncer da mama (SENER *et al.*, 2007). Além do mais, a quimioterapia aumenta o estresse oxidativo (KASAPOVIC *et al.*, 2010). O esquema de quimioterapia FAC e a radioterapia promovem mais estresse e potencializam o estresse oxidativo crônico ligado ao câncer da mama (KASAPOVIC *et al.*, 2010).

Considerando que a ação protetora da GLN em animais experimentais com câncer é demonstrada como efetiva (KLIMBERG *et al.*, 1996), deve-se esperar efeito semelhante em humanos. Questiona-se por que os níveis de GSH não aumentaram neste estudo. A resposta pode estar relacionada com a dose de GLN empregada. Neste estudo, os pacientes do grupo A (G1) receberam a dose diária de 15g de GLN, dissolvida em 150 ml de água, independentemente do peso. Desta forma, uma paciente com 60 kg recebeu uma dose diária de 0,25g/kg/dia. Para se obter um efeito protetor na isquemia e na reperfusão, altas doses foram usadas por outros pesquisadores. Alves (2004) empregou a dose de 0,50mg/kg, intravenosa, em dose única, durante três horas. Doses maiores tem sido usadas em estudos experimentais. Todorova *et al.* (2009) usou 1,0g/kg/dia para obter efeito protetor em modelo com ratos.

A segurança do uso da GLN em seres humanos é bem estudada. Garlick (2011) relatou que nenhum efeito adverso foi demonstrado quando se usou a GLN na dosagem de 0,57g/kg/dia, durante quatro horas por 30 dias, em vários ensaios clínicos. O mesmo autor concluiu que nenhum efeito adverso ao uso da glutamina foi demonstrado quando se usou a dose de 50-60g/dia. Esta avaliação, no entanto, feita em estudo de curto prazo, em pacientes hospitalizados, talvez não seja apropriada para realizar suplementação crônica em pacientes portadores de câncer.

6 CONCLUSÃO

O uso da glutamina (GLN) por via oral na dosagem de 15 gr/dia durante 90 dias não ofereceu proteção local ou sistêmica contra o estresse oxidativo em mulheres portadoras de câncer da mama, que foram submetidas ao regime FAC de quimioterapia neoadjuvante.

REFERÊNCIAS

- ALVES, W. F.: **Efeitos da l-alanil-glutamina sobre as concentrações sanguíneas e teciduais *in vivo* de metabólitos e enzimas em pacientes com isquemia dos membros inferiores submetidos a revascularização distal.** Fortaleza. 2004, 126 f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2004.
- AZEVEDO, G.; MENDONÇA, S. Cancer na população feminina brasileira. **Rev Saude Publica**, v. 27, n.1, p.68-75, feb. 1993.
- CAPEL, I. D.; THORNLEY, A.C. Lipid peroxide levels, glutathione status and glutathione peroxidase activity in liver and tumors of mice bearing the Lewis lung carcinoma, **Cancer Biochem. Biophys.**, v. 6, p.167-72, 1983.
- CARRETERO, J.; OBRADOR, E.; POLICER, J.A.; PASCUAL, A.; ESTRELA. J.M. Mitochondrial glutathione depletion by glutamine in growing tumor cels. **Free Radic Biol Med.**, v.29, n.9, p.913-23, nov. 2000
- CHUANG, Y.Y.; CHEN, Y.; GADISETTI; CHANDRAMOULI, V.R.; COOK, J.A.; COFFIN, D.; TSAI, M.H.; DEGRAFF, W.; YAN, H.; ZHAO, S.; RUSSO, A.; LIU, E.T.; MITCHELL, J.B. Gene expression after treatment with hydrogen peroxide, menadione, or t-butyl hydroperoxide in breast cancer cells. **Cancer Res.**, v.62, n.21, p.6246-54, nov.2002.
- COOKE, M.S.; EVANS, M.D.; DIZDAROGLU, M.; LUNEC, J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. **FASEB J.**, v.17, n.10, p.1195-214, 2003.
- DEMOPOULOS, H.B.; PIETRONIGRO, D.D.; FLAMM, E.S.; SELIGMAN, M.L. The possible role of free radical reactions in carcinogenesis. **J Environ Pathol Toxicol.**, v. 3, n.4 Spec, p.273-303, 1980.
- DJURIC, Z.; HEILBRUN, L.K.; LABABIDI, S.; BERZINKAS, E.; SIMON, M.S.; KOSIR, M.A. Levels of 5-hydroxymethyl-2'-deoxyuridine in DNA from blood of women scheduled for breast biopsy. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v.10, n.2, p.147-9, feb. 2001.
- DRÖGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev.**, v.82, n.1, p.47-97, 2002.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil.**, v. 43, n.1, p.61-8, 1997.
- GARLICK, P.J. Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. **J NUTR.**, v.31, n.9 Suppl., p.2556S-61S, 2001.
- GIBANANANDA, RAY.; SANJAY, BATRA.; NOOTAN, KUMAR; SHUKLA; SURYANARAYAN, DEO.; VINOD, RAINA.; SEETHARAMAN, ASHOK.; SYED, AKHTAR; HUSAIN. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 59, p.163-170, 2000.

GUIMARÃES, S.B.: **Efeitos do pré-tratamento com dimetil sulfóxido, ácido lipóico ou ternatina sobre o estresse oxidativo em ratos jovens submetidos à torção do cordão espermático.** Fortaleza 2005, 125fl., Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2005.

HIETANEN, E.; PUNNONEN, K.; PUNNONEN, R.; AUVINEN, O. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids and lipid peroxidation in human breast cancer and lipoma tissue. **Carcinogenesis**, v. 7, n.12, p.1965-9, 1986.

HILEMAN, E.O.; LIU, J.; ALBITAR, M.; KEATING, M.J.; HUANG, P. Intrinsic oxidative stress in cancer cells: a biochemical basis for therapeutic selectivity. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 53, n.3, p.209-19, Mar. 2004.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e de Mama - Viva Mulher.** Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=140>.

KASAPOVIC, J.; PEJIC, S.; STOJILJKOVIC, V.; TODOROVIC, A.; RADOŠEVIĆ-JELIC, L.; SAICIC, Z.S.; PAJOVIC, S.B. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages after chemotherapy with 5- fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide. **Clin Biochem.**, v.43, n.16- 17, p.1287-93, 2010.

KANG, D.H. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. **AACN Clin Issues**, v. 13, n.4, p.540-9, 2002.

KLIMBERG, V.S.; MCCLELLAN, J.L.; CLAUDE, H.; ORGAN, J.R. Honorary Lectureship. Glutamine, cancer, and its therapy. **Am J Surg.**, v.172, n.5, p.418-24, 1996.

KUMARAGURUPARAN, R.; SUBAPRIYA, R.; VISWANATHAN, P.; NAGINI, S. Tissue lipid peroxidation and antioxidant status in patients with adenocarcinoma of the breast. **Clin Chim Acta.**, v. 325, n.1-2, p.165-70, nov.2002.

MARNETT, L.J. Oxyradicals and DNA damage. **Carcinogenesis.**, v. 21, n.3, p.361-70, 2000.

MANJU, V.; BALASUBRAMANIAN, V.; NALINI, N. Oxidative stress and tumor markers in cervical cancer patients. **J Biochem Mol Biol Biophys**, v. 6, n.6, p.387-90, dec. 2002.

MARNETT, L.J. Oxyradicals and DNA damage. **Carcinogenesis**, v.21, n.3, p.361-70, 2000.

NAVARRO, J.; OBRADOR, E.; PELLICER, J.A.; ASENI M; VIÑA, J; ESTRELA, J.M. BLOOD GLUTATHIONE as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. **Free Radic Biol Med**, v. 22, n.7, p.1203-9, 1997.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M.M.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T.C.; DOI, S.Q.; BAZOTTE, R.B.; CURI, R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Braz J Med Biol Res.**, v.36, n.2, p.153-63, feb.2003.

NOWSHEEN, S.; WUKOVICH, R.L.; AZIZ, K.; KALOGERINIS, P.T.; RICHARDSON, C.C.; PANAYIOTIDIS, M.I.; BONNER, W.M.; SEDELNIKOVA, O.A.; GEORGAKILAS, A.G. Accumulation of oxidatively induced clustered DNA lesions in human tumor tissues. **Mutat Res.**, v.674, n.1-2, p.131-6, 2009.

OKOH, V.; DEORAJ, A.; ROY, D. Estrogen-induced reactive oxygen species-mediated signalings contribute to breast cancer. **Biochim Biophys Acta**, v. 1815, n.1, p.115-33, 2011.

OLINSKI, R.; GACKOWSKI, D.; ROZALSKI, R.; FOKSINSKI M, BIALKOWSKI K. Oxidative DNA damage in cancer patients: a cause or a consequence of the disease development?. **Mutat Res.**, v. 531, n.1-2, p.177-90, 2003.

PARKIN, D.M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. Global cancer statistics, 2002. CA. **Cancer J Clin.**, v. 55, n.2, p.74–108, 2005.

PENG, X.; YOU, Z.Y.; HUANG, X.K.; ZHANG, S.Q.; HE, G.Z.; XIE, W.G.; QUAN, Z.F. Effects of glutamine granules on protein metabolism in trauma patients. **Zhonghua Wai Ke Za Zhi**, v.42, n.7, p.406-9, apr.2004.

PERCHELLET, J.P.; PERCHELLET, E.M. Antioxidants and multistage carcinogenesis in mouse skin. **Free Radic Biol Med.**, v. 7, n.4, p.377-408, 1989.

POLAT, M.F.; TAYSI, S.; GUL, M.; CIKMAN, O.; YILMAZ, I.; BAKAN, E.; ERDOGAN, F. Oxidant/antioxidant status in blood of patients with malignant breast tumour and benign disease. **Cell Biochem Funct.**, v. 20, n.4, p.327-31, dec. 2002.

PORTAKAL, O.; OZKAYA, O.; ERDEN, INAL M.; BOZAN, B.; KOSAN, M.; SAYEK, I. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. **Clin Biochem.**, v.33, n.4, p.279-84, jun. 2000.

RAY, G.; HUSAIN, S.A. Role of lipids, lipoproteins and vitamins in women with breast cancer. **Clin Biochem.**, v. 34, n.1, p.71-6, feb.2001.

SCHIFF, R.; REDDY, P.; AHOTUPA, M.; CORONADO-HEINSOHN, E.; GRIM, M.; HILSENBECK, S.G.; LAWRENCE, R.; DENEKE, S.; HERRERA, R; CHAMNESS GC; FUQUA SA; BROWN PH; OSBORNE CK: Oxidative stress an AP-1 activity in tamoxifen-resistant breast tumors in vivo. **J Natl Cancer Inst.**, v. 92, n.23, p.1926-34, dec. 2000.

SENER, D.E.; GÖNENÇ, A., AKINCI, M.; TORUN, M. Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer. **Cell Biochem Funct.**, v.25, n.4, p. 377-82, 2007.

SHANWARE, N.P.; MULLEN, A.R.; DEBERARDINIS, R.J.; ABRAHAM, R.T. Glutamine: pleiotropic roles in tumor growth and stress resistance. **J Mol Med.**, v. 89, n.3, p.229- 36, 2011.

SENA, J.I.N.: **L-alanil-glutamina, ômega-6 e ômega-3 na resposta metabólica e no estresse oxidativo em ratos submetidos ao trauma e a sepse**. Fortaleza 2005, 166f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2005.

STARCEVIC, S.L.; DIOTTE, N.M.; ZUKOWSKI, K.L.; CAMERON MJ; NOVAK RF: Oxidative DNA damage and repair in a cell lineage model of human proliferative breast disease (PBD). **Toxicol Sci.**, v. 75, n.1, p.74-81, sep.2003.

SUN, Y.; FREE, RADICALS. antioxidant enzymes, and carcinogenesis. **Free Radic Biol Med.**, v. 8, n.6, p.583-99, 1990.

TAMINI, R.M.; HANKINSON, S.E.; SPIEGELMAN, D.; COLDITZ, G.A.; HUNTER, D.J.; MANGANESE. Superoxide dismutase polymorphism, plasma antioxidants, cigarette smoking, and risk of breast cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 13, n.6, p.989-96, jun.2004.

TAS, F.; HANSEL, H.; BELCE, A.; ILVAN, S.; ARGON, A.; CAMLICA, H.; TOPUZ, E. Oxidative stress in breast cancer. **Med Oncol.**,v. 22, n.1, p.11-5, 2005.

TODOROVA, V.; VANDERPOOL, D.; BLOSSOM, S.; NWOKEDI, E.; HENNINGS, L.; MRAK,R.;KLIMBERGN,S.Oralglutamineprotects against cyclophosphamideinduced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione. **Nutrition**, v.25, p.812–7, 2009.

TOMINAGA, S.; KUROISHI, T. Epidemiology of breast cancer in Japan. **Cancer Lett**;; v. 90, v.1, p.75-9, mar. 1995.

VAN `T VEER, P.; STRAIN, J.J.; FERNADEZ-CREHUET, J.; MARTIN, B.C.; THAMM, M.; KARDINAAL, A.F.; KOHLMEIER, L.; HUTTUNEN, J.K.; MARTIN-MORENO, J.M.; KOK, F.J. Tissue antioxidants and postmenopausal breast cancer: the European Community Multicentre Study on Antioxidants, Myocardial infarction, and Cancer of the Breast (EURAMIC). **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, p.441-7, jun.1996.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem Biol Interact.**, v. 160, n.1, p.1-40, 2006.

APÊNDICES

Tabela 1 – Distribuição das pacientes de acordo com o estadiamento do T e do N, idade e distribuição das substancias A e B

Pte	n.ordem	idade	T	N	Ran	1aC	2aC	3aC	4aC	Tec	Res
MLSL	1 Crio	49a9m	T4b	N2a	A	7.12	28.12	18.01			V
JDGS	2 Crio	32a11m	T2	N1	A	7.11	28.11	26.12			L
MFSB	3 Crio	48a3m	T4b	N1	A	9.11	30.11	21.12			L
FRM	4 SC	49a10m	T3	N1	B	23.12	17.01	07.02	sim	sim	A
ABS	5 SC	69a1m	T3	N1	B	22.12	11.01	01.02	sim	sim	A
AVFN	6 Crio	32a9m	T4b	N2	B	26.12	18.10	08.02	sim	sim	V
MSC	7 SC	75a4m	T4b	N1	A	19.01	09.02	02.03			L
MSML	8 SC	59a10m	T3	N1	A	30.01	21.02	14.03	sim	sim	A
RAA	9 SC	66a	T3	N0	B	26.01	16.02	09.03	sim	sim	V
MLF	10 Crio	53a10m	T4b	N0	B	31.01	21.02	14.03	sim	sim	L
RSM	11 Crio	48a	T4b	N2	B	01/02	22.02	15.03			A
RMDS	12 Crio	45a1m	T2	N1	B	03.02	06.03	27.03			L
FQB	13 SC	36a7m	T2	N1	A	19.04	09.05	30.06	sim	sim	A
ELB	14 SC	38a3m	T4a	N2b	B	16.05	08.06	29.06	sim	sim	A
ESS	15 Crio	49a5m	T4d	N1	A	22.03	12.04	03.05			V
LCS	16 SC	51a5m	T3	N1	A	01.09	29.09	26.10	sim	sim	V
MLLS	17 Crio	57a1m	T4b	N2a	A	21.06	12.07	02.08			L
MLN	18 Crio	67a6m	T4B	N1	B	31.05	29.06	24.07			V
DTSG	19 SC	43a7m	T2	N1	B	09.08	30.08	20.09	sim	sim	V
MBS	20 Crio	59a4m	T4d	N1	A	20.06	11.07	01.08	sim	sim	A

Tabela 2 – Estadiamento do tumor na mama TNM-UICC

T1 Tumor com 2 cm ou menos em sua maior dimensão.

T1mic Microinvasão de 0,1 cm ou menos em sua maior dimensão T1a Com mais de 0,1 cm, até 0,5 cm em sua maior dimensão T1b Com mais de 0,5 cm, até 1 cm em sua maior dimensão

T1c Com mais de 1 cm, porém não mais de 2 cm em sua maior dimensão

T2 Tumor com mais de 2 cm, porém não mais de 5 cm em sua maior dimensão

T3 Tumor com mais de 5 cm em sua maior dimensão

T4 Tumor de qualquer tamanho com extensão direta à parede torácica ou à pele, somente como descritos em T4a a T4d

T4a Extensão à parede torácica

T4b Edema (inclusive "pele de laranja" 'peau d'orange'), ou ulceração da pele da mama, ou nódulos cutâneos satélites confinados à mesma mama

T4c Ambos (T4a e T4b), acima

Notas: Microinvasão é a extensão de células neoplásicas além da membrana basal, alcançando os tecidos adjacentes, sem focos tumorais maiores do que 0,1 cm em sua maior dimensão. Quando há focos múltiplos de microinvasão, somente o tamanho do maior foco é utilizado para classificar a microinvasão. (Não usar a soma dos focos individuais) A presença de múltiplos focos de microinvasão deve ser anotada como se faz com os carcinomas invasores extensos múltiplos.

Nota: A parede torácica inclui costelas, músculos intercostais, músculo serrátil anterior, mas não inclui o músculo peitoral.

T4d Carcinoma inflamatório

Tabela 3 – Estadiamento do linfonodo axilar TNM-UICC

NX Os linfonodos regionais não podem ser avaliados (p.ex., por terem sido previamente removidos)

N0 Ausência de metástase em linfonodos regionais

N1 Metástase em linfonodo(s) axilar(es), homolateral(ais), móvel(eis)

N2 Metástase em linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is) fixo(s) ou metástase clinicamente aparente* em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is), na ausência de evidência clínica de metástase em linfonodo(s) axilar(es)

N2a Metástase em linfonodo(s) axilar(es) fixos uns aos outros ou a outras estruturas

N2b Metástase clinicamente aparente* em linfonodo(s) mamário(s) interno(s), na ausência de evidência clínica de metástase em linfonodo(s) axilar(es)

N3 Metástase em linfonodo(s) infraclavicular(es) homolateral(ais) com ou sem envolvimento de linfonodo(s) axilar(es); ou clinicamente aparente* em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is), na presença de evidência clínica de metástase em

Nota: O carcinoma inflamatório da mama é caracterizado por um endurecido difuso e intenso da pele da mama com bordas erisipelóides, geralmente sem massa tumoral subjacente. Se a biópsia de pele for negativa e não existir tumor primário localizado mensurável, o carcinoma inflamatório clínico (T4d) é classificado patologicamente como pTX. A retração da pele, do mamilo ou outras alterações cutâneas, exceto aquelas incluídas em T4b e T4d, podem ocorrer em T1, T2 ou T3, sem alterar a classificação.

Nota: *cl clinicamente aparente = detectado por exame clínico ou por estudos de imagem (excluindo linfocintigrafia) linfonodo(s) axilar(es); ou metástase em linfonodo(s) supraclavicular(es) homolateral(is) com ou sem envolvimento de linfonodo(s) axilar(es) ou mamário(s) interno(s)

N3a Metástase em linfonodo(s) infraclavicular(es)

N3b Metástase em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) e axilares

N3c

Metástase em linfonodo(s) supraclavicular(es)

Tabela 4 – Referente ao estadiamento dos tumores e status menstrual nos grupos A e B

GRUPO “A”

INICIAIS	IDADE	PROC.	MAMA	AXILA	T	N	M	Pré M	MEN	PósM	RAN
MLSL	49a9m	Fort	Dir	Posit	T4b	N2 a	0	Sim	-	-	1A
JDGS	32a11m	Fort	Esq	Posit	T3	N1	X	Sim	-	-	2A
MFSB	48a3m	Fort	Esq	Posit	T4b	N1	0	Sim	-	-	3A
MLLS	57a1m	Fort	Esq	Posit	T4b	N2 a	X	-	Sim	-	4A
MSC	75a4m	Fort	Esq	Posit	T4b	N1	0	-	-	Sim	10A
MSML	59a10m	Fort	Dir	Posit	T3	N1	0	-	-	Sim	11A
LCS	51a5m	Fort	Dir	Posit	T3	N1	0	Sim	-	-	16A
FQB	36a7m	Fort	Dir	Posit	T3	N1	0	Sim	-	-	17A
ESS	49a5m	Fort	Esq	Posit	T4d	N1	X	Sim	-	-	19A
MBS	59a4m	Caucaia	Esq	Posit	T4d	N1	X	-	Sim	-	20A

GRUPO "B"

INICIAIS	IDADE	PROC	MAMA	AXILA	T	N	M	PréM	MEN	PósM	RAN
MLN	67a6m	Jaguar	Esq	Posit	T4b	N1	0	-	-	Sim	5B
DTSG	43a7m	Fort	Esq	Posit	T3	N1	0	Sim	-	-	6B
FRM	49a10m	Fort	Dir	Posit	T3	N1	0	-	Sim	-	7B
ABS	69a1m	Parnaiba	Dir	Posit	T3	N1	0	-	-	Sim	8B
AVFN	32a9m	Fort	Esq	Posit	T4b	N2	0	Sim	-	-	9B
RAA	66a	Fort	Dir	Posit	T3	N0	0	-	-	Sim	12B
MLF	53a10m	Fort	Esq	Neg	T4b	N0	0	-	Sim	-	13B
RSM	48a	Fort	Dir	Posit	T4b	N2	0	Sim	-	-	14B
RMDS	45a1m	Fort	Dir	Posit	T3	N1	0	-	Sim	-	15B
ELB	38a3m	Fort	Esq	Posit	T4a	N2b	X	Sim	-	-	18B

Tabela 5 – Dosagens de Hematócrito, Leucócitos e Plaquetas nos grupos A e B.**GRUPO “A”**

INICIAIS	Ht1oC	Ht2oC	Ht3oC	Leu1oC	Leu2oC	Leuc3oC	PI1oC	PI2oC	PI3oC
MLSL	43,4	45,0	45,6	10.200	5.700	6.600	211.000	260.000	228.000
JDGS	32,2	31,9	28,2	5.500	4.500	3.600	325.000	352.000	320.000
MFSB	40,0	42,7	39,1	9.600	9.500	9.900	316.000	480.000	477.000
MLLS	46,4	44,7	42,1	7.500	4.000	5.300	288.000	376.000	402.000
MSC	42,4	42,0	42,7	9.100	6.340	10.500	501.000	307.000	426.000
MSML	42,0	39,7	34,1	6.000	3.900	6.200	341.000	480.000	460.000
LCS	34,9	32,2	34,9	6.120	5.170	4.010	250.000	406.000	397.000
FQB	38,4	36,7	38,1	6.700	4.600	3.400	286.000	345.000	374.000
ESS	38,0	34,6	35,9	9.880	11.200	11.300	518.000	780.000	836.000
MBS	39,5	36,4	37,0	5.300	5.900	3.600	372.000	434.000	300.000

GRUPO "B"

INICIAIS	Ht1oC	Ht2oC	Ht3oC	Leuc1oC	Leuc2Oc	Leuc3oC	PI1oC	PI2oC	PI3oC
MLN	40,0	40,0	39,0	11.100	17.800	5.500	299.000	232.000	268.000
DTSG	31,1	36,7	40,8	20.100	9.100	8.200	683.000	774.000	545.000
FRM	39,1	40,1	37,1	4.900	5.800	3.400	172.000	343.000	313.000
ABS	40,9	36,1	36,6	6.100	4.200	3.800	202.000	288.000	257.000
AVFN	38,2	40,0	34,4	5.700	4.100	6.700	180.000	346.000	297.000
RAA	40,5	39,0	42,7	7.100	8.000	3.900	271.000	280.000	317.000
MLF	36,8	33,9	34,2	4.400	6.400	3.700	270.000	497.000	289.000
RSM	41,0	38,0	39,6	7.900	6.500	5.800	302.000	430.000	520.000
RMDS	36,9	38,4	33,6	3.100	8.000	7.200	201.000	259.000	374.000
ELB	36,4	34,3	33,3	6.400	4.400	4.200	403.000	522.000	485.000

Tabela 6 – Dosagens de Ca 15.3, CEA e Albumina nos grupos A e B.**GRUPO “A”**

INICIAIS	CA 15.3 IC	CA 15.3 IIC	CA 15.3 IIIC	CEA IC	CEA IIC	CEA IIIC	ALB IC	ALB IIC	ALB IIIC
MLSL	22,74	22,74	19,13	6,23	6,23	4,39	4,05	4,05	4,34
JDGS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MFSB	21,94	20,4	-	10,59	11,90	-	4,60	4,52	-
MLLS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MSC	15,58	-	-	3,26	-	-	3,50	3,60	-
MSML	14,49	16,88	-	4,63	4,40	-	4,30	4,34	3,93
LCS	15,30	17,10	16,60	3,59	3,20	2,51	4,10	4,30	3,90
FQB	6,70	6,57	9,55	0,59	0,90	0,75	4,57	4,28	4,33
ESS	-	1.142	-	3,23	-	-	-	3,23	-
MBS	-	-	-	-	-	-	0	-	-

GRUPO “B”

INICIAIS	CA 15.3 IC	CA 15.3 IIC	CA 15.3 IIIC	CEA IC	CEA IIC	CEA IIIC	ALB IC	ALB IIC	ALB IIIC
MLN	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DTSG	79,55	59,26	31,82	4,71	2,89	1,17	3,40	3,88	4,34
FRM	11,50	12,55	13,20	1,40	1,72	1,09	4,39	3,77	4,24
ABS	9,98	9,63	9,63	1,69	1,50	1,37	4,43	4,26	4,29
AVFN	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RAA	15,30	16,10	23,00	2,10	2,10	2,90	4,50	4,50	3,90
MLF	-	45,79	-	-	12,26	-	-	4,39	-
RSM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RMDS	23,16	24,41	23,76	1,39	0,92	1,02	4,36	4,26	-
ELB	145,10	121,98	87,19	3,51	3,22	2,59	4,93	4,78	4,93

ANEXOS

ANEXO A

ESTADIAMENTO DOS TUMORES DA MAMA (SISTEMA TNM – UICC modificado)

FATOR T (tumor)

Tx Tumor primário não avaliado

T0 Sem evidência de tumor primário

T1s Carcinoma in situ: carcinoma intraductal, ou carcinoma lobular insitu, ou doença de Paget do mamilo sem tumor

T1 Tumor de 2,0 cm ou menos em sua maior dimensão T1a: menor do que 0,5 cm em sua maior dimensão

T1b: maior do que 0,5 cm e menor do que 1,0 cm em sua maior dimensão T1c: mais de 1,0 cm em menor do que 2,0 na sua maior dimensão

T2 Tumor com mais de 2,0 cm e menor do que 5,0 cm na sua maior dimensão T3 Tumor maior do que 5,0 cm na sua maior dimensão

T4 Tumor de qualquer tamanho com extensão direta à parede do torax e/ou pele

Nota: parede torácica inclui arcos costais, músculos intercostais e músculo serratio anterior, mas não o músculo peitoral.

T4a: extensão à parede torácica

T4b: edema (incluindo a pele – Peau d'Orange), ou ulceração de pele da mama, ou nódulos cutâneos satélites restritos à mesma mama

T4c: T4a e T4b associados

T4d: carcinoma inflamatório

FATOR N (linfonodos regionais)

- N0 sem metástases para os linfonodos regionais
- N1 metástases para linfonodos axilares homolaterais sem aderências
- N2 metástases para linfonodos axilares homolaterais aderentes a estruturas adjacentes ou coalescentes
- N3 metástases para linfonodos da cadeia da mama interna homolateral

FATOR M (metástase à distância)

- M0 sem metástases à distância
- M1 metástases a distância, incluindo para linfonodos supraclaviculares

ANEXO B



IRMANDADE BENEFICENTE DA SANTA CASA DA MISERICÓRDIA DE FORTALEZA

Comissão de Ética em Pesquisa – COMEPE

Of. Nº 01/11

Protocolo COMEPE nº 01/05

Depto/Serviço: Departamento de Cirurgia – Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Cirurgia, Departamentos de Mastologia e Oncologia Clínica – ONCOCENTRO do Serviço de Oncologia da Santa Casa de Fortaleza e Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIO.

Pesquisador responsável: **José Wilson Mourão de Farias**

Título do projeto: "AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES EM PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DA MAMA TRATADAS COM DOSES NUTRACÊUTICAS DE GLUTAMINA: ENSAIO CLÍNICO DUPLO CEGO RANDOMIZADO"

Levamos ao conhecimento de V.S^a que a Comissão de Ética em Pesquisa da Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996 e Resolução nº 251 de 07 de agosto de 1997, respectivamente, aprovou o projeto supracitado na reunião, do dia 10 de fevereiro de 2005.

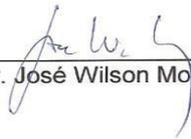
Dr. Marcelo Esmeraldo Hojanda
Presidente da Comissão de Ética Médica

Dr. Marcelo Esmeraldo
CIRURGIÃO ONCOLÓGICO
CRM 6352 CPF 80251584

ANEXO C**DECLARAÇÃO**

Declaro, fins de prova junto ao Comitê de Ética em Humanos do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, que responsabilizarei-me por todos os custos financeiros durante a execução do projeto intitulado: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ANTIOXIDANTE DA GLUTAMINA EM PACIENTES PORTADORES DE CANCER DA MAMA: ENSAIO CLINICA DUPLO CEGO RANDOMIZADO.

Fortaleza, 03 de fevereiro de 2005



Dr. José Wilson Mourão

ANEXO D

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ANTIOXIDANTE DA GLUTAMINA EM PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DA MAMA: ENSAIO CLÍNICO DUPLO CEGO RANDOMIZADO.

CONFIDENCIAL

CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PARTICIPAÇÃO DO PACIENTE NESTE ESTUDO

Você está sendo convidada a participar de um projeto de pesquisa. Neste mesmo documento, encontra-se uma explicação, em linguagem simples e resumida, daquilo que se pretende descobrir com sua colaboração e o que acontecerá caso você decida tomar parte neste projeto, incluindo qualquer risco potencial ou desconforto.

O câncer é uma doença muito agressiva, que se não for tratada corretamente, invariavelmente, leva as pacientes para a morte. Os tumores malignos da mama são tratados com quimioterapia (vacina), cirurgia e radioterapia (banho de luz). Cada fase deste tratamento produz muitos efeitos colaterais. Nosso objetivo é estudar a substância Glutamina como inibidora da formação de radicais livres, que são produzidos no nosso organismo, e que podem induzir ao surgimento do câncer e piorar os efeitos colaterais do tratamento para estes tumores, portanto queremos saber se a administração desta substância pode melhorar a qualidade de vida das pacientes, por exemplo: diminuindo a frequência dos vômitos, diminuindo a queda de cabelo, melhorando a performance física, melhorando a tolerância ao tratamento. Para efeito de comparação do efeito da substância, um grupo de pacientes receberá a substância Caseinato de cálcio, que funciona como placebo e não tem qualquer efeito colateral no seu organismo. Tais substâncias tem o mesmo valor proteico e calórico, portanto qualquer uma das duas funcionam no nosso organismo como se fosse um suplemento alimentar.

Para que consigamos realizar a pesquisa você receberá a medicação que deverá ser tomada diariamente em uma única dose durante todo o tratamento, e que não lhe ocasionará qualquer onus financeiro. É importante informar que você poderá também receber a substância Caseinato de cálcio em lugar da Glutamina, e que neste caso você fará parte de um grupo que servirá de comparação com o grupo que receber a Glutamina. Você deverá permitir que façamos a colheita de amostra de sangue para análise durante os 3 ciclos de quimioterapia antes da cirurgia, 2 amostras na cirurgia e mais 3 amostras durante a radioterapia pós-operatória.

As informações relacionadas a sua pessoa só serão do conhecimento da equipe que estiver trabalhando com a pesquisa. Por ocasião da publicação final dos resultados você não será identificada.

Se durante a pesquisa você tiver qualquer dúvida poderá entrar em contato com o Dr. Wilson Mourão pelo telefone 9991 56 11.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Walter Cantídio e do Centro de Ciências da Saúde da UFC aprovou este termo de consentimento e você pode apresentar recursos ou reclamações em relação ao presente estudo, contactando a Secretaria do Comitê de Ética diretamente pelo telefone (0xx85) 3288 83 46.

Li e entendi todas as informações acima que descrevem esta pesquisa-estudo clínico e todas as minhas perguntas foram respondidas para minha satisfação. Dou meu voluntário consentimento para minha participação neste estudo.

Compreendo que estou livre para interromper minha participação neste estudo, a qualquer tempo e que eu continuarei a receber os melhores cuidados por meu médico assistente

DATA: ____/____/____

Nome do paciente:

Assinatura do Paciente
Ou responsável legal:

Nome e telefone do
Pesquisador responsável:

José Wilson Mourão de Farias
(0XX85)3244.31.51- Cel: (0XX85) 9991.56.11

Assinatura do Pesquisador

Nome da testemunha (para o
Caso de consentimento oral)

Assinatura da Testemunha

Estes documentos deverá ser inserido nos assentamentos médicos do paciente

ANEXO E

FICHA CONTRÔLE DOS PACIENTES DO ESTUDO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIRURGIA NA UFC.

MESTRANDO: Dr. José Wilson Mourão de Farias
 ORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão Vasconcelos
 CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Antônio Ribeiro da Silva Filho

DADOS DO PACIENTE:

NOME:.....; No.....;
 DN:...../...../.....; DATA ADMISSÃO:...../...../.....
 RUA.....No.....COMP.....
 BAIRRO.....; CIDADE:.....; CEP:.....
 TELEFONES:.....

DADOS DA DOENÇA (TUMOR):

MAMA : (D)/(E); TAMANHO:.....cm
 AXILA: POSITIVA (); NEGATIVA (); METÁSTASES: M (0)/M (1);
 ESTADIAMENTO CLÍNICO: T (); N (); M (); EC:.....
 STATUS HORMONAL: PRÉ-MENOPAUSA (); MENOPAUSA (); PÓS-MENOPAUSA ().
 MÉTODO DE DIAGNÓSTICO: BIOPSIA A CÉU ABERTO (); PAAF ();
 CORE BIOPSY (); TIPO HISTOLÓGICO:.....
 GRAU DO TUMOR (1); (2); (3); GRAU NUCLEAR: (1); (2); (3).

AVALIAÇÃO PRÉ-TRATAMENTO, ANTES CADA CICLO DE QT E ANTES DA CIRURGIA:

CA 15.3:.....; CEA:.....; HT:.....; HB:.....; LEUCÓCITOS:.....
; PLAQUETAS:.....; ALBUMINA:.....; PCR:.....;
 URÉIA:.....; CREATININA:.....;

RANDOMIZAÇÃO: POR TABELA DE RANDOMIZAÇÃO (Prof. J. Ximenes)

DATA DO INÍCIO DA MEDICAÇÃO:...../...../.....
 DATA DO 1º CICLO DE QT + 1ª COLHEITA SANGUE:...../...../.....
 DATA DO 2º CICLO DE QT + 2ª COLHEITA SANGUE:...../...../.....
 DATA DO 3º CICLO DE QT + 3ª COLHEITA SANGUE:...../...../.....
 DATA DA CIRURGIA + COLHEITA SANGUE:...../...../.....
 DATA DA ALTA HOSPITALAR + COLHEITA SANGUE:...../...../.....

ANEXO F

DADOS DA CIRURGIA:

TEMPO CIRÚRGICO:.....
 CIRURGIÃO:.....
 INFECÇÃO PÓS-OPERATÓRIA: SIM (); NÃO ();
 NECROSE DE RETALHO: SIM (); NÃO ();
 DIAS DE INTERNAÇÃO:.....

ESTUDO ANÁTOMO PATOLÓGICO DA PEÇA CIRÚRGICA:

TUMOR RESIDUAL: SIM (); NÃO (). TIPO HISTOLÓGICO: CA DUCTAL ();
 CA LOBULAR (); GRAU HISTOLÓGICO: (); GRAU NUCLEAR: (); INVASÃO
 ANGIOLINFÁTICA: SIM (); NÃO (); INVASÃO PERINEURAL: SIM (); NÃO ();
 LINFONODOS AXILARES: No: (); POSITIVOS (); NEGATIVOS ().

COLETA DE DADOS DE LABORATÓRIO:

	1o CICLO QT	2º CICLO QT	3º CICLO QT	CIRURGIA	ALTA
CA 15.3					
CEA					
HEMATÓCRITO					
HEMOGLOBINA					
LEUCÓCITOS					
PLAQUETAS					
ALBUMINA					
PCR					
URÉIA					
CREATININA					

COLETA DE DADOS DAS ENZIMAS ANTI-OXIDATIVAS:

ENZIMAS	1º CICLO QT	2oCICLO QT	3º CICLO QT	CIRURGIA	TEC. TUMOR	TEC. NORM.	ALTA
GLUTATIONE							
RAD. LIVRES TOTAIS							
T-BARS							

ANEXO G

1 A
2 A
3 A
4 A
5 B
6 B
7 B
8 B
9 B
10 A
11 A
12 B
13 B
14 B
15 B
16 A
17 A
18 B
19 A
20 A

Números Randomizados

ANEXO H

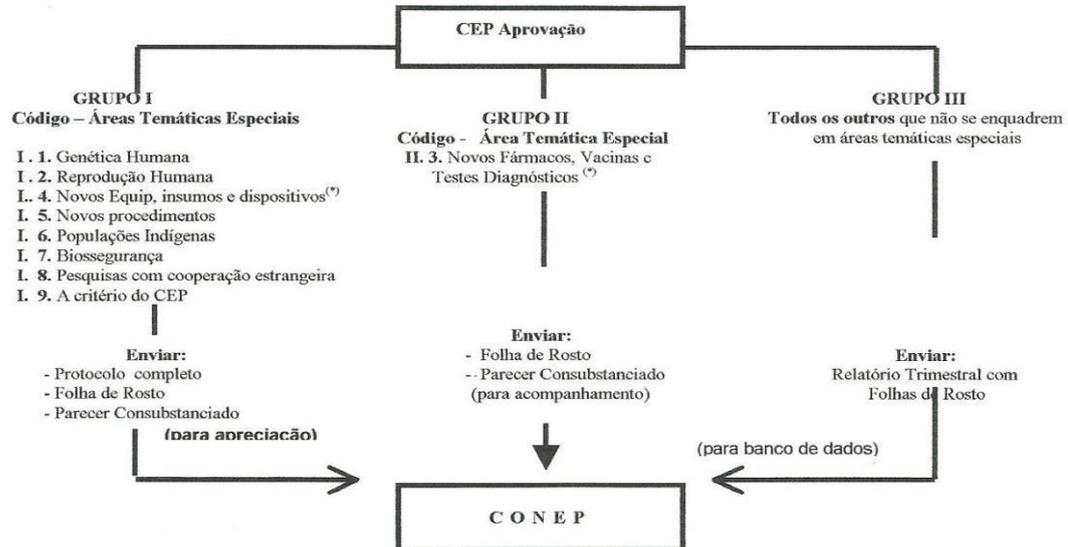


MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS (versão outubro/99)

1. Projeto de Pesquisa: Avaliação da função antioxidante da glutamina em pacientes portadoras de câncer da mama: ensaio clínico duplo cego randomizado				
2. Área do Conhecimento (Ver relação no verso) MEDICINA		3. Código: 401	4. Nível: (Só áreas do conhecimento Preventivo/Terapêutico/Diagnóstico	
5. Área(s) Temática(s) Especial (s) (Ver fluxograma no verso)		6. Código(s): 9	7. Fase: (Só área temática 3) I () II () III () IV ()	
8. Unitermos: (3 opções) Glutamina, estresse oxidativo, câncer da mama.				
SUJEITOS DA PESQUISA				
9. Número de sujeitos No Centro : 30		10. Grupos Especiais : <18 anos () Portador de Deficiência Mental () Embrião /Feto () Relação de Dependência (Estudantes , Militares, Presidiários, etc) () Outros (X) Não se aplica ()		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL				
11. Nome: José Wilson Mourão de Farias				
12. Identidade: 434 457 SPSP- Ce		13. CPF: 101.298.473.72	19. Endereço (Rua, n.º): r. Vicente Linhares No 614 apto 800	
14. Nacionalidade: BRAS		15. Profissão: MÉDICO	20. CEP: 60.135.270	21. Cidade: Fortaleza
16. Maior Titulação: Especialista		17. Cargo: Médico	23. Fone: 085. 3244.41.51 3261.77.28	22. U.F. Ce
18. Instituição a que pertence Santa Casa de Fortaleza			24. Fax:	
18. Instituição a que pertence Santa Casa de Fortaleza				
25. Email: wmourao@uol.com.br				
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: 03 de Fevereiro de 2005				
Assinatura _____				
INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO				
26. Nome: Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza		29. Endereço (Rua, n.º): Rua Barão do Rio Branco n. 20		
27. Unidade/Órgão: Depto Mastologia do Serviço de Oncologia		30. CEP: 60000000	31. Cidade: FORTALEZA	32. U.F. CE
28. Participação Estrangeira: Sim () Não (X)		33. Fone: 3455.91.00	34. Fax.:	
35. Projeto Multicêntrico: Sim () Não (X) Nacional () Internacional () (Anexar a lista de todos os Centros Participantes no Brasil)				
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição) : Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução Nome: Dr. Evandro Salgado Studart da Fonsêca Cargo: Provedor da Santa Casa da Misericórdia de Fortaleza Data: 09 de Fevereiro de 2005				
Assinatura _____				
PATROCINADOR				
Não se aplica (X)				
36. Nome:		39. Endereço		
37. Responsável:		40. CEP:	41. Cidade:	42. UF
38. Cargo/Função:		43. Fone:	44. Fax:	
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP				
45. Data de Entrada: 10 /10/2002	46. Registro no CEP	47. Conclusão: Aprovado () Data: ____/____/____	48. Não Aprovado () Data: ____/____/____	
49. Relatório(s) do Pesquisador responsável previsto(s) para: Data: ____/____/____ Data: ____/____/____				
Encaminhamento a CONEP: 50. Os dados acima para registro () 51. O projeto para apreciação () 52. Data: ____/____/____		53. Coordenador/Nome _____ Assinatura		Anexar o parecer substanciado
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA – CONEP				
54. Nº Expediente :	56. Data Recebimento :		57. Registro na CONEP:	
55. Processo :				
58. Observações:				

FLUXOGRAMA PARA PESQUISAS ENVOLVENDO SERES HUMANOS (JAN/99)



CÓDIGO - ÁREAS DO CONHECIMENTO (Folha de Rosto Campos 2 e 3)

1- CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
 1.01 - MATEMÁTICA
 1.02 - PROBABILIDADE E ESTATÍSTICA
 1.03 - CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO
 1.04 - ASTRONOMIA
 1.05 - FÍSICA
 1.06 - QUÍMICA
 1.07 - GEOCIÊNCIAS
 1.08 - OCEANOGRAFIA

2 - CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (*)
 2.01 - BIOLOGIA GERAL
 2.02 - GENÉTICA
 2.03 - BOTANICA
 2.04 - ZOOLOGIA
 2.05 - ECOLOGIA
 2.06 - MORFOLOGIA
 2.07 - FISIOLOGIA
 2.08 - BIOQUÍMICA
 2.09 - BIOFÍSICA
 2.10 - FARMACOLOGIA
 2.11 - IMUNOLOGIA
 2.12 - MICROBIOLOGIA
 2.13 - PARASITOLOGIA
 2.14 - TOXICOLOGIA

3 - ENGENHARIAS
 3.01 - ENGENHARIA CIVIL
 3.02 - ENGENHARIA DE MINAS
 3.03 - ENGENHARIA DE MATERIAIS E METALÚRGICA
 3.04 - ENGENHARIA ELÉTRICA
 3.05 - ENGENHARIA MECÂNICA
 3.06 - ENGENHARIA QUÍMICA
 3.07 - ENGENHARIA SANITÁRIA
 3.08 - ENGENHARIA DE PRODUÇÃO
 3.09 - ENGENHARIA NUCLEAR
 3.10 - ENGENHARIA DE TRANSPORTES
 3.11 - ENGENHARIA NAVAL E OCEÂNICA
 3.12 - ENGENHARIA AEROSPAZIAL

4 - CIÊNCIAS DA SAÚDE (*)
 4.01 - MEDICINA
 4.02 - ODONTOLOGIA
 4.03 - FARMÁCIA
 4.04 - ENFERMAGEM
 4.05 - NUTRIÇÃO
 4.06 - SAÚDE COLETIVA
 4.07 - FONOAUDIOLOGIA
 4.08 - FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL
 4.09 - EDUCAÇÃO FÍSICA

5 - CIÊNCIAS AGRÁRIAS
 5.01 - AGRONOMIA
 5.02 - RECURSOS FLORESTAIS E ENGENHARIA FLORESTAL
 5.03 - ENGENHARIA AGRÍCOLA
 5.04 - ZOOTECNIA
 5.05 - MEDICINA VETERINÁRIA
 5.06 - RECURSOS PESQUEIROS E ENGENHARIA DE PESCA
 5.07 - CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

6 - CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS
 6.01 - DIREITO
 6.02 - ADMINISTRAÇÃO
 6.03 - ECONOMIA
 6.04 - ARQUITETURA E URBANISMO
 6.05 - PLANEJAMENTO URBANO E REGIONAL
 6.06 - DEMOGRAFIA
 6.07 - CIÊNCIA DA INFORMAÇÃO
 6.08 - MUSEOLOGIA
 6.09 - COMUNICAÇÃO
 6.10 - SERVIÇO SOCIAL
 6.11 - ECONOMIA DOMÉSTICA
 6.12 - DESENHO INDUSTRIAL
 6.13 - TURISMO

7 - CIÊNCIAS HUMANAS
 7.01 - FILOSOFIA
 7.02 - SOCIOLOGIA
 7.03 - ANTROPOLOGIA
 7.04 - ARQUEOLOGIA
 7.05 - HISTÓRIA
 7.06 - GEOGRAFIA
 7.07 - PSICOLOGIA
 7.08 - EDUCAÇÃO
 7.09 - CIÊNCIA POLÍTICA
 7.10 - TEOLOGIA

8 - LINGÜÍSTICA, LETRAS E ARTES
 8.01 - LINGÜÍSTICA
 8.02 - LETRAS
 8.03 - ARTES

(*) NÍVEL: (Folha de Rosto Campo 4)

(P) Prevenção
 (D) Diagnóstico
 (T) Terapêutico
 (E) Epidemiológico
 (N) Não se aplica

(*) OBS: - As pesquisas das áreas temáticas 3 e 4 (novos fármacos e novos equipamentos) que dependem de licença de importação da ANVS/MS, devem obedecer ao seguinte fluxo- Os projetos da área 3 que se enquadrarem simultaneamente em outras áreas que dependam da aprovação da CONEP, e os da área 4 devem ser enviados à CONEP, e esta os enviará à ANVS/MS com seu parecer.

- Os projetos exclusivos da área 3 aprovados no CEP (Res. CNS 215 - item V.2) deverão ser enviados à ANVS pelo patrocinador ou pesquisador.