



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS DE SOBRAL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EVELINE MARIA ARAGÃO FERNANDES

**PAPEL DOS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DA SÍNDROME METABÓLICA
E O RISCO DE CÂNCER DE MAMA**

SOBRAL
2020

EVELINE MARIA ARAGÃO FERNANDES

**PAPEL DOS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DA SÍNDROME METABÓLICA
E O RISCO DE CÂNCER DE MAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Câncer e doenças crônicas.

Orientador: Prof. Dr. José Juvenal Linhares

SOBRAL

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F399p Fernandes, Eveline Maria Aragão.
Papel dos níveis séricos de vitamina D e da síndrome metabólica e o risco de câncer de mama /
Eveline Maria Aragão Fernandes. – 2020.
62 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2020.
Orientação: Prof. Dr. José Juvenal Linhares.

1. Câncer de mama. 2. Vitamina D. 3. Síndrome metabólica. I.

CDD 610

EVELINE MARIA ARAGÃO FERNANDES

**PAPEL DOS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DA SÍNDROME METABÓLICA
E O RISCO DE CÂNCER DE MAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Câncer e doenças crônicas.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Juvenal Linhares (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Iracema Matos de Melo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Conceição e Zequinha.

AGRADECIMENTOS

No vencer de mais uma etapa da minha vida não poderia deixar de referir à instituição e as pessoas que tanto me ajudaram neste percurso de intensa aprendizagem.

À Universidade Federal do Ceará Campus Sobral por me ter proporcionado a minha formação profissional.

Ao meu orientador, Professor Doutor José Juvenal Linhares, por todo o apoio, disponibilidade, atenção e orientação que demonstrou.

Aos professores participantes da banca examinadora Dr. Juvenal Linhares, Dra. Iracema Matos, Dr. Anderson Weiny, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

À Micheline Fernandes, farmacêutica bioquímica, e à Silvana Basílio, técnica de enfermagem, por terem sido as responsáveis pelas análises dos exames e coleta de sangue, respectivamente.

À minha família, em especial ao meu esposo, Jó, meus pais, Zequinha e Conceição, e ao meu irmão Marcelino por toda a força e incentivo para que eu fizesse este mestrado.

Por último, obrigada a todas as pacientes que participaram deste estudo, sempre solícitas em ajudar e que foram essenciais para conclusão do mestrado.

RESUMO

Introdução: O câncer de mama é a neoplasia mais comum na população feminina e vários fatores modificáveis e não modificáveis estão associados ao aumento do risco. Entre esses fatores modificáveis, está a associação com os níveis de vitamina D e síndrome metabólica, que ainda não são bem estabelecidos, em relação ao risco de câncer de mama. **Objetivos:** avaliar a relação dos níveis séricos de vitamina D e da síndrome metabólica com o risco de câncer de mama, em mulheres brasileiras, e suas características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas. **Metodologia:** Estudo de caso-controle incluiu 92 mulheres, entre maio de 2019 a março de 2020. As participantes dividiram-se em dois grupos: casos (42 mulheres com câncer de mama) e controle (50 mulheres sem câncer). Cada mulher foi entrevistada e investigada para os níveis séricos de 25(OH)D através da coleta de sangue, utilizado o método de quimioluminescência, e para síndrome metabólica através dos critérios da Federação Internacional de Diabetes (IDF). No grupo caso, investigaram-se também características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas. Dos dados obtidos utilizou-se o teste do qui-quadrado ou teste de Fisher quando aplicável. O teste t de student foi realizado para comparação das concentrações de vitamina D e o modelo de regressão logística para avaliar o risco de câncer de mama, tendo vitamina D e síndrome metabólica como exposição. Considerou-se $p < 0,05$, como significativo. **Resultados:** A média dos níveis de vitamina D foi maior no grupo caso do que nos controle (26,3 ng/ml x 24,1 ng/ml), sem diferença estatística ($p= 0,141$). A síndrome metabólica foi comum nas mulheres com câncer de mama, em relação aos controles (64,3% x 62,0%), porém sem significado estatístico ($p=0,821$). Sobre os critérios individuais da síndrome metabólica, não houve diferença estatística em relação à circunferência abdominal ($p=0,750$), glicemia plasmática ($p=0,542$), triglicerídeos ($p=0,235$), HDL ($p=0,144$) e pressão arterial ($p=0,193$) entre os grupos. A hipovitaminose D e/ou a síndrome metabólica não tiveram significado estatístico em relação às características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes com câncer de mama. Também não foi encontrada associação dos níveis de vitamina D e/ou da síndrome metabólica com o risco para câncer de mama e com os marcadores prognósticos (estadiamento clínico e subtipos imunohistoquímicos). **Conclusão:** Os níveis de vitamina D e a síndrome metabólica não foram associados ao maior risco de câncer de mama e não tiveram relação com suas características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas.

Palavras-chave: Câncer de mama 1. Vitamina D 2. Síndrome metabólica 3.

ABSTRACT

Introduction: Breast cancer is the most common neoplasm in the female population and several modifiable and non-modifiable factors are associated with increased risk. Among these modifiable factors, levels of vitamin D and metabolic syndrome are associated, although not yet well defined, in relation to the risk of breast cancer. **Objectives:** To evaluate the relationship of serum vitamin D levels and metabolic syndrome with breast cancer risk in Brazilian women, and their clinical, histopathological and immunohistochemical characteristics. **Methodology:** Case-control study included 92 women, between May 2019 and March 2020. Participants were divided into two groups: cases (42 women with breast cancer) and control (50 women without cancer). Each woman was interviewed and investigated for serum levels of 25 (OH) D through blood collection, using the chemiluminescence method, and for metabolic syndrome using the criteria of the International Diabetes Federation (IDF). In the case group, clinical, histopathological and immunohistochemical characteristics were also investigated. From the data obtained, the chi-square test or Fisher's test was applied when proper. Student's t-test was performed to compare vitamin D concentrations and the logistic regression model assessed the risk of breast cancer, with vitamin D and metabolic syndrome as an exposure. It was considered $P < 0.05$ as significance. **Results:** The average of vitamin D levels was higher in the cases group than in the control (26.3 ng / mL x 24.1 ng / ml), with no statistical difference ($p = 0.141$). Metabolic syndrome was common in women with breast cancer, compared to controls (64.3% x 62.0%), but without statistical significance ($p = 0.821$). Regarding to the individual criteria for metabolic syndrome, there was no statistical difference between groups in relation to waist circumference ($p = 0.750$), plasma glucose ($p = 0.542$), triglycerides ($p = 0.235$), HDL ($p = 0.144$) and blood pressure ($p = 0.193$). Hypovitaminosis D and/or metabolic syndrome had no statistical significance in relation to clinical, histopathological and immunohistochemical characteristics in patients with breast cancer. There was also no association between vitamin D levels and/or metabolic syndrome for breast cancer risk and with prognostic markers (clinical staging and immunohistochemical subtypes). **Conclusion:** Vitamin D levels and metabolic syndrome were not associated with a higher risk of breast cancer and there were no relation to their clinical, histopathological and immunohistochemical characteristics.

Keywords: Breast Cancer 1. Vitamin D 2. Metabolic Syndrome 3.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Metabolismo da vitamina D..... | 18 |
| Figura 2 – Fisiopatologia da vitamina D e o câncer de mama..... | 19 |
| Figura 3 – Fisiopatologia da síndrome metabólica e o câncer de mama | 22 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1 – Distribuição das mulheres por grupo (caso ou controle)..... | 30 |
| Gráfico 2 – Níveis de vitamina D entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle)..... | 32 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | – Distribuição dos fatores de risco para câncer de mama entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle)..... | 31 |
| Tabela 2 | – Distribuição da presença de hipovitaminose D entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle)..... | 32 |
| Tabela 3 | – Distribuição da presença de síndrome metabólica entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle)..... | 32 |
| Tabela 4 | – Distribuição dos critérios diagnósticos da síndrome metabólica segundo IDF entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle)..... | 34 |
| Tabela 5 | – Distribuição das características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes com câncer de mama em relação à presença de hipovitaminose D..... | 35 |
| Tabela 6 | – Distribuição das características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes com câncer de mama em relação à presença síndrome metabólica..... | 36 |
| Tabela 7 | – Associação da hipovitaminose D e/ ou síndrome metabólica com o risco para câncer de mama..... | 37 |
| Tabela 8 | – Interação entre hipovitaminose D e/ou síndrome metabólica com o risco de câncer de mama..... | 38 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------|--|
| 1,25(OH) ₂ D | Calcitriol |
| 25(OH)D | Calcidiol |
| cm | Centímetros |
| CYP24 | 24 – hidroxilase |
| CYP27B1 | 1 α hidroxilase |
| D2 | Ergocalciferol |
| D3 | Colecalciferol |
| DBP | Proteína ligadora de vitamina D |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| <i>et al</i> | Colaboradores |
| GHR | Hormônio do crescimento |
| HDL | Lipoproteína de alta densidade |
| HER 2 | Receptor de fator de crescimento epidérmico humano 2 |
| IC | Intervalo de confiança |
| IDF | Federação Internacional de Diabetes |
| IGF -1 | Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 |
| IHQ | Imunohistoquímica |
| IMC | Índice de massa corpórea |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| mmHg | Milímetros de mercúrio |
| mL/dL | Milímetro por decilitro |
| ng/dL | Nanograma por decilitro |
| PA | Pressão arterial |
| PAS | Pressão arterial sistólica |
| PAD | Pressão arterial diastólica |
| RE | Receptor de estrogênio |
| RP | Receptor de progesterona |
| SHBG | Globulina de ligação a hormônios sexuais |
| VDR | Receptor de vitamina D |
| VEGF | Fator de crescimento endotelial vascular |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|----------|------------------|
| % | Porcentagem |
| \leq | Menor ou igual |
| \geq | Maior ou igual |
| $<$ | Menor que |
| $>$ | Maior que |
| = | Igual |
| α | Alfa |
| ® | Marca registrada |

SUMÁRIO

| | | |
|----------------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 16 |
| 2.1 | Câncer de mama | 16 |
| 2.2 | Fatores de risco | 16 |
| 2.3 | Prevenção do câncer de mama | 16 |
| 2.4 | Vitamina D e câncer de mama | 17 |
| 2.4.1 | <i>Metabolismo da vitamina D</i> | 17 |
| 2.4.2 | <i>Fisiopatologia da vitamina D e o câncer de mama</i> | 18 |
| 2.4.3 | <i>Relação entre a vitamina D e o câncer de mama</i> | 20 |
| 2.5 | Síndrome Metabólica e câncer de mama | 20 |
| 2.5.1 | <i>Síndrome Metabólica</i> | 20 |
| 2.5.2 | <i>Fisiopatologia da síndrome metabólica e o câncer de mama</i> | 21 |
| 2.5.3 | <i>Relação entre a síndrome metabólica e o risco do câncer de mama</i> | 22 |
| 3 | OBJETIVOS | 23 |
| 3.1 | Objetivo geral | 23 |
| 3.2 | Objetivos específicos | 23 |
| 4 | METODOLOGIA | 24 |
| 4.1 | Desenho do estudo | 24 |
| 4.2 | Cenário da pesquisa | 24 |
| 4.3 | Período em que foi realizado o estudo | 24 |
| 4.4 | Cálculo da amostra | 24 |
| 4.5 | População do estudo | 24 |
| 4.5.1 | Descrição dos grupos | 24 |
| 4.5.1.1 | <i>Características do grupo caso</i> | 24 |
| 4.5.1.2 | <i>Características do grupo controle</i> | 25 |
| 4.6 | Procedimentos ou métodos | 26 |
| 4.6.1 | <i>Definição de hipovitaminose D</i> | 26 |
| 4.6.2 | <i>Definição de síndrome metabólica</i> | 26 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.6.3 | <i>Entrevista</i> | 26 |
| 4.6.4 | <i>Exame Físico</i> | 26 |
| 4.6.5 | <i>Exames laboratoriais</i> | 27 |
| 4.6.6 | <i>Prontuário</i> | 27 |
| 4.6.7 | <i>Formulário</i> | 28 |
| 4.7 | Análise dos dados | 29 |
| 4.8 | Aspectos éticos | 29 |
| 5 | RESULTADOS | 30 |
| 6 | DISCUSSÃO | 38 |
| 7 | CONCLUSÃO | 43 |
| | REFERÊNCIAS | 44 |
| | APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS | 49 |
| | ANEXO A – CRITÉRIOS DE SÍNDROME METABÓLICA DO IDF | 52 |
| | ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO | 53 |
| | ANEXO C – TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO | 59 |

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o câncer mais comum em todo o mundo e a principal causa de morte entre as mulheres em países desenvolvidos (ISMAIL *et al*, 2018). É responsável por 22% de todos os cânceres feminino no mundo e aproximadamente 42% dos casos ocorrem em países em desenvolvimento (SHAUKAT *et al*, 2017).

Fatores de risco conhecidos para câncer de mama incluem idade, história familiar, densidade do tecido mamário, paridade, excesso de peso, ingestão de álcool e fatores genéticos (ATOUM; ALZOUGHLOO, 2017).

Embora fatores genéticos afetem o desenvolvimento do câncer de mama, os principais fatores de risco são hormonais, reprodutivos e estilo de vida (AGNOLI *et al*, 2015). Alguns fatores, como a idade da menarca, não são modificáveis, mas os fatores modificáveis, como a atividade física, álcool e dieta, podem formar a base para os esforços de prevenção do câncer de mama (COLDITZ *et al*, 2014). Presume-se que a vitamina D seja um desses fatores que podem prevenir o câncer de mama (ISMAIL *et al*, 2018).

A vitamina D é gerada na pele a partir do 7-deidrocolesterol ou obtida na dieta. Ela sofre um primeiro passo de hidroxilação no fígado para produzir calcidiol (25(OH)D), que é um precursor do metabólito ativo, calcitriol (1,25(OH)₂D). A ativação de 25(OH)D a 1,25(OH)₂D ocorre através da hidroxilação nos rins, mas também em outros tecidos, incluindo tumores (MICHAEL *et al*, 2018).

A vitamina D ganhou interesse nos últimos anos devido ao seu impacto no câncer (VIALA *et al*, 2018). Estudos em laboratório mostraram a presença de receptores de vitamina D em muitos tecidos e sugeriram vias plausíveis de vitamina D que podem estar relacionadas ao câncer e, portanto, ela tem sido investigada, em relação a vários tipos de câncer, particularmente, mama e próstata (MANSON *et al*, 2019; ISMAIL *et al*, 2018).

De fato, a vitamina D parece desempenhar um papel fundamental no ciclo celular, afetando a regulação da proliferação de células cancerígenas ao intervir no ciclo celular via quinases (VIALA *et al*, 2018). Quando o nível sérico de vitamina D é elevado, as células epiteliais são submetidas a um ciclo celular normal, mas quanto o nível é baixo, a taxa de reprodução das células epiteliais aumenta de forma anormal, perdendo a fidelidade na replicação do DNA e, conseqüentemente, uma maior probabilidade de ocorrência de mutações somáticas que conduzem ao desenvolvimento de células cancerígenas (SILVA *et al*, 2018).

É possível que a vitamina D desempenhe um papel no controle do crescimento normal das células da mama e tenha capacidade de interromper o crescimento de células de

câncer neste local. Acredita-se que esse efeito protetor seja pelas ações da 1,25OH₂D, a forma bioativa da vitamina D, que induz diferenciação e apoptose e inibe a proliferação celular e angiogênese (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018). No entanto, a evidência de associação da vitamina D ao risco de câncer de mama permanece controversa (SONG *et al*, 2019).

Além da vitamina D, a síndrome metabólica, que é um conjunto de alterações metabólicas incluindo adiposidade abdominal, resistência à insulina, hiperglicemia, hipertensão e dislipidemia, foi considerada um fator de risco para uma variedade de cânceres, incluindo o câncer de mama (LI *et al*, 2020).

A obesidade é um fator de risco estabelecido para o câncer de mama na pós-menopausa, mas há evidências limitadas de que a síndrome metabólica esteja associada ao aumento de risco da doença (KABAT *et al*, 2017).

Estudo mostra que a síndrome metabólica poderia impactar o risco de câncer de mama através de alterações em um número de vias hormonais interrelacionadas, incluindo as que envolvem insulina, estrogênio, citocinas e fatores de crescimento (WANI *et al*, 2017).

Dessa forma, percebe-se que os fatores de risco para câncer de mama variam muito, e os efeitos de alguns fatores também variam de acordo com as características do tumor, e esforços contínuos para expandir a compreensão da etiologia da doença podem sugerir novas abordagens para a prevenção (COLDITZ *et al*, 2014). Portanto, o câncer de mama é um campo de estudo intenso e muitos aspectos dele requerem mais investigações (O'BRIEN *et al*, 2017).

Diante disso propôs-se investigar a relação dos níveis séricos de vitamina D e da síndrome metabólica com o risco de câncer de mama e com suas características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas, em mulheres brasileiras.

No Brasil e, em especial, no interior da região nordeste, o câncer de mama é bastante prevalente e justifica-se fazer uma pesquisa regional pois há necessidade de descobrir os fatores de risco modificáveis para o câncer nesta população, pois será possível desenvolver estratégias que visem diminuir os casos. Como foi o primeiro trabalho de pesquisa a investigar a relação da vitamina D e da síndrome metabólica com o câncer de mama na região nordeste do Brasil, acreditamos que o pioneirismo possa incentivar mais estudos nesta população, onde há escassez de estudos, visando a melhorias para estas mulheres, onde a incidência dessa doença é elevada.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer de mama

O câncer de mama é a malignidade mais comum que afeta mulheres em todo o mundo (COSTA-SILVA *et al*, 2017). Ele atinge a população feminina em 161 países, e é a causa mais comum de morte por câncer, em 98 países (ATOUM; ALZOUGHLOOL, 2017).

A incidência é maior em regiões mais desenvolvidas do mundo em comparação com regiões em desenvolvimento e subdesenvolvidas. No Brasil, que é um país em desenvolvimento, o câncer de mama é a neoplasia maligna mais comum em mulheres após câncer de pele não melanoma (COSTA-SILVA *et al*, 2017). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima-se que, no Brasil, em 2020 serão 60.280 novos casos de câncer de mama, sendo que na região nordeste, estimativa é de 13.190 casos (INCA, 2020).

2.2 Fatores de risco

Os fatores de risco para câncer de mama são idade da menarca, paridade, idade do primeiro parto, histórico familiar e índice de massa corpórea, além de fatores de risco genéticos, como mutações BRCA (ATOUM; ALZOUGHLOOL, 2017; ISMAIL *et al*, 2018). A urbanização e a mudança do estilo de vida, incluindo mudanças nutricionais caracterizadas pelo aumento da ingestão de gordura, carne vermelha e estilo de vida sedentário, tabagismo também são considerados fatores de risco para câncer de mama (XIANG *et al*, 2020). Alguns desses fatores, como histórico familiar, não podem ser modificados, mas muitos outros são passíveis de mudanças (COLDITZ *et al*, 2014). Portanto, muitos esforços estão sendo feitos para identificar os fatores de risco que podem ser modificados para prevenir o câncer de mama (SHAUKAT *et al*, 2017).

2.3 Prevenção do câncer de mama

A fim de alcançar a redução máxima do câncer de mama pré e pós-menopausa, os esforços de prevenção devem começar cedo na vida e as melhores abordagens devem incorporar toda a gama de fatores de risco modificáveis (COLDITZ *et al*, 2014).

Ações como redução do consumo de álcool e de gorduras e carnes vermelhas, juntamente com um aumento na quantidade de fibras e vitamina D na dieta, podem ser fatores

de proteção contra o câncer de mama (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018). Além de prevenção da síndrome metabólica e obesidade por mudanças de estilo de vida também pode ter um efeito protetor importante contra o desenvolvimento do câncer de mama (AGNOLI *et al*, 2015).

2.4 Vitamina D e câncer de mama

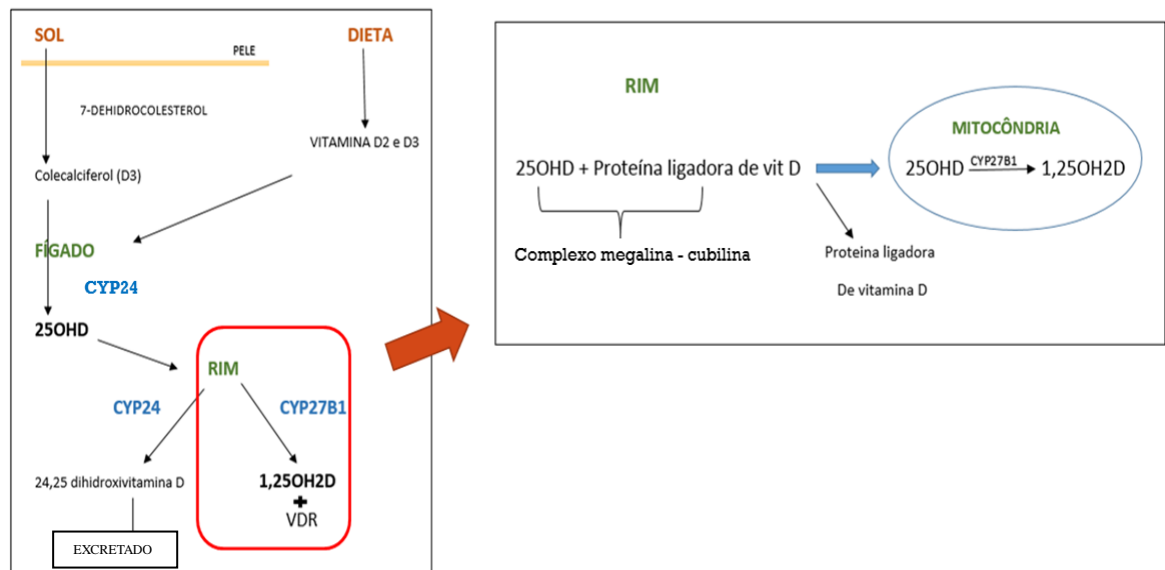
2.4.1. Metabolismo da vitamina D

A vitamina D refere-se a um grupo de secosteróides lipossolúveis que são produzidos em duas formas: ergocalciferol (D₂) e colecalciferol (D₃). A D₃ é produzida a partir da 7-deidrocolesterol, armazenada na pele e que após exposição à radiação ultravioleta transforma-se em colecalciferol. A D₂ é originada a partir da dieta como plantas e peixes. Ambas as formas sofrem hidroxilação no fígado pela 24-hidroxilase (CYP24) para produzir 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) ou calcidiol. A 25(OH)D é então transportada na circulação pela proteína de ligação à vitamina D (DBP) e posteriormente metabolizada nos rins através da 1 α hidroxilase (CYP27B1), uma enzima mitocondrial presente nos túbulos renais proximais, para produzir a 1,25 dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D) ou calcitriol que se liga ao receptor de vitamina D (VDR) (FIGURA 1) (ATOUM; ALZOUGHLOOL, 2017; LA PUENTE -YAGUE *et al*, 2018).

A atividade renal da CYP27B1 correlaciona-se inversamente com os níveis de cálcio e as concentrações séricas de 1,25(OH)₂D são mantidas através de mecanismos clássicos de feedback negativo. Portanto, em condições normocalcêmicas, a atividade renal da CYP27B1 é inibida e, em vez disso, a 25(OH)D é metabolizada pela CYP24 a 24,25-dihidroxivitamina D, um metabolito inativo que é convertido em ácido calcitróico e excretado (FIGURA 1) (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018).

No rim, existe o complexo megalina-cubilina, que está presente na membrana plasmática das células epiteliais do túbulo proximal do rim, e é o principal complexo de captação de glicoproteínas com função nutricional, catabólica e de reabsorção, promovendo a fixação dos complexos formados entre 25OHD e sua proteína de ligação DBP (proteína ligadora de vitamina D). Após a fixação, o 25OHD se desprende da DBP e passa para a mitocôndria, onde se torna 1,25OH₂D (FIGURA 1) (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018).

Figura 1 – Metabolismo da vitamina D.



Fonte: Própria autoria

2.4.2. Fisiopatologia da vitamina D e o câncer de mama

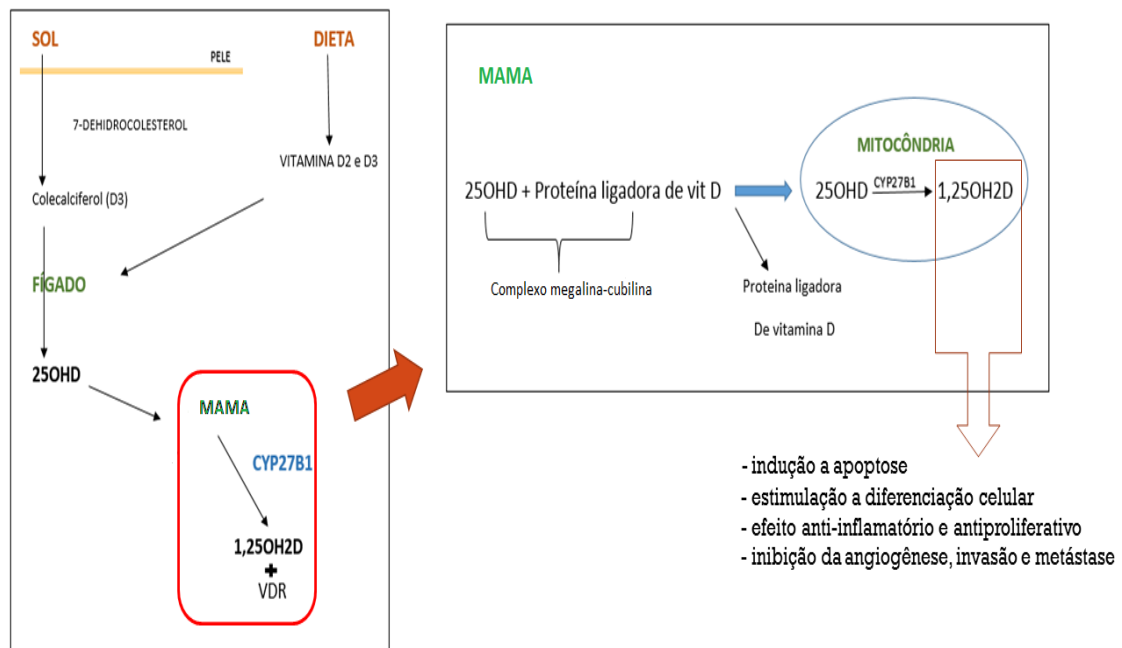
Os mecanismos subjacentes à vitamina D no desenvolvimento do câncer não são bem conhecidos (WU *et al*, 2017). Muitas hipóteses foram propostas para estabelecer uma relação entre as concentrações de vitamina D no corpo e a carcinogênese do câncer de mama (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018).

A descoberta de que as células epiteliais da mama possuem o mesmo sistema enzimático que o rim torna o efeito da vitamina D no câncer de mama biologicamente plausível (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018).

Células da glândula mamária expressam VDR e o complexo megalina-cubilina, além da CYP27B1, uma enzima que metaboliza a vitamina D, convertendo a 25OH D em 1,25OH₂D, um metabolito ativo (FIGURA 2) (LA PUENTE-YAGUE *et al*, 2018). A presença CYP27B1 nas células mamárias indica que a produção local de vitamina D levaria a uma ação parácrina ou autócrina protegendo-as da transformação maligna (SEDIYAMA *et al*, 2016).

O calcitriol (1,25(OH)₂D) está envolvido na proliferação, apoptose, diferenciação, inflamação, invasão, angiogênese e metástase do tumor, regulando várias vias de sinalização que pode afetar o desenvolvimento e crescimento do tumor (SONG *et al*, 2019).

Figura 2 – Fisiopatologia da vitamina D e o câncer de mama.



Fonte: Própria autoria

A 1,25(OH)2D inibe a proliferação celular maligna através da interrupção do ciclo celular na fase G0/G1, fazendo com que as células não atinjam a fase S, na qual iriam ocorrer a autorreplicação do DNA (SILVA *et al*, 2018).

O efeito pró-apoptótico é explicado pelas proteínas da família bcl-2. A interação entre vitamina D e seus receptores induz um aumento na expressão do membro da família pró-apoptótico (proteína bax e bak) e simultaneamente uma diminuição do anti-apoptótico (bcl2/bcl-XL) (KIM; JE, 2014).

A 1,25(OH)2D apresenta também efeitos anti-inflamatórios através da inibição da síntese e das ações das prostaglandinas e das citocinas pró-inflamatórias e induz a expressão de enzimas envolvidas no sistema de defesa antioxidante que protegem o DNA (SILVA *et al*, 2018).

Em relação capacidade de reduzir invasão e metástase, o calcitriol age através do aumento da expressão de E-caderina, que são proteínas das junções intercelulares, pois, quando a E-caderina está diminuída faz com que a junções deixem de ser intactas e conseqüentemente com que as células percam sua função e quando acontece isto, as células ficam com as suas membranas extracelulares totalmente com contato e, por seleção natural, as células adquiriram mutação somática e invadem as células normais (SILVA *et al*, 2018).

A 1,25(OH)₂D é um potente inibidor da angiogênese tumoral, uma vez que consegue diminuir a formação e proliferação de células endoteliais no microambiente tumoral, bem como a vascularização do tumor, duas das condições necessárias para a progressão do mesmo. Além disso, a 1,25(OH)₂D consegue ainda suprimir a expressão dos fatores-chave que controlam a angiogênese, tais como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (SILVA *et al*, 2018).

Em resumo, os componentes do sistema de sinalização endócrina da vitamina D que são expressos na glândula mamária humana normal incluem VDR, CYP27B1 e complexo megalina-cubulina. A expressão da maioria desses genes é alterada em conjunto com o desenvolvimento do câncer de mama, geralmente através de mecanismos epigenéticos (LAPUENTE-YAGUE *et al*, 2018). Portanto, a interrupção de qualquer um dos múltiplos passos no transporte, metabolismo ou função da 25(OH)D poderá contribuir para o desenvolvimento ou progresso do câncer de mama (LAPUENTE-YAGUE *et al*, 2018).

2.4.3. Relação entre a vitamina D e o câncer de mama

Estudos epidemiológicos, pré-clínico e clínicos sugeriram que os baixos níveis de vitamina D podem estar envolvidos no início, progressão e prognóstico do câncer de mama (ISMAIL *et al*, 2018). É o caso do estudo de Shaukat *et al* (2017), que concluiu que a deficiência de vitamina D está associada ao risco de câncer de mama. Em outro estudo, Wu *et al* (2017) mostraram uma associação inversa significativa entre os níveis séricos de 25(OH)D e o risco de câncer de mama em mulheres afro-americanas e hispânicas.

No entanto, a relação entre a vitamina D e o câncer de mama ainda é controversa (ESTEBENEZ *et al*, 2018). Embora alguns estudos apoiem a hipótese de que altos níveis circulantes de vitamina D reduzem o risco de câncer de mama, outros não concordam, como é encontrado no estudo de Vojdeman *et al* (2019) que concluiu que não houve associação entre o aumento dos níveis de vitamina D no sangue e o risco de câncer de mama.

2.5 Síndrome metabólica e câncer de mama

2.5.1 Síndrome metabólica

A síndrome metabólica consiste em um conjunto de anormalidades metabólicas que incluem a obesidade central, hiperglicemia, hiperinsulinemia, hipertensão, hipertrigliceridemia e baixa lipoproteína de alta densidade (HDL) colesterol que conferem

maior risco de doença cardiovascular e diabetes mellitus (WANI *et al*, 2017).

A síndrome metabólica e seus componentes individuais, especificamente a obesidade central, diabetes e hipertensão, foram associados a um risco aumentado de câncer de mama, embora o mecanismo biológico permaneça incerto (DIBABA *et al*, 2018).

Sugeriu-se que os distúrbios metabólicos, como a obesidade e a resistência à insulina, estejam envolvidos na patogênese e progressão do câncer de mama (LI *et al*, 2020).

2.5.2. Fisiopatologia da síndrome metabólica e o câncer de mama

O estado patofisiológico subjacente à síndrome metabólica é a resistência insulínica, que pode aumentar o risco de câncer de mama através de vários mecanismos (FIGURA 3).

A hiperinsulinemia estimula a expressão do receptor do hormônio de crescimento (GHR) *in vivo*, aumentando a taxa de crescimento da produção de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) por meio do aumento da sinalização de GHR. Tanto o IGF-1 como a insulina são mitogênicos e antiapoptóticos para o epitélio mamário humano e também para as células do câncer de mama humano, já que estas células geralmente superexpressam o receptor de IGF-1 e o receptor de insulina (AGNOLI *et al*, 2015).

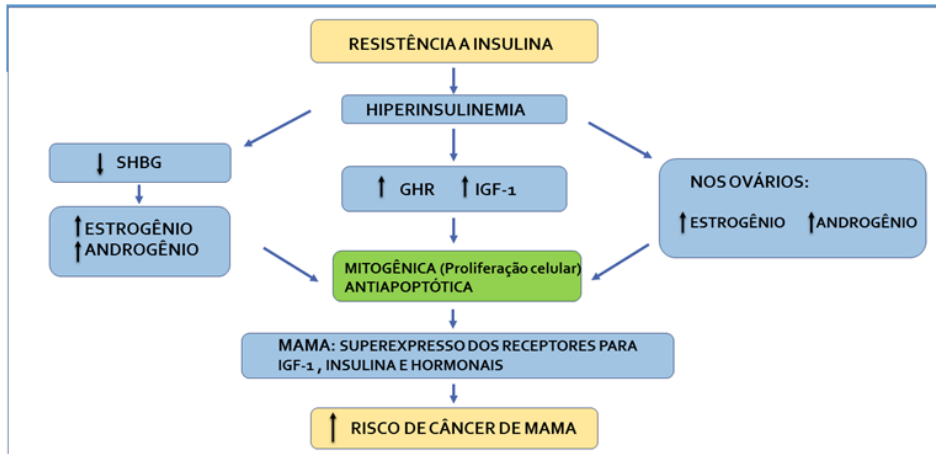
A insulina também pode aumentar o risco de câncer de mama, especialmente em mulheres na pós-menopausa, aumentando os níveis de estrogênio e androgênio. Os estrogênios têm um papel causal no câncer de mama, especialmente em mulheres na pós-menopausa, enquanto altos níveis de testosterona livre também foram associados ao aumento do risco de câncer de mama em mulheres pós-menopáusicas. Insulina estimula a produção ovárica de andrógenos, cuja hemoformação é a principal fonte de estrogênio e também inibe a atividade da aromatase. Níveis elevados de estrogênio, resultantes da aromatização no tecido adiposo, podem promover a proliferação celular no tecido mamário (KABAT *et al*, 2017).

Além disso, a insulina inibe a produção hepática de globulina de ligação a hormônios sexuais (SHBG), aumentando, assim, a biodisponibilidade de ambos os estrogênios e andrógenos (AGNOLI *et al*, 2015).

Outro mecanismo associado entre síndrome metabólica e o câncer de mama é a inflamação crônica, que é caracterizada por altos níveis de citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral α e interleucina-6), prostaglandinas E2 e leptina, que podem promover o crescimento de câncer de mama através proliferação celular e progressão do ciclo celular, e

níveis reduzidos de adiponectina, resultando na falta de regulação negativa da proliferação de células tumorais e inibição da apoptose (AGNOLI *et al*, 2015; KABAT *et al*, 2017; LI *et al*, 2020).

Figura 3 – Fisiopatologia da síndrome metabólica e o câncer de mama.



Fonte: Própria autoria

2.4.3. Relação entre a síndrome metabólica e o câncer de mama

Estudos analisaram a associação de componentes individuais da síndrome metabólica com risco do câncer de mama, mas somente alguns estudaram o papel da síndrome metabólica per se com relação à ocorrência do câncer de mama (WANI *et al*, 2017). Destes estudos, alguns mostram que a síndrome metabólica está associada ao risco de câncer de mama e a um maior risco de recorrência e mortalidade nessas pacientes. Como no estudo de Wani *et al* (2017) que descobriu o importante aumento da prevalência de hipertensão, diabetes tipo 2 mellitus pessoal, e dislipidemia em indivíduos com câncer de mama. No estudo de coorte de Agnoli *et al* (2015), revelou que a presença de síndrome metabólica estava associada ao aumento do risco de câncer de mama em todas as mulheres, mas o risco foi maior em mulheres pós-menopausadas.

No entanto, outros estudos falham em mostrar uma significativa associação entre a síndrome metabólica e os desfechos ruins em mulheres com câncer de mama (LI *et al*, 2020). Como em um estudo de coorte prospectivo em 34 mulheres americanas na pré-menopausa com síndrome metabólica que posteriormente desenvolveram câncer de mama, não encontrou associação significativa entre a síndrome metabólica e o risco de câncer de mama (BOSCO *et al*, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a relação dos níveis séricos de vitamina D e da presença de síndrome metabólica com o risco de câncer de mama em mulheres brasileiras.

3.2 Objetivos específicos

- Relacionar os níveis séricos de Vitamina D com as características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas do câncer de mama.

- Relacionar a presença de Síndrome Metabólica com as características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas do câncer de mama.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo analítico observacional longitudinal do tipo caso-controle.

4.2 Cenário da Pesquisa

O estudo foi realizado no ambulatório de ginecologia geral e de mastologia da Santa Casa de Misericórdia de Sobral, na cidade de Sobral- Ceará.

4.3 Período em que foi realizado o estudo

A coleta de dados foi realizada no período de 1º de maio de 2019 a 31 de março de 2020.

4.4 Cálculo da amostra

A determinação do tamanho da amostra foi calculada, considerando uma população finita, com erro absoluto tolerável de 0,035, para testar a diferença entre os grupos (casos versus controle), considerando-se nível de significância de 5% e intervalo de confiança (IC) de 95%. O tamanho da amostra estimada foi de 100 mulheres selecionadas de uma amostragem probabilística do tipo intencional levantada durante o período do estudo. Conseguindo ao final da coleta, 92 pacientes.

4.5 População do estudo

4.5.1. Descrição dos Grupos

As pacientes foram distribuídas em dois grupos:

Grupo caso (com câncer de mama): mulheres que apresentaram carcinoma ductal invasivo de mama com confirmação histopatológica, que não tinham recebido qualquer tipo de tratamento oncológico até o momento da pesquisa.

Grupo controle (sem câncer de mama): mulheres sem câncer de mama pelo

exame clínico e radiológico.

4.5.1.1 Características do Grupo Caso

Critérios de inclusão:

- Suspeita clínica e/ou radiológica de câncer de mama, com confirmação histopatológica da peça cirúrgica.

Critérios de exclusão:

- Achados clínicos, radiológicos ou histopatológicos não conclusivos de câncer de mama;
- Usuárias de terapia hormonal;
- Mulheres grávidas ou em fase de amamentação;
- Mulheres que vinham em uso prévio de reposição de vitamina D;
- História de ingestão prévia de: esteróides, andrógenos, contraceptivos orais, drogas conhecidas que possam interferir na glicose ou metabolismo lipídico.

4.5.1.2 Características do Grupo Controle

Critérios de inclusão:

- Ausência de câncer de mama ou da suspeita deste por avaliação clínica e/ou radiológica.

Critérios de exclusão:

- Diagnóstico ou suspeita clínica e/ou radiológica de câncer de mama;
- Achados clínicos ou radiológicos sugestivos, mas não conclusivo de câncer de mama;
- Antecedentes de cirurgia mamária prévia;
- Usuárias de terapia hormonal;
- Mulheres grávidas ou em fase de amamentação.
- Mulheres que vinham em uso prévio de reposição de vitamina D.
- História de ingestão prévia de: esteróides, andrógenos, contraceptivos orais, drogas conhecidas que possam interferir na glicose ou metabolismo lipídico.

4.6 Procedimentos ou métodos

As mulheres foram investigadas sobre a deficiência de vitamina D e a síndrome metabólica.

4.6.1 Definição de hipovitaminose D

A hipovitaminose D foi definida como dosagem de 25(OH)D menor que 20 ng/ml em paciente até 59 anos e menor que 30 ng/ml para as mulheres com idade igual ou superior a 60 anos, segundo as recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM, 2017).

4.6.2 Definição de síndrome metabólica

Para avaliação para síndrome metabólica nas mulheres, foram utilizados os critérios Federação Internacional de Diabetes (IDF) (ANEXO A), sendo considerada portadora de síndrome metabólica a mulher que apresentou circunferência abdominal > 80 cm e teve duas ou mais associações com alguns destes: glicemia plasmática ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes; triglicerídeos ≥ 150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia; HDL < 50 mg/dL ou tratamento para dislipidemia; pressão sistólica ≥ 130 mmHg ou diastólica ≥ 85 mmHg ou tratamento para hipertensão arterial (IDF, 2006).

4.6.3 Entrevista

Inicialmente as pacientes foram informadas sobre a finalidade do estudo e, as que aceitaram participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B). Posteriormente, investigou-se sobre a presença do diagnóstico de câncer de mama e os fatores de risco para câncer de mama, tais como, idade, *status* menopausal, paridade, histórico familiar.

4.6.4 Exame físico

Após a entrevista, as pacientes foram avaliadas com relação aos parâmetros da

medida da circunferência abdominal e da pressão arterial.

Medida da circunferência foi mensurada com a mulher em posição supina e solicitada que inspirasse profundamente, e, ao final da expiração foi realizada a medida no maior perímetro abdominal entre a última costela e a crista ilíaca, conforme as orientações da Diretriz Brasileira de Obesidade (ABESO, 2016).

A pressão arterial (PA) foi medida com indivíduo sentado, com pernas descruzadas, pés apoiados no chão e dorso recostado na cadeira. Utilizado esfigmomanômetro de mercúrio adequado para o braço. A medição foi realizada depois que a paciente ter ficado em repouso por um período mínimo de 5 minutos. Determinou a pressão arterial sistólica (PAS) pela ausculta do primeiro som (fase I de Korotkoff) e a pressão arterial diastólica (PAD) no desaparecimento dos sons (fase V de Korotkoff), conforme recomendação da 7ª Diretriz de Hipertensão Arterial (MALACHIAS, 2016).

4.6.5 Exames laboratoriais

Além da entrevista e do exame físico, todas as participantes realizaram exames laboratoriais, entre eles, foram incluídos: lipidograma, glicemia de jejum e 25(OH)D.

A coleta de sangue de todas as participantes foi em um mesmo laboratório pré-determinado pela equipe de pesquisa. Nos casos de câncer de mama, a coleta foi feita após o diagnóstico e antes de qualquer tratamento.

As dosagens de lipidograma e de glicemia de jejum foram feitas pelo método enzimático colorimétrico, utilizando o kit Intertik®, realizado no aparelho de teste bioquímico Chemwell T®.

Para a dosagem de 25(OH)D foi utilizando o método de quimioluminescência, realizado no equipamento Abbott Alinity®, e que foram usadas em todas as amostras de sangue coletados no estudo.

4.6.6 Prontuário

Em caso de paciente com câncer de mama, também foram obtidas informações nos prontuários após a liberação do termo de fiel depositário (ANEXO C), sobre as características da doença como: tamanho do tumor, grau, estadiamento, comprometimentos de linfonodos, receptores de estrogênio e de progesterona, receptor de fator de crescimento

epidérmico humano 2 (HER 2), Ki67, além do subtipo da doença.

A classificação histológica foi realizada usando o grau histológico de Nottingham e para o estadiamento dos tumores foi de acordo com o sistema de estadiamento TNM de câncer de mama.

Receptores de estrogênio (RE) e de progesterona (RP) foram considerados positivos quando mais de 1% das células foram positivamente coradas na imunohistoquímica (IHQ) e HER 2/neu foi considerado positivo quando na IHQ tinha 3+. Em caso de 2+, foi feito teste de Fish para mostrar a amplificação do genoma HER2/neu. O índice Ki67 foi considerado baixo ou negativo quando inferior a 14% e como alto ou positivo quando igual ou maior a esse valor.

De acordo com os diferentes fenótipos obtidos, são definidos cinco subtipos: luminal A (RE +, RP +, HER2 +, Ki67 < 14%), luminal B-HER2 negativo (RE + e/ou RP +, HER2 -, Ki-67% \geq 14%), luminal B-HER 2 positivo (RE + e/ou RP +, HER2 +, qualquer valor de ki67), triplo negativo (RE -, RP -, HER2 -) e HER superexpresso (RE -, RP -, HER2 +). Os tumores luminais têm sido associados a prognósticos mais favoráveis, enquanto os subtipos triplo negativo e superexpressão de HER2, a prognósticos mais reservados (CINTRA *et al*, 2012; SERRA *et al*, 2014).

4.6.5 Formulário

Os dados encontrados na entrevista pessoal, no exame físico, nos exames laboratoriais e no prontuário, foram anotados em formulário elaborado pelo pesquisador responsável (APÊNDICE A), tendo como variáveis: a presença do diagnóstico de câncer de mama, idade, *status* menopausal, paridade, histórico familiar, dosagem de 25(OH)D, a presença ou não de hipovitaminose D, HDL, triglicerídeos, glicemia de jejum, circunferência abdominal, pressão arterial, presença ou não de síndrome metabólica.

A partir dos dados do formulário preenchido foi possível relacionar os níveis séricos de vitamina D e a síndrome metabólica com as características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas do câncer de mama.

4.7 Análise dos dados

A partir dos dados obtidos com a pesquisa, os resultados foram expressos através de planilhas de Excel®. Os dados foram transportados para programa estatístico, que foram testados a hipótese, o SPSS®, versão 20.0. Utilizou-se o teste do qui-quadrado ou teste de Fisher quando aplicável.

Foi realizado teste t de student para comparação das concentrações de vitamina D. Modelos de regressão logística foram realizados para avaliar o risco de câncer de mama (desfecho), tendo vitamina D e síndrome metabólica como exposição. Considerou-se $p < 0,05$, como significante.

4.8 Aspectos éticos

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa e sua execução iniciou após aprovação pela referida comissão.

Antes da aplicação do formulário, cada paciente foi informada sobre a finalidade do estudo e, as que aceitaram participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B), atendendo às exigências da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que normatiza as pesquisas com seres humanos.

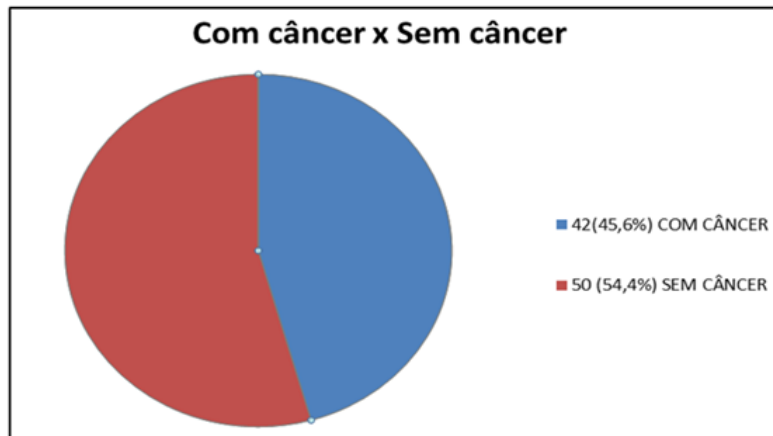
O estudo não acarretou malefícios ou comprometimento do bem-estar psicossocial dos seus participantes. As complicações na punção para coleta de sangue venoso, tais como dor, hematoma, punção arterial, lesão nervosa e infecção foram minimizadas, através de medidas preventivas.

Ocorreram benefícios às pacientes em relação a terem uma melhor avaliação: dos seus níveis de vitamina D, da pressão arterial e do seu estado metabólico, além de rapidez na liberação dos resultados dos exames laboratoriais. As pacientes que foram identificadas com síndrome metabólica e/ou deficiência de vitamina D, foi sugerido tratamento e o custo deste tratamento foi arcado pela mesma, sendo, apenas, os custos dos exames laboratoriais de responsabilidade do pesquisador. As pacientes sem câncer de mama que iniciaram o tratamento precoce tendem a diminuir os fatores de risco para desenvolver a doença e, nos casos das com câncer de mama, melhoraram sua saúde geral.

5 RESULTADOS

Participaram do estudo 92 mulheres, divididas em dois grupos: caso e controle. O grupo caso teve 42 (45,6%) mulheres diagnosticadas com câncer de mama e o grupo controle teve 50 (54,4%) mulheres que não tiveram câncer, com descrito no gráfico 1.

Gráfico 1- Distribuição das mulheres por grupo (caso ou controle).



Fonte: Próprio autor

Os fatores de risco para o câncer de mama estão dispostos na tabela 1.

A faixa etária das participantes deste estudo tinha entre 26 a 77 anos. A idade média das pacientes do grupo casos foi 53 anos, sendo 42,9% das mulheres com idade de 50 anos ou menos, e a idade média do grupo controle também foi de 53 anos, sendo 38% com idade abaixo ou igual 50 anos. Nenhuma diferença significativa ($p=0,636$) foi encontrada com relação idade entre os grupos caso e controle.

Em relação ao *status* menopausal, 50% das pacientes com câncer de mama estavam na menopausa. Maior parte das pacientes sem câncer estava na menopausa (64%). Nenhuma diferença significativa ($p=0,176$) foi encontrada com relação ao *status* menopausal entre os grupos.

A maioria das pacientes dos casos (95,2%) e do controle (98%) não tinham casos de história familiar de câncer de mama, também não mostrando diferença significativa entre os dois grupos ($p=0,590$).

Em relação à paridade, oito (19%) eram nulíparas nas mulheres com câncer de mama e sete (14%) no grupo controle. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as mulheres com câncer de mama e o grupo controle ($p=0,514$).

Tabela 1 – Distribuição dos fatores de risco para câncer de mama entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle).

| Variáveis | Controles (n=50) | Casos (n=42) | p* |
|--|-------------------------|---------------------|-----------|
| Idade | | | 0,636 |
| ≤ 50 anos | 19 (38,0%) | 18 (42,9%) | |
| > 50 anos | 31 (62,0%) | 24 (57,1%) | |
| Status menopausal | | | 0,176 |
| Pré | 18 (36,0%) | 21 (50,0%) | |
| Pós | 32 (64,0%) | 21 (50,0%) | |
| História familiar de câncer de mama | | | 0,590 |
| Não | 49 (98,0%) | 40 (95,2%) | |
| Sim | 1 (2,0%) | 2 (4,8%) | |
| Paridade | | | 0,514 |
| Nulípara | 7 (14,0%) | 8 (19,0%) | |
| Primípara ou Multípara | 43 (86,0%) | 34 (81,0%) | |

Fonte: Próprio autor

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores expressos em n(%).

p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

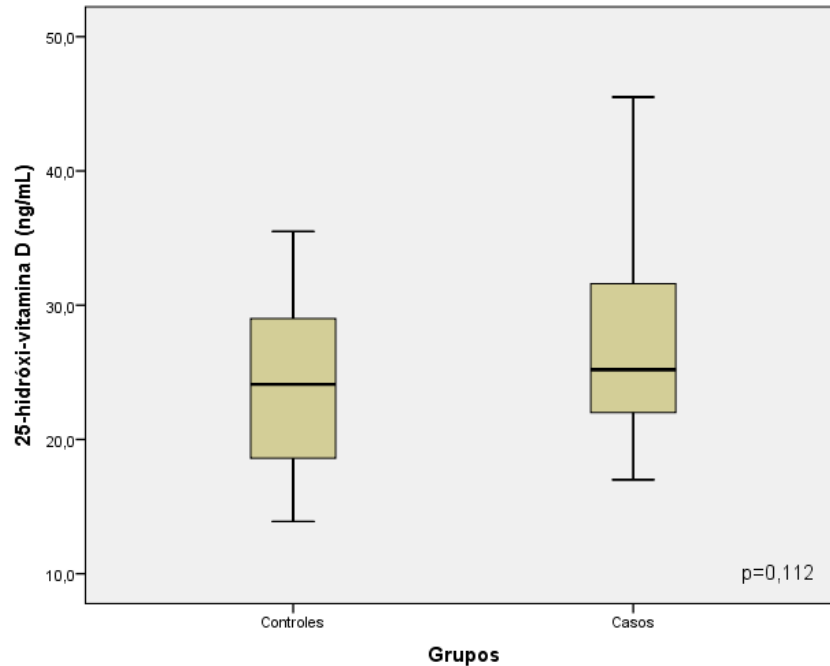
O nível médio de 25(OH)D e frequência de hipovitaminose D entre as mulheres com câncer de mama e mulheres sem câncer de mama são mostrados no Gráfico 2 e na Tabela 2.

No gráfico 2, percebe-se que os níveis de vitamina D foram discretamente mais baixos nas pacientes do grupo controle, com média de 24,1 ng/mL. As pacientes do grupo caso tiveram uma média dos níveis de vitamina D de 26,3 ng/mL, não encontrando diferença estatística entre os grupos (p=0,112).

Em relação a presença de hipovitaminose D, observa-se na tabela 2, que 46 % das mulheres sem câncer de mama tinham hipovitaminose D e 31% das mulheres do grupo caso apresentaram hipovitaminose D, mostrando assim que não houve significância estatística entre os grupos (p = 0,141).

Analisando os dados sobre síndrome metabólica, uma porcentagem maior foi encontrada em paciente com câncer de mama (64,3%) em relação às mulheres sem câncer de mama (62%), porém não encontrando significado estatístico entre estes achados (TABELA 3).

Gráfico 2 – Níveis de vitamina D entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle).



Fonte: Próprio autor.

* Teste de t student

$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo.

Tabela 2 – Distribuição da presença de hipovitaminose D entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle).

| Variáveis | Controles (n=50) | Casos (n=42) | p* |
|-------------------------------------|------------------|--------------|-------|
| Presença de hipovitaminose D | | | 0,141 |
| Não | 27 (54,0%) | 29 (69,0%) | |
| Sim | 23 (46,0%) | 13 (31,0%) | |

Fonte: Próprio autor.

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores expressos em n(%).

$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo.

Tabela 3 – Distribuição da presença de Síndrome Metabólica entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle).

| Variáveis | Controles (n=50) | Casos (n=42) | p* |
|----------------------------|------------------|--------------|-------|
| Síndrome Metabólica | | | 0,821 |
| Não | 19 (38,0%) | 15 (35,7%) | |
| Sim | 31 (62,0%) | 27 (64,3%) | |

Fonte: Próprio autor.

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores expressos em n(%).

$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo.

Em relação aos itens dos critérios diagnósticos para síndrome metabólica demonstrada na tabela 4, foram detectados que a maioria das participantes apresentou obesidade central, 90% nas mulheres dos casos e 88% das mulheres do controle. Sobre a glicemia, as pacientes com câncer de mama tiveram glicemia de jejum discretamente mais alto que as paciente sem câncer. Cerca de 50% das pacientes do grupo controle tiveram glicemia abaixo de 100 mg/dL, já as pacientes do grupo casos, 47,6% tiveram glicemia abaixo de 100 mg/dL.

Em relação aos triglicerídeos, 52% das pacientes do grupo controle tiveram triglicerídeos abaixo de 150 mg/dL e no grupo caso, 64,3% apresentaram triglicerídeos abaixo de 150 mg/dL.

Na avaliação do HDL, a maioria das mulheres apresentaram HDL igual ou abaixo de 50 mg/dL ou faziam tratamento para dislipidemia, sendo 62% das paciente sem câncer de mama e 76,2% das mulheres com câncer de mama.

Finalmente, em relação à pressão arterial, foi encontrado um percentual maior de paciente por PA elevado ou que faziam tratamento para hipertensão no grupo controle (68%) do que no grupo de casos (54,8%).

Não houve diferença estatística em relação à circunferência abdominal ($p=0,750$), glicemia plasmática ($p=0,542$), triglicerídeos ($p=0,235$), HDL ($p=0,144$) e pressão arterial ($p=0,193$) entre os grupos caso e controle.

Tabela 4 - Distribuição dos critérios diagnósticos da síndrome metabólica segundo IDF entre mulheres com câncer de mama (casos) e sem câncer de mama (controle).

| Variáveis | Controles (n=50) | Casos (n=42) | p* |
|--|------------------|--------------|-------|
| Circunferência abdominal | | | 0,750 |
| ≤ 80 cm | 6 (12,0%) | 4 (9,5%) | |
| > 80 cm | 44 (88,0%) | 38 (90,5%) | |
| Glicemia plasmática | | | 0,542 |
| < 100 mg/dL | 27 (54,0%) | 20 (47,6%) | |
| ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes | 23 (46,0%) | 22 (52,4%) | |
| Triglicerídeos | | | 0,235 |
| < 150 mg/dL | 26 (52,0%) | 27 (64,3%) | |
| ≥ 150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia | 24 (48,0%) | 15 (35,7%) | |
| HDL-C | | | 0,144 |
| > 50 mg/dL | 19 (38,0%) | 10 (23,8%) | |
| ≤ 50 mg/dL ou tratamento para dislipidemia | 31 (62,0%) | 32 (76,2%) | |
| Pressão Arterial | | | 0,193 |
| PS < 130 mmHg e PD < 85 mmHg | 16 (32,0%) | 19 (45,2%) | |
| PS ≥ 130 mmHg ou PD ≥ 85 mmHg ou tratamento para hipertensão | 34 (68,0%) | 23 (54,8%) | |

Fonte: Próprio autor.

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores expressos em n(%).

p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

Analisando somente as pacientes com câncer de mama, as características da doença em relação à presença ou não de hipovitaminose D e de Síndrome Metabólica, estão demonstradas nas tabelas 5 e 6, respectivamente.

Não foi observada diferença estatística entre a presença de hipovitaminose D e as características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes com câncer de mama, como mostrado na tabela 5.

A tabela 6 mostra que não houve diferença estatística entre a presença de síndrome metabólica e as características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes do grupo caso.

Tabela 5 - Distribuição das características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes com câncer de mama em relação à presença de hipovitaminose D.

| Variáveis | Sem hipovitaminose D (n=29) | Com hipovitaminose D (n=13) | p* |
|--|------------------------------------|------------------------------------|-----------|
| Tamanho do tumor | | | 0,282 |
| ≤ 5 cm | 19 (65,6%) | 11 (84,6%) | |
| > 5 cm | 10 (34,5%) | 2 (15,4%) | |
| Estágio | | | 0,562 |
| I | 5 (17,2%) | 4 (30,8%) | |
| II | 14 (48,3%) | 6 (46,2%) | |
| III | 10 (34,5%) | 3 (23,1%) | |
| Grau | | | 0,850 |
| 1 | 3 (10,3%) | 2 (15,4%) | |
| 2 | 20 (69,0%) | 9 (69,2%) | |
| 3 | 6 (20,7%) | 2 (15,4%) | |
| Linfonodo | | | 0,317 |
| Negativo | 13 (44,8%) | 8 (61,5%) | |
| Positivo | 16 (55,2%) | 5 (38,5%) | |
| Receptor de estrogênio | | | 0,398 |
| Negativo | 7 (24,1%) | 1 (7,7%) | |
| Positivo | 22 (75,9%) | 12 (92,3%) | |
| Receptor de progesterona | | | 0,303 |
| Negativo | 13 (44,8%) | 3 (23,1%) | |
| Positivo | 16 (55,2%) | 10 (76,9%) | |
| HER 2/neu | | | 1,000 |
| Negativo | 23 (79,3%) | 10 (76,9%) | |
| Positivo | 6 (20,7%) | 3 (23,1%) | |
| Ki 67 | | | 0,163 |
| Negativo | 8 (27,6%) | 7 (53,8%) | |
| Positivo | 21 (72,4%) | 6 (46,2%) | |
| Subtipo | | | 0,398 |
| Luminal A ou B | 22 (75,9%) | 12 (92,3%) | |
| Triplo negativo ou Her-2 superexpresso | 7 (24,1%) | 1 (7,7%) | |

Fonte: Próprio autor.

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores expressos em n(%).

p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

Tabela 6 – Distribuição das características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas pacientes com câncer de mama em relação à presença síndrome metabólica.

| Variáveis | Sem síndrome metabólica (n=15) | Com síndrome metabólica (n=27) | p* |
|--|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------|
| Tamanho do tumor | | | 0,078 |
| ≤ 5 cm | 8 (53,3%) | 22 (81,5%) | |
| > 5 cm | 7 (46,7%) | 5 (18,5%) | |
| Estágio | | | 0,239 |
| I | 2 (13,3%) | 7 (25,9%) | |
| II | 6 (40,0%) | 14 (51,9%) | |
| III | 7 (46,7%) | 6 (22,2%) | |
| Grau | | | 0,530 |
| 1 | 1 (6,7%) | 4 (14,8%) | |
| 2 | 10 (66,7%) | 19 (70,4%) | |
| 3 | 4 (26,7%) | 4 (14,8%) | |
| Linfonodo | | | 0,334 |
| Negativo | 6 (40,0%) | 15 (55,6%) | |
| Positivo | 9 (60,0%) | 12 (44,4%) | |
| Receptor de estrogênio | | | 0,425 |
| Negativo | 4 (26,7%) | 4 (14,8%) | |
| Positivo | 11 (73,3%) | 23 (85,2%) | |
| Receptor de progesterona | | | 0,394 |
| Negativo | 7 (46,7%) | 9 (33,3%) | |
| Positivo | 8 (53,3%) | 18 (66,7%) | |
| HER 2/neu | | | 0,866 |
| Negativo | 12 (80,0%) | 21 (77,8%) | |
| Positivo | 3 (20,0%) | 6 (22,2%) | |
| Ki 67 | | | 0,810 |
| Negativo | 5 (33,3%) | 10 (37,0%) | |
| Positivo | 10 (66,7%) | 17 (63,0%) | |
| Subtipo | | | 0,425 |
| Luminal A ou B | 11 (73,3%) | 23 (85,2) | |
| Triplo negativo ou Her-2 superexpresso | 4 (26,7%) | 4 (14,8%) | |

Fonte: Próprio autor.

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores expressos em n(%).

p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

Pode-se observar que a presença de hipovitaminose D e/ou de síndrome metabólica não tiveram significado estatístico em relação às características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas das pacientes com câncer de mama, como mostra na tabela 5 e 6, onde p encontrado foi maior que $p = 0,005$, em todas as variáveis.

Ao avaliar a relação dos níveis de vitamina D e da síndrome metabólica com o risco para câncer de mama, não encontramos associação entre eles, como demonstra as tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Associação da hipovitaminose D e/ ou síndrome metabólica com o risco para câncer de mama.

| Variáveis | Risco para câncer de mama* | |
|-------------------------------------|----------------------------|-------|
| | OR | P |
| Presença de hipovitaminose D | | |
| Não | Referência | |
| Sim | 1,07 | 0,789 |
| Síndrome Metabólica | | |
| Não | Referência | |
| Sim | 0,79 | 0,494 |

Fonte: Próprio autor

*Regressão logística

$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo.

Por fim, a relação dos marcadores prognósticos (estadiamento clínico e subtipos) do câncer de mama com os níveis séricos de vitamina D e com a síndrome metabólica não foi encontrada neste estudo, onde o p encontrado não foi estatisticamente significativo.

Tabela 8 – Interação entre hipovitaminose D e/ou síndrome metabólica com o risco de câncer de mama.

| Variáveis | Risco para câncer de mama* | |
|---|----------------------------|-------|
| | OR | P |
| Sem hipovitaminose D e sem Síndrome Metabólica | Referência | |
| Sem hipovitaminose D e com Síndrome Metabólica | 2,06 | 0,193 |
| Com hipovitaminose D e sem Síndrome Metabólica | 1,44 | 0,611 |
| Com hipovitaminose D e com Síndrome Metabólica | 0,59 | 0,405 |

Fonte: Próprio autor

*Regressão logística

p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

6 DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo realizado no interior do nordeste brasileiro, que contou com avaliação de 92 mulheres sobre a relação dos níveis séricos de vitamina D e da síndrome metabólica com o risco de câncer de mama e suas características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas.

A partir dos nossos resultados, observou-se que a minoria das mulheres tiveram níveis inadequados de vitamina D. Constatamos também que a hipovitaminose D não foi associada ao aumento de risco de câncer de mama.

Resultados semelhantes aos nossos, foram relatados no estudo de caso-controle de McCullough *et al* (2009), em que as concentrações séricas de 25(OH)D avaliadas em até seis anos antes do diagnóstico não foram associadas ao risco de câncer de mama na pós-menopausa. Outro estudo realizado por Vojdeman (2019) avaliou a associação dos níveis séricos de vitamina D e a incidência de câncer na atenção Primária de Saúde da Dinamarca e concluiu que não houve associação entre o aumento dos níveis de vitamina D no sangue e a redução na incidência de câncer de mama.

Em relação à suplementação de vitamina D com o câncer de mama, o estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo sobre vitamina D e o câncer de mama, descobriu que a suplementação de vitamina D não teve efeito na incidência do câncer de mama (CHLEBOWSKI *et al*, 2007). Em outro estudo, tanto a suplementação da vitamina D quanto os níveis basais de 25-hidroxivitamina D não foram associados a uma incidência menor de câncer invasivo de qualquer tipo, incluído o de mama (MANSON *et al*, 2019).

Em oposição aos nossos resultados, revisões de literatura observaram uma associação inversa entre o nível de 25(OH)D e o risco do câncer de mama (WU *et al*, 2017; SHAUKAT *et al*, 2017).

Estes achados mostram que a evidência da associação da vitamina D ao risco de câncer de mama permanece controversa e esta inconsistência entre os diferentes resultados dos estudos, pode estar relacionada com as diferenças de tamanhos da amostra, os fatores genético de cada população, a época do ano em que foi coletado o sangue, pois se sabe que os níveis séricos de 25(OH)D variam de acordo com a estação do ano e o país onde foi realizado o estudo.

Em nosso caso, o estudo foi realizado no Brasil que é um dos países localizados próximo da linha do Equador, região das maiores radiações solares durante a maior parte do

ano, e isto pode ter influenciado a incidência menor de hipovitaminose D nas pacientes do nosso estudo.

Sobre a síndrome metabólica, evidenciamos que ter a síndrome, ou qualquer um dos seus critérios individuais, não foi associado ao maior risco de câncer de mama.

O estudo de Bjorge *et al* (2010), realizado em três países, concluiu que a síndrome metabólica estava associada a um risco diminuído de câncer de mama em mulheres abaixo de 50 anos com índice de massa corpórea (IMC) elevado, mostrando também que não houve aumento do câncer de mama em relação à síndrome metabólica, mas o contrário.

Há outros estudos, porém, que discordam dos nossos resultados, em que encontraram que a presença de síndrome metabólica estava associada ao aumento de risco de câncer de mama, principalmente na pós-menopausa (AGNOLI *et al*, 2015; KABAT *et al*, 2017; WANI *et al*, 2017; DIBABA *et al*, 2018; XIANG *et al*, 2020)

Ao analisar os critérios individuais da síndrome metabólica, percebemos que apesar da maioria das participantes do nosso estudo tivesse obesidade abdominal, este achado não teve associação ao risco de câncer de mama, igual como os demais componentes da síndrome.

Semelhante ao que encontramos, um estudo realizado nos Estados Unidos, em mulheres negras, não sustentou a associação dos componentes individuais da síndrome metabólica com o risco de câncer de mama (BOSCO *et al*, 2012).

Resultados diferentes ao nosso estudo foi identificado em outras pesquisas como de Agnoli *et al* (2015), realizados em mulheres italianas, concluiu que entre os componentes da síndrome, a glicemia de jejum teve a mais forte associação com o câncer de mama. Em outra pesquisa, Dibaba *et al* (2018) identificou que o risco de câncer de mama elevou à medida que o número de componentes da síndrome metabólica aumentava. Outro estudo encontrou que a circunferência abdominal estava fortemente associada ao aumento do risco de câncer de mama na pré-menopausa, enquanto os outros fatores metabólicos não apresentaram significância estatística (XIANG *et al*, 2020). Este mesmo achado foi encontrado do estudo de Kabat *et al* (2017), que entre os componentes individuais da síndrome, o único associado ao risco de câncer de mama foi a circunferência abdominal.

Estes resultados conflitantes aos nossos, podem se dever ao pequeno número de estudos sobre o tema, principalmente na população brasileira, além do desenho do estudo (caso-controle), o tamanho da amostra e o grupo populacional estudado.

Em nossa avaliação, observamos que a presença de hipovitaminose D não teve associação com as características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas nas

pacientes com câncer de mama, portanto, não teve relação com o tamanho do tumor, estadiamento, grau histológico, acometimento linfonodal, receptores hormonais ou subtipo.

Nossos achados estão concordantes com alguns estudos, como em um estudo comparativo entre mulheres afro-americanas e hispânicas, que não observaram associação significativa do nível de 25(OH)D com o estágio e subtipo do tumor mamário entre as pacientes dos grupos (WU *et al*, 2017).

Achados diferentes a estes, foi encontrado em uma pesquisa de Thanasitthichai *et al* (2015), que baixos níveis de vitamina D estavam associados a estágio avançado, envolvimento nodal positivo e grandes tumores. No estudo de Ismail *et al* (2018), onde avaliou a deficiência de vitamina D no prognóstico do câncer de mama constatou que houve uma associação entre a deficiência de vitamina D a maior tamanho do tumor, maior grau, estágio mais avançado da doença, metástase nodais positivas e superexpressão de Her-2.

Em nosso estudo, a maioria das participantes foi classificada nos subtipos luminais A ou B, que apresentam melhores prognósticos, porém não houve associação significativa entre a vitamina D e os receptores hormonais e subtipos da doença.

No estudo de Estebanez *et al* (2018), também não percebeu diferenças significativas quando analisou a relação da vitamina D separadamente nos subtipos RE+ ou RE -. Da mesma forma, em um estudo realizado em mulheres caucasianas na menopausa, as concentrações séricas de 25(OH)D não foram significativamente associadas aos subtipos de câncer definidos com base no *status* RE/RP ou no estágio/ grau do tumor (MCCULLOUGH *et al*, 2009).

Em discordância ao nosso estudo, Kim *et al* (2011) estudou a associação entre a concentração sérica de vitamina D e o prognóstico do câncer de mama de acordo com os subtipos de câncer e encontrou que mulheres com câncer de mama do tipo luminal, a deficiência de vitamina D foi associada ao aumento de risco de recorrência.

Como se pode observar, o câncer de mama é uma doença heterogênea e a vitamina D poderia afetar alguns tipos de câncer de mama, justificando, assim, as diferenças de resultados entre os estudos. Pois, realmente, em relação aos receptores hormonais (RE+/RE-), que são os que classificam os subtipos da doença, a relação da vitamina D com o câncer de mama permanece controversa.

Por um lado, seria esperado um risco diminuído de desenvolver a doença nos cânceres de mama com receptor de estrogênio positivo, pois parece que a sensibilidade ao 1,25(OH)2D é geralmente relatada como sendo mais alta nas células de câncer de mama que expressão o RE do que naquelas que não o fazem. Demonstrou-se que o tratamento das

células de câncer de mama RE+ com 1,25(OH)₂D induz um desligamento do ciclo celular em G₀/G₁. Por outro lado, dois terços dos tumores triplos negativos expressam VDR e foi demonstrado que a expressão de VDR está inversamente associada ao câncer de mama mais agressivo (ESTEBANEZ *et al*, 2018).

Em nossas observações indentificamos que a presença de síndrome metabólica não teve significado estatístico em relação às características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas das pacientes com câncer de mama.

A síndrome metabólica, em nosso estudo, não foi associada ao tamanho do tumor, estadiamento, grau, acometimento linfonodal, receptores hormonais e subtipos do câncer de mama.

Este mesmo tema também foi investigado no estudo de Xiang *et al* (2020), que encontrou a associação de mulheres com fenótipo de obesidade hipertriglicêmicas com o risco de câncer de mama que tinham receptores RE+/RP+ ou RE-/RP-. No estudo de Dibaba *et al* (2018), mostrou que a síndrome metabólica estava associada a um risco menor em cânceres com receptor de estrogênio negativo em comparação com o câncer de mama receptor estrogênio positivo em mulheres americanas.

Por fim, concluímos que os níveis séricos de vitamina D e/ou a síndrome metabólica não interferiram no risco e em nem nas características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas do câncer de mama.

Certamente a principal limitação do nosso estudo foi o reduzido número de participantes e, portanto, é possível que o tamanho da amostra tenha influenciado nos resultados.

No entanto, nossos resultados acrescentam informações importantes para a literatura, pois acrescentamos mais pesquisas sobre a associação da vitamina D e da síndrome metabólica com o câncer de mama, principalmente ao investigar assuntos escassos, como a associação com os subtipos de câncer de mama. Além disso, o nosso estudo é significativo, pois é um dos poucos que compara associações entre vitamina D e síndrome metabólica com o câncer de mama entre mulheres brasileiras. Até onde sabemos, nosso estudo é o primeiro realizado em mulheres nordestinas.

7 CONCLUSÃO

Em nosso estudo, os níveis de vitamina D e a síndrome metabólica não foram associados ao risco de câncer de mama e não tiveram relação com suas características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas. Porém, pela limitado tamanho da amostra da população, estudos futuros com um maior número de participantes, são necessários para avaliar definitivamente estes resultados.

REFERÊNCIAS

ABESO. Diretriz Brasileira de Obesidade Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretriz Brasileira de Obesidade – 2016. Disponível: www.abeso.org.br/uploads/downloads/92/57fccc403e5da.pdf. Acesso em: 10 nov. 2018.

AGNOLI, Claudia *et al.* Metabolic Syndrome and Breast Cancer Risk: a case-cohort study nested in a multicentre italian cohort. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 1-12, 1 jun. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0128891>.

ATOUM, Manar; ALZOUGHLOO, Foad. Vitamin D and Breast Cancer: latest evidence and future steps. **Breast Cancer: Basic and Clinical Research**, [S.L.], v. 11, p. 1-8, jan. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1178223417749816>.

BJORGE, T. *et al.* Metabolic Syndrome and Breast Cancer in the Me-Can (Metabolic Syndrome and Cancer) Project. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, [S.L.], v. 19, n. 7, p. 1737-1745, 1 jul. 2010. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.epi-10-0230>.

BOSCO, Jaclyn L. F. *et al.* Cardiometabolic factors and breast cancer risk in U.S. black women. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 134, n. 3, p. 1247-1256, 19 jun. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-012-2131-4>.

CHLEBOWSKI, Rowan T. *et al.* Calcium Plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Breast Cancer. **Jnci: Journal of the National Cancer Institute**, [S.L.], v. 100, n. 22, p. 1581-1591, 19 nov. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/djn360>.

CINTRA, Jane Rocha Duarte *et al.* Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 58, n. 2, p. 178-187, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42302012000200013>.

COLDITZ, Graham *et al.* Breast cancer risk accumulation starts early: prevention must also. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 145, n. 3, p. 567-579, 13 maio

2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-014-2993-8>.

COSTA-SILVA, Danylo Rafael *et al.* Insulin-like growth factor 1 gene polymorphism in women with breast cancer. **Medical Oncology**, [S.L.], v. 34, n. 4, 17 mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12032-017-0915-4>.

DIBABA, Daniel *et al.* Metabolic Syndrome and the Risk of Breast Cancer and Subtypes by Race, Menopause and BMI. **Cancers**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 299-311, 1 set. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers10090299>.

ESTÉBANEZ, Nuria *et al.* Vitamin D exposure and Risk of Breast Cancer: a meta-analysis. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-11, 13 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-27297-1>.

IDF. The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome. International Diabetes Federation, 2006. Disponível em: <https://www.idf.org/component/attachments/attachments.html?id=705>. Acesso em: 21 nov. 2018.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde - 2020. Disponível: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>. Acesso em: 7 mar. 2020.

ISMAIL, Abeer *et al.* Prognostic Significance of Serum Vitamin D Levels in Egyptian Females with Breast Cancer. **Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 571-576, fev. 2018. West Asia Organization for Cancer Prevention (WAOCP). <http://dx.doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.2.571>.

KABAT, Geoffrey C. *et al.* Metabolic Obesity Phenotypes and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, [S.L.], v. 26, n. 12, p. 1730-1735, 22 set. 2017. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.epi-17-0495>.

KIM, Hee Jeong *et al.* Vitamin D Deficiency is Correlated with Poor Outcomes in Patients with Luminal-type Breast Cancer. **Annals Of Surgical Oncology**, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 1830-

1836, 14 dez. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-010-1465-6>.

KIM, Y; JE, Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. **British Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 110, n. 11, p. 2772-2784, 8 abr. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2014.175>.

LA PUENTE-YAGÜE, Miriam de *et al.* Vitamin D: and its role in breast cancer. **The Kaohsiung Journal Of Medical Sciences**, [S.L.], v. 34, n. 8, p. 423-427, ago. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.kjms.2018.03.004>.

LI, Peiting *et al.* Association between metabolic syndrome and prognosis of breast cancer: a meta-analysis of follow-up studies. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-12, 29 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13098-019-0514-y>.

MALACHIAS, M.V.B.; *et al.* 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.107,n.3, set. 2016.

MANSON, Joann E. *et al.* Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 380, n. 1, p. 33-44, 3 jan. 2019. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1809944>.

MCCULLOUGH, Marjorie L *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and postmenopausal breast cancer risk: a nested case control study in the cancer prevention study-ii nutrition cohort. **Breast Cancer Research**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1-9, ago. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/bcr2356>.

MICHAEL, Baumann *et al.* Vitamin D levels in Swiss breast cancer survivors. **Swiss Medical Weekly**, [S.L.], v. 148, n. 34, p. 1-12, 16 jan. 2018. EMH Swiss Medical Publishers, Ltd.. <http://dx.doi.org/10.4414/smw.2018.14576>.

O'BRIEN, Katie M. *et al.* Serum Vitamin D and Risk of Breast Cancer within Five Years. **Environmental Health Perspectives**, [S.L.], v. 125, n. 7, p. 1-9, 24 jul. 2017.

Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp943>.

SBEM. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Vitamina D: novos valores de referência. 2017. Disponível: <https://www.endocrino.org.br/vitamina-d-novos-valores-de-referencia/>. Acesso em: 18 jan. 2020.

SEDIYAMA, Catarina Maria Oliveira *et al.* Lifestyle and vitamin D dosage in women with breast câncer. **Nutrición Hospitalaria**, [S.L.] v.33, n.5, p.1179-1186, 26 de set. 2016. ARAN Ediciones. <http://dx.doi.org/10.20960/nh.584>.

SERRA, Katia Piton *et al.* Nova classificação dos carcinomas da mama: procurando o luminal a. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, [S.L.], v. 36, n. 12, p. 575-580, dez. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/so100-720320140005158>.

SHAUKAT, Noureen *et al.* Association between vitamin D deficiency and breast cancer. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, [S.L.], v.33.n.3, p.645-649, 2 jun. 2017. Pakistan Journal of Medical Sciences. <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.333.11753>.

SILVA, Joana *et al.* Vitamina D e cancro: dos mecanismos biológicos à utilidade terapêutica. **Associação Portuguesa de Nutrição**, [S.L.], n.12, p.32-37, 2018. <http://dx.doi.org/10.21011/apn.2018.1206>.

SONG, Dingli *et al.* Vitamin D intake, blood vitamin D levels, and the risk of breast cancer: a dose- response meta-analysis of observational studies. **Aging**, [S.L.], v.11, n.24, p.12708-12732, 2019.

THANASITTHICHAI, Somchai *et al.* Association of Vitamin D Level with Clinicopathological Features in Breast Cancer. **Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention**, [S.L.], v. 16, n. 12, p. 4881-4883, 13 jul. 2015. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. <http://dx.doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.12.4881>.

VIALA, Marie *et al.* Impact of vitamin D on pathological complete response and survival following neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a retrospective study. **Bmc Cancer**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-11, 30 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1186/s12885-018-4686-x>.

VOJDEMAN, Fie Juhl *et al.* Vitamin D levels and cancer incidence in 217,244 individuals from primary health care in Denmark. **International Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 145, n. 2, p. 338-346, 20 jan. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.32105>.

XIANG, Yujuan *et al.* Metabolic Syndrome, and Particularly the Hypertriglyceridemic-Waist Phenotype, Increases Breast Cancer Risk, and Adiponectin Is a Potential Mechanism: a case-control study in chinese women. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 10, p. 1-12, 21 jan. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2019.00905>.

WANI, Burhan *et al.* Metabolic syndrome and breast cancer risk. **Indian Journal Of Medical And Paediatric Oncology**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 434-439, 2017. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo_168_16.

WU, Yanyuan *et al.* Association of Vitamin D3 Level with Breast Cancer Risk and Prognosis in African-American and Hispanic Women. **Cancers**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 144-156, 24 out. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers9100144>.

FORMULÁRIO

Nº: _____

DATA: ___/___/___

NOME: _____ TEL1 _____

PRONTUÁRIO: _____ TEL2 _____

1. Câncer de mama:
 - a. sim
 - b. não

NÍVEL DE VITAMINA D

2. Níveis de Vitamina D (25(OH)VitD): _____

3. Presença de hipovitaminose D:
 - a. sim
 - b. não

VARIÁVEIS

4. Idade: _____
 - a. Abaixo ou igual a 50 anos
 - b. Acima de 50 anos
5. Status menopausal:
 - a. Antes da menopausa
 - b. Após menopausa
6. História familiar de câncer de mama:
 - a. Não
 - b. Sim
7. Paridade _____
 - a. < 1 (Nulípara)
 - b. ≥ 1 (Primípara ou múltípara)

CRITÉRIOS PARA SÍNDROME METABÓLICA SEGUNDO OS CRITÉRIOS DE
IDF

8. Circunferência abdominal: _____
a. () Abaixo ou igual a 80 cm
b. () Acima de 80 cm
9. Glicemia plasmática: _____
a. () Abaixo de 100 mg/dL
b. () Igual ou acima de 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes
10. Triglicerídeos: _____
a. () Abaixo de 150 mg/dL
b. () Igual ou acima de 150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia
11. HDL: _____
a. () Acima de 50 mg/dL
b. () Igual ou abaixo de 50 mg/dL ou tratamento para dislipidemia
12. Pressão Arterial: _____
a. () PS < 130 mmHg e PD < 85 mmHg
b. () PS \geq 130 mmHg ou PD \geq 85 mmHg ou tratamento para hipertensão
13. Síndrome Metabólica:
a. () Sim
b. () Não

CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS DA DOENÇA

14. Tamanho do tumor: _____
a. Abaixo ou igual 5 cm
b. Acima de 5 cm
15. Estágio: _____
a. I
b. II
c. III
16. Grau: _____
a. 1
b. 2
c. 3
17. Linfonodo:
a. positivo
b. negativo
18. Receptor de estrogênio:
a. positivo
b. negativo
19. Receptor de progesterona:
a. positivo
b. negativo
20. HER 2/neu:
a. positivo
b. negativo
21. Ki 67:
a. positivo
b. negativo
22. Subtipo:
a. Luminal A ou B
b. Triplo negativo ou Her-2 superexpresso

ANEXO A – CRITÉRIOS DE SÍNDROME METABOLICA DO IDF

| Síndrome metabólica: critérios diagnósticos (IDF) | | |
|---|----------|----------|
| Obesidade central (circunferência abdominal), de acordo com os seguintes parâmetros étnicos: | | |
| Europa | ≥ 94 (H) | ≥ 80 (M) |
| América do Sul e Central | ≥ 90 (H) | ≥ 80 (M) |
| China | ≥ 90 (H) | ≥ 80 (M) |
| Japão | ≥ 85 (H) | ≥ 90 (M) |
| África subsaariana e Oriente Médio usam parâmetros europeus; Américas do Sul e Central seguem parâmetros do Sudoeste Asiático | | |
| Associado a dois ou mais dos seguintes fatores de risco: | | |
| Triglicérides ≥ 150 mg/dl ou tratamento específico | | |
| HDL-colesterol < 40 mg/dl (H) ou tratamento específico | | |
| HDL-colesterol < 50 mg/dl (M) ou tratamento específico | | |
| Pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg ou pressão arterial diastólica ≥ 85 mmHg ou tratamento específico | | |
| Glicemia de jejum ≥ 100 mg/dl ou DM2, previamente diagnosticado. Se acima de 100 mg/dl, TOTG é fortemente recomendado, embora não seja necessário para definir a presença de SM | | |

Fonte: <http://www.misodor.com/DIABET.html>

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PACIENTES SEM NEOPLASIA DE MAMA

Você está sendo convidada a participar de uma pesquisa intitulada: **“Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama”** realizado pela Universidade Federal do Ceará, campus Sobral, sob a responsabilidade de Eveline Maria Aragão Fernandes. Esta pesquisa tem como finalidade a realização da Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde.

Objetiva-se pesquisar a presença de deficiência de vitamina D e estimar a prevalência da síndrome metabólica em mulheres com câncer de mama e sem doença mamária. O estudo com estas pacientes justifica-se pelo fato de serem portadoras de um dos cânceres mais prevalentes e, portanto, caso de interesse para pesquisa.

O procedimento adotado nesta pesquisa é aplicação de um formulário com 13 itens, entre eles, sobre dosagem de vitamina D, fatores de risco para câncer de mama e avaliação para síndrome metabólica em mulheres atendidas no ambulatório de ginecologia geral da Santa Casa de Misericórdia de Sobral, no período de 1º de maio de 2019 a 31 de março de 2020.

O estudo não acarretará malefícios do seu bem-estar psicossocial, porém poderá causar complicações na punção para coleta de sangue venoso, tais como dor, hematoma, punção arterial, lesão nervosa e infecção, as quais tentarão ser minimizadas, através da prevenção.

A dor é de baixa intensidade e suportável, porém, você será tranquilizado antes da coleta, e isto auxiliará no seu relaxamento, tornando o procedimento menos doloroso. O local da punção será secado, caso tenha sido utilizado o álcool na antisepsia, fato que diminuirá a sensação dolorosa.

O hematoma é o extravasamento do sangue debaixo da pele e que causa o aparecimento de uma coloração azul no local da punção. Para prevenir o hematoma será tentando perfurar apenas a parede superior da veia, remover o garrote antes de remover a agulha, certificar-se de que a agulha penetrou completamente a parede da veia, pois a penetração parcial é causa de hematoma. Se caso seja percebido hematoma será retirado a agulha e garrote e aplicado pressão no local por 3 minutos.

Punção arterial é percebida se o sangue vermelho brilhante preencher os tubos de coleta rapidamente. Para prevenir isto, a escolha adequada do local da punção será tentada, evitando, assim, punção venosa profunda. Se caso acontecer a punção acidental da artéria,

será aplicado uma bandagem para garantir a homeostasia e o você será orientado manter o curativo por uma hora e não usar o braço para levantar objetos pesados.

Os nervos são próximos as veias e as artérias e há risco de ser perfurado durante a coleta. Para prevenir, será feita uma palpação cuidadosa e será aplicado um ângulo adequado de entrada do bisel. Se ocorrer a lesão, o colhedor removerá imediatamente a agulha do seu braço e pressionará o local.

Para minimizar a infecção, será realizada a antissepsia do local da punção e desinfecção das mãos do profissional e será usado material estéril.

Ocorrerão benefícios à você em relação a ter uma melhor avaliação dos seus níveis de vitamina D, pressão arterial e do seu estado metabólico, além de rapidez na liberação dos resultados dos exames. Caso seja diagnosticado síndrome metabólica e/ou deficiência de vitamina D, será sugerido tratamento precoce e assim, diminuirão os fatores de risco para desenvolver câncer de mama.

Em qualquer época da pesquisa, você tem acesso ao pesquisador responsável, Eveline Maria Aragão Fernandes, na Rua Antônio Crisóstomo de Melo, nº 919, Bairro Centro, Sobral-CE, CEP: 62010-550, telefone: (88) 3112-0400, email: eveline_fernandes_@hotmail.com, e ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Vale do Acaraú, na Av. Comandante Maurocélvio Rocha Pontes, nº 150, Campus Derby, telefone:(88) 3677- 4255, para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Fica garantido que seus dados confidenciais ficarão em sigilo e que você tem o direito de recusar-se a continuar como participante da pesquisa a qualquer tempo.

Eveline Maria Aragão Fernandes

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMATIVO

Eu, _____,
matriculada na Santa Casa de Misericórdia de Sobral com número _____,
concordo em participar como sujeito de pesquisa no projeto intitulado “**Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama**”, que tem como pesquisador principal Eveline Maria Aragão Fernandes. Declaro que tive conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o projeto de pesquisa **Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama**, tudo em conformidade com o estabelecido na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde. Declaro, ainda, que discuti com o pesquisador sobre a minha decisão em participar deste estudo como sujeito de pesquisa e sobre a possibilidade de a qualquer momento (antes ou durante a mesma) recusar-me a continuar a participar da pesquisa em referência, sem penalidade e/ou prejuízos, retirando o meu consentimento. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do projeto de pesquisa, os procedimentos que serão realizados, a ausência (e ou presença) de riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso à pesquisa em qualquer tempo. Concordo, **voluntariamente**, em participar deste projeto de pesquisa, assinando este documento.

Sobral (CE), _____ de _____ de _____.

Nome e Assinatura da paciente

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PACIENTES COM NEOPLASIA DE MAMA

Você está sendo convidada a participar de uma pesquisa intitulada: **“Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama”** realizado pela Universidade Federal do Ceará, campus Sobral, sob a responsabilidade de Eveline Maria Aragão Fernandes. Esta pesquisa tem como finalidade a realização da Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde.

Objetiva-se nesta pesquisa avaliar presença de deficiência de vitamina D e estimar a prevalência da síndrome metabólica em mulheres com câncer de mama. O estudo com estas pacientes justifica-se pelo fato de serem portadoras de um dos cânceres mais prevalentes e, portanto, caso de interesse para pesquisa.

O procedimento adotado nesta pesquisa é aplicação de um formulário com 22 itens, entre eles, sobre dosagem de vitamina D, fatores de risco para câncer de mama e avaliação para síndrome metabólica e características patológicas da doença em mulheres atendidas no ambulatório de mastologia da Santa Casa de Misericórdia de Sobral, no período de 1º de maio de 2019 a 31 de março de 2020.

O estudo não acarretará malefícios do seu bem-estar psicossocial, porém poderá causar complicações na punção para coleta de sangue venoso, tais como dor, hematoma, punção arterial, lesão nervosa e infecção, as quais tentarão ser minimizadas, através da prevenção.

A dor é de baixa intensidade e suportável, porém, você será tranquilizado antes da coleta, e isto auxiliará no seu relaxamento, tornando o procedimento menos doloroso. O local da punção será secado, caso tenha sido utilizado o álcool na antisepsia, fato que diminuirá a sensação dolorosa.

O hematoma é o extravasamento do sangue debaixo da pele e que causa o aparecimento de uma coloração azul no local da punção. Para prevenir o hematoma será tentando perfurar apenas a parede superior da veia, remover o garrote antes de remover a agulha, certificar-se de que a agulha penetrou completamente a parede da veia, pois a penetração parcial é causa de hematoma. Se caso seja percebido hematoma será retirado a agulha e garrote e aplicado pressão no local por 3 minutos.

Punção arterial é percebida se o sangue vermelho brilhante preencher os tubos de coleta rapidamente. Para prevenir isto, a escolha adequada do local da punção será tentada, evitando, assim, punção venosa profunda. Se caso acontecer punção acidental da artéria,

será aplicado uma bandagem para garantir a homeostasia e você será orientada manter o curativo por uma hora e não usar o braço para levantar objetos pesados.

Os nervos são próximos as veias e artérias e há risco de ser perfurado durante a coleta. Para prevenir, será feita uma palpação cuidadosa e será aplicado um ângulo adequado de entrada do bisel. Se ocorrer a lesão, o colhedor removerá imediatamente a agulha do seu braço e pressionará o local.

Para minimizar a infecção, será realizada a antissepsia do local da punção e desinfecção das mãos do profissional e será usado material estéril.

Ocorrerão benefícios à você em relação a ter uma melhor avaliação: dos seus níveis de vitamina D, pressão arterial e do seu estado metabólico, além de rapidez na liberação dos resultados dos exames laboratoriais. Caso seja diagnosticado síndrome metabólica e/ou deficiência de vitamina D, será sugerido tratamento e assim, melhorarão a saúde destas mulheres.

Em qualquer época da pesquisa, você tem acesso ao pesquisador responsável, Eveline Maria Aragão Fernandes, na Rua Antônio Crisóstomo de Melo, nº 919, Bairro Centro, Sobral-CE, CEP: 62010-550, telefone: (88) 3112-0400, email: eveline_fernandes_@hotmail.com, e ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Vale do Acaraú, na Av. Comandante Maurocélvio Rocha Pontes, nº 150, Campus Derby, telefone:(88) 3677- 4255, para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Fica garantido que seus dados confidenciais ficarão em sigilo e que você tem o direito de recusar-se a continuar como participante da pesquisa a qualquer tempo.

Eveline Maria Aragão Fernandes

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMATIVO

Eu, _____,
matriculada na Santa Casa de Misericórdia de Sobral com número _____,
concordo em participar como sujeito de pesquisa no projeto intitulado “**Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama**”, que tem como pesquisador principal Eveline Maria Aragão Fernandes. Declaro que tive conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o projeto de pesquisa **Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama**, tudo em conformidade com o estabelecido na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde. Declaro, ainda, que discuti com o pesquisador sobre a minha decisão em participar deste estudo como sujeito de pesquisa e sobre a possibilidade de a qualquer momento (antes ou durante a mesma) recusar-me a continuar a participar da pesquisa em referência, sem penalidade e/ou prejuízos, retirando o meu consentimento. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do projeto de pesquisa, os procedimentos que serão realizados, a ausência (e ou presença) de riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso à pesquisa em qualquer tempo. Concordo, **voluntariamente**, em participar deste projeto de pesquisa, assinando este documento.

Sobral (CE), _____ de _____ de _____.

Nome e Assinatura da paciente

ANEXO C - TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO**TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO/ TERMO DE
COMPROMISSO PARA USO DE DADOS EM ARQUIVO**

Eu, Francisco Sávio Alves Arcaño, fiel depositário da base de dados documentais da Santa Casa de Misericórdia de Sobral, situado na cidade de Sobral, estado do Ceará, declaro que a pesquisadora Eveline Maria Aragão Fernandes, portadora do documento de identidade de nº 2002031009384, está autorizada a realizar nesta instituição, após autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Vale do Acaraú, o projeto de pesquisa intitulado: “Papel dos níveis séricos de vitamina D e da Síndrome Metabólica e o risco de câncer de mama”.

Ressalto que estou ciente de que serão garantidos os direitos, dentre outros assegurados pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, de:

- 1) Garantia de confidencialidade do anonimato e da não utilização das informações em prejuízo dos outros.
- 2) Emprego dos dados somente para fins previstos nesta pesquisa.
- 3) Retorno dos benefícios obtidos por meio deste estudo para as pessoas e a comunidade onde o mesmo foi realizado.

Informo-lhe ainda, que a pesquisa somente será iniciada após a aprovação, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Vale do Acaraú, para garantir a todos os envolvidos os referenciais básicos da bioética, isto é, autonomia, não maleficência, benevolência e justiça.

Assinatura do Responsável (cargo)