



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

Tesi Doctoral

L'estrès oxidatiu, la dieta i els paràmetres antropomètrics de les pacients amb càncer de mama en tractament adjuvant

Gemma Viñas Villaró · 2017





**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Universitat Autònoma de Barcelona
Departament de Medicina
Facultat de Medicina

Programa de Doctorat en Medicina

TESI DOCTORAL

**L'estrès oxidatiu, la dieta i els paràmetres
antropomètrics de les pacients amb càncer de
mama en tractament adjuvant**

Director: Rut Porta i Balanyà

Tutor: Rafael Rossell i Costa

Gemma Viñas Villaró

Girona, 2017

La Dra. Rut Porta i Balanyà, professora de la Universitat de Girona i oncòloga mèdica a l'Institut Català d'Oncologia

Certifica que:

La tesi amb el títol "L'estrès oxidatiu, la dieta i els paràmetres antropomètrics de les pacients amb càncer de mama en tractament adjuvant", presentada per la Gemma Viñas Villaró ha estat elaborada sota la meva supervisió i compleix tots els requeriments per ser dipositada.

Girona, a 1 de Juny de 2017

Rut Porta i Balanyà

*Als meus pares,
per ser-hi sempre*

Agraïments

Voldria donar les gràcies...

...als meus mestres, el Dr.Àngel Vinyes-Miralpeix, metge internista, qui em va ensenyar que ser metge vol dir estar al costat del malalt; el Dr.Joan Dorca de qui continuo aprenent cada dia.

...al meu primer cap de servei, el Dr.Ramón Colomer per mostrar-me una nova visió més amplia i moderna de l'oncologia.

...als meus companys de l'Institut Català d'Oncologia. En especial als doctors, Raquel Guardeso, Jordi Rubió i Pilar Barretina, que amb la seva feina han permès que pogués acabar aquest projecte; al Dr.Àngel Izquierdo pel seu punt de vista sempre crític i reflexiu.

...al Dr.Joan Brunet, el meu cap de servei, per empènyer-me a fer aquesta tesi.

...als companys del grup de recerca TargetsLab, la Sònia Palomeras, la Dra. Ariadna Giró i la Dra.Teresa Puig, per poder formar part dels seus projectes i aprendre d'elles.

...a la Dra.Maria Buxó, pel seu recolzament en la part estadística, sense ella aquesta tesi ben segur que no hauria estat possible.

...a la Dra.Rut Porta, per deixar-me participar d'aquest projecte i ajudar-me a obtenir-ne els seus fruits.

...a les meves pacients, la Purificació, la Mercè, l'Anna, la Marta, la Sònia, l'Encarnació, la Montse, la Valèria, la Pepa, la Carme, la Judit...i molts altres noms propis, haver pogut formar part de les seves vides ha estat un veritable privilegi.

...al tiet Lluís, en Jellis, els avis, en Josep, per alegrar-se'n sempre dels meus petits progressos, a cada pas endavant els sento al meu costat.

...a la meva família, en Martí, pel suport logístic, i sobretot pel llarg camí junts ple de bons moments; a la Nora, per donar-me ànims i recordar-me aquella frase que li dic sovint "*l'important és esforçar-se i intentar-ho*"; a en Miquel, per les seves abraçades que curen tots els mals.

Sumari

| | |
|---|------|
| Abreviatures | ii |
| Índex de taules i figures | iv |
| | |
| Justificació | viii |
| | |
| Introducció | 1 |
| | |
| Càncer de mama | 2 |
| 1. Epidemiologia del càncer de mama | 2 |
| 2. Factors de risc del càncer de mama | 3 |
| 2.1. Factors reproductius i hormonals | 4 |
| 2.2. Factors genètics | 5 |
| 2.3. Factors ambientals: radiacions ionitzants i tabac | 6 |
| 2.4. Estil de vida: exercici, obesitat i dieta | 6 |
| 3. Classificació patològica del càncer de mama | 10 |
| 4. Factors pronòstics clínics i patològics del càncer de mama | 10 |
| 4.1. Invasió ganglionar axil·lar | 11 |
| 4.2. Mida tumoral | 11 |
| 4.3. Tipus i grau histològic | 11 |
| 4.4. Invasió vascular i limfàtica tumoral | 12 |
| 4.5. Receptors hormonals | 12 |
| 4.6. HER2 | 13 |
| 4.7. Índex proliferatiu Ki67 | 13 |
| 4.8. Edat de la pacient | 14 |
| 5. Subtipus moleculars de càncer de mama | 14 |
| 6. Història natural i manifestacions clíniques del càncer de mama | 15 |
| 7. Diagnòstic i estadis del càncer de mama | 16 |

| | |
|--|-----------|
| 8. Tractament del càncer de mama localitzat | 18 |
| 8.1. Tractament quirúrgic | 18 |
| 8.2. Tractament adjuvant | 19 |
| 8.2.1. Generalitats | 20 |
| 8.2.2. Quimioteràpia adjuvant | 20 |
| 8.2.2.1. Toxicitat de la quimioteràpia | 21 |
| 8.2.3. Teràpies dirigides | 22 |
| 8.2.3.1. Toxicitat de les teràpies dirigides | 22 |
| 8.2.4. Tractament hormonal | 23 |
| 8.2.4.1. Toxicitat del tractament hormonal | 23 |
| 8.2.5. Radioteràpia | 24 |
| 8.2.5.1. Toxicitat a la radioteràpia | 25 |
| | |
| Dieta i càncer de mama | 26 |
| 1. Generalitats | 26 |
| 2. Disseny dels estudis | 26 |
| 3. Mètodes de mesura de la dieta | 27 |
| 3.1. Mètodes de mesura de la dieta en els estudis epidemiològics | 27 |
| 3.1.1. Mètodes de mesura de la dieta objectius | 27 |
| 3.1.2. Mètodes de mesura de la dieta subjectius | 28 |
| 3.2. Biomarcadors | 30 |
| 4. Factors dietètics i risc de càncer de mama | 31 |
| 4.1. Carbohidrats | 31 |
| 4.2. Carn vermella i menjar processat | 32 |
| 4.3. Fruïtes i Verdures | 32 |
| 4.4. Vitamines i suplementos dietètics | 33 |
| 4.4.1. Vitamina D | 33 |

| | |
|--|-----------|
| 4.5. Alcohol | 34 |
| 4.6. Àcids grassos | 35 |
| 4.6.1. Mecanismes que relacionen àcid grassos amb al càncer | 35 |
| 4.6.2. Tipus d'estudi | 37 |
| 4.6.3. Tipus d'àcid gras | 38 |
| 5. Estil de vida i pronòstic de càncer de mama: dieta, obesitat i exercici físic | 39 |
| 5.1. Dieta | 39 |
| 5.2. Obesitat | 42 |
| 5.3. Exercici físic | 42 |
| Estrès oxidatiu i càncer de mama | 43 |
| 1. Concepte d'estrès oxidatiu | 43 |
| 2. Espècies reactives d'oxigen | 44 |
| 2.1. Fonts de radicals lliures | 45 |
| 3. Dany oxidatiu a les biomolècules | 46 |
| 3.1. Peroxidació de lípids | 46 |
| 3.2. Oxidació de proteïnes | 47 |
| 3.3. Oxidació de l'ADN | 47 |
| 4. Dany oxidatiu induït pel càncer | 48 |
| 5. Dany oxidatiu induït pels tractaments oncològics | 49 |
| 6. Sistema antioxidant | 50 |
| 6.1. Capacitat antioxidant total | 51 |
| 6.2. Compostos no enzimàtics | 51 |
| 6.2.1. Vitamines..... | 51 |
| 6.2.2. Coenzima Q..... | 52 |
| 6.3. Enzims antioxidants | 53 |

| | |
|--|----|
| Sintasa d'àcids grassos i càncer de mama | 54 |
| Hipòtesi | 56 |
| Objectius | 58 |
| Material i Mètodes | 60 |
| Resultats | 73 |
| 1. Característiques clíniques i patològiques de les pacients | 74 |
| 2. Comparativa dels nivells d'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant entre les pacients amb càncer de mama i els controls | 76 |
| 3. Comparativa dels paràmetres relacionats amb l'estil de vida entre les pacients amb càncer de mama i els controls | 77 |
| 3.1. Anàlisi de l'hàbit tabàquic i les variables ginecològiques de les pacients i els control..... | 77 |
| 3.2. Anàlisi de la ingesta de nutrients de les pacients i els controls | 77 |
| 3.3. Anàlisi dels paràmetres antropomètrics i l'exercici físic de les pacients respecte els controls | 80 |
| 4. Estudi de l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama | 82 |
| 4.1. Canvis en l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama en tractament adjuvant | 82 |
| 4.2. Canvis en l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant de les pacients amb càncer de mama en tractament amb quimioteràpia adjuvant | 84 |

| | |
|---|-----|
| 5. Impacte del tractament adjuvant en la dieta de les pacients amb càncer de mama | 90 |
| 5.1. Canvis en la dieta després del tractament adjuvant | 90 |
| 5.2. Canvis en la dieta durant la quimioteràpia | 91 |
| 6. Impacte del tractament en els paràmetres antropomètrics i l'estil de vida de les pacients amb càncer de mama | 95 |
| 6.1. Canvis en els paràmetres antropomètrics i d'estil de vida durant tractament adjuvant | 95 |
| 6.2. Canvis en els paràmetres antropomètrics i d'estil de vida durant el tractament de quimioteràpia | 96 |
| 7. Evolució de la dieta i l'estrès oxidatiu durant el tractament de quimioteràpia | 99 |
| 7.1. Antioxidants dietètics i capacitat antioxidant | 99 |
| 7.2. Antioxidants dietètics i estrès oxidatiu | 100 |
| 8. Expressió de FAS i relació amb les variables clíniques i patològiques | 104 |
| 9. Anàlisi de la supervivència lliure de malaltia i supervivència global | 104 |

| | |
|------------------------|-----|
| Discussió | 107 |
|------------------------|-----|

| | |
|--------------------------|-----|
| Conclusions | 123 |
|--------------------------|-----|

| | |
|--------------------------|-----|
| Referències | 125 |
|--------------------------|-----|

| | |
|--------------------|-----|
| Annex | 149 |
|--------------------|-----|

Consentiment informat

Qüestionaris de freqüència dietètica i estil de vida

Articles relacionats

Abreviatures

| | |
|-------|--|
| ABTS | Radical catiónic 2,2'-azinobis-(àcid-3-etilbenzotazolino-6-sulfònic) |
| AC | Adriamicina i ciclofosfamida |
| ADN | Àcid desoxiribonucleic |
| CA | Absorbància corregida |
| CAT | Capacitat antioxidant total |
| CATA | Catalasa |
| CDI | Carcinoma ductal infiltrant |
| CLI | Carcinoma lobulillar infiltrant |
| CMF | Ciclofosfamida, metrotrexate, fluoruracil |
| D | Docetaxel |
| DC | Densitat corporal |
| DE | Desviació estàndard |
| DO | Densitat òptica |
| ECOG | de l'anglès, Eastern Cooperative Oncologic Group |
| ERO | Espècies reactives d'oxigen |
| FAC | Fluoruracil, adriamicina, ciclofosfamida |
| FASN | Sintasa d'àcids grassos |
| FEC | Fluoruracil, epirrubicna, ciclofosfamida |
| FISH | de l'anglès fluorescent in situ hybridization |
| GPx | Glutation peroxidasa |
| SOD | Superòxid dismutasa |
| HR | Hazard ratio |
| HER-2 | Receptor 2 del factor de creixement epidèrmic |
| IC | Interval de confiança |
| IHC | Immunohistoquímica |
| IMC | Índex de masa corporal |
| OMT | Olive Tail Moment |
| RE | Receptor d'estrògen |
| RP | Receptor de progesterona |
| QT | Quimioteràpia |
| SBR | Scarff-Bloom-Richardson |
| TNM | Classificació dels tumors malignes TNM |
| Vit | Vitamina |
| WHEL | Women's Healthy Eating and Living |
| WHO | World Health Organization |
| WINS | Women's Intervention Nutrition Study |

Índex de taules i figures

Índex de figures

| | | |
|-------------------|--|-----|
| Figura 1. | Incidència i mortalitat estimada per càncer en la dona al món estandarditzada per edat | 2 |
| Figura 2. | Incidència i mortalitat per càncer mama en diferents països | 3 |
| Figura 3. | Principals ERO i el seu sistema de detoxificació | 45 |
| Figura 4. | Fonts endògenes i exògenes de radicals lliures | 46 |
| Figura 5. | Factors que contribueixen a l'estrès oxidatiu en els pacients amb càncer | 49 |
| Figura 6. | Capacitat antioxidant enzimàtica de les pacients respecte els controls | 77 |
| Figura 7. | Ingesta de proteïnes diàries de les pacients respecte els controls | 80 |
| Figura 8. | Marcadors d'estrès oxidatiu en pacients amb càncer de mama abans i després del tractament adjuvant | 83 |
| Figura 9. | Capacitat antioxidant de les pacients abans i després del tractament adjuvant | 84 |
| Figura 10. | Capacitat antioxidant durant el tractament de quimioteràpia | 89 |
| Figura 11. | Quantitat de Kcal al dia durant el tractament de quimioteràpia | 95 |
| Figura 12. | Capacitat antioxidant i antioxidants de la dieta (vitamina A, vitamina C, vitamina E i seleni) | 100 |
| Figura 13. | Vitamina A en relació oxidació ADN i peroxidació lipídica | 101 |
| Figura 14. | Vitamina C en relació oxidació ADN i peroxidació lipídica | 102 |
| Figura 15. | Nivells de vitamina E i vitamina C | 102 |
| Figura 16. | Vitamina E i peroxidació de lípids | 103 |

Índex de taules

| | | |
|-----------------|---|----|
| Taula 1. | Classificació del pes de la OMS segons l'índex de massa corporal | 8 |
| Taula 2. | Factors relacionats amb l'estil de vida i el risc de càncer de mama | 9 |
| Taula 3. | Subtipus moleculars de càncer de mama segons el perfil. Immunohistoquímic | 15 |
| Taula 4. | Classificació de BI-RADS | 16 |
| Taula 5. | 7ena classificació TNM del càncer de mama | 17 |

| | | |
|------------------|--|-----|
| Taula 6. | Estadis del càncer de mama | 18 |
| Taula 7. | Mètodes de mesura de la dieta en els estudis epidemiològics..... | 29 |
| Taula 8. | Estudis de cohorts de dieta i risc de càncer de mama | 31 |
| Taula 9. | Estudis randomitzats d'intervenció en pacients amb càncer de mama..... | 40 |
| Taula 10. | ERO i substàncies prooxidants | 44 |
| Taula 11. | Quimioteràpia i estrès oxidatiu | 49 |
| Taula 12. | Característiques clíniques i patològiques del les pacients | 75 |
| Taula 13. | Estrès oxidatiu i capacitat antioxidant total dels controls i les pacients en el moment basal..... | 76 |
| Taula 14. | Hàbit tabàquic dels controls i les pacients amb càncer de mama | 78 |
| Taula 15. | Antecedents ginecològics dels controls i pacients..... | 78 |
| Taula 16. | Dieta dels controls i de les pacients en el moment basal..... | 79 |
| Taula 17. | Paràmetres antropomètrics i exercici físic dels controls i les pacients en moment basal..... | 81 |
| Taula 18. | Índex de massa corporal de controls i pacients en el moment basal | 81 |
| Taula 19. | Estrès oxidatiu i capacitat antioxidant de les pacients amb càncer de mama abans i després del tractament adjuvant | 82 |
| Taula 20. | Capacitat antioxidant i nivell estrès oxidatiu en pacient tractades amb QT (n=39). Evolució al llarg del tractament | 85 |
| Taula 21. | Dieta abans i al final del tractament adjuvant de les pacients amb càncer de mama | 88 |
| Taula 22. | Dieta en pacient tractades amb QT (n=39). Evolució al llarg del tractament | 90 |
| Taula 23. | Paràmetres antropomètrics i exercici físic abans i final del tractament adjuvant en les pacients amb càncer de mama | 94 |
| Taula 24. | Dades antropomètriques en pacient tractades amb QT (n=39). Evolució al llarg del tractament | 95 |
| Taula 25. | Estrès oxidatiu abans del tractament en les pacients vives vs mortes | 103 |
| Taula 26. | Estrès oxidatiu abans del tractament adjuvant vives vs recurrència o mort | 104 |

Justificació

El càncer de mama és el tumor més freqüent diagnosticat en la dona en el nostre país i arreu del món [1-2]. En la etiologia no completament coneguda del càncer de mama intervenen múltiples factors: genètics, hormonals i ambientals. La relació entre els factors nutricionals i el desenvolupament i pronòstic del càncer de mama ha estat objecte de recerca intensa en les darreres dècades. Tot i així, la única evidència clara és que el consum regular d'alcohol augmenta el risc de càncer de mama [3-4]. Pel què fa referència a la relació entre la dieta i el pronòstic del càncer de mama, els estudis d'intervenció i modificació dietètica no han pogut demostrar cap associació entre un patró dietètic concret i el risc de recaiguda [5]. Tanmateix, si que hi ha evidència suficient per afirmar que l'obesitat i l'exercici físic són els factors relacionats amb l'estil de vida que estan més fortament associats amb la recurrència i la supervivència [6]. El tractament adjuvant del càncer de mama podria modificar la dieta de les pacients i la seva composició corporal. Aquest fet que podria tenir conseqüències pronòstiques per a les pacients.

D'altra banda, el tractament adjuvant pot produir toxicitat derivada de la seva activitat en els teixits normals no tumorals que condiona la dosi administrada i per tant, l'eficàcia del tractament. Un dels mecanismes de toxicitat de la quimioteràpia i la radioteràpia és la producció de radicals lliures i l'augment de l'estrès oxidatiu. L'estrès oxidatiu es produeix per un desequilibri en l'organisme de les substàncies pro-oxidants i els mecanismes antioxidants encarregats d'eliminar-les. Alguns autors han suggerit que l'estrès oxidatiu intervindria en la carcinogènesi pel dany en components cel·lulars com lípids, proteïnes i ADN. Aquest dany en les biomolècules podria produir mutacions en l'ADN, i alterar alguns processos crucials per a la cèl·lula com és la transcripció [7-8]. D'altra banda, l'estrès oxidatiu podria influir en el comportament tumoral, l'eficàcia del tractament i el pronòstic [9]. La dieta pot influir en l'estrès oxidatiu ja que alguns nutrients poden produir espècies reactives d'oxigen i augmentar-ne els nivells, i d'altres formen part del sistema de defensa antioxidant de l'organisme.

Existeixen pocs estudis prospectius sobre l'estrès oxidatiu i la dieta en les pacients amb càncer de mama en estadis inicials que reben tractament adjuvant [10], per aquest motiu es realitza aquest treball. D'altra banda, tampoc existeixen recomanacions clares en relació a la dieta i l'estil de vida de les pacients durant el tractament. Els resultats del nostre estudi ens permetran tenir un major coneixement sobre quins són els canvis que es produeixen durant el tractament. A partir d'aquests resultats es podrien establir les bases pel disseny d'estudis prospectius en les pacients amb càncer de mama durant el tractament adjuvant per millorar la toxicitat i el pronòstic.

Aquest és un estudi observacional de cohorts prospectiu que inclou pacients amb càncer de mama en estadis inicials, tractades quirúrgicament i candidates a tractament adjuvant de l'Institut Català d'Oncologia. La nostra hipòtesi és que l'estrès oxidatiu, la dieta i la capacitat antioxidant, la dieta i l'antropometria de les pacients amb càncer de mama es modifica durant tractament adjuvant. Per verificar aquesta hipòtesi, l'objectiu principal és analitzar l'evolució, durant el tractament, de les variables relacionades amb l'estrès oxidatiu, la dieta i els paràmetres antropomètrics de les pacients amb càncer de mama inicial. Aquest anàlisi es fonamenta en la determinació abans, durant i després del tractament adjuvant de: 1) l'oxidació de les biomolècules (ADN, lípids i proteïnes) i de la capacitat antioxidant de l'organisme; 2) la composició de la dieta; 3) les mesures antropomètriques. L'anàlisi bioquímic es realitza mitjançant recollida de mostres sanguínies i emmagatzematge a l'Institut Català d'Oncologia de Girona fins el seu processament a l'Institut de Nutrició de Granada, on es fa la determinació dels nivells d'estrès oxidatiu i capacitat antioxidant. La composició de la dieta s'analitza a partir de l'administració per personal qualificat dels qüestionaris dietètics de freqüència d'aliments. Paral·lelament, es prenen les mesures antropomètriques de les pacients. El temps de seguiment de les pacients és de 5 anys de mitjana i s'avalua la supervivència lliure de progressió i supervivència global. Tanmateix, per la mida de la mostra, la freqüència de recidives i mortalitat, no esperem treure conclusions definitives d'aquests darrers paràmetres.

Introducció

1. Epidemiologia del càncer de mama

El càncer de mama és el tumor maligne més freqüentment diagnosticat en la dona en la majoria de països d'arreu del món amb 1,67 milions de casos nous al 2012 (Figura 1).

En els darrers anys, la incidència ha tingut una tendència creixent possiblement per canvis en els factors reproductius i d'estil de vida. El càncer de mama té per tant un gran impacte en la salut de la dona, així com en els serveis d'atenció sanitària. Tanmateix, la mortalitat per càncer de mama ha disminuït de manera progressiva gràcies al diagnòstic precoç amb la implantació dels programes de cribatge, la millora dels tractaments oncològics i el millor coneixement de la biologia del tumor [1].

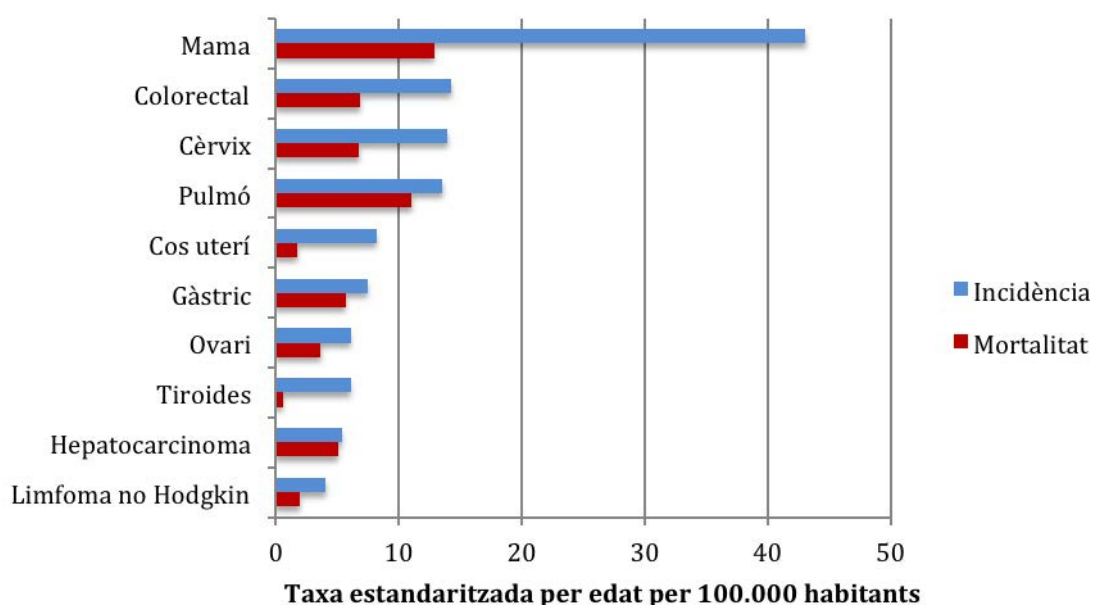


Figura 1. Incidència i mortalitat estimada per càncer en la dona al món estandaritzada per edat. Adaptat de Globocan 2012. International Agency for Research on Cancer. <http://eco.iarc.fr/eucan> [1]

La incidència i mortalitat per càncer de mama varia entre països (Figura 2). A Espanya, 25.215 dones de cada 100.000 van ser diagnosticades de càncer de mama l'any 2012. Malgrat els avenços en el diagnòstic precoç i el tractament, un percentatge notable de pacients amb càncer de mama recau de la seva malaltia i esdevé incurable. Durant el mateix any 2012, 6.075 dones de cada 100.000 moriren de càncer de mama a Espanya [2].

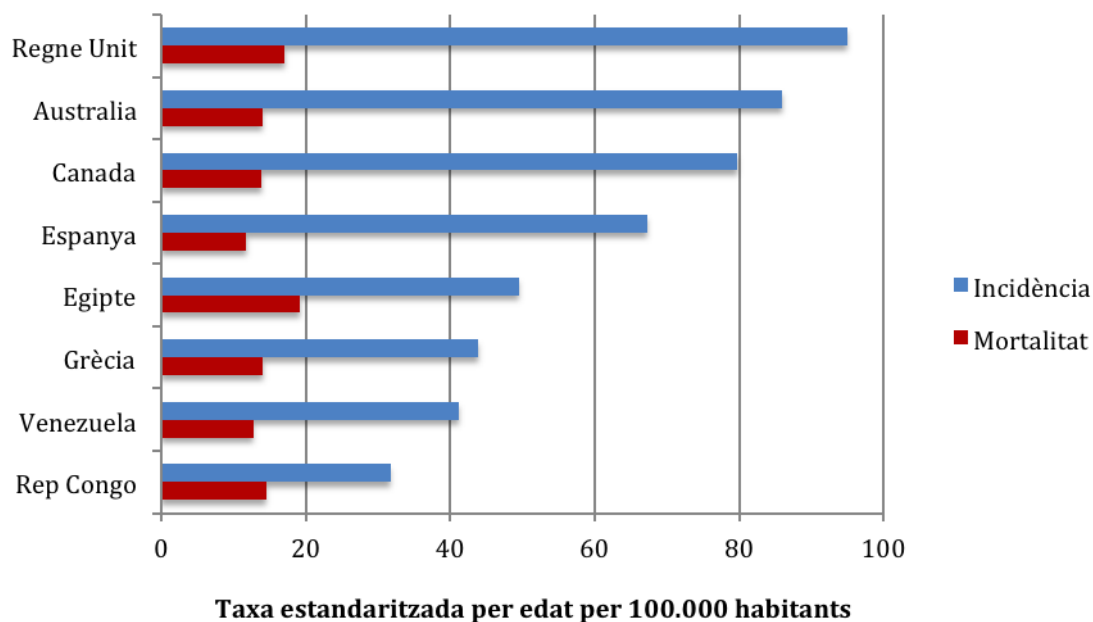


Figura 2. Incidència i mortalitat per càncer mama en diferents països. Adaptat de Globocan 2012. International Agency for Research on Cancer. <http://eco.iarc.fr/eucan> [2]

Per la seva elevada incidència, el càncer de mama ha esdevingut un problema de salut amb grans costos econòmics pel sistema d'atenció sanitària. Es va estimar que el cost europeu per càncer de mama va ser de 12 bilions d'euros l'any 2009 [11]. Els costos en el tractament són més elevats en els estadis més avançats de la malaltia si els comparem als dels estadis inicials, bàsicament a causa del tractament sistèmic [12].

2. Factors de risc del càncer de mama

En l'etiologia del càncer de mama intervenen múltiples factors: reproductius, hormonals, nutricionals i genètics. La influència d'aquests factors en el risc de desenvolupar càncer de mama i la seva relació amb la fisiopatologia de la malaltia són cada cop més coneguts. Alguns d'aquests factors com la dieta són potencialment modificables i podrien influir també en la recurrència i la mortalitat. Per tant, s'obre una àrea de gran interès per a la recerca en la lluita contra el càncer de mama.

2.1. Factors reproductius i hormonal

Existeix una relació entre els factors reproductius al llarg de la vida de la dona i el risc de càncer de mama.

Les hormones sexuals tenen un rol molt rellevant en l'etiologia del càncer de mama. Les hormones ovàriques, estrògens i gestàgens, inicien el desenvolupament de la mama durant la pubertat. Posteriorment durant els cicles menstruals mensuals regulars indueixen la proliferació de les cèl·lules mamàries. Aquest estímul hormonal que exerceixen sobre la mama acaba amb la menopausa i l'abolició de l'ovulació i la menstruació.

La **menarquia** és el moment en què s'inicien els cicles hormonal mensuals que indueixen l'ovulació, menstruació, i la proliferació cel·lular de la mama i l'endometri. Si la menarquia és produïda a una edat precoç augmenta el risc del càncer de mama [13]. Un metanàlisi conclou que cada any que es retarda la menarquia hi ha una reducció del 9% del risc de càncer de mama abans de la menopausa i del 4% després de la menopausa [14]. Alguns estudis suggereixen que les dones amb menarquia precoç tenen uns nivells hormonal més alts durant la seva etapa reproductiva [15]. La menarquia precoç a més a més, està relacionada amb un inici dels cicles ovulatòris regulars i una exposició més llarga a les hormones sexuals endògenes.

La **menopausa tardana** també està associada a un augment del risc de càncer de mama. El risc augmenta un 3% per cada any que es retarda. Les dones que experimenten la menopausa abans dels 45 anys tenen la meitat de risc de tenir càncer de mama durant la seva vida que aquelles que la tenen després dels 55 anys [16]. La menopausa precoç disminueix el risc de càncer de mama per la reducció de la divisió de les cèl·lules mamàries al finalitzar els cicles menstruals i disminuir els nivells hormonal.

La **paritat** està inversament relacionada amb el càncer de mama. Les dones nul·líparas tenen major risc de càncer de mama, sobretot després dels 40-45 anys. En canvi, a major nombre de fills menys risc de càncer de mama. L'edat al primer embaràs és també rellevant [17]. Durant la primera gestació el teixit mamari està sotmès a canvis permanents en l'epiteli glandular. De manera que quan més tardana és l'edat del primer embaràs, més possibilitats de dany en el DNA de les cèl·lules mamàries que proliferen durant aquest període.

La **lactància** també s'ha postulat com a factor protector per patir un càncer de mama. Per una banda, contribueix a una millor diferenciació de l'epiteli mamari, i per l'altra retarda l'aparició del cicles menstruals ovulatòris després de l'embaràs. Un metanàlisi va reportar una reducció del 4% del risc per cada 12 mesos de lactància materna [18].

La relació entre els **anticonceptius orals** i el risc de càncer de mama és controvertida. Alguns estudis suggereixen que l'ús d'anticonceptius orals augmenta un 24% el risc de càncer de mama i aquest augment de la incidència es dona sobretot durant el tractament anticonceptiu [19]. Contràriament, un nou anàlisi dels estudis epidemiològics mostra poca o cap relació entre els anticonceptius orals i el risc de càncer de mama [20]. Les diferents formulacions dels anticonceptius orals podrien portar a diferències en el risc del càncer de mama. També s'ha descrit que el risc de càncer de mama cau dràsticament després de 10 anys d'aturar el tractament i que no depèn de la seva durada [21].

2.2. Factors genètics

Diversos estudis estimen que aproximadament un 5-10% dels càncers de mama estan associats a una susceptibilitat genètica per mutacions germinals en gens autosòmics dominants [22]. El gens BRCA1 i BRCA2 són gens d'alta penetrància que codifiquen proteïnes fonamentals per la reparació de l'ADN i que s'associen amb una major proporció de casos de càncer de mama i ovari hereditaris. Les dones portadores de mutació tenen un risc del 60-80% de desenvolupar un càncer de mama al llarg de la seva vida. En el nostre context la prevalença de la mutació de BRCA es dona en un 11.6% de les dones diagnosticades de càncer de mama abans dels 40 anys i en un 2.7% de les diagnosticades entre els 40 i 45 anys [23].

Hi ha altres síndromes com el síndrome de Li-Fraumeni (predisposició a sarcomes, tumors de pulmó, SNC, leucèmia i limfomes i carcinomes adrenals) i la Malaltia de Cowden (lesions cutaneomucoses i gastrointestinals i càncer de mama) que augmenten el risc de càncer de mama a edats joves però que són menys freqüents.

Un 15-20% dels càncers de mama es donen en dones amb història familiar però sense un patró autosòmic dominant conegut, i que podrien donar-se per la interacció de alguns factors genètics amb l'ambient. Aquesta agregació familiar de la malaltia podria

explicar-se també per factors geogràfics i socioculturals comuns, i no només per factors de predisposició genètica [24].

2.3. Factors ambientals: radiacions ionitzants i tabac.

L'únic factor mediambiental que s'ha provat que indueix càncer de mama són les **radiacions ionitzants**. Aquesta relació s'ha evidenciat a partir d'estudis en supervivents de la bomba atòmica [25], estudis sobre l'ús diagnòstic i terapèutic de les radiacions, i estudis ocupacionals. D'altra banda, la presència de mutacions genètiques en els gens reparadors del DNA podria augmentar el risc de càncer de mama associat a baixes i moderades exposicions a radiacions ionitzants. Un gran estudi retrospectiu europeu que inclou 1993 dones portadores de la mutació BRCA1/2 suggereix que tenen un augment del risc de càncer de mama a una dosi de radiació considerablement més baixa que les no portadores de mutació [26].

La relació entre l'**hàbit tabàquic** i el risc de càncer de mama ha estat àmpliament avaluada en diversos estudis cas-control i de cohorts que evidencien que hi ha una relació positiva. Un estudi recent [27] conclou que les dones fumadores tenen un risc augmentat de càncer de mama (HR = 1.3, 15 a 35 anys fumant, HR = 1.6 per \geq 35 anys fumant).

2.4. Estil de vida: exercici físic, obesitat i dieta

L'**exercici físic** és el factor modificable amb una major associació amb la incidència i la recurrència del càncer de mama. L'activitat física regular redueix el risc de càncer de mama per diversos mecanismes: canvis en les característiques dels cicles menstruals, disminució de les hormones sexuals i del factors de creixement derivats de la insulina, així com millores en el sistema immune [28]. Els mecanismes pels quals l'activitat física redueix l'exposició a les hormones varien segons el període de la vida. Les noies joves que realitzen una activitat esportiva molt intensa poden tenir un retard en l'inici de la menarquia fet que disminueix el risc de càncer de mama. L'activitat física moderada a aquestes edats pot afavorir també un pes baix i una baixa concentració de greix que condicionen també un retard de la menarquia. En les dones de més edat, el nivell d'activitat física en el passat i present influeixen en la reserva de greix on després de la menopausa es converteix l'androstendiona en estrogen.

Un metanàlisi de 76 estudis observacionals mostra que alts nivells d'activitat física estan relacionats amb una baixa incidència de càncer de mama (RR 0.80, 95% CI 0.78-0.84) tant en dones premenopàusiques com postmenopàusiques [29]. Un metanàlisi de 31 estudis prospectius va reportar resultats similars [30].

D'altra banda, hi ha estudis que valoren si l'exercici físic després del diagnòstic de càncer de mama disminueix la recurrència. En el Nurse's Health Study, 2987 pacients amb càncer de mama amb estadi I-III reporten l'activitat física abans del diagnòstic retrospectivament, i dos anys després. En l'anàlisi multivariant, una activitat física moderada està associada a una menor recurrència del càncer de mama [31]. En un estudi de Irwin et al., la informació sobre la activitat física era recollida de manera prospectiva abans i després del diagnòstic en un total de 2076 dones amb càncer de mama. En l'anàlisi multivariant, les morts per càncer de mama són menors en aquelles dones que mantenen un patró d'activitat física o que augmenten l'activitat física després del diagnòstic [32]. Un metanàlisi d'aquests estudis conclou que una activitat física posterior al diagnòstic està associada a un 34% menys de morts per càncer de mama i un 41% menys de morts per totes les causes [33].

Com a conseqüència dels canvis de dieta i els patrons d'activitat física, la prevalença de la **obesitat** creix arreu del món assolint proporcions d'epidèmia. Estudis epidemiològics mostren que la obesitat augmenta el risc de diversos tipus de càncer. El World Cancer Research Fund (WCRF) conclou que hi ha evidència suficient per considerar la relació entre obesitat i els següents tipus de càncer: càncer de mama en la dona postmenopàusica, ovari, endometri, colon, esòfag, bufeta biliar, pàncrees, ronyó i pròstata. Un estudi va estimar que un 3.6% dels càncers nous que es diagnosticaren arreu del món al 2012 estaven relacionats amb la obesitat [34]. A més a més, la obesitat està relacionada amb una pitjor resposta al tractament, pitjor pronòstic i augmenta la mortalitat específica per càncer [35].

Encara que hi ha diferents maneres de definir l'obesitat, l'índex de massa corporal (IMC) és la més utilitzada i es calcula dividint el pes en kilograms (kg) per l'alçada en metres (m) al quadrat. La Organització Mundial de la Salut classifica l'excés de pes com a sobrepès quan l'IMC es troba entre 25.0 i 29.9 Kg/m² i obesitat si l'IMC és de més de 30 kg/m² (Taula 1).

| | |
|------------------------|-----------|
| Insuficiència ponderal | <18.5 |
| Pes normal | 18.5-24.9 |
| Sobrepès | ≥25.0 |
| Preobesitat | 25.0-29.9 |
| Obesitat | ≥30.0 |
| Obesitat classe I | 30.0-34.9 |
| Obesitat classe II | 35.0-39.9 |
| Obesitat classe III | ≥40 |

Mentre que l'IMC permet una valoració de l'obesitat en general, la circumferència de la cintura o l'índex cintura-maluc són també paràmetres antropomètrics que mesuren l'obesitat central o intrabdominal. S'ha demostrat que alguns tipus de càncer s'associen més a l'adipositat abdominal que al IMC, entre ells el càncer de mama premenopàusic. Un estudi recent, realitzat als participants de l'estudi de Framingham, ha observat que l'adipositat visceral mesurada per tomografia està associada al càncer després d'ajustar-ho per altres factors de risc i l'adipositat generalitzada [36]. Pel que fa a la mortalitat, un estudi americà ha conclòs que l'índex cintura-maluc i la circumferència de la cintura estan fortament i positivament associats a la mortalitat per càncer independentment de l'IMC [37]. Els mecanismes biològics que relacionen càncer i obesitat són complexes i no completament coneguts. Alguns mecanismes són comuns a totes les localitzacions [38-39]:

- L'excés de teixit adipós intraabdominal afavoreix la insulinoresistència, la hiperinsulinèmia, i l'augment de l'activitat del factor de creixement insulínic tipus 1 (IGF-1).
- La producció d'estrògens via aromatasa.
- La inflamació crònica produeix factors proinflamatoris com el factor de necrosi tumoral, interleuquines i adipocines.
- L'estrès oxidatiu degut a la peroxidació lipídica

Altres mecanismes són específics per a cada localització. En el cas del càncer de mama i endometri hi contribueix el major efecte proliferatiu per part dels estrògens. La majoria de pacients amb càncer de mama que reben tractament complementari de quimioteràpia experimenten un guany ponderal atribuïble al tractament. L'augment del pes i el canvi en la composició corporal han estat associats a un augment del risc de recurrència i una disminució de la supervivència [40].

Alguns estudis han relacionat l'alçada i el risc de càncer. El mecanisme pel qual l'alçada influeix en el risc de càncer és poc clar. Un dels mecanismes suggerits és en part reflexe de les exposicions ambientals. L'alçada podria estar associada a un major consum de calories durant l'infància i l'adolescència, i a uns nivells més alts de factors de creixament.

Diversos estudis tenen la hipòtesi que la **dieta** és el factor responsable de la variabilitat de la incidència del càncer de mama arreu del món. La major evidència publicada sobre com l'estil de vida pot modificar el risc de càncer va ser publicada al 2007: Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective (Bekkering 2006). El panell d'experts estableix una sèrie de recomanacions: evitar sobrepès, realitzar una activitat física diària, menjar prioritàriament aliments d'origen vegetal, evitar el consum de carn vermella i processada, limitar el consum d'alcohol, sal, cereals i llegums.

Pel què fa al càncer de mama, la hipòtesi més dominant és que una dieta rica en greixos augmenta el risc de càncer de mama. Les publicacions sobre nutrició i càncer de mama han estat revisades per un grup d'experts del World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research. Aquest consens conclou que hi ha evidència per considerar que l'alcohol augmenta el risc de càncer de mama a totes les edats i que el teixit gras augmenta el risc de càncer de mama després de la menopausa [41]. Una major alçada també augmentaria el risc de càncer de mama perquè probablement estaria relacionat amb factors genètics, ambientals, hormonals i nutricionals que afecten al creixement. El teixit gras en canvi, disminueix el risc en les pacients premenopàusiques. Els experts troben evidència limitada sobre la relació d'alguns nutrients i el risc de càncer de mama (Taula 2). La relació entre dieta i risc de càncer de mama així la seva importància en el pronòstic de les pacients diagnosticades de càncer de mama, està àmpliament explicada en apartats posteriors.

| Taula 2. Factors relacionats amb l'estil de vida i el risc de càncer de mama | | | | |
|---|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------------|
| Premenopausa | | | Postmenopausa | |
| | Disminució risc | Augmenta risc | Disminució risc | Augmenta risc |
| Convincent | Lactància | Alcoholisme | Lactància | Alcoholisme Teixit gras Alçada |
| Probable | Teixit gras | Alçada Pes elevat al néixer | Activitat física | Greix abdominal Augment del pes |
| Limitada | Activitat física | | | Total greix |

World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC: AICR, 2007.

3. Classificació patològica del càncer de mama

Des del punt de vista histopatològic, els tumors de mama són molt heterogenis. La darrera i 4arta edició de la classificació de Organització Mundial de la Salut els classifica en funció de les seves característiques morfològiques, pronòstiques i clíniques [42]. Aquesta classificació inclou no només el càncer de mama invasiu sinó també lesions precursors, lesions de baix potencial de malignitat, proliferacions epitelials benignes i neoplàsies fibroepitelials, mioepitelials i mesenquimals.

La majoria dels tumors de mama pertanyen al grup dels carcinomes invasius. El tipus de càncer invasiu més comú és el càncer invasiu de tipus no especial, anteriorment anomenat carcinoma ductal infiltrant, i representa el 70-80% de tots els casos diagnosticats. El carcinoma ductal s'origina a nivell dels conductes mamaris i habitualment es presenta com a massa palpable o canvis en la mamografia. El carcinoma lobulillar infiltrant és el segon tumor invasiu més freqüentment diagnosticat. El lobulillar s'origina a nivell dels lòbuls mamaris, tendeix a la multicentricitat i la bilateralitat, i és més difícil de diagnosticar radiològicament.

Existeixen altres subtipus de tumors invasius de mama menys freqüents tals com el tubular, el cribiforme, el metaplàsic, l'apocrí, el mucinós, el papil·lar i micropapilar, el medul·lar i el neuroendocrí. Així com d'altres molt infreqüents com l'oncocític i el carcinoma polimòrfic.

4. Factors pronòstics clínics i patològics del càncer de mama

El tractament adjuvant ha reduït dràsticament la mortalitat per càncer de mama [43]. Els factors pronòstics s'estableixen en el moment del diagnòstic i són fonamentals a la pràctica clínica per seleccionar les pacients amb més risc de recurrència i decidir el tractament adjuvant. Els factors pronòstics són capaços de donar informació sobre l'evolució de la malaltia independentment del tractament. Els factors predictius en canvi, donen informació sobre la probabilitat de resposta al tractament, de manera que permeten personalitzar el tractament adjuvant identificant aquells fàrmacs que poden beneficiar o no a la pacient. Alguns d'aquests factors, com els receptors hormonals i la sobreexpressió d'HER-2, són alhora pronòstics i predictius. Seguidament s'exposen els més rellevants.

4.1. Invasió ganglionar axil·lar

L'absència o presència de metàstasi axil·lars i el número de ganglis afectes determina l'estadi del càncer de mama. La invasió axil·lar continua sent el factor pronòstic individual més important relacionat amb la recurrència i la supervivència del càncer de mama. En aquest sentit, hi ha una relació directe entre el número de ganglis afectats i la supervivència [44]. Tot i així, la dissecció dels ganglis axil·lars ha generat controvèrsia en la darrera dècada. La rellevant informació pronòstica que aporta ha fet que aquest procediment hagi estat àmpliament acceptat per a determinar l'estadi i millorar el control local, però no ha demostrat beneficis en la supervivència. A més a més, la morbiditat de la dissecció axil·lar ha fet que en els darrers anys s'hagi avançat a tècniques menys invasives com la dissecció del gangli sentinella [45]. D'altra banda, actualment la decisió d'indicar un tractament de quimioteràpia adjuvant no es basa exclusivament en l'afectació axil·lar sinó que inclou altres factors relacionats amb la biologia del tumor.

4.2. Mida tumoral

La mida tumoral es correlaciona amb la presència i el número de ganglis afectes i es també un factor pronòstic independent de recurrència a distància. El risc de recurrència generalment augmenta amb l'augment de mida tumoral. En una cohort de 24.270 pacients del SEER, la supervivència als 5 anys era del 91% per les pacients amb tumors <2cm, del 80% pels tumors entre 2-5 cm, i del 63% pels >5 cm [46]. En canvi en els tumors triple negatius, la correlació però entre mida tumoral i afectació ganglionar és menys clara [47].

4.3. Tipus i grau histològic

El subtipus histològic més freqüent, el carcinoma ductal infiltrant no presenta diferència pronòstica amb el carcinoma lobulillar. Existeixen però histologies de millor pronòstic com els carcinomes papil·lars, mucinosos o tubular [48-50].

Un dels sistemes de classificació més àmpliament utilitzat és el de Scarff-Bloom-Richardson (SBR) [51]. EL SBR avalua el grau de diferenciació, el pleomorfisme i l'índex mitòtic del tumor puntuant de 1 a 3 cada categoria. Els tumors puntuats entre 1-5 són ben diferenciats (grau I), entre 6 i 7 moderadament diferenciats (grau II), i entre 8 i 9 pobrament diferenciats (grau III). Un estudi amb 1.262 pacients demostra que hi ha una

correlació entre el grau histològic determinat per SBR i la supervivència lliure de recaiguda als 5 anys [52].

4.4. Invasió vascular i limfàtica tumoral

La presència de la invasió vascular i limfàtica (IVL) ha estat significativament associada amb la presència de metàstasi ganglionar, la mida del tumor, el risc de desenvolupar metàstasi o recurrència local. La IVL està associada a pitjor supervivència lliure de progressió i supervivència global [53].

4.5. Receptors hormonals

El receptor d'estrògen forma part d'una família de receptors nuclears que són activats pel 17 β -estradiol o estrògen. Producte d'aquesta unió es produeix un canvi en la conformació del receptor que permet la unió amb l'ADN. Aquest complex actua com a factor de transcripció genètica i estimula el creixement, la proliferació i la supervivència cel·lular [54]. El receptor de progesterona té també un rol important en el desenvolupament del càncer de mama. Forma part de la família dels receptors nuclears i s'activa per la progesterona. Aquesta unió produeix canvis en l'estructura del receptor que comporten una activació dels gens de transcripció.

L'expressió de receptors d'estrògens (RE) i progesterona (RP) és un factor pronòstic i predictiu de resposta al tractament hormonal. Es determina per immunohistoquímica i es consideren positius aquells tumors que tenen una tinció dels nuclis tumorals >1% segons les recomanacions de l'ASCO [55]. Només aquelles pacients amb receptors hormonals positius es beneficien del tractament hormonal.

Els tumors amb expressió de RE i RP són tumors més ben diferenciats i tenen millor supervivència. L'estudi NSABP B-06 va randomitzar dones amb càncer de mama en estadis inicials a mastectomia, tumorectomia o tumorectomia seguida de radioteràpia [56]. No es va administrar tractament sistèmic adjuvant. Les dones amb tumors amb RE positius tenen una supervivència lliure de malaltia als 5 anys del 74% i una supervivència global del 92%, mentre que les dones amb RE negatius tenen una supervivència lliure de malaltia als 5 anys i una supervivència global del 66% i 82% respectivament. Tanmateix, estudis amb temps de seguiment més llargs, mostren que mentre que la taxa anual de recurrència durant els cinc primers anys és menor pels tumors amb RE positius respecte

els que són RE negatius, seria major en els tumors RE positius més enllà dels cinc anys [57].

4.6. HER-2

L'HER-2 (també conegut com ErbB-2, ERBB2, HER2/neu) és un gen localitzat al cromosoma 17 que codifica una proteïna amb activitat tirosin-cinasa. Aquesta proteïna és un receptor que forma part de la família de receptors HER1 (també conegut com EGFR, de l'anglès epidermal growth factor receptor), HER2, HER3 i HER4. Aquests receptors tenen un domini extracel·lular on s'uneix el lligand, un de transmembrana i un domini intracel·lular amb activitat tirosinquinasa. L'HER2 no té un lligand específic sinó que s'activa per homodimerització i heterodimerització amb els altres receptors. L'activació del receptor desencadena una activació de les vies intracel·lulars relacionades amb el creixement, la supervivència i diferenciació cel·lular [58].

Entorn un 20% de les pacients diagnosticades de càncer de mama tenen amplifacació del gen HER-2. L'expressió del receptor de membrana HER-2 és un factor pronòstic relacionat amb una major agressivitat tumoral. En absència de tractament sistèmic, la sobreexpressió de HER-2 és un marcador de mal pronòstic tant en pacients amb ganglis positius com negatius. Fins i tot en tumors petits menor o iguals a 1cm, la sobreexpressió d'HER-2 té un valor pronòstic. A més a més, l'HER-2 és un factor predictiu de resposta als fàrmacs anti-HER2. La determinació d'HER-2 es realitza mitjançant immunohistoquímica o tècniques d'hibridació in situ (ISH) [59].

4.7. Índex proliferatiu Ki-67

Ki-67 és una proteïna present en les fases actives del cicle cel·lular i per tant un marcador de proliferació cel·lular que habitualment es determina per d'immunohistoquímica. Els resultats de dos meta-anàlisis són consistents amb el valor pronòstic independent del Ki-67 [60-61]. Malgrat que no és un factor predictiu de resposta al tractament amb quimioteràpia, un alt índex de Ki-67 prediu una major possibilitat de resposta a la quimioteràpia neoadjuvant. La principal limitació de l'ús de Ki-67 a la pràctica clínica habitual és que no hi ha una estandardització en el seu punt de tall fet que el fa poc reproducible.

4.8. Edat de la pacient

La majoria d'estudis que avaluen la influència de l'edat en el pronòstic del càncer de mama tenen resultats no concloents. Tot i així, dos estudis demostren que les pacients menors de 35 anys tenen pitjor pronòstic inclús després d'ajustar els resultats per altres factors pronòstics [62-63]. A més a més, les pacients diagnosticades a edats més joves tenen tumors amb unes característiques patològiques de pitjor pronòstic com negativitat de RE, major mida tumoral, pobre diferenciació i alts índex de proliferació [64].

5. Subtipus moleculars de càncer de mama

A banda de la classificació histopatològica basada en l'expressió de RE, HER-2 i Ki-67, hi ha una nova classificació molecular del càncer de mama segons el perfil d'expressió gènica del tumor. Aquesta classificació defineix quatre subtipus de càncer de mama: luminal, basal, *normal-like*, *HER2-enriched* [65]. El subtipus luminal es caracteritza per l'alta expressió de gens de cèl·lules luminals del teixit mamari normal; el subtipus basal per alta expressió de gens de cèl·lules del teixit basal; el subtipus *normal-like* per alta expressió de gens de cèl·lules basals i adiposes i baixa expressió de gens luminals; el subtipus *HER2-enriched* per alta expressió del oncogen HER-2. Els mateixos autors van distingir els subtipus luminal A i B.

Aquesta nova classificació molecular té importància pronòstica i per planificar el tractament. Mentre que el luminal A és el de millor pronòstic, el luminal B té un pronòstic intermedi, i els subtipus *normal-like* i *HER2-enriched* s'han associat a pitjor supervivència.

Davant la dificultat de traslladar a la pràctica clínica habitual aquesta classificació molecular, s'han correlacionat aquest subtipus de càncer de mama amb els subtipus obtinguts mitjançant immunohistoquímica (Taula 3).

| Taula 3. Subtipus moleculars de càncer de mama segons el perfil immunohistoquímic | |
|--|--|
| Subtipus molecular | Perfil immunohistoquímic |
| Luminal A | RE i RP positius HER-2 negatiu Ki67 baix |
| Luminal B/HER-2 negatiu | RE positius HER-2 negatiu Ki67 baix i/o RP negatiu |
| Luminal B/HER-2 positiu | RE positius HER-2 positiu |
| HER-2-enriched | RE i RP negatius HER-2 positiu |
| Basal | RE i RP negatius HER-2 negatiu |

6. Història natural i manifestacions clíniques del càncer de mama

Les manifestacions clíniques del càncer de mama varien en funció de l'extensió i la localització de la malaltia. El càncer de mama en etapes inicials és en general asimptomàtic i es detecta en canvis a la mamografia o pot presentar-se també com a tumor palpable. Els principals signes i símptomes a nivell locoregional són l'aparició d'un nòdul palpable a nivell de mama i/o aixella, secreció pel mugró o telorràgia, retracció del mugró i canvis en la pell de la mama o dolor.

El càncer de mama durant el seu creixement pot disseminar-se a altres òrgans via limfàtica o hematògena, pel què es considera des de l'inici una malaltia sistèmica, i aquesta consideració té implicacions directes en el seu tractament.

En cas de disseminació a distància té predilecció per òrgans com l'òs, el fetge, el pulmó i el sistema nerviós central. El patró de disseminació varia en funció del subtipus de càncer de mama. El subtipus luminal té més preferència per l'òs, els ganglis o els teixits tous, mentre que els subtipus triple negatiu i HER-2 presenten més freqüentment metàstasi viscerals a fetge, pulmó i sistema nerviós central, localitzacions associades a pitjor supervivència.

7. Diagnòstic i estadis del càncer de mama

La majoria de tumors de mama es diagnostiquen en etapes inicials gràcies a la implementació en les darreres dècades dels programes de cribatge mitjançant mamografia. L'objectiu del programa de cribatge és reduir la mortalitat per la malaltia detectant-la en estadis inicials, sense ocasionar efectes adversos en la població sana. Les recomanacions actuals és realitzar una mamografia cada dos anys a les pacients entre 50 i 74 anys [66]. No està establert el benefici d'aplicar el programa més enllà dels 75 anys, així com en les dones entre 40-49 anys, pel què en aquestes situacions cal valorar-ho de manera individualitzada.

La mamografia és la tècnica fonamental per diagnòstic i les troballes patològiques més freqüents són l'aparició d'un nòdul, una asimetria del teixit o la presència de microcalcificacions de sospita. L' American College of Radiology (ACR) va estandaritzar la manera de descriure les troballes mamogràfiques mitjançant la classificació de BI-RADS (de l'anglès, Breast Imaging Reporting and Data System)

| Taula 4. Classificació de BI-RADS | |
|--|---|
| Categoria | Definició |
| 0 | Cal una avaluació radiològica addicional. No es pot confirmar ni descartar malignitat. |
| I | Mamografia negativa per malignitat. Seguiment a intervals normals. |
| II | Mamografia negativa per malignitat però amb patologia benigne. Seguiment a intervals normals. |
| III | Mamografia amb troballes probablement benignes. Cal control als 6 mesos. |
| IV | Mamografia amb resultat dubtós de malignitat. Cal confirmació histològica. |
| V | Mamografia amb alta sospita de malignitat. Cal confirmació histològica. |
| VI | Malignitat comprovada per biòpsia. |

La ressonància magnètica (RNM) complementa a la mamografia per tal de descartar tumors en la mama contralateral, així com la presència de multicentricitat o multifocalitat. Els dos estudis randomitzats més importants sobre el paper de la RNM en el càncer de mama no van demostrar una reducció en el nombre de reintervencions quirúrgiques, tot i que el nombre de mastectomies no va diferir [67-68].

Segons les troballes mamogràfiques es recomana una biòpsia amb agulla gruixuda (BAG) per confirmació diagnòstica i determinació dels factors pronòstics i

predictius. A més a més, cal completar l'estudi de l'aixella mitjançant ecografia. Si es detecta alguna adenopatia sospitosa, per la seva mida o morfologia, es recomana una punció aspiració amb agulla fina (PAAF).

En referència a l'estudi d'extensió, les guies clíniques no recomanen un ús rutinari d'exploracions complementàries. Es pot considerar l'ús del TAC de tòrax, TAC d'abdomen o eco abdominal i gammagrafia òssia en: afectació axil-lar clínicament positiva, tumors >5cm, biologia agressiva o valors de laboratori que suggereixin afectació metastàsica [69-72].

El sistema de classificació del càncer de mama TNM s'utilitza a la pràctica clínica per planificar el tractament i tenir informació pronòstica. Es va descriure per primera vegada l'any 1950 i la darrera actualització, la 7ena edició, correspon a l'any 2009 [73]. Es basa en la descripció de la mida del tumor (T), l'afectació o no dels ganglis limfàtics (N) i la presència o no de metastasi a distància (M) (Taula 5). La classificació clínica es descriu com a cTNM, en canvi la patològica pTNM. Es pot afegir el prefix y, ycTNM o ypTNM, per indicar és posterior a un tractament neoadjuvant.

| Taula 5. 7ena classificació TNM del càncer de mama | | |
|---|-------------------------|---|
| pTNM | Subclassificació | Descripció |
| T | Tx | Tumor primari no pot ser valorat |
| | T0 | Sense evidència tumor primari |
| | Tis | Carcinoma in situ |
| | T1 (mi, 1a, 1b, 1c) | ≤ 2 cm de diàmetre màxim |
| | T2 | > 2 cm a ≤ 5 cm de diàmetre màxim |
| | T3 | > 5 cm |
| | T4 (4a, 4b, 4c, 4d) | Extensió paret/edema, ulceració, nòduls cutanis/inflamatori |
| N | Nx | Ganglis no poden ser valorats |
| | N0 | Sense afectació ganglionar |
| | N1 | Afectació de 1-3 ganglis |
| | N2 (2a, 2b) | Afectació 4-9 ganglis |
| | N3 (3a, 3b, 3c) | Afectació de ≥10 ganglis |
| M | Mx | No poden ser avaluades |
| | M0 | Absència de metastasi a distància |
| | M1 | Presència de metastasi a distància |

En funció del TNM es procedeix a classificar el càncer de mama en IV estadis. Els estadis del I al II corresponen a la malaltia localitzada, els estadis III al càncer de mama localment avançat, i l'estadi IV al càncer de mama metastàtic.

| Taula 6. Estadis del càncer de mama | | | | |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | N0 | N1 | N2 | N3 |
| Tis/0 | Estadi 0 | Estadi IIA | Estadi IIIA | Estadi IIIC |
| T1 | Estadi I | Estadi IIA | Estadi IIIA | Estadi IIIC |
| T2 | Estadi IIA | Estadi IIB | Estadi IIIA | Estadi IIIC |
| T3 | Estadi IIB | Estadi IIIA | Estadi IIIA | Estadi IIIC |
| T4 | Estadi IIIB | Estadi IIIB | Estadi IIIB | Estadi IIIC |
| M1 | Estadi IV | | | |

8. Tractament del càncer de mama localitzat

8.1. Tractament quirúrgic

El tractament quirúrgic és el tractament d'elecció en el càncer de mama en estadis inicials. Les modalitats quirúrgiques són la cirurgia conservadora (tumorectomia o quadrantectomia) seguida de radioteràpia, i la mastectomia amb o sense reconstrucció.

En les darreres dècades, el tractament quirúrgic ha evolucionat cap a tècniques menys invasives. Per tant, la cirurgia conservadora és la tècnica d'elecció ja que diversos estudis han demostrat no inferioritat en la supervivència de les pacients tractades amb cirurgia conservadora respecte les tractades amb mastectomia [74]. La taxa de recurrència local amb cirurgia conservadora és baixa. Darrerament s'ha debatut quin és el marge quirúrgic necessari. A partir d'un metaanàlisi de 33 estudis (n=28.162 pacients), un consens d'experts [75] conclou que:

- Els marges positius (tinta sobre el carcinoma invasor o carcinoma ductal in situ) estan associats al doble de risc de recaiguda local que el marge negatiu.

- Els marges més amplis que sense tinta sobre el tumor no suposa una disminució de la recurrència local. Per tant, es recomana l'ús de sense tinta sobre el tumor com el nou estàndard per considerar un marge negatiu de tumor invasor.
- Tampoc hi ha evidència que marges més amplis disminueixin la recurrència local per a les pacients joves o amb biologies agressives.

Les contraindicacions absolutes per la cirurgia conservadora són: tumor multicèntric, presència de microcalcificacions difuses, impossibilitat d'assolir un marge quirúrgic negatiu, antecedent de radioteràpia sobre la mama o contraindicació per rebre-la i el carcinoma inflamatori. La mastectomia suposa la extirpació de tota la mama i el complex areòla-mugró acompanyada de la dissecció dels ganglis limfàtics axil·lars (mastectomia radical) o no (mastectomia simple). Hi ha tècniques quirúrgiques com la mastectomia estalviadora de pell, amb o sense conservació del complex areòla-mugró, que ofereixen avantatges cosmètics en les pacients en les quals està indicada.

A banda del tractament sobre la glàndula mamària, el tractament quirúrgic inclou l'estadificació de l'aixel·la ja que la invasió limfàtica axil·lar és un dels factors pronòstics més rellevants. No hi ha suficient evidència per obviar l'estadificació axil·lar en la majoria de pacients amb càncer de mama invasor.

En els darrers anys s'ha generalitzat la tècnica del gangli sentinella que evita limfadenectomies axil·lars innecessàries. El gangli sentinella és qualsevol gangli que rep el drenatge directe del tumor. Els estudis demostren que no hi ha diferències en la supervivència ni en el control locoregional de les pacients tractades amb aquesta tècnica respecte la limfadenectomia axil·lar, amb una alta taxa de detecció i un baix índex de falsos negatius [76]. Arran de diversos estudis publicats, en alguns casos amb positivitat del gangli sentinella no es recomana limfadenectomia posterior. El principal estudi, el Z011, va demostrar que no hi havia diferències en la supervivència global de les pacients amb càncer de mama T1-T2, tractades amb cirurgia conservadora i afectació de 1-2 ganglis, no sotmeses a limfadenectomia axil·lar respecte les que si ho havien estat [77]. Hi ha situacions però, com en els tumors de mama T3/4, ganglis clínicament sospitosos o pacients embarassades, en què no està indicada la tècnica del gangli sentinella i cal fer limfadenectomia axil·lar. Per les pacients que requereixen limfadenectomia l'avaluació estàndard inclou el nivell I i II, i extirpar un número de ganglis satisfactori (entre 6-10).

8.2. Tractament adjuvant

8.2.1. Generalitats

El càncer de mama es considera una malaltia sistèmica ja que entre un 30-70% de les pacients recauran de la seva malaltia després del tractament quirúrgic local per la presència de micrometàstasis en el moment del diagnòstic. La quimioteràpia, el tractament hormonal i les teràpies dirigides, conjuntament amb la radioteràpia són els tractaments complementaris fonamentals del càncer de mama i tenen per objectiu reduir al màxim aquest risc de recaiguda. El risc ve determinat pels factors pronòstics clínics i patològics anteriorment descrits, així com per la biologia tumoral.

Els mètodes per estimar el risc de recaiguda i que permeten planificar el tractament complementari han evolucionat en els darrers anys a mesura que avança el coneixement de la biologia tumoral. La conferència de Consens de St.Gallen que té una periodicitat bianual (de l'anglès *St.Gallen Consensus Conference*) té com a principal objectiu donar les recomanacions pel tractament complementari del càncer de mama. Inicialment, aquestes recomanacions es basaven exclusivament en criteris clínics i histopatològics i definien a les pacients de baix risc aquelles que tenien: tumors menors o igual a 2 cm, ganglis negatius, grau histològic 1, receptors hormonals positius i edat major o igual a 35 anys. Darrerament, a aquests criteris clàssics s'ha incorporat l'ús de plataformes genètiques que identifiquen grups de gens amb significat pronòstic. Existeixen diverses plataformes comercialitzades, totes elles validades retrospectivament com són Mamaprint® i Oncotype®. En la 14^a i darrera conferència d'experts de San Gallen al 2015 es recomana l'ús de plataformes genètiques, per tal de determinar quines pacients Luminals A són de baix risc de recaiguda, i per tant, el benefici de la quimioteràpia complementaria no supera els seus riscos [78].

8.2.2. Quimioteràpia adjuvant

El Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) ha reportat periòdicament metanàlisis de tots els assaigs clínics disponibles que demostren el benefici del tractament complementari. Al 2001, el panell d'experts del National Institute of Health van concloure que la poliquimioteràpia adjuvant millora la supervivència independentment de l'edat, l'afectació ganglionar i l'estat de receptors hormonals.

Dels estudis i metanàlisis publicats sobre quimioteràpia en tractament adjuvant, es conclou que els esquemes basats amb antraciclins són superiors al CMF (ciclofosfamida, metrotexat i 5-Floururacil) en termes de supervivència global i supervivència lliure de malaltia tant en dones premenopàusiques com postmenopàusiques [79].

Nombrosos estudis han analitzat el benefici d'afegir taxans a un règim d'antraciclins en les pacients amb ganglis positius. L'addició de taxans (paclitaxel i docetaxel) en pacients amb afectació ganglionar axil·lar, tant de manera seqüencial com concomitant, ha demostrat un augment de la supervivència lliure de malaltia i supervivència global respecte el tractament amb antraciclins en monoteràpia [80]. En un metanàlisi publicat per De Laurentis et al, es confirma que aquest benefici és independent del taxà utilitzat (paclitaxel o docetaxel), l'estat de RE, l'edat del pacient i l'afectació ganglionar [81].

8.2.2.1. Toxicitat a la quimioteràpia

Els efectes secundaris de la quimioteràpia depenen de l'esquema i la durada del tractament. Els principals efectes secundaris dels esquemes que inclouen antraciclins i taxans són l'alopècia, mucositis, la pèrdua o augment de la gana i les nàusees o vòmits. La quimioteràpia afecta també la hematopoesi pel què pot augmentar el risc de d'infeccions i sagnat.

La cardiotoxicitat és un efecte advers característic de les antraciclins que pot manifestar-se clínicament o no donar símptomes i pot aparèixer poc després o anys després del tractament. La toxicitat aguda és la que apareix durant el tractament o hores posteriors, normalment és transitòria i cursa amb canvis a l'electrocardiograma. La toxicitat crònicament progressiva és la més habitual i sol aparèixer el primer any després del tractament [82]. Consisteix en la aparició de miocardiopatia, i clínicament es manifesta com a insuficiència cardíaca i afecta del 1,6 al 2,1% dels pacients tractats. La susceptibilitat però depèn de diversos factors de risc com el sexe femení, l'edat >65 anys, la cardiopatia prèvia, la malaltia hepàtica i el tractament concomitant amb radioteràpia o trastuzumab. No obstant, el principal factor de risc és la dosi acumulada que varia en funció de cada tipus d' antraciclina.

Alguns dels citostàtics utilitzats per tractar el càncer de mama com els taxans poden produir neurotoxicitat en forma de neuropatia sensitiva que pot ser limitant de dosi. Apareixen parestèsies distals amb pèrdua de la sensibilitat dolorosa i tèrmica i de la posicional i vibratòria. Generalment aquesta toxicitat és reversible quan es suspèn el fàrmac, tot i que en alguns casos, pot ser permanent.

El metanàlisi EBCTCG conclou que les dones que reben quimioteràpia adjuvant no tenen un augment de la mortalitat atribuïble a altres càncers o a episodis vasculars.

8.2.3. Teràpies dirigides

Un 10-20% de totes les pacients diagnosticades de càncer de mama presenten sobreexpressió de HER-2. La sobreexpressió d'HER-2 és un factor de mal pronòstic, però la introducció de teràpies dirigides contra l'HER-2 com el trastuzumab han canviat radicalment l'evolució de la malaltia.

Diversos estudis fase III han avaluat el benefici de trastuzumab adjuvant en les pacients que sobreexpressen HER-2 [83-86]. Dels resultats d'aquests estudis es conclou que l'addició de trastuzumab a la quimioteràpia s'associa a un benefici en la supervivència lliure de malaltia i la supervivència global. Actualment es recomana trastuzumab adjuvant en aquelles pacients amb tumors majors o igual a 1 cm i/o afectació ganglionar. Habitualment el trastuzumab s'associa a quimioteràpia basada en esquemes seqüencials de taxans i antraciclins, i la durada òptima del tractament és un any.

8.2.3.1. Toxicitat teràpies dirigides

El trastuzumab pot provocar símptomes lleus semblants a la grip tals com febre, calfreds, dolors musculars i nàusees en un 40% de les pacients. Menys freqüentment trastuzumab pot produir cardiotoxicitat quan s'administra sol o en combinació amb citostàtics, sobretot les antraciclins. La majoria de esdeveniments cardíacs són lleus, manejables clínicament i reversibles. La insuficiència cardíaca simptomàtica es dona en un 4% dels casos tractats amb l'anticòs. En un 10% es produeix una disminució simptomàtica de la funció cardíaca. La funció cardíaca s'estudia abans d'iniciar el tractament mitjançant ventriculografia isotòpica o ecocardiograma, i posteriorment es monitoritza durant el tractament [87].

8.2.4. Tractament hormonal

EL tractament hormonal és una part fonamental del tractament de les pacients amb càncer de mama amb receptors hormonals positius. Les darreres guies d'ASCO recomanen indicar aquest tractament a partir de 1% de positivitat pels RE i RP en les cèl·lules tumorals, tot i que es desconeix el benefici en pacients amb positivitat lleu (1-10%).

El tamoxifè, un modulador selectiu del RE, ha estat històricament la base de la teràpia endocrina del càncer de mama. El metanàlisi de EBCTCG publicat al 2011 conclou que el tractament amb tamoxifè durant 5 anys redueix el risc de recurrència un 47% els 4 primers anys, i un 32% dels 5 als 9 anys, així com el risc de mortalitat del 30% els 15 primers anys.

El tamoxifè durant 5 anys és el tractament d'elecció en les pacients premenopàusiques. Estudis recents com l'ATLAS i ATOM comparen 5 anys de tractament amb tamoxifè versus 10 anys [88-89]. El tractament durant 10 anys es va associar a una millora en la supervivència lliure de malaltia i global de manera significativa, tot i que amb un increment de la toxicitat associada a tamoxifè com la embòlia pulmonar (risc relatiu 1,67;p=0,01) i el càncer d'endometri (3,1% vs 1,6%). D'altra banda, s'ha explorat també el benefici de la addició dels anàlegs de la LH-RH al tamoxifè o els inhibidors de l'aromatasa en el tractament adjuvant de les pacients premenopàusiques. Una anàlisi combinat dels estudis SOFT/TEXT confirma el benefici en supervivència lliure de progressió i supervivència global del tractament amb anàlegs de LH-RH i exemestano en comparació a anàleg LH-RH més tamoxifè.

Pel què fa referència a les pacients postmenopàusiques, els inhibidors de l'aromatasa (letrozol, anastrozol, exemestano) són superiors a tamoxifè pel què fa a reducció del risc de recaiguda. Aquest benefici es dóna tant si són administrats des de l'inici com de manera seqüencial després de tamoxifè. Tanmateix, aquest benefici en reducció del risc de recaiguda no s'ha traslladat en un benefici en la supervivència global.

8.2.4.1. Toxicitat del tractament hormonal

Malgrat els beneficis de la teràpia hormonal adjuvant pot haver-hi poc adherència al tractament principalment pels seus efectes secundaris. Els diferents tipus de

tractament hormonal adjuvant tenen també perfil de toxicitats diferents que cal tenir en compte en el moment d'indicar-los.

Les pacients tractades amb tamoxifè presenten símptomes relacionats amb la menopausa com sufocacions i complicacions ginecològiques que poden afectar la seva qualitat de vida. El tamoxifè presenta efectes secundaris poc freqüents però greus com l'augment del risc de càncer d'endometri i tromboembolisme. La obesitat i la història prèvia de tractament hormonal substitutiu augmenta el risc de càncer d'endometri que és major també en teràpies de més llarga durada.

El tractament amb anàlegs amb LH-RH està associat a símptomes menopàusics tals com sufocacions i sequedat vaginal. S'ha demostrat també que la combinació d'anàlegs al tamoxifè provoca major disfunció sexual en dones joves que tamoxifè sol. Altres toxicitats dels anàlegs LH-RH són la pèrdua de massa d'òssia, les alteracions del perfil lipídic, les alteracions cognitives i les vasculars [90].

Algunes de les toxicitats més freqüents dels inhibidors de l'aromatasa són els símptomes musculars i esquelètics com les artràlgies, miàlgies, tendinitis i el síndrome del túnel carpià. Les pacients poden desenvolupar també símptomes ginecològics com sequedat vaginal i disminució de la libido. Un efecte advers poc freqüent però greu dels inhibidors de l'aromatasa inclou la pèrdua de massa òssia i l'augment del risc de fractura. De la mateixa manera que el tamoxifè, aquests símptomes afecten la qualitat de vida de les pacients i comporten en alguns casos la interrupció o l'abandonament del tractament.

8.2.5. Radioteràpia

La radioteràpia complementaria està indicada generalment després de la cirurgia conservadora, i en pacients d'alt risc tractades amb mastectomia. El principal objectiu de la radioteràpia és eliminar malaltia residual i disminuir la recurrència local [91]. La radioteràpia complementaria redueix la recaiguda local, tot i que no hi ha cap estudi que demostrï una reducció significativa de la mortalitat. Tanmateix, un metanàlisi ha demostrat una disminució significativa del risc de recurrència i del risc de mort per càncer de mama. Aquesta evidència recolza l'ús de la radioteràpia després de la cirurgia conservadora [92].

Estudis aleatoritzats, com el CALGB 9343 o el PRIME-2, han valorat la opció d'ometre el tractament de radioteràpia en les pacients > 65-70 anys amb tumors

hormonosensibles i sense afectació ganglionar. Tot i que s'observa un major nombre de recaigudes locals no es compromet la supervivència [93-94].

Després d'un tractament quirúrgic amb mastectomia, s'indica radioteràpia en pacients amb tumors > 5 cm i afectació de 4 o més ganglis. Hi ha controvèrsia en el paper de la radioteràpia en els pacients amb afectació de 1-3 ganglis sense cap altre factors d'alt risc, de manera que cal individualitzar la indicació en aquests casos [95-96].

La dosi de radioteràpia estàndard és de 50 Gy amb un fraccionament diari de 2 Gy. S'han avaluat altres tipus de fraccionament com l'hipofraccionament, la irradiació parcial de la mama i la radioteràpia intraoperatòria.

8.2.5.1. Toxicitat a la radioteràpia

En general la radioteràpia complementària pel càncer de mama després de la tumorectomia i la mastectomia és ben tolerada, i la majoria de pacients no veuen afectades les seves activitats de la vida diària. Els efectes secundaris del tractament de tipus agut són els més comuns i generalment, es limiten en 4-6 setmanes després del tractament. Les reaccions cutànies i els símptomes constitucionals com la fatiga són els més precoços i habituals. La toxicitat tardana o seqüeles al tractament poden ser dividides en dos grups: les més comuns com l'edema persistent de la mama, la hiperpigmentació o la fibrosi o les menys habituals però de conseqüències més greus com l'afectació del plexe braquial, la pneumonitis ràdica, la morbiditat cardíaca, o les segones neoplasies.

Dieta i càncer de mama

1. Generalitats

El fet que hi hagi una major incidència de càncer de mama en els països industrialitzats respecte el països subdesenvolupats o en vies de desenvolupament, així com els resultats d'estudis epidemiològics sobre migració i canvis d'hàbits dietètics, reforcen la hipòtesi que factors de risc modificables com la dieta intervenen en la etiologia del càncer.

La dieta podria influir en el càncer per la propietat antioxidant d'alguns nutrients i la seva influència en la resposta inflamatòria i immunitària. A més a més, la dieta podria intervenir en el cicle cel·lular, la reparació de l'ADN i l'estimulació de factors de creixement com el factor de creixement derivat de la insulina. També s'ha suggerit que alguns nutrients augmenten el risc del càncer de mama perquè augmenten els nivells circulants d'estrògens mentre que d'altres, tindrien un efecte antiestrogènic [41]. El balanç energètic també impacten en el risc de càncer de mama.

2. Disseny dels estudis

La majoria d'estudis epidemiològics sobre dieta i càncer de mama són estudis cas-control, tot i que també tenim dades més recents d'estudis de cohorts. Els estudis cas-control poden presentar biaixos de memòria, ja que les pacients poden atribuir el diagnòstic a una mala dieta prèvia i reportar més aquests aliments, situació que no patirien els controls. En aquest sentit, Giovannucci et al., van observar que la ingesta de greixos estava associada a un major risc de càncer de mama quan la dieta es recollia retrospectivament, però no si es feia de manera prospectiva [97]. Els estudis cas-control poden també presentar biaixos de selecció ja que és difícil la selecció de grups controls que mantinguin un nivell de participació igual que els casos.

Existeixen pocs estudis randomitzats sobre dieta i risc de càncer per la dificultat que suposa que un nombre elevat de persones pugui mantenir una dieta concreta durant un llarg període de temps. Els resultats del *Women's Health Initiative (WHI) Randomized Controlled Dietary Modification Trial* confirma aquest extrem: la majoria de dones del grup d'intervenció no van poder mantenir una dieta baixa en greixos (20% de les calories provinents del greix) després de consumir la major part de la seva vida una dieta alta en

greixos ($\geq 38\%$ de les calories) [98]. Alguns autors suggereixen que els estudis randomitzats amb dones diagnosticades de càncer de mama per estudiar la relació entre la dieta i la recurrència podrien tenir una major adherència per part de les pacients [99]. En aquest sentit hi ha publicats diversos estudis randomitzats que avaluen els canvis en l'estil de vida de les dones diagnosticades de càncer de mama en estadis inicials i el seu impacte la recaiguda. Aquest estudis seran àmpliament revistats en un apartat posterior sobre dieta i pronòstic del càncer de mama.

D'altra banda, la història natural del càncer de mama fa que fins i tot exposicions en etapes precoces de la vida puguin influir en els seu desenvolupament [100] fet que dificulta encara més la metodologia dels estudis

3. Mètodes de mesura de la dieta

A diferència d'altres factors relacionats amb l'estil de vida com el tabac, la dieta és molt difícil de mesurar. Obtenir un mètode vàlid i reproduïble per mesurar la dieta en la població general és complexa per la gran varietat de nutrients i plats que es consumeixen al dia. Tots els instruments que s'utilitzen per mesurar la dieta tenen el risc de no recollir correctament aliments, nutrients i la ingesta total de calories. Una mesura no acurada de la dieta pot ser un obstacle important per conèixer l'impacte del factors dietètics en el risc del càncer de mama.

3.1. Mesura de la dieta en els estudis epidemiològics

Entre tots els mètodes per mesurar la dieta, els qüestionaris de freqüència de consum de nutrients són els que han estat més àmpliament utilitzats en els estudis epidemiològics des de 1990. Després d'alguns dubtes sobre la fiabilitat dels qüestionaris, els investigadors han intentat millorar la seva viabilitat i precisió. Tanmateix, mesurar correctament la dieta continua sent un repte. La taula 7 resumeix els diferents mètodes de mesura de la dieta disponibles detallant el mètode, les dades recollides i les seves fortaleces i limitacions.

3.1.2 Mètodes de mesura de la dieta objectius

El duplicat de dieta i el registre de consum d'aliments es realitzen mitjançant observació objectiva a través de personal entrenat. En el duplicat de la dieta es recull una mostra de la dieta normal del subjecte, s'analitza i s'estima la potencial exposició. Aquest

mètode s'utilitza bàsicament per la exposició a contaminants. En el registre de consum d'aliments es recull informació dietètica sobre el consum i preparació dels aliments a casa a través de personal entrenat durant dos dies consecutius. No es recull informació sobre els aliments consumits fora de casa i aquest s'estima de manera indirecte.

3.1.2. Mètodes de mesura de la dieta subjectius

Els mètodes de mesura subjectius mesuren la ingesta individual reportada per l'individu i són els següents: recordatori dietètic de 24 hores, el registre dietètic, la història dietètica i el qüestionari de freqüència.

El recordatori dietètic de 24 hores i el registre dietètic recullen la ingesta d'un període específic. El recordatori de 24 hores es realitza mitjançant una entrevista detallada sobre la preparació dels aliments, els ingredients utilitzats i les marques comercials dels productes. La quantitat dels aliments s'estima a través de la mida dels elements que els contenen (plats, bols, gots). La limitació és que es basa en la memòria del subjecte i l'habilitat de l'entrevistador per evitar possibles biaixos. El registre dietètic té l'avantatge que el subjecte registre els aliments en el moment que els menga i per tant s'eviten els biaixos de memòria. Per obtenir però dades acurades, cal estar entrenat i tenir un alt nivell de motivació. Aquests dos mètodes es limiten a períodes concrets d'exposició de manera que no són útils per l'estudi de malalties cròniques on són rellevants períodes d'exposició més llargs.

Per mesurar la ingesta individual durant un llarg període de temps, Bruke va desenvolupar el mètode la història dietètica al 1947 [101]. Aquest mètode rarament s'utilitza en els estudis epidemiològics.

| Taula 7. Mètodes de mesura de la dieta en els estudis epidemiològics | | | | | | |
|---|---|---|---|--|--|--|
| | Duplicat de la dieta | Registre de consum d'aliments | Recordatori dietètic de 24-hores | Registre dietètic | Història dietètica | Qüestionari de freqüència |
| Mètodes | Recollida mostra aliments i anàlisi directe | Observació per personal entrenat del nucli familiar | Mesura subjectiva mitjançant qüestionaris oberts administrats per personal entrenat | Mesura subjectiva mitjançant qüestionari obert auto complimentat | Mesura subjectiva amb qüestionaris oberts i tancats administrats per personal entrenat | Mesura subjectiva amb format predefinit, auto complimentat o entrevistador |
| Dades recollides | Informació actual | Informació actual durant un període concret | Informació actual del consum 24 hores abans | Informació actual durant un període determinat | Ingesta habitual estimada durant un llarg període de temps | Ingesta habitual estimada durant un llarg període de temps (de 6 mesos o 1 any) |
| Fortaleses | Mesura l'exposició dietètica | Fàcil pels qui preparen menjar a casa | Informació detallada | Informació detallada, sense biaixos de l'entrevistador | Mesura la ingesta habitual | Mesura la ingesta habitual, cost-efectiva, poc temps, apte per estudis epidemiològics |
| Limitacions | No possible per a grans estudis | No aplicable per qui menja fora de casa | Biaixos de l'entrevistador, car, llarg | Cal gran implicació entrevistat, car i consum de temps | Alt cost i molt temps, no apte per estudis epidemiològics | Específica per a grups a estudi i recerca, qüestionaris tancats, baixa precisió (biaix de memòria), cal correcte avaluació dels qüestionaris |

L'instrument més àmpliament utilitzat per a la mesura de la dieta són els qüestionaris de freqüència dietètica. Els qüestionaris de freqüència estan formats per un llistat de 100-150 aliments on es pregunta la freqüència i la quantitat d'ingesta de cadascun d'ells en un període concret. Els qüestionari el pot completar-lo en 20-30 minuts

el mateix subjecte o mitjançant una entrevista. Aquest mètode de mesura és relativament simple i cost-efectiu.

3.2. Biomarcadors

Alguns biomarcadors específics han estat utilitzats com a subrogats per mesurar la ingesta de nutrients o components dietètics en alguns estudis epidemiològics. Les avantatges potencials d'aquests biomarcadors és que es correlacionarien amb els nivells d'ingesta i evitarien els biaixos de memòria. Tanmateix, els nivells de biomarcadors poden estar influïts per l'absorció i el metabolisme dels nutrients. Per tant, els resultats basats en biomarcadors podrien no reflectir la ingesta de manera exacte [102].

Un nombre important de biomarcadors estan presents en la sang, orina, teixit adipós i cabell. Alguns com el calci sèric estan sotmesos a un control metabòlic estricte i no reflecteixen correctament la ingesta o l'estat nutricional. Aquest tipus de biomarcadors tenen escàs interès com a mesura dietètica. D'altres en canvi, reflecteixen l'estat nutricional i es classifiquen segons la relació que hi ha entre la ingesta i els seus nivells en biomarcadors de recuperació o biomarcadors de concentració.

Els biomarcadors de recuperació reflecteixen de manera directe la ingesta absoluta d'un determinat nutrient. Aquests biomarcadors poden utilitzar-se per corregir errors produïts per un dèficit de registre en els qüestionaris autocomplimentats. Es coneixen pocs biomarcadors de recuperació. Aquests són l'aigua doblement marcada (de l'anglès, *doubly labeled water*) que s'utilitza com a marcador de ingesta energètica, el nitrogen, el sodi i el potassi en orina de 24 hores que són utilitzats com a biomarcadors per la ingesta de proteïnes, el sodi i el potassi, respectivament [103].

Els biomarcadors de concentració es correlacionen amb la ingesta però els seus nivells poden estar influïts pel metabolisme i les característiques personals tals com l'addicció al tabac o la obesitat. Per tant no poden ser utilitzats com a mesura d'ingesta o correcció d'allò reportat als qüestionaris. Tanmateix, es poden utilitzar per establir relacions entre les seves concentracions i l'estat de salut [104].

Recentment s'ha proposat una nova classificació de biomarcadors amb el nom de biomarcadors predictius. Aquests biomarcadors són sensibles, estables, temps-depenent i mostren una dosi-resposta amb la ingesta. Malgrat poden també estar influïts per les

característiques personals, la seva relació més directe amb la dieta supera aquesta limitació. Són exemple de biomarcadors predictius la fructosa en orina de 24 hores [105].

Els biomarcadors poden reflectir una exposició dietètica llarga o curta: la composició del teixit gras reflecteix millor la dieta realitzada a llarg termini, mentre que el perfil dels àcids grassos en plasma i sèrum reflecteix la dieta a mitjà termini.

4. Factors dietètics i risc de càncer de mama

Un gran nombre d'estudis han explorat la associació entre dieta i càncer de mama. Seguidament resumirem els resultats dels estudis de cohorts prospectius sobre dieta i càncer de mama. La nostra revisió es limitarà als següents nutrients de particular interès en el context del càncer de mama: carbohidrats, carn vermella, fruites i verdures, vitamines, alcohol i greixos. D'altra banda, ja que l'associació entre el consum regular d'alcohol i la incidència del càncer de mama està ben establerta, farem un breu resum de l'evidència disponible. La taula x resumeix els resultats dels principals estudis sobre la relació entre la dieta i el risc de càncer de mama.

Taula 8. Estudis de cohorts de dieta i risc de càncer de mama

| Autor | Grup a estudi | Component avaluat | Resultat | Associació |
|--------------|-----------------------------------|---|---------------------|---------------|
| Genkinger | 52062 dones | Carn vermella $\geq 1,000 < 400$ g/set | RR=1.04 | Negativa |
| Jung | 20 cohorts 993.466 dones | Consum fruites i verdures (alt vs baix) | RE- 0.82 RE+1,04 | Positiva RE - |
| Neuhouser | 161.808 dones | Vitamines i suplementes | RR=1.00 | Negativa |
| Chelbowski | 36.202 dones postmenopàusiques | Suplement Vitamina D | RR=0.96 | Negativa |
| Smith-Warner | 322.647 dones | Alcohol | RR=1.09 | Positiva |
| Hunter | 337.819 dones 4980 casos | Greixos | RR=1.05 | Negativa |
| Prentice | 48.835 dones | Reducció ingesta greixos | RR=0.91 | Negativa |

4.1. Carbohidrats

Els carbohidrats podrien influir en el risc del càncer de mama afavorint la resistència a la insulina i augmentant els nivells plasmàtics de la insulina i la glucosa. Nivells alts d'insulina poden augmentar la carcinogènesi del teixit mamari estimulament directament els receptors d'insulina o augmentant la disponibilitat de IGF-1 (de l'anglès,

Insulin-like growth factor receptor) . Estudis experimentals han demostrat que l'IGF-1 té uns potents efectes proliferatius i anti-apoptòtics en el teixit mamari. Un augment de la ingesta de carbohidrats, i particularment els d'absorció ràpida, poden afectar el risc de càncer de mama mantenint una demanda constant d'insulina a través de ràpids augments de glucosa en sang. Tanmateix, aquests mecanismes no tenen el suport dels resultats d'estudis observacionals on els nivells elevats d'IGF-1 no han estat associats al càncer de mama en la premenopàusia i només tenen un paper marginal en el risc de càncer en la postmenopàusia [106].

En els estudis epidemiològics apareixen dos conceptes rellevants en relació als carbohidrats: la càrrega glucèmica, que mesura la quantitat de carbohidrats, i l'índex glucèmic, que indica la velocitat en què un nutrient és digerit i convertit en glucosa sèrica.

La majoria d'estudis no han demostrat una relació entre la ingesta de carbohidrats i la incidència del càncer de mama. Tot i així, un metanàlisi recent, conclou que hi ha una associació entre l'índex glucèmic i el risc de càncer de mama. Segons els autors, el risc de càncer de mama augmentaria un 8% amb la ingesta de dietes amb un índex glucèmic més alt respecte les dietes amb índex glucèmic baix [107].

4.2. Carn vermella i menjar processat

Diversos estudis han investigat l'associació entre la ingesta de carn i el càncer de mama. Els resultats d'aquests estudis són contradictoris donat que alguns mostren que no hi ha associació [108-109] mentre que d'altres reporten una associació positiva [110-114]. Un estudi conclou que el consum habitual de carn molt feta eleva 4.6 vegades el risc de càncer de mama [115]. Contràriament, en una cohort prospectiva amb 52.062 dones no es va observar cap associació entre el consum de carn i el risc de càncer de mama (RR = 1.04, 95 % CI 0.85-1.28) [116]. Una possible explicació de la inconsistència entre el consum de carn vermella i el risc de càncer de mama és que les associacions podrien diferir en funció del tipus de carn, mètode i grau de cocció.

4.3. Fruites i verdures

Existeix la hipòtesi que el consum de fruites i verdures podria prevenir el càncer de mama a través dels antioxidants, la fibra i altres nutrients. Diversos estudis de cohorts prospectius han avaluat l'associació entre el consum de fruites i verdures i la incidència

del càncer de mama amb resultats desiguals. Aquesta possible variabilitat podria estar relacionada amb diferències en l'absorció i el metabolisme dels individus. Així per exemple, les concentracions sanguínies dels carotens estan més relacionades amb un baix risc de càncer de mama que la quantitat de carotens ingerits que mostren els qüestionaris dietètics [117].

L'evidència que hi ha sobre aquesta possible associació ha estat recentment resumida en un metanàlisi que inclou 20 estudis de cohorts amb 993.466 dones amb un temps de seguiment de 11-20 anys. Aquest anàlisi conclou que una alta ingesta de verdures disminueix el risc de càncer de mama receptor d'estrogen negatiu (RR 0.81;95% IC 0.74-0.90) però no amb el càncer de mama estrogen positiu (RR 1.04; 95% IC 0.97-1.11) [118].

4.4. Vitamines i suplementes dietètics

Els resultats dels estudis sobre les vitamines i suplementes dietètics en relació a la incidència del càncer de mama són desiguals. En una cohort de 161.808 dones postmenopàusiques de l'estudi Women's Health Initiative (WHI) , l'ús de suplementes vitamínics no influïa en la incidència del càncer de mama respecte les que no els utilitzaven (HR 1.00, 95% IC 0.92-1.09) [119].

En la interpretació dels resultats d'aquests estudis però cal tenir en compte conceptes metodològics. En el WHI es va analitzar la influència de l'adherència al placebo. Les dones amb major adherència al placebo (prenien >80% de les pastilles) comparat amb les dones amb menys adherència tenien significativament menys risc de càncer de mama, infart de miocardi i mort en l'anàlisi ajustat per les diferents variables. Aquestes troballes suggereixen que cal interpretar amb cautela els resultats d'estudis que comparen pacients que prenen o no tractaments orals [120].

4.4.1. Vitamina D

La vitamina D ha estat un dels suplementes dietètics més estudiats en relació al càncer de mama. Estudis observacionals relacionen nivells alts de vitamina D i de 25-hidroxi vitamina D amb un menor risc de càncer de mama [121-122]. De manera que alguns autors recomanen la monitorització dels seus nivells i el seu ús com a suplementes.

En un metanàlisi d'estudis cas–control, on es mesuren els nivells de 25-hidroxi vitamina D després del diagnòstic del càncer de mama, hi ha una associació entre nivells baixos de 25-hidroxi vitamina D i un major risc de càncer de mama. Tot i així, en la majoria d'estudis de cohorts on els nivells de 25-hidroxi vitamina D són mesurats abans del diagnòstic no s'hi observa aquesta associació [123]. A més a més, tant el baix pes com l'activitat física estan associats a un baix risc de càncer de mama i una alts nivells de 25-hidroxi vitamina D, pel què podrien ser factors de confusió.

El WHI va realitzar un estudi en el què van incloure 36.202 dones postmenopàusiques que rebien suplementes de 1000 mg de calci i 400 UI de vitamina D versus placebo. Després de set anys de seguiment, la incidència de càncer de mama és similar en els dos grups [124]. D'altra banda, es van observar diferències inexplicables en els nivells de 25-hidroxi vitamina D entre les dones un cop ajustat pel consum, pes i exercici físic. Sembla que part dels nivells de 25-hidroxi vitamina D podrien estar genèticament determinats, de manera que cal ser prudent a l'hora d'establir una relació causal entre el càncer de mama i els nivells de 25-hidroxi vitamina D.

4.5. Alcohol

El consum regular d'alcohol ha estat relacionat amb un augment de la incidència de càncer de mama en diversos estudis epidemiològics [3-4].

Un anàlisi combinat de sis estudis de cohorts prospectius mostra que el consum d'alcohol té una associació lineal amb la incidència del càncer de mama [125]. Per cada increment de 10 g/dia d'alcohol augmenta el risc de càncer de mama un 9% (IC 95%, 4-13%).

El mecanisme pel qual l'alcohol indueix la carcinogènesi en el càncer de mama és encara desconegut. Tanmateix, hi ha evidència que un consum regular i moderat d'alcohol afecta els nivells d'hormones sexuals [126]. Altres línies de recerca apunten que l'acetaldehid, un producte del metabolisme de l'alcohol, podria tenir un efecte carciongènic en diferents teixits. A més a més, l'alcohol és un dissolvent lipídic que pot modificar la membrana cel·lular augmentant la permeabilitat a altres carcinògens. L'alcohol també pot modular el metabolisme, augmentant la producció d'espècies reactives d'oxigen (ERO) i inhibint la reparació de l'ADN. El consum d'alcohol empitjora també el metabolisme dels folats i pot alterar la metilació del DNA [127]. Pel què fa al

moment d'exposició, un estudi suggereix que beure alcohol durant la vida adulta, i per tant una exposició més recent, podria tenir un impacte més important en l'augment del risc de càncer de mama que una exposició en etapes més inicials [128]. Alcohol augmenta el risc de càncer de mama tant en les dones premenopàusiques com postmenopàusiques i tampoc hi ha diferències entre la malaltia RE positiu o negativa. Alguns estudis han suggerit que l'alcohol afecta igualment a les dones amb història familiar comparant-les amb les que no [129].

4.6. Àcids grassos

La hipòtesi que els àcids grassos podrien contribuir a la etiopatogènia del càncer de mama ha estat la més àmpliament avaluada. S'ha suggerit també que la quantitat i el tipus d'àcid gras influiria també en el seu desenvolupament.

4.6.1. Mecanismes que relacionen àcid grassos amb al càncer

Els mecanismes pels quals els àcids grassos contribueixen a l'inici i progressió del càncer no són plenament coneguts. S'ha suggerit el seu impacte sobre l'estrès oxidatiu, l'alteració del metabolisme hormonal, la modulació de les senyals de transducció de les vies de senyalització cel·lular i la regulació de l'expressió genètica com a possibles factors.

Desequilibri hormonal

Les dietes riques en àcids grassos estan associades a una major adipositat corporal [130]. L'adipositat augmenta els nivells d'espècies reactives d'oxigen, la insulina, les citoquines secretades pels adipòcits i el factor de necrosi tumoral alfa [131]. Tots aquests factors contribueixen a un estat d'inflamació crònica que crea un ambient propici pel creixement tumoral. Una concentració elevada del *factor de creixement derivat de la insulina 1 (IGF-1)* en pacients amb sobrepès o obesitat podria promoure la proliferació cel·lular a través de l'activació de la via PI3K/Akt [132]. Els adipòcits produeixen estrògens i augmenten per tant els nivells hormonals sèrics. D'altra banda, els desequilibris del IGF-1 i la insulina incrementen els nivells d'estrògens que promouen la proliferació cel·lular i la carcinogènesi a través de l'activació de gens [133].

Síntesi d'eicosanoids

Els eicosanoids són lípids derivats dels àcids grassos omega 3 i omega 6 que actuen en diverses vies de senyalització hormonals i cel·lulars. Els àcids grassos de la dieta poden influir en la síntesi dels eicosanoides que intervenen en la carcinogènesi modulant la resposta inflamatòria i la resposta immunitària, impactant en l'angiogènesi i la mitosi, i alterant l'estatus hormonal. En general, els eicosanoids derivats dels àcids grassos omega 3 tenen efectes antiinflamatoris, mentre que els derivats dels omega 6 tenen efectes inflamatoris. L'àcid araquidònic, l'àcid gras omega 6 poliinsaturat de cadena llarga més abundant sintetitzat a l'organisme, estimula el creixement tumoral i les metàstasi. L'àcid eicosapentaenoic (EPA) i els docosahexaenoic (DHA), àcids grassos omega 3 poliinsaturats de cadena llarga, en canvi, inhibeixen el creixement tumoral, la proliferació i induïxen l'apoptosi en cèl·lules tumorals de càncer de mama suprimint la via Akt i inhibint la producció de l'àcid araquidònic derivat dels eicosanoides [134]

L'angiogènesi, clau en el procés de creixement tumoral i la metàstasi, està influïda per la síntesi dels àcids grassos. Existeix evidència preclínica que els àcids grassos omega 6 promouen l'angiogènesi. Dietes riques en omega 3 en canvi tenen propietats antiangiogèniques [135].

Els àcids grassos derivats dels eicosanoides podria influir en la progressió cel·lular a través de la síntesi d'estrògens. La prostaglandina E2, un mediador derivat de l'àcid araquidònic, augmenta la síntesi d'estrògens estimulant l'activitat de l'aromatasa. Aquest efecte és contrari al de l'EPA o l'àcid oleic que disminueixen la producció de la prostaglandina E2 i per tant disminueixen la producció d'estrògens [136].

Estrès oxidatiu i dany del DNA

Un consum elevat d'àcids grassos està lligat a l'estrès oxidatiu per la producció de espècies reactives de oxigen. Les ERO induïxen mutacions en el gen p53 que és un supressor tumoral, responsable de la regulació del cicle cel·lular, l'apoptosi, la reparació del DNA i que actua en contra de l'angiogènesi. Una augment persistent de l'estrès oxidatiu secundari a una dieta rica en àcids grassos porta a la inestabilitat genòmica i promou la carcinogènesi [137].

Regulació de l'expressió gènica

Els àcids grassos intervenen en la carcinogènesi a través de la regulació de la transcripció i la modulació de l'expressió de gens que intervenen en el creixement, la supervivència, l'apoptosi i la diferenciació cel·lular [138]. Per exemple, s'ha demostrat que

l'àcid linoleic disminueix els nivells de p53, mentre que l'àcid DHA augmenta l'expressió de p53.

Aquesta hipòtesi es basa en estudis ecològics on el consum de greix per càpita es correlaciona amb la mortalitat per càncer de mama [139]. Malgrat aquests resultats, el consum de greix es correlaciona amb el desenvolupament econòmic. De manera que factors com la baixa paritat, l'edat tardana al primer fill, una major proporció de greix corporal i nivells baixos d'activitat física propis dels països desenvolupats podrien actuar com a factors de confusió. Seguidament revisarem l'evidència que hi ha en la relació entre els àcids grassos i el risc de càncer de mama.

4.6.2. Tipus d'estudi

Estudis cas-controls

Un metanàlisi de 12 estudis cas-control va incloure 4321 casos. El risc relatiu (RR) per cada 100 g de més en el consum diari de greixos va ser de 1.35. Aquest risc va ser major en les pacients postmenopàusiques (RR=1,48), i no es va observar associació en les premenopàusiques (RR=1.13).

Estudis de cohorts

Els estudis de cohorts prospectius no estan subjectes als biaixos de selecció i memòria. Els resultats d'aquests estudis no reporten una associació significativa entre el consum de greixos i el risc de càncer de mama per les pacients postmenopàusiques. Un estudi conjunt que inclou la majoria d'aquests estudis, amb 4980 casos entre 337.819, conclou que no hi ha associació entre el consum de greixos total, saturats, monosaturats o poliinsaturats, i el risc de càncer de mama [140]. En el Nurses' Health Study es va fer una determinació addicional als 14 anys de seguiment sobre el consum de greixos. El RR per un 5% d'augment en el percentatge d'energia total obtinguda dels greixos va ser de 0.97 (IC 95%, 0.94-1.00). De manera que els resultats dels estudis de cohorts prospectius aporten suficient evidència que no hi ha una associació entre el consum de greixos durant l'edat adulta i el risc de càncer de mama.

Estudis d'intervenció

Alguns autors suggereixen que la relació entre els greixos i el càncer de mama s'ha d'avaluar en estudis randomitzats i de reducció de la ingesta. El Women's Health Initiative va randomitzar dones (n=48.835) sense història prèvia de càncer de mama a

reduir la ingesta total de greixos a un 20% de les calories (n=19.541) o a mantenir la seva dieta habitual (n=29.002). Després de 8.1 anys de seguiment, es va assolir una reducció estadísticament significativa de la ingesta de greixos que s'associava a una modesta pèrdua de pes. Tot i que hi va haver pocs casos de càncer de mama en el grup d'intervenció, no es van demostrar diferències estadísticament significatives (HR 0.91, 95% CI 0.83-1.01) [141]. En un anàlisi de subgrups no pre-planificat es va observar una reducció estadísticament significativa de la incidència de càncer de mama en les pacients amb una alta ingesta de greixos en el moment d'entrar a l'estudi i adherents a les visites de control. En un segon estudi de prevenció, dones d'entre 35 a 60 anys, sense història prèvia de càncer de mama i una densitat mamogràfica major del 50%, eren randomitzades a reduir el consum de greixos a un 15% del total de calories i augmentar els carbohidrats o mantenir la dieta habitual. No es va observar una reducció en la incidència de càncer de mama després de 10 anys de seguiment (HR 1.19, 95% IC 0.91-1.55) [142].

4.6.3. Tipus d'àcid gras

Els àcids grassos en funció de la seva composició química i estructura podrien influir de manera diferent en el risc càncer de mama. Els àcids grassos saturats (SFA), monoinsaturats (MUFA) i trans (TFA) podrien contribuir al desenvolupament de càncer de mama en models murins i humans. L'àcid oleic és una excepció entre els MUFA ja que ha mostrat *in vitro* un efecte antitumoral inhibint la sobreexpressió de l'HER-2. La dieta mediterrània és rica en àcid oleic [143]

Hi ha dos tipus fonamentals d'àcids grassos poliinsaturats (PUFA): omega-3 (n-3 PUFA) i omega-6 (n-6 PUFA). L'àcid linoleic (AL) i l'àcid araquidònic (AA) són els dos àcids grassos n-6 PUFA més comuns de la dieta occidental i podrien tenir un paper promotor en el càncer. L'AA és una PUFA de cadena llarga relacionat amb la proliferació cel·lular de la glàndula mamària i amb els estadis inicials de l'angiogènesi. L'AA és un precursor directe dels eicosanoids que intervenen com a mediadors de processos pro inflamatoris de la carcinogènesi en les dones i en els murins. Alguns estudis han mostrat que n-PUFA estan positivament associats amb l'oncogen HER-2 [144].

D'altra banda, els n-3 PUFA podrien tenir un efecte antitumoral. L'àcid linolènic (ALA) és la forma més predominant de n-3 PUFA a la dieta oriental. En estudis preclínic, l'ús de tractaments basats en oli de lli que conté un 57% d'ALA produeix una significat

reducció del creixement tumoral en línies cel·lulars MCF-7. S'ha observat també que reforçaria els efectes antitumorals del tamoxifè. La metabolització de l'ALA, per dessaturació i elongació, genera dos importants 3-n PUFA de cadena llarga: àcid eicosapentaenoic (EPA) i àcid docasahexaenoic (DHA). Els EPA i DHA es poden obtenir directament del peix i olis de peix. Un estudi va demostrar que la dieta rica amb n-3 PUFA disminuïa el creixement tumoral en un 66% en ratolins portadors de càncer de mama, sobretot amb els EPA i DHA.

En molts estudis animals, les dietes riques en àcids grassos polinsaturats (àcid linoleic) a nivells d'exposició humana, incrementen els tumors de mama. Encara que aquesta associació positiva no s'ha demostrat en estudis prospectius [140].

D'altra banda estudis animals suggereixen que els àcids grassos monosaturats provinents d'oli d'oliva podrien tenir un efecte protector en relació a altres fonts d'energia [145]. Un estudi cas-control, va concloure que una alta ingesta d'oli d'oliva està associada a una reducció del risc de càncer de mama [146]. Aquests resultats sobre l'associació inversa dels àcids grassos monosaturats i el risc de càncer de mama també es va observar en estudis grecs i italians. D'altra banda, en regions on els àcids grassos monosaturats provenen de fonts d'energia diferents a l'oli d'oliva, no van observar aquesta associació [140]. Aquest fet suggereix que el benefici en la ingesta d'oli d'oliva podria deure's als seus altres components antioxidants i no només als àcids grassos.

Hi ha evidència que suggereix que el temps i període d'exposició de la glàndula mamària als àcids grassos és també important en la modulació del risc del càncer de mama. Els períodes d'exposició possiblement més sensibles a la dieta són intraúter, la pubertat, l'embaràs i la lactància.

5. Estil de vida i pronòstic de càncer de mama: dieta, obesitat i exercici físic

Diversos estudis observacionals i alguns estudis randomitzats avaluen el paper de la dieta, l'augment de pes i l'activitat física en la recurrència del càncer de mama.

5.1. Dieta

Els dos estudis randomitzats sobre càncer de mama i intervenció dietètica amb major nombre de pacients són el Women's Intervention Nutrition Study (WINS) i el

Women's Healthy Eating and Living (WHEL). En l'estudi WINS es van incloure 2437 dones postmenopàusiques diagnosticades de càncer de mama inicial i que havien rebut tractament estàndard entre 1994-2001 en 39 centres dels EEUU. La mesura d'intervenció dietètica va ser reduir la ingesta de greixos. L'estudi WHEL van incloure 3088 dones pre i postmenopàusiques (2448 eren postmenopàusiques) que havien completat tractament per càncer de mama en estadis inicials entre 1995–2000 en 7 centres americans. La mesura d'intervenció del WHEL va ser augmentar el consum de fruites, verdures i fibra, i reduir el consum de greixos. En la taula 9 es troben representades les característiques principals d'aquests dos estudis així com també les de dos estudis d'intervenció dietètica i càncer de mama en l'àmbit europeu dels quals encara no hi ha resultats.

| Taula 9. Estudis randomitzats d'intervenció en pacients amb càncer de mama | | | | |
|---|--|---|--|---------------------------------|
| | WINS [157] | WHEL[5] | SUCCESS | DINA-5 |
| Estadi | I-III A | I-III A | N+, N- alt risc | Alt risc |
| Quimioteràpia | AC, CMF, FAC o AC seguit P | Qualsevol | 3 FEC seguit 3D vs 6 FEC | Qualsevol |
| Hormonoteràpia | Tamoxifè | Qualsevol | Segons protocol | Qualsevol |
| RH | Qualsevol | Qualsevol | HER-2 - | Qualsevol |
| Edat | 48-75 a | 18-70 a | Pre i postmenopàusiques | 35-70 |
| IMC | Qualsevol | Qualsevol | 24-50 | |
| Dieta basal | <20% cal del greix | Qualsevol | Qualsevol | |
| n pacients | 2437 (3:2) | 3088 (1:1) | 1000 (1:1) | 1214 (1:1) |
| Intervenció | 15% cal del greix augment fruita i verdura | <20% cal del greix 5 peces verdures 3 fruita 473ml suc | 20-50% cal greix Augment fruita i verdura | Dieta mediterrània macrobiòtica |
| Pèrdua pes | No | No | Si | Si |
| Exercici | No | No | 150-200 min | 120 min |
| Resultat | HR 0,76 (IC95%;0,60-0,98 p=0,03) | HR=0,96 (IC95%;0,80-1,14 p=0,63) | Pendants | Pendants |

Seguidament es resumeix l'evidència que hi ha sobre la relació entre els principal components de la dieta i la recurrència del càncer de mama.

Fruites i verdures. L'objectiu de la intervenció dietètica de l'estudi WHEL va ser augmentar el consum de fruites a 3 racions al dia, el de vegetals a 5 al dia i el de suc vegetals a 473ml diaris. Els autors conclouen que no hi ha evidència que un major consum en fruites i verdures impacti en la recurrència del càncer de mama [5].

Vitamines i suplementes. En una cohort d'un estudi prospectiu de 4877 dones xineses d'entre 20-75 anys amb càncer de mama es va observar que aquelles consumien

antioxidants (vitamina E, C, multivitamines) tenien un 18 % menys de mortalitat i un 22% menys de recurrència respecte les que no prenen suplementes [147]. Contràriament, un estudi més petit, es va observar una major mortalitat no estadísticament significativa (HR 1.75, 95% CI 0.83-2.69) i menor supervivència lliure de malaltia (HR 1.55, 95% CI (0.94-2.54) en les pacients que seguien un règim amb suplementes amb altes dosis de vitamines. Alguns d'aquests resultats suggereixen la possibilitat que els antioxidants i els complexos multivitamínics pugui interactuar negativament amb la radioteràpia i la quimioteràpia.

Vitamina D. Un aspecte interessant és la relació entre la 25-hidroxi vitamina D amb la recurrència del càncer de mama. Un estudi observacional descriu que dones amb càncer de mama primari i nivells baixos de 25-hidroxi vitamina D tenen una probabilitat més alta de recurrència [148]. Estudis posteriors tenen resultats contradictoris, quatre estudis reporten una associació positiva [149-152] i dos estudis no [153-154]. D'altra banda, un estudi canadenc randomitzat sobre vitamina D com a teràpia adjuvant en pacients amb càncer de mama, va observar que un 84% de les pacients amb càncer de mama ja prenen 1000 mg de vitamina D al dia, no fent aconsellable aquesta intervenció [155].

Alcohol. La relació entre la ingesta d'alcohol i la supervivència de càncer de mama va ser investigada en el The Life After Cancer Epidemiology (LACE) Study (n=2.321). Els resultats d'aquest estudi van suggerir que un consum d'alcohol equivalent a 3-4 begudes o més a la setmana estava associat a un risc de recurrència, particularment en dones postmenopàusiques i obeses [156].

Àcids grassos. La influència potencial dels àcids grassos en la recurrència del càncer de mama també ha estat analitzada en els dos principals estudis randomitzats. EL Women's Intervention Nutrition Study (WINS) van incloure 2473 dones amb estadis inicials de càncer de mama que havien rebut un tractament estàndard [157]. La intervenció dietètica tenia com a objectiu reduir la ingesta de greixos mantenint el nivell nutricional mitjançant el control de dietistes. Una tercera part de les pacients (n=975) foren randomitzades a una reducció de la ingesta d'energia derivada dels greixos del 29.6% a un 15%. Es va assolir una reducció de les calories obtingudes del greix del 29.2% al 20.3% a l'any i es va mantenir durant 60 mesos de seguiment. Malgrat que no era objectiu de l'estudi, es va observar una reducció estadísticament significativa del pes

de 2 Kg. La supervivència lliure de recaiguda era l'objectiu primari de l'estudi i va ser favorable al grup d'intervenció (HR 0.76, 95% CI 0.60-0.98, $p=0.03$).

En el segon estudi, el Women's Healthy Eating and Living (WHEL) en canvi, no es va aconseguir reduir el percentatge d'ingesta de greixos, i als 6 anys del diagnòstic, el consum de greixos era pràcticament igual al basal. Tampoc es van observar canvis en el pes [5]. En aquest estudi no es van observar cap efecte de la intervenció dietètica en quant a la recurrència.

Malgrat les diferències entre els estudis WINS i WHEL, la principal hipòtesi derivada de l'estudi WINS és que la intervenció dietètica dirigida a la reducció de la ingesta de greixos i associada a una disminució moderada del pes està associada a una disminució de la recurrència. De fet hi ha diversos estudis en marxa per estudiar aquesta hipòtesi [158].

5.2. Obesitat

La obesitat s'ha associat repetidament a un major risc de recurrència i pitjor supervivència. Un metanàlisi de 43 estudis, conclou que hi ha un augment del risc de mort per càncer de mama (HR=1.33; 95% IC: 1.19-1.50) quan comparem les pacients obeses respecte les que no ho estan [159]. Aquesta associació no varia en funció de l'estatus menopàusic ni la positivitats del receptor hormonal. De fet, un estudi recent que va ajustar l'anàlisi per l'ús del criatge, el tipus de tractament, la teràpia adjuvant i les característiques del tumor, va observar el doble de risc de recurrència (HR=2,43; 95% IC 1.34-4.41) i de mortalitat per càncer de mama (HR=2,41; 95% IC 1.00-5.81) en les pacients obeses respecte les que tenien pes normal [160].

5.3. Exercici físic

Moltes estudis han associat una activitat física moderada amb un menor risc de recurrència pel càncer de mama. En el Nurse's Health Study, 2987 pacients amb càncer de mama en estadis I-III van reportar retrospectivament l'activitat física abans del diagnòstic i dos anys després. En l'anàlisi multivariant, una major activitat física estava associada a un menor risc de recurrència [161]. En un altre estudi, la informació sobre l'activitat física era recollida de manera prospectiva abans i després del diagnòstic en 2076 dones amb càncer de mama [162]. Les morts per càncer de mama eren menors

només en les dones que mantenen la seva activitat física després del diagnòstic o l'augmentaven, però no en aquelles que es mantenen inactives abans i després, o la disminueixen. Un metanàlisi d'aquests estudis mostra que l'activitat física post diagnòstic està associada a un 34% menys de morts per càncer de mama ($p < 0.0001$) i un 45% menys de morts per totes les causes [163].

Estrès oxidatiu i càncer de mama

1. Concepte d'estrès oxidatiu

L'oxigen és una molècula essencial per l'organisme ja que participa activament en el seu metabolisme i funció. L'oxigen es troba en la seva forma més estable i poc reactiva en estat de triplet (O_2). Tant a nivell endogen com exogen a l'organisme, es poden generar **espècies reactives d'oxigen o radicals lliures** que són substàncies prooxidants i que per tant que poden produir dany cel·lular.

L'estrès oxidatiu està causat per un desequilibri entre aquestes espècies reactives d'oxigen (ERO) i els sistemes antioxidants que ha desenvolupat l'organisme per contrarestar els seus efectes nocius. S'ha assenyalat que el dany oxidatiu, produït pel desequilibri entre la producció d'espècies reactives d'oxigen (ERO) i el sistema antioxidant, podria estar relacionat amb la iniciació i progressió del càncer de mama, però també, amb la d'altres malalties com la diabetes, l'ateroesclerosi, l'artritis i malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer i el Parkinson [164].

Diversos processos cel·lulars com el metabolisme de la cèl·lula, les vies de senyalització, la regulació de l'expressió gènica, la proliferació i l'apoptosi poden estar afectats per l'estrès oxidatiu [165-166]. L'augment de radicals lliures canvia l'estructura i la funció de biomolècules com les proteïnes, els lípids i els àcids nucleics, i pot comportar dany cel·lular, i com a conseqüència dany tissular. Els productes derivats d'aquest dany s'utilitzen com a biomarcadors d'estrès oxidatiu [167-168].

Seguidament exposarem tots els factors que participen en l'estrès oxidatiu així com el seus efectes a nivell de l'organisme.

2. Espècies reactives d'oxigen (ERO)

Les ERO són molècules essencials ja que participen en nombrosos processos vitals tals com la senyalització cel·lular, la resposta immune i la inflamació [169]. Malgrat que la producció de ERO està molt controlada per tal que únicament participin en els processos biològics, molts processos cel·lulars generen ERO no essencials. Les ERO inclouen: (1) **no radicals** i (2) **els radicals lliures**. Els radicals lliures es defineixen des del punt de vista químic com a molècules que tenen un o més electrons desaparellats a nivell orbital extern que els dóna una configuració molt inestable, són molt reactius i tenen una vida mitjana molt curta (Taula 10)

| Taula 10. ERO i substàncies prooxidants |
|---|
| Espècies reactives d'oxigen |
| Radicals lliures |
| Radical hidroxil: OH· |
| Anió superòxid: O ₂ ^{·-} |
| No radicals |
| Peròxid hidrogen: H ₂ O ₂ |
| Oxigen singlet: ¹ O ₂ |
| Productes de la peroxidació lipídica |
| Radical peroxil: ROO· |
| Radical alcoxil: RO· |
| Productes secundaris |
| Malondialdehid |
| 4-hidroxialquenals |

El primer radical lliure que es forma per la reducció de l'oxigen molecular és l'anió superòxid (O₂^{·-}) que té una toxicitat moderada. Aquest, de forma espontània o a través de la superòxid dismutasa mitocondrial (SOD), es converteix en peròxid d'hidrogen (H₂O₂) que es transforma en radical hidroxil (OH·) que és altament tòxic (Figura 3).

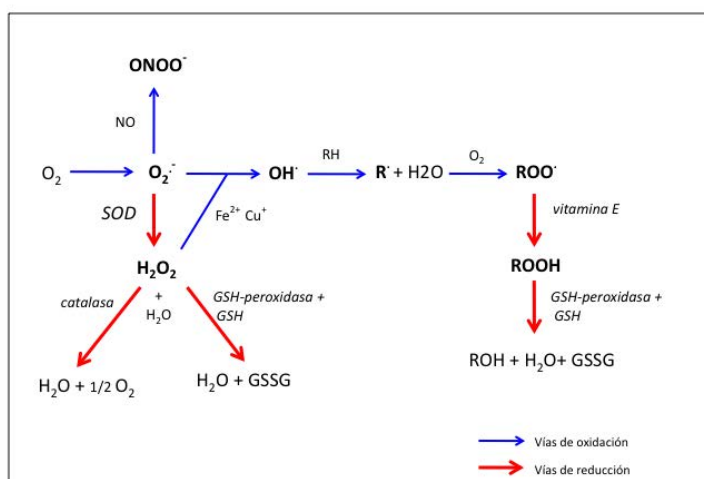


Figura 3. Principals ERO i el seu sistema de detoxificació. Les fletxes blaves indiquen les principals reaccions d'oxidació i formació d'ERO. Les vermelles indiquen les vies de reducció i metabolització de les ERO. Un desequilibri entre ambdues vies genera estrès oxidatiu.

GSH: glutatión; GSSG: glutatión oxidat; H_2O_2 : peròxid d'hidrogen; $O_2^{\cdot-}$: anió superòxid; OH^{\cdot} : radical hidroxil; $ONOO^-$: peroxinitrit; ROO^{\cdot} : peròxid orgànic; $ROOH$: hidroperòxid orgànic; SOD: superòxid dismutasa.
De G. Viñas et al/Med Clin 2012;139(4):171-175

Les ERO tenen una gran avidesa per acceptar electrons d'altres molècules alterant així la seva estructura i funció. Les ERO actuen sobre les biomolècules tals com els lípids, les proteïnes, els carbohidrats i l'ADN. Aquestes reaccions produeixen alteracions de les biomolècules alterant la seva funció, generant inestabilitat genòmica i contribuint per tant a la carcinogènesi.

2.1. Fonts de radicals lliures (RLL)

Les fonts de radicals lliures són diverses i múltiples, i es poden classificar segons si són d'origen endogen o exogen (Figura 4). Entre les fonts de radicals lliures endògens es troba la cadena de respiració mitocondrial, la cadena de transport electrònic dels microsomes, enzims oxidatius del citosol i dels peroxisomes, les hemoproteïnes i els productes derivats de la fagocitosi. La principal font de radicals lliure endògens és la respiració oxidativa. La respiració oxidativa genera radicals hidroxil (HO^{\cdot}) que danyen les purines i pirimidines [170]. Qualsevol lesió oxidativa que no és reparada pot ocasionar una mutació i augmentar així el risc de carcinogènesi. A més a més, els RLL poden estimular indirectament la resposta oxidativa activant els sistemes de resposta inflammatòria.

Els RLL es poden originar també per factors exògens com les radiacions ionitzants, les radiacions ultra-violetes o els carcinògens ambientals, determinades toxines, per fàrmacs o l'alcohol.

Existeixen algunes circumstàncies que també produeixen radicals lliures com són: la dieta hipercalòrica, la dieta insuficient en antioxidants, els processos inflamatoris i traumatismes, els fenòmens d'isquèmia i l'exercici extenuant.

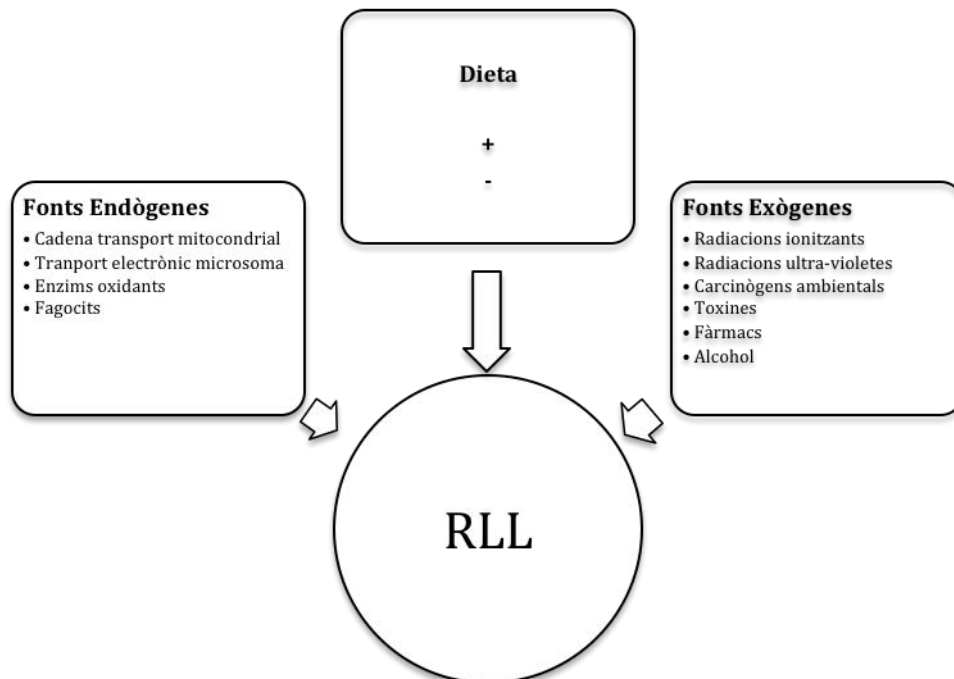


Figura 4. Fonts endògenes i exògenes de radicals lliures

3. Dany oxidatiu a les biomolècules

Les ERO tenen una gran avidesa per acceptar electrons d'altres molècules alterant així la seva estructura i funció. Les ERO poden actuar sobre les biomolècules danyant lípids, proteïnes, carbohidrats i l'ADN.

3.1. Peroxidació lipídica

La peroxidació lipídica és la oxidació dels àcids grassos poliinsaturats (PUFAS) i és un dels mecanismes de dany cel·lular provocat per les ERO més àmpliament investigat. Els PUFAS són el principal component de les membranes cel·lulars, i per tant,

la peroxidació lipídica altera la seva estructura i funció. L'oxidació dels fosfolípids de membrana provoca la formació de lípids inestables i productes aldehids.

La peroxidació lipídica es pot desencadenar per l'oxigen, l'oxigen singlet, el peròxid d'hidrogen o el radical hidroxil. Els factors que poden influir en la peroxidació lipídica són: la quantitat i qualitat de l'agent catalitzador, el contingut en àcids grassos de la membrana, l'O₂, la presència de ferro i el contingut cel·lular dels antioxidants (betacarotè, alfa-tocoferols, glutatión). Finalment, també és rellevant l'activació d'enzims com la glutatión peroxidasa que és un enzim antioxidant que redueix els lípids de membrana. Quan s'inicia el procés per part dels radicals lliures com agents catalitzadors, es formen peròxids orgànics a partir d'àcids grassos insaturats que són responsables del dany cel·lular.

Altres autors en canvi, suggereixen que la peroxidació lipídica representa un mecanisme de protecció contra el càncer de mama ja que la inhibició del seu creixement, in vivo i in vitro, es correlaciona amb un augment de la peroxidació lipídica generada a les cèl·lules tumorals [164]. Aquests autors suggereixen que la peroxidació lipídica podria tenir un rol important en l'efecte protector que alguns nutrients com la soja, els àcids grassos n-3 i n-6, la vitamina D o el calci tenen sobre el càncer de mama.

3.2. Oxidació de proteïnes

La oxidació de proteïnes es defineix com una modificació covalent en una proteïna induïda per les ERO. La oxidació de les proteïnes comporta la pèrdua de la seva funció així com canvis en l'arquitectura cel·lular [171]. Hi ha oxidació d'un grup d'aminoàcids com la fenilalanina, tirosina, histidina i metionina, i formació de grups carbonil. Els carbonils són els marcadors de l'oxidació de les proteïnes i estan associats a l'envelliment i a altres patologies. La determinació de l'oxidació es basa en l'assaig Dinitrofenilhidrazina (DNPH) per mesurar el contingut de proteïnes carbonil del plasma.

3.3. Oxidació de l'ADN

El dany de l'ADN per part del es ERO pot produir inestabilitat genòmica i contribuir a la carcinogènesi. La inestabilitat genòmica és un procés indispensable pel desenvolupament del càncer ja que permet el creixement cel·lular i l'adquisició per part de la cèl·lula de característiques invasives [172]. La inestabilitat genòmica es pot

promoure de manera exògena o endògena com a conseqüència de processos fisiològics. Una font ben documentada de dany de a l'ADN i d'instabilitat genòmica és l'exposició als radicals lliures. Els danys que els RLL poden provocar en l'ADN poden ser múltiples: modificacions dels components de l'ADN, afectació de les bases nitrogenades, o ruptura d'una o de les dues cadenes de l'ADN. Malgrat els mecanismes de control del dany a l'ADN, aquestes lesions en el material genètic poden escapar als sistemes de reparació i alterar la transcripció de l'ADN i la divisió cel·lular. És per això que les ERO tenen un important potencial mutagènic i cancerigen.

4. Dany oxidatiu induït pel càncer

El càncer és per ell mateix una malaltia inductora d'estrès oxidatiu. Les cèl·lules neoplàsiques produeixen una major quantitat d'ERO que les cèl·lules normals. Alguns estudis han observat majors concentracions plasmàtiques d'ERO en pacients amb càncer avançat respecte els individus sans mentre que l'activitat dels sistemes antioxidants es troben disminuïts [173].

Els mecanismes pels quals les cèl·lules neoplàsiques presenten major nivells d'ERO són diversos. En primer lloc, les cèl·lules neoplàsiques necessiten majors quantitats de l' ATP produït per les mitocondries per mantenir el ritme de creixement i proliferació. A més a més, les cèl·lules tumorals utilitzen en major grau la via de la glicòlisi per a la síntesi d'ATP que és menys efectiva que la cadena respiratòria mitocondrial. Aquesta disfunció del metabolisme mitocondrial produeix una major quantitat de radicals lliures intracel·lulars. En segon lloc, les cèl·lules inflamatòries que infiltren el teixit tumoral augmenten també l'estrès oxidatiu del micro-ambient tumoral.

D'altra banda, els pacients oncològics poden presentar durant el tractament una dieta incorrecte a causa de símptomes com l'anorèxia o la toxicitat gastrointestinal en forma de nàusees i vòmits. Aquesta alteració en la nutrició pot produir un dèficit de vitamines i altres antioxidants que contrarestin els radicals lliures.

Finalment, a tots aquests factors propis de la malaltia oncològica, cal afegir l'augment de radicals lliures generats pels tractaments oncològics com la quimioteràpia i la radioteràpia [174].

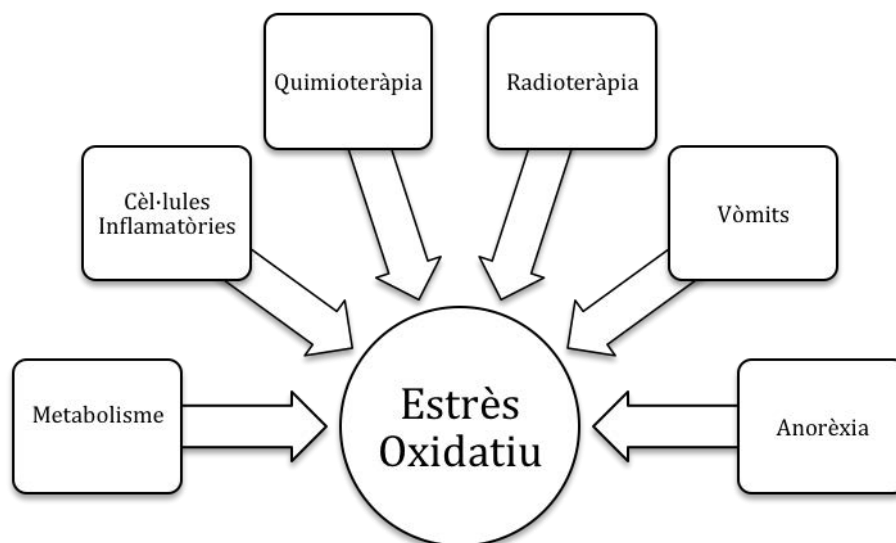


Figura 5. Factors que contribueixen a l'estrès oxidatiu en els pacients amb càncer

5. Dany oxidatiu induït pels tractaments oncològics

Diversos estudis han demostrat que el tractament de quimioteràpia eleva els nivells d'estrès oxidatiu en les pacients que el reben [175]. Els citostàtics que generen uns nivells més alts d'ERO són les antraciclins (doxorubicina, epirubicina i daunorubicina), els agents alquilants, les sals de platí (cisplatí, carboplatí i oxaliplatí) i els inhibidors de la topoisomerasa I (etopòsid) i II (topotecan i irinotecan) (Taula 11).

| Taula 11. Quimioteràpia i estrès oxidatiu | |
|--|---|
| Nivells d'ERO | Citostàtic |
| Alt | Antraciclins Agent alquilants Sals de platí |
| Baix | Inhibidors de la topoisomerasa I (etopòsid) Inhibidors de la topoisomerasa II (topotecan i irinotecan) |

Les antraciclins són les que generen amb diferència els nivells més alts d'estrès oxidatiu. Les antraciclins competeixen amb el coenzim Q10 com a receptors d'electrons i desvien aquests electrons de la cadena mitocondrial a les molècules d'oxigen formant radicals superòxid a nivell cardíac. Aquest és el mecanisme principal de la cardiotoxicitat limitant de dosi induïda per les antraciclins. Altres citostàtics en canvi, com els taxans (paclitaxel i docetaxel) i els alcaloides de la vinca generen nivells baixos d'estrès oxidatiu.

L'estrès oxidatiu interfereix en processos cel·lulars com la progressió en el cicle cel·lular o l'apoptosi, que són necessaris per a que els agents citostàtics facin la seva funció. Per tant, nivells elevats d'estrès oxidatiu podrien disminuir la citotoxicitat dels fàrmacs. Per exemple, la peroxidació lipídica induïda pels radicals lliures generats durant el tractament de quimioteràpia produeix aldehids electrofílics que enlenteixen el cicle cel·lular. En aquest sentit alguns autors han subratllat l'important rol del dany oxidatiu induït pels fàrmacs i la cirurgia en l'efectivitat i la toxicitat dels tractaments [176].

Les radiacions ionitzants generen radicals lliures. Segons l'origen i el mecanisme les radiacions es poden classificar en directes o indirectes. Les directes, originades per protons o neutrons, actuen directament sobre l'ADN. Les radiacions indirectes, que predominen en els tractaments amb raigs X i raigs gamma, actuen a nivell de l'aigua produint radicals lliures que danyen biomolècules com l'ADN, lípids i proteïnes. L'eficàcia de la radioteràpia no depèn només de la dosi i tipus de radiació sinó també de la radiosensibilitat del teixit, la fase del cicle cel·lular, la concentració d'oxigen i dels valors d'antioxidants. En presència de grans concentracions d'oxigen, les radiacions ionitzants generen grans quantitats d'ERO que provoquen un dany cel·lular permanent [177].

6. Sistema antioxidant

L'organisme disposa de sistemes de defensa antioxidants per neutralitzar els radicals lliures. Els sistemes antioxidants poden classificar-se segons el mecanisme d'acció, la localització i el seu origen.

En quant al mecanisme d'acció, els sistemes antioxidants poden actuar (1) cedint un electró per evitar que es formi espècies reactives o (2) eliminant l'agent oxidant abans que produeixi un dany cel·lular.

Els sistemes antioxidants poden actuar tant a nivell intracel·lular o extracel·lular. Els sistemes antioxidants que actuen a nivell del citosol o de la membrana són els enzims, les vitamines i pèptids. Formen part dels sistemes antioxidants extracel·lulars les proteïnes plasmàtiques, àcid úric i bilirubina. Hi ha components del sistema antioxidant com la superòxid dismutasa que poden actuar tant a nivell intracel·lular i extracel·lular. Els antioxidants que actuen a nivell del citosol o extracel·lular són hidrosolubles, mentre que aquells que actuen a nivell de la membrana són liposolubles.

En quant a la distribució, hi ha components antioxidants que es troben àmpliament distribuïts en els teixits com la vitamina C i l'àcid ascòrbic, i d'altres que es troben més localitzats com per exemple el retinol a nivell hepàtic.

En quant a la procedència, els antioxidants poden provenir de la dieta com les vitamines E, C, el beta-carotè, les proteïnes plasmàtiques com l'albumina, enzims com la superòxid dismutasa o el glutatió. Altres antioxidants en canvi, són productes del catabolisme com la bilirubina i l'àcid úric.

La mesura dels nivells d'antioxidants en els teixits o fluids és una bona manera de mesurar el grau de dany oxidatiu. Els bio-marcadors del sistema antioxidant poden dividir-se en tres grups: la capacitat antioxidant total (CAT), els compostos específics (procedents de la dieta o sintetitzats de novo) i l'activitat enzimàtica.

6.1. Capacitat antioxidant total

Formen part de la CAT els compostos enzimàtics (superòxid dismutasa (SOD), catalasa i glutatió peroxidasa (GPx) entre altres), macromolècules endògenes (bilirubina, albumina, ceruloplasmina i ferritina) i molècules que provenen de la dieta (àcid ascòrbic, alfa-tocoferol, beta-carotens i polifenols). La CAT disminueix quan augmenta el nivell d'estrès oxidatiu [178]. Les variacions en els nivells antioxidants s'han associat a un augment del risc de desenvolupar càncer [179]. L'ús de la CAT com a bio-marcador podria ser qüestionada pels resultats discordants d'alguns estudis. En molts estudis de modificació de la dieta, el consum de suplementes dietètics no altera la CAT possiblement per l'efecte dels antioxidants endògens. De manera que per tenir una mesura acurada del sistema antioxidant caldria mesurar els nivells d'antioxidants individuals juntament a la CAT.

6.2. Compostos antioxidants

6.2.1. Vitamines

Moltes estudis epidemiològics correlacionen un alt consum de fruites i verdures, o una dieta rica en antioxidants (vitamina C, carotenoids, vitamina E) amb una relativa baixa incidència de càncer [180-182]. Les vitamines antioxidants actuen activant el

sistema immune, inhibint la formació de nitrosamines i evitant la formació de carcinògens. [183]. Els efectes de les vitamines sobre la proliferació, la diferenciació i l'apoptosi està documentat en línies cel·lulars de càncer de mama [184].

Vitamina C. L'àcid ascòrbic (vitamina C) i l'àcid dehidroascòrbic han estat utilitzats com a bio-marcadors de l'estrès oxidatiu durant anys. L'àcid ascòrbic és un depredador de radicals lliures, i està relacionat amb les vies de regeneració d'altres antioxidants com la vitamina E. La vitamina C es distribueix a nivell dels teixits i el plasma, i existeix bàsicament en estat reduït. L'oxidació de l'àcid ascòrbic produeix àcid dehidroascòrbic que és transportat a nivell intracel·lular i regenerat a àcid ascòrbic de nou. L'augment de la concentració de l'àcid dehidroascòrbic suggereix un estat oxidatiu, l'àcid ascòrbic en canvi, actua com a bio-marcadors d'antioxidació [185]. Alguns estudis han suggerit que el dèficit de vitamina C comporta un augment de l'oxidació de l'ADN [186]. La suplementació amb vitamina C en canvi, ha estat associada a una disminució en la peroxidació lipídica induïda pel tabac [187].

Vitamina A. Existeixen més de sis cents carotenoides (Vitamina A), dels quals cinquanta són precursors de la vitamina A o el retinol com el beta-carotè. L'acció antioxidant dels carotenoides s'ha demostrat tant in vivo com in vitro. Els efectes de les vitamines sobre la proliferació, la diferenciació i l'apoptosi està documentat en línies cel·lulars de càncer de mama [188]. La vitamina A reacciona amb ERO tals com els radicals peroxil i els radicals alcoxil cedint electrons, però el seu rol principal sembla ser el de desactivar el 1O_2 .

Vitamina E. La vitamina E inhibeix la carcinogènesi a través de les seva activitat antioxidant [189]. La vitamina E ha estat considerada el principal neutralitzador de radicals lliures a nivell de la membrana. La vitamina E inhibiria la peroxidació lipídica per inactivació dels radicals lliures peroxil

6.2.2. Coenzima Q

El coenzima Q forma part de la cadena de transport electrònic i és també un antioxidant tant en forma oxidada com reduïda. Aquesta activitat es produeix tant in vivo com in vitro sobre lipoproteïnes, membranes mitocondrials hepàtica, cardíaca i cerebral, en condicions patològiques diverses com una dieta altament insaturada o la restricció calòrica. El mecanisme fonamental és la regeneració de la vitamina E. D'altra banda, el

coenzima Q pot comportar-se com a prooxidant en resposta a processos toxicològics i fisiopatològics. El coenzima Q es pot sintetitzar de manera endògena però també procedeix de la dieta a través d'aliments.

6.3. Enzims antioxidants

L'activitat de superòxid dismutasa (SOD), la glutatió reductasa (GPx) i la catalasa (CATA) es mesuren en el dany oxidatiu.

Catalasa (CATA)

La catalasa té una ampla distribució a nivell de l'organisme, amb una alta concentració a nivell de fetge i ronyó, baixa a nivell de teixit connectiu i epiteli i pràcticament nul·la al teixit nerviós. Es localitza a nivell cel·lular a les mitocòndries, peroxisomes i citosol. Té dues funcions fonamentals: catalítica i peroxidativa. La catalasa forma part del CATA/SOD que actua en presència de altres concentracions de peròxid d'hidrogen (H_2O_2). La CATA catalitza la conversió de H_2O_2 en aigua i oxigen molecular, reduint els efectes nocius del peròxid d'hidrogen.

Glutathion peroxidasa (GPx)

La GPx és un enzim seleni dependent que evita la formació de radicals hidroxil. La GPx és el principal enzim implicat en l'eliminació dels peròxids dels teixits i és altament específic pel glutatió reduït que utilitza com agent reductor. La GPx catalitza la reducció de peròxid d'hidrogen i el lipoperòxid (L-OOH). La GPx es localitza a citosol i lisosomes. Existeixen tres formes de GPx: GPx-c o forma cel·lular que té afinitat pel peròxid d'hidrogen, GPx-p o forma extracel·lular que té afinitat per ambdós substrats, i la GPx-PH que té afinitat pels lipoperòxids.

Superòxid dismutasa (SOD)

La descoberta de la superòxid dismutasa (SOD) va permetre conèixer millor els sistemes de defensa antioxidants, que va portar a la teoria de la toxicitat de l'oxigen. La seva distribució és ampla a l'organisme. Hi ha diversos tipus de SOD, distribuïdes tant a nivell intracel·lular com extracel·lular. Contenen metalls diversos com el coure o el zinc. La principal funció és la neutralització de l'anió superòxid i forma peròxid d'hidrogen. L'activitat de la SOD augmenta en situacions d'estrès oxidatiu perllongat, i es normalitza quan la producció de RLL disminueix. La SOD és per tant també formadora de RLL, com el peròxid d'hidrogen, molt més agressiu que l'anió superòxid. Pel que és important disposar d'altres sistemes de defensa antioxidants.

Sintasa d'àcids grassos i càncer de mama

L'enzim sintasa d'àcids grassos (FASN) és un complex multi-enzimàtic encarregat de la síntesi *de novo* d'àcids grassos de cadena llarga a partir de la condensació de l'acetil-CoA i el malonil-CoA dependent de NADPH [190]. En els teixits normals, la dieta supleix la necessitat d'àcids grassos i l'expressió de FASN és baixa o indetectable. En els teixits tumorals en canvi, FASN està altament expressat i està regulat per rutes de senyalització depenent de les quinases (PI3K/Akt i MAPK) [191]. Un altre hipòtesi, per explicar la relació de la sobreexpressió de FASN amb el càncer, és que FASN dona una avantatge selectiva a les cèl·lules en la situació de mínima oxigenació i acidesa com és la del micro-ambient tumoral.

La síntesi d'àcids grassos és un procés comú en la majoria de neoplàsies ja que formen part de lípids estructurals de la membrana. Actualment s'accepta que la síntesi d'àcids grassos dona alguna avantatge a les cèl·lules tumorals, ja que hi ha estudis que demostren una associació entre l'expressió de FASN i el pronòstic del càncer de mama. Segons els resultats d'un estudi publicat, en estadis inicials de càncer de mama l'expressió de FASN comporta un risc 4 vegades major de morir per càncer de mama [192]. Per tant, amb el coneixement de FASN s'obra una via de recerca sobre el pronòstic i tractament de la malaltia. En aquest sentit es coneixen compostos capaços d'inhibir la seva activitat tots en fase pre-clínica. Un estudi del nostre grup ha reportat que la inhibició farmacològica de FASN indueix l'apoptosi en línies cel·lulars [193].

Com ja s'ha exposat en apartats anteriors, la obesitat és un factor de risc pel desenvolupament de malalties com el càncer de mama. L'acció de la sintasa d'àcids grassos podria promoure l'augment de l'adipositat en les dones sanes durant la menopausa [194]. Per tant, FASN podria tenir un rol en el càncer de mama de les dones postmenopàus

Hipòtesi

1. La capacitat antioxidant i l'estrès oxidatiu de l'organisme de les pacients amb càncer de mama en estadis inicials es modifica durant el tractament adjuvant.
2. Els hàbits dietètics de les pacients amb càncer de mama en estadis inicials varien durant el tractament adjuvant.
3. Els canvis en la dieta durant el tractament adjuvant podrien relacionar-se amb la capacitat antioxidant i l'estrès oxidatiu de l'organisme en les pacients amb càncer de mama en estadis inicials.

Objectius

L'objectiu d'aquesta tesi és explorar la relació entre el tractament adjuvant de les pacients amb càncer de mama, l'estrès oxidatiu i la dieta. Per tal de confirmar la hipòtesi anterior s'han planificat els següents objectius:

1. Objectius primaris:

- 1.1.** Determinar les variacions en la capacitat antioxidant i els nivells d'estrès oxidatiu durant el tractament adjuvant en les pacients amb càncer de mama.
- 1.2.** Avaluar els canvis en la dieta i els paràmetres antropomètrics durant el tractament adjuvant de les pacients amb càncer de mama.
- 1.3.** Analitzar els canvis en la dieta durant el tractament adjuvant en relació a la capacitat antioxidant total i l'estrès oxidatiu en les pacients amb càncer de mama.

2. Objectius secundaris:

- 2.1.** Definir quin són els valors basals de capacitat antioxidant i estrès oxidatiu en la nostra mostra comparant-los amb una mostra de dones lliures de càncer de mama.
- 2.2.** Comparar els factors relacionats amb l'estil de vida entre les pacients amb càncer de mama i els controls.
- 2.3.** Determinar l'expressió de FASN en el tumor i la relació amb les variables clíniques i patològiques.
- 2.4.** Analitzar l'associació entre estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant amb la supervivència lliure de malaltia i la supervivència global.

Material i Mètodes

1. Disseny i característiques de l'estudi

Aquest és un estudi observacional de cohorts prospectiu realitzat a l'Institut Català d'Oncologia de Girona en el qual es van incloure dones diagnosticades de càncer de mama invasor en estadis inicials, tractades quirúrgicament i sotmeses a tractament adjuvant. Durant el mateix període, es va seleccionar un grup control de dones sanes sense història coneguda de càncer. El període d'inclusió va de l'octubre de 2007 al desembre de 2009. El temps de seguiment de la cohort de pacients ha finalitzat amb data de desembre 2016.

Els criteris d'inclusió eren: dones d'entre 18 i 70 anys amb 1) diagnòstic confirmat histològicament càncer de mama invasiu en estadis inicials I a III, 2) tumor primari ressecat quirúrgicament, 3) candidates a tractament adjuvant i 4) que haguessin signat el consentiment informat. Els criteris d'exclusió eren: 1) haver rebut tractament oncològic fins a 5 anys abans 2) patir qualsevol malaltia que pogués interferir en l'estrès oxidatiu (cardiopatia isquèmica, insuficiència renal crònica, hepatopatia crònica, artritis reumatoide, malalties autoimmunes, diabetis mellitus mal controlada, HTA mal controlada, malaltia respiratòria crònica) i 3) tractament en els últims 30 dies amb qualsevol fàrmac que no hagi rebut l'aprovació de les autoritats sanitàries.

Es van incloure 59 pacients del les quals 4 van retirar el consentiment durant l'estudi pel què han estat excloses de l'anàlisi. Per tant, 53 pacients han estat finalment incloses en l'anàlisi estadístic. El grup control està format per 56 dones sanes sense història familiar de càncer de mama, d'edat similar ± 5 , resident a la mateixa àrea geogràfica i mateix nivell socioeconòmic. Les dones del grup control van ser seleccionades durant el mateix període de temps i al mateix centre. S'ha creat un grup control per tal d'evitar un biaix de selecció i que les diferències observades no poguessin ser atribuïbles al propi diagnòstic de la malaltia.

En les pacients amb càncer de mama inicial, es van recollir les característiques clíniques i patològiques, i es van determinar les mesures antropomètriques, la dieta i els marcadors d'estrès oxidatiu en tres moments:

- 1) Abans del tractament adjuvant: abans de la cirurgia i/o quimioteràpia.
- 2) Durant el tractament adjuvant: abans del sisè cicle de quimioteràpia.
- 3) Després del tractament: dos mesos després de la fi del tractament adjuvant.

En les dones del grup control es va fer una única determinació basal. Totes les participants en l'estudi van signar un consentiment informat aprovat pel comitè d'ètica del Hospital Universitari Dr. Josep Trueta.

2. Variables clíniques

En primer lloc, s'han recollit les següents variables clíniques de les pacients amb càncer de mama: edat en el moment del diagnòstic, edat de la menarquia, paritat, edat a la primera gestació, estat menopàusic, data de diagnòstic i d'intervenció quirúrgica, ECOG, data de darrer control, i si correspon, data de recaiguda i data de mort.

En segon lloc, s'han registrat les característiques patològiques del tumor: tipus histològic i grau de diferenciació, invasió vascular i/o limfàtica i perineural, diàmetre tumoral, afectació ganglionar, TNM, estadi, expressió de receptors d'estrògens i progesterona, HER-2, p53, CK5/6, Ki-67, e-cadherina. El tipus i grau histològic, així com la mida del tumor, la invasió vascular i limfàtica i les metàstasis ganglionars han estat obtinguts dels informes anatomopatològics. Els nivells d'expressió dels receptors d'estrògens i progesterona i HER-2, així com de l'índex proliferatiu Ki-67, van ser determinats per immunohistoquímica (IHC) en el Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Dr. Josep Trueta. Es va considerar positiu per a RE i RP $\geq 1\%$ de tinció dels nuclis de les cèl·lules tumorals. Per altra banda, es defineix la positivitat de l'HER-2 per immunohistoquímica (IHC: 3+) com la tinció uniforme i intensa de la membrana en $>30\%$ de les cèl·lules tumorals o resultat de FISH positiu (de l'anglès *fluorescent in situ hybridization*) segons les recomanacions de la ASCO/CAP del any 2007 (FISH+: HER2/CEP17 ratio >2.2). Aquelles pacients amb expressió moderada de HER-2 per immunohistoquímica (IHC: 2+) es realitza determinació per hibridació in situ (FISH) [195].

Per últim, s'han recollit les dades relacionades amb el tractament oncològic de les pacients amb càncer de mama: tipus de cirurgia (conservadora o mastectomia), estadificació axil·lar (biòpsia del gangli sentinella o buidament axil·lar), esquema de quimioteràpia, tipus de tractament hormonal, i si han rebut radioteràpia complementària o trastuzumab adjuvant en les pacients amb tumors HER-2 positius.

El conjunt de totes aquestes variables s'han introduït en una base de dades de creada per a la realització del projecte en format SPSSv24.

3. Mesures antropomètriques

Les variables antropomètriques de les pacients amb càncer de mama es van mesurar en tres moments: abans, durant i després del tractament adjuvant. En els controls es va realitzar una única determinació en el moment de la inclusió. Personal qualificat va mesurar el pes, l'alçada, la circumferència de la cintura i del maluc, i els plecs subcutanis, d'acord amb les tècniques recomanades per la WHO (de l'anglès World Health Organization):

- a) Pes: es va utilitzar una balança ben calibrada de peu, amb una resolució 0,100 kg. La persona es va pesar amb la menor quantitat de roba possible. El resultat es dona en kilograms (Kg).
- b) Alçada: s'ha registrat mitjançant un tallímetre la distància màxima entre el vèrtex cranial i el terra. La persona es va col·locar amb els peus i els genolls junts, i els glutis i els talons adherits al pla posterior. El resultat es dona amb centímetres (cm).
- c) Circumferències: es van mesurar amb una cinta mètrica flexible amb una resolució de lectura de 0,1 cm els perímetres següents, els resultats dels quals s'expressen en cm:
 - Circumferència de la cintura: és el perímetre de la zona abdominal en un nivell intermedi entre la última costella i la cresta ilíaca.
 - Circumferència del maluc: és el màxim perímetre dels músculs glutis, gairebé sempre coincideix amb la sínfisi púbica. Durant la mesura la persona ha d'estar amb els peus junts i els glutis relaxats.
- d) Plecs subcutanis: es van mesurar els plecs subcutanis: tricipital (a la part posterior del braç dret, en el punt mig entre olècranon i acròmion), bicipital (a la part anterior de braç dret, al mateix nivell que la mesura bicipital), subescapular (en el vèrtex inferior de l'escàpula dreta) i suprailíac (sobre la cresta ilíaca, a nivell de línia mitja axil·lar). Per a aquestes mesures es va utilitzar el mesurador de plec adipós model Herpender HSK-BI (Baty International®). El seu valor s'expressa en mil·límetres (mm). Per mesurar el plec subcutani s'agafa el plec entre els dits índex i polze. Es col·loca el

mesurador perpendicular a la cresta del plec i es fa la lectura després de 2-3 segons.

El càlcul del percentatge de greix corporal es va obtenir amb les mesures dels quatre plecs cutanis mitjançant la fórmula desenvolupada per Durnin i Womersley que permet calcular la densitat corporal (DC) [196].

Fórmula de Durnin i Womersley: $DC = C - [M \times \log(\text{suma del plecs en mm})]$

Les constants C i M venen determinades per unes taules en funció de l'edat i els sexe:

| Edat dones | 16-19 anys | 20-29 anys | 30-39 anys | 40-49 anys | 50 anys |
|------------|------------|------------|------------|------------|---------|
| C | 1,1549 | 1,1599 | 1,1423 | 1,1333 | 1,1339 |
| M | 0,0678 | 0,0717 | 0,0632 | 0,0612 | 0,0645 |

A partir de la densitat corporal a través de la equació de Siri es va obtenir el càlcul del percentatge de greix corporal:

Percentatge de greix corporal (%) = $[(4,95 / DC) - 4,5] * 100$

L'índex de massa corporal (IMC) s'ha obtingut mitjançant la fórmula:

$$IMC = \text{pes} / \text{alçada}^2$$

L'índex cintura/maluc s'obté de la divisió entre el perímetre de la cintura i el maluc, i s'expressa en cm.

4. Mesura de l'estat nutricional i estil de vida

L'avaluació de l'estat nutricional de les pacients i els controls es va fer mitjançant un registre dietètic i un qüestionari de freqüència auto complimentat. En el registre dietètic es recollien els aliments ingerits durant 4 dies, un dels quals era en cap de setmana. El qüestionari consistia en recollir la freqüència d'ingesta d'aliments. Ambdós mètodes de mesura van ser explicats per personal qualificat i es basen en el model estandarditzat i

utilitzat a l'estudi EPIC (de l'anglès "*The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*") [197].

Les pacients amb càncer de mama van auto complimentar el registre i el qüestionari abans, durant i al finalitzar el tractament adjuvant. Pel què fa a les dones del grup control, van auto complimentar-los una sola vegada, en el moment de la inclusió en l'estudi.

A partir del les dades del registre dietètic i el qüestionari, es va recollir informació sobre el consum de greixos, carbohidrats, proteïnes, vitamines i minerals. També es van calcular la quantitat de calories ingerides per dia. L'anàlisi i l'avaluació de les dades derivades dels qüestionaris s'ha realitzat mitjançant el programa informàtic "Alimentación y Salud V2"[®] cedit i dissenyat per la Universitat de Granada. La ingesta de greixos, proteïnes i carbohidrats es van expressar en grams per dia. La ingesta de vit C i E es va expressar en mg, i la vit A i seleni en µg per dia. El consum d'alcohol també es va expressar en grams per dia.

L'avaluació dels factors relacionats amb l'estil de vida com l'hàbit tabàquic, el consum d'alcohol i l'exercici físic, es va fer mitjançant qüestionari. L'avaluació de l'exercici físic es va fer mitjançant una versió del Qüestionari Internacional d'Activitat Física (www.ipaq.ki.se) que consta de sis preguntes sobre freqüència i duració de l'activitat física realitzada en els darrers 7 dies. A partir d'aquestes dades, s'obtenen els minuts d'activitat física i es calculen les kilocalories utilitzades. Posteriorment, es va classificar a les pacients en quatre categories: 0) sedentàries 1) poc actives 2) actives 3) molt actives.

5. Anàlisi bioquímic

Per l'anàlisi bioquímic es van obtenir mostres de sang de les pacients en tres moments diferents de l'estudi: abans, durant i a la fi del tractament adjuvant. Pel què fa als grup control, es van obtenir mostra en una única determinació en el moment de la inclusió en l'estudi.

Les mostres de sang van ser recollides per una infermera a l'Hospital de Dia de l'Institut Català d'Oncologia ubicat a l'Hospital Universitari Dr. Josep Trueta de Girona. En cada extracció de sang es van recollir dos tubs de 10ml, un dels quals contenia

anticoagulant (EDTA) i l'altre no. Les mostres sanguínies van ser codificades amb un codi alfa numèric per tal de mantenir-ne l'anonimat. Un cop feta l'extracció es va procedir ràpidament a fer el processament de la mostra. Es van recollir alíquotes de plasma, sèrum i limfòcits que es van emmagatzemar a -80°C , al Institut Català d'oncologia de Girona, fins al moment del seu processament.

La mostra amb l'anticoagulant (EDTA) es va centrifugar a 3000 rpm, durant 15 minuts a 4°C , per obtenir el plasma, i es va emmagatzemar a -80°C . La capa de cèl·lules blanques (limfòcits) obtinguda en aquesta centrifugació es va barrejar amb 3ml de medi cel·lular RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO)[®]. Posteriorment, 2ml d'aquesta solució es van dipositar en un tub amb 2ml d'Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich)[®]. Aquests tubs es van centrifugar a $700 \times g$ a 18°C durant 25 minuts. Un cop centrifugats es va separar les cèl·lules blanques o *buffy coat*, en anglès, i es van barrejar amb 3ml de medi cel·lular RPMI-1640. Posteriorment, 2ml d'aquesta solució es van dipositar en un tub amb 2ml d'Histopaque-1077. Aquests tubs es van centrifugar a $700 \times g$ a 18°C durant 25 minuts. Després d'eliminar el sobrenedant, el precipitat es va resuspendre amb 5ml d'una solució de RPMI-1640 més un 10% FBS (de l'anglès *Fetal Bovine Serum*) (Sigma-Aldrich)[®] i es va centrifugar a $700 \times g$ a 18°C durant 15 minuts. El precipitat obtingut es va resuspendre de nou amb 2ml d'una solució de FBS més 10% de DMSO (de l'anglès *dimethyl sulfoxide*). Un cop resuspendos els leucòcits, aquests es van emmagatzemar en contenidors amb isopropanol a -80°C en criotubs de 500 μL .

La mostra sanguínia sense anticoagulant es va centrifugar a 3000 rpm durant 15 minuts a 4°C per obtenir sèrum plasmàtic que es va liquotar en vials de 500 μL i es va emmagatzemar a -80°C .

Posteriorment al processament i emmagatzematge de les mostres es va procedir a la determinació dels nivells de la capacitat antioxidant total del plasma (CAT), a l'oxidació del ADN en els limfòcits, a la determinació de les proteïnes oxidades (proteïnes carbonil del plasma) i a la determinació dels nivells de peroxidació lipídica plasmàtica. També es van determinar els nivells d'expressió sèrica de FASN i HER-2.

La CAT es va determinar mitjançant l'assaig amb el radical catiònic 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS+). L'oxidació del ADN s'ha realitzat mitjançant l'assaig Comet que mesura el dany ocasionat a l'ADN de les cèl·lules pels radicals lliures. L'oxidació de proteïnes es va determinar mitjançant l'assaig DNPH (dinitrophenylhydrazine). La peroxidació lipídica es va determinar per la tècnica del taronja de xilitol. Els nivells d'expressió gènica de FASN i HER2 s'han analitzat mitjançant la tècnica d'ELISA (de l'anglès, *Enzyme-linked Immunesorbent Assay*). Tots aquests procediments s'expliquen a continuació.

5.1. Anàlisi de l'oxidació de l'ADN

L'oxidació o dany de l'ADN s'ha determinat mitjançant l'assaig Comet o electroforesi en gel de cèl·lules individuals. Östling & Johansson van desenvolupar aquesta tècnica al 1984. Posteriorment Singh et al. la van modificar al 1988 anomenant-la Alkaline Comet Assay. S'aplica habitualment als limfòcits [198]. Per quantificar el dany oxidatiu present en els limfòcits de sang perifèrica dels controls i les pacients, es va realitzar l'assaig Comet alcalí descrit per Collins [199], seguint les recomanacions d'un grup d'experts reunit a Ulm, Alemanya, al 2001 en el *4th International Assay Workshop* [200].

La imatge resultant que s'obté sembla un cometa amb el seu cap i cua ben diferenciats. El cap està compost pel DNA intacte, mentre que la cua està formada pel DNA danyat o trencat. Els resultats de l'assaig comet s'expressen en forma d'índex: Olive Tail Moment (OTM). Els valors normals de referència de l'índex OTM s'obtenen de la relació entre el percentatge de DNA que es genera a la cua de la imatge de l'assaig comet respecte el percentatge de DNA al cap. Els nostres valors de referència es situen al voltant de $0,3 + 0,080$ basant-nos en estudis previs realitzats per l'Institut de Nutrició de Granada amb amplia experiència en aquesta tècnica.

5.2. Anàlisi de la peroxidació de lípids

Per a la determinació del hidroperòxids, s'utilitza la tècnica validada del taronja de xilitol (FOX2). Aquesta tècnica es basa en el principi d'oxidació ràpida mitjançant els peròxids Fe^{2+} a Fe^{3+} sota condicions àcides [201]. S'expressa en μM /litre.

5.3. Anàlisi de l'oxidació de les proteïnes

La determinació de l'oxidació de proteïnes es basa en l'assaig Dinitrofenilhidracina (DNPH). El compost 2,4- Dinitrofenilhidracina reacciona amb proteïnes carbonil generant una base Schiff que deriva en la seva hidrazona corresponent i és analitzada espectrofotomètricament a una longitud d'ona entre 360 i 385 nm. Per fer aquesta determinació es va recórrer a un kit de determinació de proteïnes carbonil (Protein Carbonyl Assay Kit Cayman Chemical Company, Madrid, Espanya).

La mostra que utilitzem és plasma recollit en tubs amb anticoagulant que es centrifugen a 700-1000 x g durant 10 minuts a 4°C. Posteriorment, es recull la capa superior groga, evitant agafar la capa leucocitària, i es congela el plasma a 80°C. EL plasma té generalment una concentració de proteïnes carbonil entre 0,5-4 nmol/mg.

A continuació es descriu el procediment de l'assaig. Es transfereixen 200 μ l de la mostra a dos vials de 2ml. Un tub serà la mostra i l'altre el control. Afegim 800 μ l de DNPH al tub de la mostra i 800 μ l de HCl 2.5M al tub control. S'incuben els tubs a temperatura ambient, sense llum, i agitem el vòrtex cada 15 minuts. Afegim 1ml de TCA 20% a ambdós tubs i agitem. Col·loquem els vials en gel 5 minuts. Centrifuguem a 10000 x g durant 10 minuts a 4°C en una microcentrífuga. Eliminem el sobrenadant i resuspenem el precipitat en 1ml de TCA 10% i col·loquem gel durant 5 minuts. Centrifuguem a 10000 x g durant 10 minuts a 4°C en una microcentrífuga. Eliminem el sobrenadant i resuspenem el pellet en 1ml (1:1) Etanol/Acetats de etil. Resuspenem manualment el pellet, agitem en el vòrtex i de nou centrifuguem a 10000 x g durant 10 minuts a 4°C. Repetim aquest pas dues vegades més. Després dels rentats, resuspenem els pellets de proteïnes en 500 μ l de guanidina hidrocloreur i mitjançant el vòrtex. Centrifuguem a 10000 x g durant 10 minuts a 4°C per eliminar els possibles residus.

Agafem 220 µl de sobrenadant i el dipositem en dos pouets de la microplaca. Ho fem tant pel tub de la mostra com pel control. Mesurem l'absorbància en un lector microplaques entre 360-385 nm de longitud d'ona.

Per a l'anàlisi dels resultats, primerament es fa el càlcul de la mitjana de l'absorbància tant de les mostres com dels controls. Realitzem la diferència entre la mitjana de les mostres i els controls, generant l'absorbància corregida (CA). S'obté la concentració corresponent a cada mostra a través de la següent fórmula:

$$\text{Proteïnes Carbonil (nmol/ml)} = [(CA)/(0.011\mu\text{M}^{-1})](500\mu\text{l}/200\mu\text{l})$$

5.4. Anàlisi de la capacitat antioxidant total del plasma

La capacitat antioxidant total del plasma s'ha mesurat mitjançant l'assaig amb el radical catiónic 2,2'-azinobis-(àcid-3-etilbenzotiazolino-6-sulfònic) (ABTS⁺) segons Re et al [202]. Es basa en la decoloració del catió radical ABTS⁺ per antioxidants del plasma. Els antioxidants presents en la mostra provoquen supressió del color de manera proporcional a la seva concentració:



La solució mare està formada per ABTS 7 mM (2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt. BioChemika, purum, ≥ 99.0% (HPLC);Fluka) i persulfat potàssic 140 mM (Potassium persulphate, max. 0.001% N, GR. MERCK. E.Merck, Darmstadt, Alemanya). La solució mare de radical ABTS⁺ es va preparar barrejant una solució aquosa de ABTS 7mM amb 88µl de persulfat potàssic 140 mM (concentració final 2.45 mM) i una incubació sense llum i a temperatura ambient durant 16 h amb una lleugera agitació continua. El ABTS i el persulfat potàssic reaccionen estequiomètricament en una proporció 1:0.5, resultant en una oxidació incompleta del ABTS, generant el catió radical ABTS⁺ de color verd i que presenta un màxim d'absorció a 734nm. La solució mare es dilueix amb PSB 1X (PBS 10X pH 7.4 GIBCO® INVITROGEN™, CaCl₂-MgCl₂ free, EEUU) amb l'objectiu d'ajustar la densitat òptica a 0.70±0.02 (734nm). Per a la confecció d'una corba estàndard es van preparar els següents estàndards de TROLOX en solució etanòlica (estanol pur HPLC): 0,125, 250,

500, 750 i 1000 μM , a partir del estàndard concentrat de TROLOX 1 mM ((\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid. Purum, $\geq 98.0\%$ (HPLC); Fulka).

La determinació de la CAT s'ha fet per duplicat diluint la mostra de plasma amb una proporció 1:10 amb PBS 1X (pH 7.4). Posteriorment, es va pipetejar 4 μl de plasma diluït i cada un dels estàndards es van barrejar amb 196 μl de solució de treball de ABTS⁺. La corba estàndard resultant estava formada pels següents punts: 0, 2.5, 5, 10, 15 i 20 μM . La barreja es va agitar per espai en 1 minut amb ajuda d'un agitador de plaques. A continuació, es va incubar a una temperatura ambient sense llum durant 10 minuts. Passat aquest temps l'absorbància va ser llegida amb una longitud d'ona de 734 nm.

Per a la quantificació de la CAT de les mostres plasmàtiques, es van extrapolar les densitats òptiques en la funció del calibratge obtingut amb els patrons, per fer-ho es va utilitzar el software Slide Write[®] Plus per Windows i multiplicant els resultats pel factor de dilució. El resultat final vindrà expressat com $\mu\text{mol/l}$ de Trolox.

5.5. Anàlisi de retinol, beta-carotè i tocoferol

Els antioxidants liposolubles retinol, beta-carotè i tocoferol, es determinen mitjançant HPLC amb detector electroquímic seguint la tècnica de Battino [203]. Per a l'extracció dels antioxidants, es van afegir 300 μl de 1-propanol a 100 μl de plasma i es va centrifugar, després d'agitar en un vòrtex, a 11.200 x g durant 5 minuts a 4°C. S'extreu el sobrenadant que va ser emmagatzemat a -80°C fins el seu processament. Tot el procés es fa preservant les mostres de les altes temperatures i amb llum indirecte amb l'objectiu de protegir els antioxidants.

La separació cromatogràfica es realitza per HPLC-EC utilitzant un equip compost per una bomba Beckman System Gold 125 pump, un injector automàtic Water 717 plus i una columna d'acer inoxidable de 15 cm de longitud, 4.6 mm de diàmetre intern, empaquetada amb 3 mm ODS (C18) Supelcosil. El detector electroquímic va ser el model Coulochem III (ESA), una cèl·lula guarda model 5020 i una cèl·lula analítica 5011. Els cromatogrames es van integrar mitjançant un softawer System Gold de Beckman. Pel

retinol i els tocoferols la fase mòbil va consistir en 20 mM de perclorat de liti, 10 mM de àcid perclòric, 10% d'aigua purificada, 90% de acetonitril a 1,5 ml/min; l'elèctrode 1 es va ajustar a - 0.5 V i l'elèctrode 2 a + 0.40 V. Es van injectar 50 µl de la solució obtinguda després de la extracció, van ser processats en l'equip HPLC durant 5 minuts. Els diferents antioxidants van ser identificats i quantificats mitjançant rectes de patrons d'estàndars purs.

5.6. Anàlisi expressió de HER2 i FASN en sèrum

La determinació de l'expressió de FASN en els teixits es va realitzar per IHC en la mostra dels tumors per part del Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Universitari Dr. Josep Trueta. Es va utilitzar l'anticòs de FASN (Assay design; Enzo Life Sciences, Exter, UK). Teixit muscular va ser utilitzat com a control negatiu de l'expressió de FASN. L'expressió de FASN es va classificar de 0 a 3+ (0 a 1+, expressió normal de FASN; 2+ expressió moderada; FASN 3+ màxima expressió). El percentatge de tinció va ser 0-33%, 33-66% i 66-100%, considerant totes les àrees del teixit.

6. Anàlisis estadístic

6.1. Estimació mida de la mostra.

El càlcul de la grandària de la mostra es va realitza en base a un dels objectius principals de la tesis que és detectar diferències en la capacitat antioxidant total abans i a després del tractament adjuvant. Acceptant un risc alfa de 0.05 i un risc beta inferior al 0.2 en un contrast bilateral, calen 19 pacients per detectar una diferència igual o superior a 22 unitats. Es pren com a valor basal (abans d'iniciar el tractament) el de 220 unitats assumint una desviació estàndard de ± 30 unitats, assumint una potència del 80% i contrast bilateral. S'ha estimat una taxa de pèrdues de seguiment del 20%. Els càlculs s'han realitzat amb el programa GRANMO (posar ref. <https://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>)

6.2. Mètodes estadístics

En primer lloc, es realitzà un anàlisi descriptiu de les característiques clíniques i patològiques de les pacients amb càncer de mama. Les variables categòriques s'expressaren com a freqüències absolutes (n) i relatives (%). Les variables numèriques es resumiren a través dels estadístics de tendència central i dispersió; si es podia considerar que la variable es distribuïa segons una llei normal es donava la mitjana i la desviació estàndard, sinó la mediana i els percentils 25 i 75. El compliment del supòsit de normalitat s'avaluà a través del test de Kolmogorov-Smirnov i el gràfic quantil-quantil (Q-Q).

La comparació de les diferents variables (factors de risc del càncer de mama, nivell d'estrès oxidatiu i capacitat antioxidant, dieta i paràmetres antropomètrics) entre les pacients amb càncer de mama i els controls es realitzà de la següent manera:

- Si la variable era categòrica s'utilitzà el test de la Xi-quadrat de Pearson o test exacte de Fisher (si algun dels valors esperats era menor de 5).
- Si la variable era numèrica s'utilitzà el test de la t-student per a dades independents. S'ha utilitzà el test paramètric perquè es disposava de més de 30 individus per a cadascun dels dos grups (Teorema Central del Límit).

Per a les pacients amb càncer de mama, la comparació dels nivells d'estrès oxidatiu i capacitat antioxidant, la dieta i els paràmetres antropomètrics entre abans de l'inici del tractament adjuvant i la fi del tractament s'avaluà a través de la t-student per a dades aparellades. S'utilitzà el test paramètric perquè es disposa de més de 30 individus (Teorema Central del Límit).

L'evolució dels canvis en l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant, la dieta i els paràmetres antropomètrics en les dones tractades amb quimioteràpia s'analitzà amb un model d'anàlisi de la variància (ANOVA) d'un factor amb mesures repetides seguides de les comparacions a posteriori amb l'ajust de Bonferroni. El supòsit d'homogeneïtat de variàncies es contrastarà mitjançant la prova d'esfericitat de Mauchly. En cas de rebutjar-la, s'utilitzà la correcció de Greenhouse-Geisser per a determinar les diferències entre els 3 moments temporals (previ, meitat i fi de tractament).

L'estudi del patró d'evolució conjunta entre les variables d'estrès oxidatiu i dieta es realitzà de manera descriptiva. Es representà en un mateix gràfic, la mitjana i el seu corresponent d'interval de confiança al 95% (IC 95%) per a cada parell de variables i per a cadascun dels tres moments temporals.

En l'anàlisi de l'expressió de FASN en relació a les característiques clíniques de les pacients i els tumors, les variables categòriques van ser comparades pels tests Xi-quadrat o el test de Fisher; la força de l'associació entre les variables numèriques va ser analitzada pel coeficient de Kendall. Per les dades amb distribució normal, la t-student i l'anàlisi de la variança de Bonferroni es van utilitzar per mesurar les diferències en les variables contínues entre els grups. El test de Kruskal-Wallis es va utilitzar quan l'assumpció de normalitat no estava garantida. Tots els tests van ser proves bilaterals: el un p-valor inferior al 0.05 va ser considerat significatiu.

Les taxes de supervivència global (SG) i lliure de malaltia (SLLM) es calcularen utilitzant el mètode de Kaplan i Meier i es proporcionà l'estimació puntual i l'interval de confiança al 95 % als 5 anys de supervivència. La supervivència lliure de malaltia es definí com el temps des del diagnòstic de la malaltia fins a la recaiguda o mort de la pacient. Es defineix com a recaiguda, la recaiguda local o a distància, o el diagnòstic d'un segon primari de mama. La supervivència global com el temps des del diagnòstic a la mort de la pacient. La comparació dels nivells d'estrès oxidatiu en el moment basal o final de tractament entre les pacients vives i mortes es determinà a través de la t-student per a dades independents o el test U de Mann-Whitney, si no es podia assumir el supòsit de normalitat de les dades.

El nivell de significació estadística utilitzat en els contrastos d'hipòtesis es fixà al 5%. Les anàlisis estadístiques es realitzà a través dels software estadístics SPSS versió 24.0 i R versió 3.3.3.

Resultats

1. Característiques clíniques i patològiques de les pacients

Des de l'octubre del 2007 al desembre de 2009 es van incloure un total de 53 pacients, intervingudes a l'Institut Català d'Oncologia de Girona. Les característiques clíniques de les pacients i dels tumors estan descrites a la Taula 12.

La mitjana d'edat de les pacients va ser de 50 anys ($\pm 9,48$; rang 33-70). La majoria de les pacients presentaven un tumor amb histologia de carcinoma ductal infiltrant (81,1%) i un grau II de diferenciació histològica (47,5%). Pel què fa referència a l'estadi tumoral, els més freqüents van ser els estadis I i IIA, amb un percentatge del 35,8% i 32,1%, respectivament. Un 56,6% de les pacients presentaven afectació ganglionar axil·lar. L'expressió del receptor d'estrogen va ser positiva en un 83% dels tumors, i del receptor de progesterona en un 79,2% dels tumors. L'estudi del receptor HER-2, incloent el FISH, va mostrar que un 13,2% dels tumors eren HER-2 positius. Es va analitzar l'índex proliferatiu Ki-67, un 20,8% de les pacients (n=11) presentaven un Ki67 <14% i un 62,3% > 14%.

En relació al tractament del tumor primari, la majoria de pacients es van sotmetre a una cirurgia conservadora de la mama (77,4%) amb biòpsia del gangli sentinella (72,7%). Pel què fa al tractament sistèmic, la majoria de les pacients (73,4%) van rebre tractament de quimioteràpia adjuvant. L'esquema de quimioteràpia més àmpliament utilitzat va ser una combinació d'antraciclins i taxans en règim seqüencial (62,3% de les pacients tractades amb quimioteràpia). Un 86,8% de les pacients van rebre tractament hormonal complementari, el més freqüent va ser el tamoxifè en un 58,5% de les pacients, seguit dels inhibidors de l'aromatasa en un 28,3% i fulvestrant 1,9%. En quant al tractament amb trastuzumab adjuvant, el van rebre totes les pacients amb sobre-expressió de HER-2. Finalment, un 79,2% de les pacients van rebre tractament complementari de radioteràpia.

| Taula 12. Característiques clíniques i patològiques del les pacients | | |
|---|------------------|------------|
| Característiques | n | (%) |
| Edat | | |
| Mitjana (\pm DE) | 50 (\pm 9,48) | |
| Rang | 33-77 | |
| Histologia | | |
| CDI | 43 | (81,1) |
| CLI | 10 | (18,9) |
| Grau | | |
| I | 8 | (15,1) |
| II | 22 | (41,5) |
| III | 13 | (24,5) |
| Lobulillar | 10 | (18,9) |
| Afectació ganglionar | | |
| Si | 30 | (56,6) |
| No | 23 | (43,4) |
| Estadi | | |
| I | 19 | (35,8) |
| IIA | 17 | (32,1) |
| IIB | 10 | (18,9) |
| IIIA | 4 | (7,5) |
| IIIC | 3 | (5,7) |
| Receptors estrògens | | |
| Positiu | 44 | (83) |
| Negatiu | 9 | (17) |
| Receptors progesterona | | |
| Positiu | 42 | (79,2) |
| Negatiu | 11 | (20,8) |
| Her-2 | | |
| Positiu | 7 | (13,2) |
| Negatiu | 46 | 86,8 |
| Ki67 | | |
| \leq 14 | 11 | (20,8) |
| $>$ 14 | 33 | (62,3) |
| Desconegut | 9 | (17) |
| Cirurgia | | |
| Tumorectomia | 41 | (77,4) |
| Mastectomia | 12 | (22,6) |
| Hormonoteràpia | | |
| Si | 46 | (86,8) |
| No | 7 | (13,2) |
| Quimioteràpia i/o Radioteràpia | | |
| No QT- no RDT | 4 | (7,5) |
| QT + RDT | 32 | (60,4) |
| QT sola | 7 | (13,2) |
| RDT sola | 10 | (18,9) |
| Esquema de quimioteràpia | | |
| Antraciclins | 4 | (7,5) |
| Antraciclins+Taxans | 33 | (62,3) |
| Altres | 2 | (3,8) |
| Trastuzumab | | |
| Si | 7 | (13,2) |
| No | 43 | (81,1) |
| Desconegut | 3 | (5,7) |

DE: desviació estàndard
 CDI: carcinoma ductal infiltrant CLI: carcinoma lobulillar infiltrant
 QT: quimioteràpia RDT: radioteràpia

2. Comparativa dels nivells d'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant entre les pacients amb càncer de mama i els controls

Per comparar els nivells d'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama respecte els controls, s'analitzaren aquests paràmetres en les pacients (n=53) en el moment basal, abans de la cirurgia i/o inici del tractament adjuvant, i en els controls (n=56). La taula 13 mostra els resultats de l'anàlisi.

| Taula 13. Estrès oxidatiu i capacitat antioxidant total dels controls i les pacients en el moment basal | | | |
|--|------------------------|------------------------|------------------|
| Variable | Controls (n=56) | Pacients (n=53) | p-valor |
| Edat (Mitjana±DE) | 48±10,96 | 50±9,48 | 0,358 |
| Estrès Oxidatiu | | | |
| OTM | 0,42±0,30 | 0,46±0,27 | 0,483 |
| Peroxidació lípids* | 469,90±264,29 | 576,59±211,97 | 0,025 |
| Oxidació proteïnes [†] | 0,52±0,21 | 0,65±0,34 | 0,022 |
| Capacitat antioxidant | | | |
| Enzimàtica | | | |
| ABTS [‡] | 221,56±40,76 | 162,35±16,02 | <0,001 |
| No enzimàtica | | | |
| Retinol [°] | 0,042±0,10 | 0,043±0,10 | 0,460 |
| Beta-carotè ^ª | 0,54±0,27 | 0,61±0,31 | 0,202 |
| Tocoferol [°] | 0,01±0,006 | 0,02±0,004 | 0,020 |
| OTM: olive oil moment ABTS:radical catiònic 2,2'-azinobis-(àcid-3-etilbenzotazolino-6-sulfònic) | | | |
| *µM/l: micromol/litre †nM/mg: nanomol/milígram ‡ µM/l Trolox: micromol/litre Trolox | | | |
| ° ng/ml:nanogram/ml ªµg/ml:microgram/mililitre | | | |

Els resultats mostren que les pacients presentaven uns nivells significativament més elevats de peroxidació dels lípids ($P=0,025$) i oxidació de proteïnes ($P=0,022$) en el moment basal respecte els controls. No s'observà en canvi, diferències pel què fa a l'oxidació de l'ADN expressat en forma d'OTM (de l'anglès, *olive tail moment*).

Pel què fa referència al sistema de defensa antioxidant de l'organisme, la capacitat antioxidant enzimàtica de les pacients era ja abans de l'inici del tractament adjuvant significativament menor respecte als controls. Els nivells de ABTS [radical

catiònic 2,2'-azinobis-(àcid-3-etilbenzotazolino-6-sulfònic)] van ser de $162,35(\pm 16,02)$ $\mu\text{M/l}$ Trolox en les pacients i de $221,56(\pm 40,76)$ $\mu\text{M/l}$ Trolox en els controls, essent aquesta diferència estadísticament significativa ($P < 0,001$) (Figura 6).

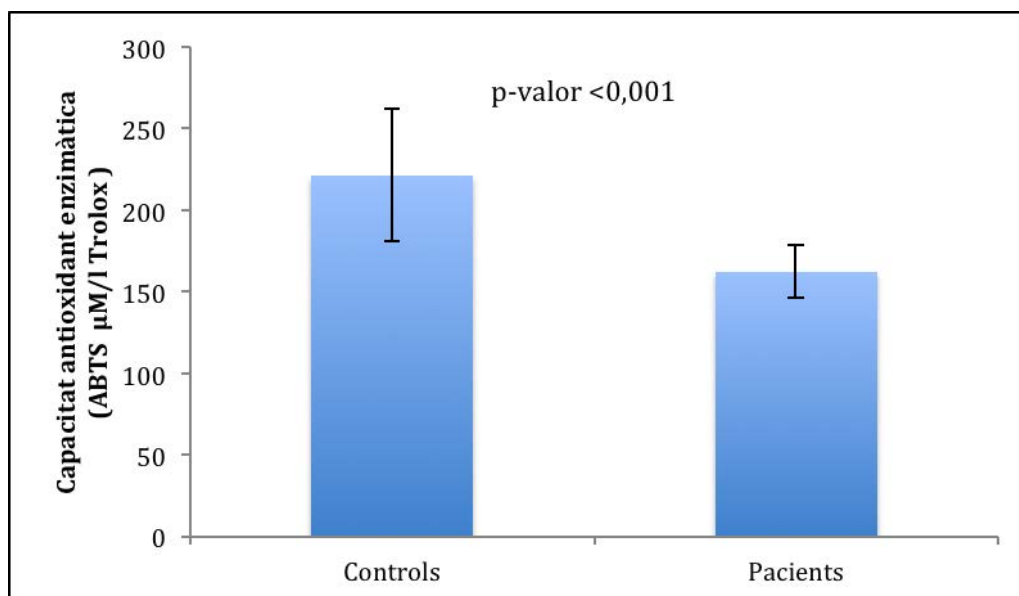


Figura 6. Capacitat antioxidant enzimàtica de les pacients respecte els controls.

En quant als nivells d'antioxidants liposolubles que participen del sistema de defensa antioxidant no enzimàtic, s'observaren uns nivells significativament més elevats de tocoferol en les pacients [$0,02(\pm 0,004)$ ng/ml] respecte els controls [$0,01(\pm 0,006)$ ng/ml] ($P = 0,02$). No es detectaren diferències en canvi, en els nivells de retinol i beta-carotè.

3. Comparativa dels paràmetres relacionats amb l'estil de vida entre les pacients amb càncer de mama i els controls

3.1. Anàlisi de l'hàbit tabàquic i les variables ginecològiques de les pacients i els controls

Per comparar l'estil de vida i la història reproductiva de les pacients i controls es va recollir informació mitjançant qüestionari auto complimentat sobre l'hàbit tabàquic i els antecedents ginecològics.

Els resultats mostren que l'hàbit tabàquic (Taula 14) era independent del fet de ser pacient o control. Tanmateix, es va observar que el número de cigarretes consumides per persona i dia era significativament superior en el grup control ($P=0,033$).

| Taula 14. Hàbit tabàquic dels controls i les pacients amb càncer de mama | | | | | |
|---|------------------------|---------|------------------------|---------|----------------|
| Variables | Controls (n=56) | | Pacients (n=47) | | p-valor |
| | n | (%) | n | (%) | |
| Hàbit tabàquic | | | | | 0,086 |
| No fumadora | 26 | (46,40) | 32 | (68,20) | |
| Fumadora | 11 | (19,60) | 6 | (12,80) | |
| Ex-fumadora | 19 | (33,90) | 9 | (19,10) | |
| Núm. de cigarretes* | 2,39±2,70 | | 1,32±2,35 | | 0,033 |
| * mitjana±desviació estàndard | | | | | |

Els següents factors ginecològics relacionats amb el risc de desenvolupament del càncer de mama es recolliren de les pacients i els controls: edat a la menarquia, número d'embarassos, edat al primer embaràs, i menopausa (Taula 15). No es van observar diferències estadísticament significatives entre els dos grups.

| Taula 15. Antecedents ginecològics dels controls i pacients | | | | | |
|--|------------------------|--|------------------------|--|----------------|
| Variables* | Controls (n=56) | | Pacients (n=47) | | p-valor |
| Menarquia | 12,30±1,5 | | 12,85±1,7 | | |
| Núm. embarassos | 1,36±1,22 | | 1,77±0,98 | | 0,069 |
| Edat al primer embaràs | 25,20±4,32 | | 24,93±4,83 | | 0,792 |
| Edat menopausa | 50,04±3,52 | | 49,00±4,94 | | 0,397 |
| Menopausa (n / %) ^o | | | | | 0,776 |
| Si | 27 (48,20) | | 27 (50,90) | | |
| No | 29 (51,80) | | 26 (49,10) | | |
| * mitjana □ desviació estàndard ^o dades sobre el total de pacients n=53 | | | | | |

3.2. Anàlisi de la ingesta de nutrients de les pacients respecte els controls

Per contrastar si hi havia diferències en l'hàbit dietètic de les pacients abans del tractament respecte els controls, es van comparar els nutrients ingerits per les pacients,

abans de la cirurgia i/o de l'inici del tractament adjuvant, i els controls. Els nivells de nutrients s'obtingueren a partir de les dades recollides en els qüestionaris de freqüència auto-complimentats basats en l'estudi EPIC. L'anàlisi i avaluació d'aquestes dades es va fer mitjançant el software "Alimentación i Salud v2" cedit i dissenyat per la Universitat de Granada. A partir d'aquest software es van obtenir la quantitat d'ingesta de kilocalories (kcal), greixos, proteïnes, carbohidrats, vitamines, minerals i alcohol al dia (Taula 16).

| Taula 16. Dieta dels controls i de les pacients en el moment basal | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------|
| Variable* | Controls (n=56) | Pacients (n=53) | p-valor |
| Kilocalories | 1680,60±428,71 | 1794,61±366,17 | 0,176 |
| Oli oliva verge (g) | 10,81±6,91 | 10,25±7,94 | 0,713 |
| Oli oliva (g) | 3,70±5,19 | 4,08±5,26 | 0,730 |
| Greixos (g) | 67,25±19,69 | 72,76±18,16 | 0,166 |
| Poliinsaturats | 9,63±4,73 | 10,86±4,57 | 0,204 |
| Monosaturats | 26,38±7,52 | 28,37±8,58 | 0,232 |
| Saturats | 19,53±8,04 | 19,91±5,89 | 0,786 |
| Proteïnes (g) | 77,00±22,38 | 95,33±27,88 | 0,001 |
| Carbohidrats (g) | 182,28±52,78 | 193,69±44,86 | 0,270 |
| Vitamines | | | |
| Vitamina A(µg) | 708,32±381,15 | 1119,85±1376,36 | 0,072 |
| Vitamina C(mg) | 147,11±82,82 | 163,17±100,70 | 0,376 |
| Vitamina E(mg) | 9,54±5,36 | 10,91±8,96 | 0,351 |
| Seleni (g) | 64,11±26,96 | 79,87±33,42 | 0,012 |
| Alcohol (µg) | 5,29±8,72 | 1,87±3,90 | 0,011 |
| *les variables s'expressen en unitats al dia | | | |

Els resultats mostraren que no hi havia diferències en quant a la quantitat de Kcal diàries entre les pacients en el moment basal i els controls, 1794,61(±366,17) Kcal/dia i 1680,60(±428,71) Kcal/dia, respectivament. Tampoc s'observaren diferències entre els dos grups, pel què fa referència als grams d'oli d'oliva, greixos i carbohidrats aportats diàriament per la dieta.

Tanmateix, si que es van observar diferències en quant al consum diari de proteïnes que va ser de 77,00 g al dia ($\pm 22,38$) en el grup control i de 95,33 g al dia ($\pm 27,88$) en les pacients. Aquest major consum de proteïnes per part de les pacients era estadísticament significatiu ($P < 0,001$) (Figura 2). A més a més, es detectaren també diferències significatives en els nivells de seleni ($P = 0,012$) i el consum d'alcohol ($P = 0,011$). En aquest sentit, s'observà una major ingesta de seleni i un menor consum d'alcohol en les pacients respecte els controls.

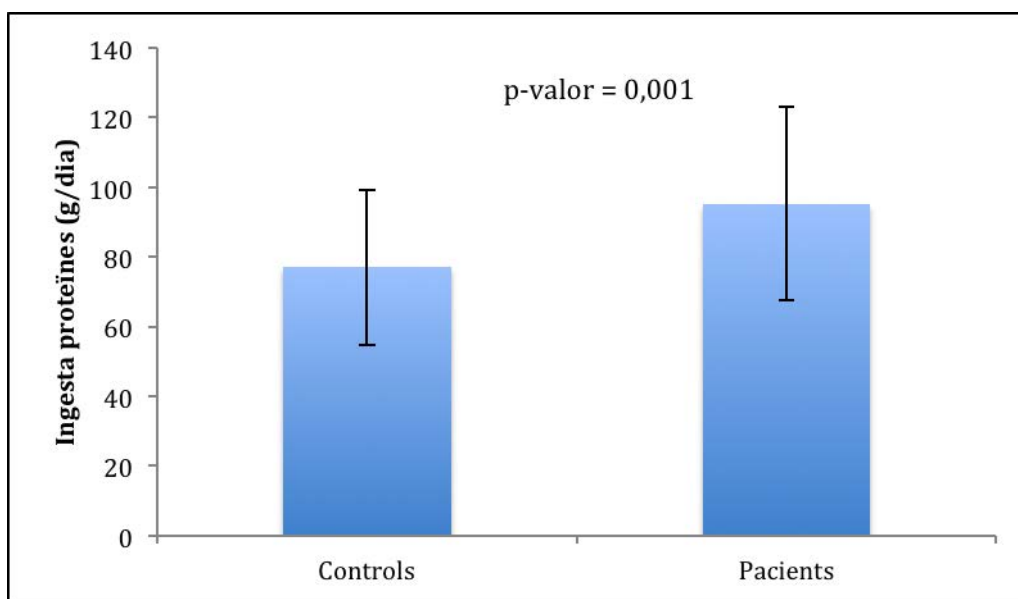


Figura 7. Ingesta de proteïnes diàries de les pacients respecte els controls

3.3. Anàlisi dels paràmetres antropomètrics i l'exercici físic de les pacients respecte els controls

Per comparar les variables antropomètriques dels controls i les pacients, es van analitzar els resultats de les mesures preses en les pacients en el moment basal (abans de l'inici del tractament adjuvant) en relació a les de les dones del grup control (Taules 17 i 18). D'aquest anàlisi es va concloure que no hi havia diferències entre pacients i controls en quant a l'índex de massa corporal (IMC), el percentatge de greix corporal i l'índex cintura-maluc.

En quant a la pràctica de l'exercici físic, tampoc es van observar diferències entre les pacients i els controls. Ambós grups reportaren uns nivells molt baixos d'activitat física.

| Taula 17. Paràmetres antropomètrics i exercici físic dels controls i les pacients en el moment basal | | | |
|---|------------------------|------------------------|----------------|
| Variables* | Controls (n=56) | Pacients (n=53) | p-valor |
| Pes | 63,95±11,03 | 67,86±13,52 | 0,100 |
| Alçada | 1,60±0,05 | 1,60±0,06 | 0,771 |
| Cintura | 82,75±10,06 | 85,59±12,52 | 0,192 |
| Maluc | 93,16±10,82 | 96,88±12,71 | 0,103 |
| Índex cintura-maluc | 0,87±0,12 | 0,88±0,05 | 0,649 |
| IMC | 24,84±4,44 | 26,21±5,49 | 0,158 |
| Percentatge greix corporal | 6,58±5,44 | 8,44±5,45 | 0,079 |
| Exercici físic[#] | 0,56±0,32 | 0,58±0,33 | 0,801 |

* mitjana □ desviació estàndard IMC: Índex de massa corporal Kg/m²
0-1:poc actives; 2: actives; 3 molt actives

| Taula 18. Índex de massa corporal de controls i pacients en el moment basal | | | | |
|--|------------------------|----------|------------------------|----------|
| | Controls (n=56) | | Pacients (n=53) | |
| | n | % | n | % |
| Infrapès | 1 | (1,8) | 0 | (0) |
| Pes normal | 32 | (57,1) | 27 | (50,9) |
| Sobrepès | 17 | (30,4) | 16 | (30,2) |
| Obesitat | 6 | (10,7) | 10 | (18,9) |

Infrapès <18.5 Kg/m², pes normal 18.5-24.9 Kg/m², sobrepès 25-29.9 Kg/m², obesitat ≥30 Kg/m²

Seguidament s'exposen els valors d'estrès oxidatiu, ingesta dietètica i s paràmetres antropomètrics que s'han observat en les pacients amb càncer de mama. Els resultats de l'anàlisi d'aquestes variables es presenten per a tota la cohort de pacients que reben tractament adjuvant (quimioteràpia i/o radioteràpia) (n=53), i en el subgrup de pacients que reben tractament de quimioteràpia (n=39).

4. Estudi de l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama

4.1. Canvis en l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama en tractament adjuvant

Per avaluar els efectes del tractament adjuvant en l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama, es van determinar aquests paràmetres en el moment basal (abans del tractament adjuvant) i finalitzat el tractament per a tota la cohort de pacients (n=53). Els resultats d'aquestes determinacions es mostren a la Taula 19.

| Taula 19. Estrès oxidatiu i capacitat antioxidant de les pacients amb càncer de mama abans i després del tractament adjuvant | | | |
|--|-------------------------|---------------------------|------------------|
| Variables* | Abans tractament | Després tractament | p-valor |
| Estrès Oxidatiu | | | |
| OTM | 0,44±0,23 | 0,82±0,71 | 0,001 |
| Peroxidació lípids* | 584,39±215,42 | 746,58±353,19 | 0,009 |
| Oxidació proteïnes [†] | 0,66±0,37 | 0,37±0,14 | <0,001 |
| Capacitat antioxidant | | | |
| Enzimàtica | | | |
| ABTS [‡] | 159,03±16,40 | 139,20±22,95 | <0,001 |
| No enzimàtica | | | |
| Retinol [°] | 0,045±0,10 | 0,041±0,11 | 0,103 |
| Beta-carotè ^a | 0,63±0,33 | 0,50±0,25 | 0,065 |
| Tocoferol [°] | 0,022±0,004 | 0,020±0,005 | 0,254 |
| * mitjana □ desviació estàndard OTM: olive oil moment ABTS:radical catiònic 2,2'-azinobis-(àcid-3-etilbenzotazolino-6-sulfònic) *µM/l: micromol/litre †nM/mg: nanomol/milígram ‡ µM/l Trolox: micromol/litre Trolox ° ng/ml:nanogram/ml ^a µg/ml:microgram/mililitre | | | |

Els nivells d'estrès oxidatiu de les pacients diagnosticades de càncer de mama van augmentar de manera significativa després del tractament adjuvant. Aquest augment es va constatar tant en l'oxidació de l'ADN ($P=0,001$) com en la dels lípids ($P=0,009$). Tanmateix, s'observà una disminució estadísticament significativa pel què fa a l'oxidació de les proteïnes al final del tractament ($P<0,001$) (Figura 8).

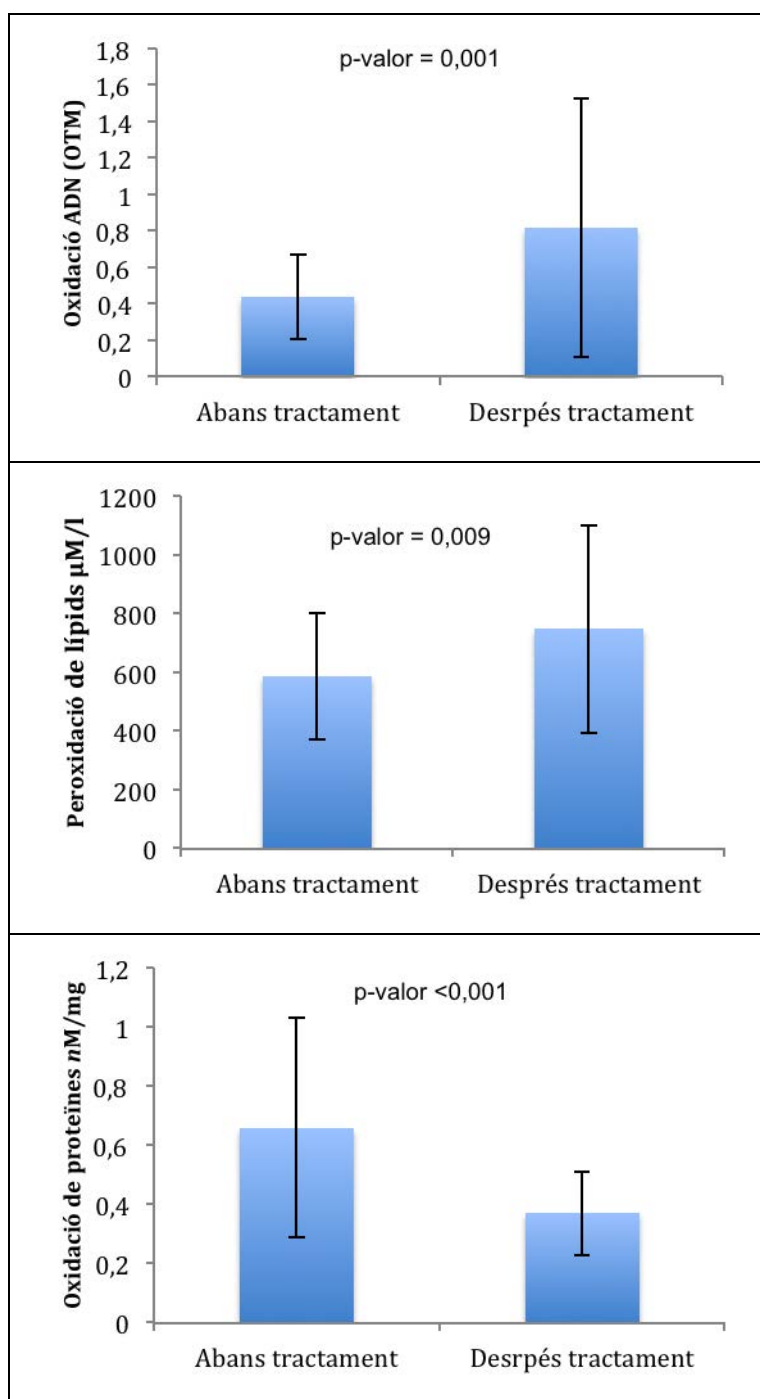


Figura 8. Marcadors d'estrès oxidatiu en pacients amb càncer de mama abans i després del tractament adjuvant

En relació al sistema de defensa antioxidant enzimàtic, els resultats mostraren que hi ha una disminució de la capacitat antioxidant de les pacients després del tractament adjuvant estadísticament significativa ($P < 0,001$). No s'observaren en canvi, diferències en nivells dels components del sistema de defensa no enzimàtic (retinol, beta-carotè i tocoferol) a la fi del tractament adjuvant en relació al moment basal.

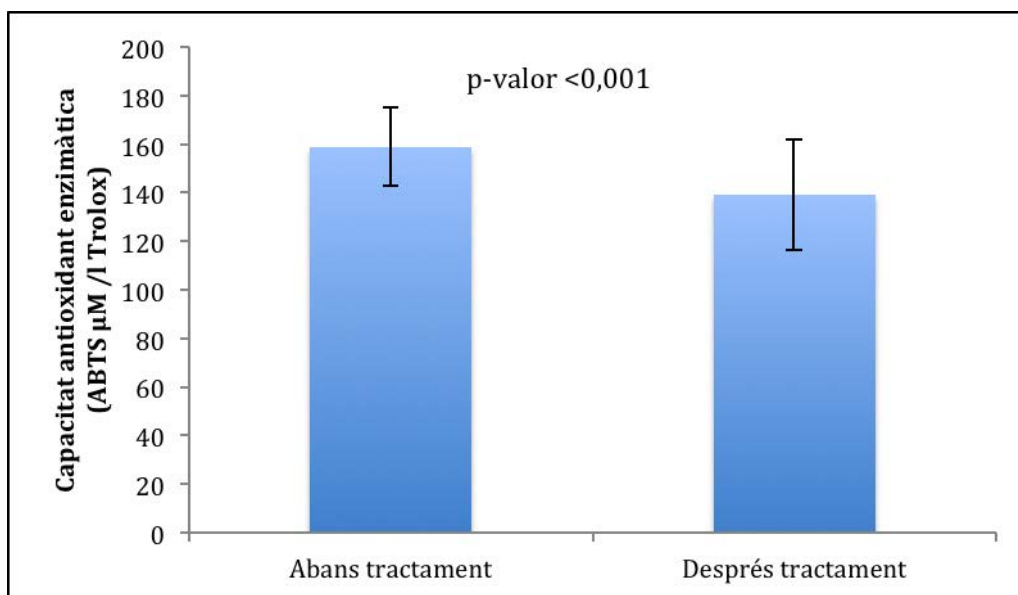


Figura 9. Capacitat antioxidant de les pacients abans i després del tractament adjuvant

4.2. Canvis en l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant de les pacients amb càncer de mama en tractament amb quimioteràpia adjuvant

Per analitzar l'evolució de l'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total de les pacients amb càncer de mama en curs de tractament amb quimioteràpia, es determinaren aquests paràmetres abans de l'inici de la quimioteràpia, durant el tractament, i a la fi del tractament adjuvant. Es van incloure en aquest anàlisi totes aquelles pacients de les quals s'obtingueren resultats en aquestes tres determinacions ($n=39$). Aquests resultats es mostren en la Taula 20.

Taula 20. Capacitat antioxidant i nivell estrès oxidatiu en pacient tractades amb QT (n=39). Evolució al llarg del tractament

| | ANOVA mesures repetides * ¹ | | | | | | Comparacions múltiples * ^{2, b} | | | | | |
|----------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|--------------------------|--|--------------|---------|--------------|---------|--------------|
| | N | Inici QT [1] | Durant QT [2] | Fi QT [3] | F (df) | p-valor | 1 vs 2 | p-valor | 1 vs 3 | p-valor | 2 vs 3 | p-valor |
| ABTS | 21 | 162,29 ± 14,06 | 169,80 ± 27,62 | 138,70 ± 20,14 | 14,103 (2;40) | <0,001 | -7,51 | 0,530 | 23,59 | 0,003 | 31,10 | 0,001 |
| Retinol | 20 | 0,046 ± 0,011 | 0,038 ± 0,010 | 0,043 ± 0,014 | 2,496 (2;38) | 0,096 | - | - | - | - | - | - |
| Beta-carotè | 20 | 0,622 ± 0,404 | 0,548 ± 0,334 | 0,507 ± 0,334 | 0,603 (2;38) | 0,552 | - | - | - | - | - | - |
| Tocoferol | 20 | 0,023 ± 0,004 | 0,020 ± 0,006 | 0,0225 ± 0,006 | 1,554 (2;38) | 0,225 | - | - | - | - | - | - |
| Peroxidació lipídica | 21 | 655,66 ± 220,39 | 488,56 ± 169,58 | 807,10 ± 349,16 | 7,136 (2;40) | 0,002 | 167,100 | 0,044 | -151,44 | 0,296 | -318,54 | 0,013 |
| Oxidació proteïnes | 19 | 0,626 ± 0,409 | 0,474 ± 0,160 | 0,354 ± 0,145 | 4,251 (1,40;25,22) | 0,038^a | 0,152 | 0,551 | 0,272 | 0,056 | 0,120 | 0,130 |
| OTM | 22 | 0,492 ± 0,205 | 0,826 ± 0,482 | 0,815 ± 0,656 | 4,521 (2;42) | 0,017 | -0,335 | 0,015 | -0,323 | 0,076 | 0,012 | 1,000 |

*¹ mitjana ± desviació estàndard ^a GreenHouse-Geisser correction ^b Pairwise comparisons of means with Bonferroni correction * ² Diferència de mitjanes

Durant el tractament de quimioteràpia, es va observar un augment significatiu dels paràmetres d'estrès oxidatiu com a conseqüència de l'oxidació de l'ADN ($P=0,017$) i de la peroxidació dels lípids ($P=0,38$). Contràriament, es va constatar una disminució en l'oxidació de les proteïnes durant el tractament de quimioteràpia ($P=0,038$). Aquests resultats van ser congruents amb els obtinguts per a tota la cohort de pacients i que s'han exposat en l'apartat anterior (4.1).

En quant a la capacitat antioxidant enzimàtica de l'organisme, es va observar que es manté durant el tractament de quimioteràpia, ja que no es constataren diferències estadísticament significatives en l'ABTS respecte els nivells basals ($P=0,53$). Tot i així, els resultats assenyalaren que un cop finalitzat el tractament de quimioteràpia aquesta capacitat antioxidant de l'organisme disminuiria de manera significativa respecte els nivells basals ($P=0,003$) i el tractament ($P=0,001$) (Figura 10). En quant els antioxidants liposolubles, no s'observaren canvis en els nivells de retinol, beta-carotè i tocoferol.

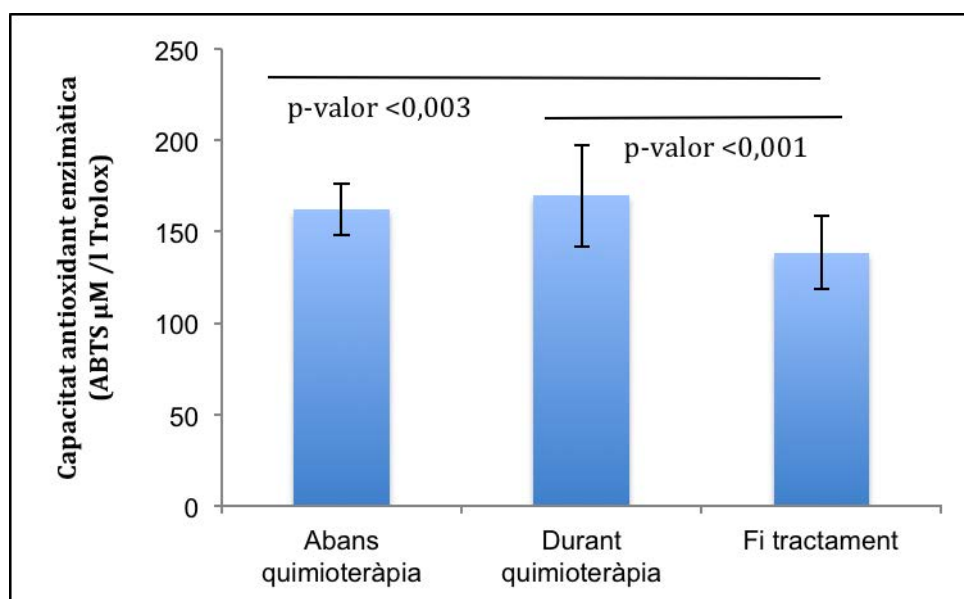


Figura 10. Capacitat antioxidant durant el tractament de quimioteràpia

5. Impacte del tractament adjuvant en la dieta de les pacients amb càncer de mama

5.1. Canvis en la dieta després del tractament adjuvant

Per avaluar els canvis en la dieta de les pacients amb càncer de mama secundaris al tractament adjuvant, es van analitzar les dades recollides en els qüestionaris auto-complimentats de freqüència dietètica i registre dietètic administrats abans i al final del tractament adjuvant. L'avaluació d'aquestes dades es va fer mitjançant el software "Alimentación i Salud v2" dissenyat a la Universitat de Granada. A partir d'aquest software es va obtenir la quantitat d'ingesta de kilocalories, greixos, proteïnes, carbohidrats, vitamines, minerals i alcohol. Els resultats s'exposen a la taula 21.

| Taula 21. Dieta abans i al final del tractament adjuvant de les pacients amb càncer de mama | | | |
|--|-------------------------|---------------------------|----------------|
| Variablen¹ | Abans tractament | Després tractament | p-valor |
| Kilocalories | 1850,43±340,25 | 1709,97±398,71 | 0,061 |
| Oli oliva verge (g) | 11,16±8,76 | 9,77±7,42 | 0,383 |
| Oli oliva (g) | 4,88±5,85 | 3,60±4,37 | 0,294 |
| Greixos (g) | 76,06±17,31 | 70,75±22,08 | 0,249 |
| Poliinsaturats | 11,01±4,82 | 10,45±4,79 | 0,571 |
| Monosaturats | 30,58±8,22 | 27,15±8,33 | 0,118 |
| Saturats | 20,57±6,05 | 20,35±9,22 | 0,898 |
| Proteïnes (g) | 96,77±23,53 | 116,09±144,90 | 0,476 |
| Carbohidrats (g) | 198,22±44,48 | 175,80±53,89 | 0,035 |
| Vitamines | | | |
| Vitamina A(µg) | 1229,36±1573,51 | 806,39±534,15 | 0,16 |
| Vitamina C(mg) | 179,17±102,13 | 159,24±82,90 | 0,182 |
| Vitamina E(mg) | 11,43±10,32 | 8,52±2,79 | 0,121 |
| Seleni (µg) | 85,74±34,50 | 72,39±38,37 | 0,057 |
| Alcohol (g) | 1,58±3,85 | 1,60±3,39 | 0,962 |
| *les variables s'expressen per unitats per dia ¹ mitjana ± desviació estàndard | | | |

Es va observar que a la fi del tractament adjuvant les pacients seguien una dieta menys calòrica. Abans de l'inici del tractament adjuvant, les pacients ingerien unes 1709,97(\pm 398,71) Kcal al dia de mitjana, mentre que a la fi del tractament consumien 1850,43(\pm 340,25) Kcal al dia de mitjana. Tanmateix, aquesta diferència no va ser estadísticament significativa ($P=0,061$). Tampoc s'observaren diferències significatives, abans i a la fi del tractament adjuvant, pel què fa al consum d'oli d'oliva, greixos, proteïnes, vitamines i alcohol.

D'altra banda, el consum de carbohidrats per part de les pacients va ser significativament menor al final del tractament adjuvant ($P=0,035$). També s'observà un descens en el consum de seleni al dia a la fi del tractament, tot i que no estadísticament significatiu ($P=0,057$).

5.2. Canvis en la dieta durant la quimioteràpia

Per determinar els canvis de la dieta de les pacients amb càncer de mama durant el tractament de quimioteràpia, es va determinar la ingesta de nutrients abans de l'inici del tractament, durant la quimioteràpia i a la fi del tractament adjuvant. Els resultats es mostren en la taula 22.

Taula 22. Dieta en pacient tractades amb QT (n=39). Evolució al llarg del tractament

| | ANOVA mesures repetides *1 | | | | | | Comparacions múltiples *2, b | | | | | |
|-----------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|------------------|---------------------------------|--------------|------------------------------|---------|--------|--------------|--------|---------|
| | N | Inici QT [1] | Durant Qt [2] | Fi QT [3] | F (df) | p-valor | 1 vs 2 | p-valor | 1 vs 3 | p-valor | 2 vs 3 | p-valor |
| Dieta | | | | | | | | | | | | |
| kilocalories | 20 | 1861,5 ± 319,37 | 1740,89 ± 311,99 | 1658,39 ± 412,65 | 4,134 (2;38) | 0,024 | 120,61 | 0,211 | 203,12 | 0,068 | 82,51 | 0,698 |
| Oli d'oliva verge (g) | 20 | 13,51 ± 7,89 | 13,86 ± 8,44 | 10,83 ± 6,94 | 1,655 (1,4;27,2) ^a | 0,212 | - | - | - | - | - | - |
| Oli d'oliva (g) | 20 | 3,49 ± 4,74 | 1,71 ± 3,11 | 2,71 ± 3,48 | 1,421 (2;38) | 0,254 | - | - | - | - | - | - |
| Greixos (g) | 20 | 76,32 ± 15,95 | 80,45 ± 57,54 | 69,00 ± 25,08 | 0,526 (1,3;23,8) ^a | 0,515 | - | - | - | - | - | - |
| poliinsaturats | 20 | 11,52 ± 5,48 | 11,32 ± 9,38 | 10,32 ± 5,09 | 0,200 (1,4;27,4) ^a | 0,748 | - | - | - | - | - | - |
| monosaturades | 20 | 30,84 ± 8,53 | 26,2 ± 8,16 | 26,40 ± 9,52 | 1,906 (2;38) | 0,163 | - | - | - | - | - | - |
| saturades | 20 | 20,12 ± 4,97 | 17,44 ± 4,48 | 20,09 ± 10,04 | 1,039 (2;38) | 0,364 | - | - | - | - | - | - |
| Proteïnes (g) | 20 | 96,61 ± 25,58 | 83,23 ± 16,35 | 123,28 ± 174,57 | 0,828 (1,0;19,3) ^a | 0,376 | - | - | - | - | - | - |
| Carbohidrats (g) | 20 | 200,29 ± 40,97 | 199,85 ± 59,53 | 168,00 ± 49,75 | 4,737 (1,6;30,2) ^a | 0,023 | 0,47 | 1,000 | 32,3 | 0,030 | 31,85 | 0,129 |
| vit A (µg) | 20 | 1505,50 ± 1839,62 | 1598,52 ± 2526,96 | 868,87 ± 605,29 | 0,852 (1,5; 27,72) ^a | 0,405 | - | - | - | - | - | - |
| vit C (mg) | 20 | 200,40 ± 113,39 | 163,67 ± 76,24 | 178,98 ± 79,61 | 1,221 (2;38) | 0,306 | - | - | - | - | - | - |
| vit E (mg) | 20 | 12,95 ± 12,15 | 9,11 ± 3,65 | 8,36 ± 2,76 | 2,524 (1,2;21,9) | 0,123 | - | - | - | - | - | - |
| Seleni (µg) | 20 | 85,99 ± 34,51 | 73,87 ± 27,42 | 62,45 ± 22,55 | 5,139 (2;38) | 0,011 | 12,11 | 0,217 | 23,53 | 0,013 | 11,42 | 0,551 |
| Exercici físic# | 10 | 0,68 ± 0,43 | 0,61 ± 0,29 | 0,56 ± 0,25 | 0,286 (2;18) | 0,755 | - | - | - | - | - | - |
| Alcohol (g) | 17 | 1,07 ± 2,27 | 0,30 ± 1,09 | 1,65 ± 3,60 | 1,826 (1,4; 21,6) ^a | 0,191 | - | - | - | - | - | - |

*1 mitjana ± desviació estàndard; ^a GreenHouse-Geisser correction; ^b Pairwise comparisons of means with Bonferroni correction; * 2 Diferència de mitjanes (estimació puntual)
0-1:poc actives; 2: actives; 3 molt actives

Les pacients tractades amb quimioteràpia van experimentar una reducció estadísticament significativa de la quantitat d'ingesta de Kilocalories al dia durant el tractament. Les mitjanes de consum van ser de 1861,5 ($\pm 319,37$) Kcal al dia abans d'iniciar el tractament, 1740,89 ($\pm 311,99$) kcal al dia durant el tractament i 1658,39 ($\pm 412,65$) finalitzat el tractament de quimioteràpia ($P=0,024$) (Figura 11). A més a més, s'observà una disminució significativa del consum d'hidrats de carboni ($P=<0,023$) i de seleni ($P=0,011$) durant la quimioteràpia. D'altra banda, no hi hagué canvis significatius en els nivells d'ingesta d'oli d'oliva, greixos, proteïnes, vitamines i alcohol.

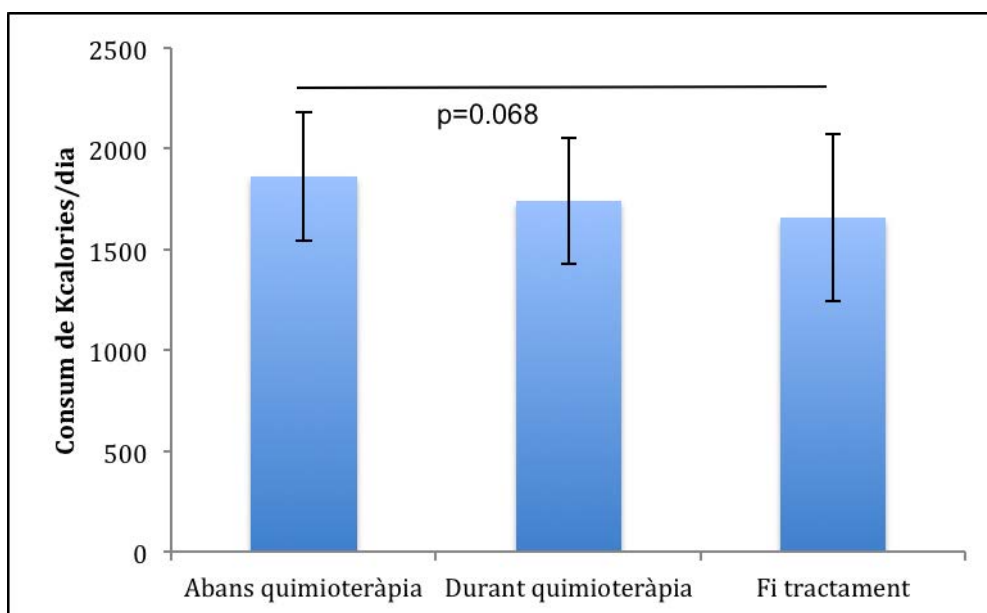


Figura 11. Quantitat de Kcal al dia durant el tractament de quimioteràpia

6. Impacte del tractament en els paràmetres antropomètrics i l'estil de vida de les pacients amb càncer de mama

6.1. Canvis en els paràmetres antropomètrics i d'estil de vida durant el tractament adjuvant

Per avaluar l'impacte del tractament adjuvant en el pes i la composició corporal de les pacients amb càncer de mama, es van determinar les mesures antropomètriques en el moment basal (abans de l'inici del tractament adjuvant) i després del tractament (Taula 23).

| Taula 23. Paràmetres antropomètrics i exercici físic abans i final del tractament adjuvant en les pacients amb càncer de mama | | | |
|--|-------------------------|---------------------------|----------------|
| Variablen* | Abans tractament | Després tractament | p-valor |
| Pes (Kg) | 67,69±13,11 | 69,24±14,84 | 0,033 |
| Cintura (cm) | 84,92±12,27 | 86,43±13,96 | 0,088 |
| Maluc (cm) | 96,50±12,66 | 98,15±13,18 | 0,067 |
| Índex cintura-maluc | 0,87±0,05 | 0,88±0,06 | 0,944 |
| IMC (Kg/m²) | 26,09±5,17 | 26,79±5,65 | 0,008 |
| Percentatge greix corporal | 8,55±5,64 | 8,60±4,41 | 0,944 |
| Exercici físic# | 0,58±0,33 | 0,48±0,22 | 0,273 |

*1 mitjana ± desviació estàndard IMC: índex de massa corporal
0-1:poc actives; 2: actives; 3 molt actives

El pes de les pacients amb càncer de mama augmentà 1,55 kg de mitjana després del tractament adjuvant ($P=0,033$). Aquest guany ponderal es traduí també en un augment de l'IMC ($P=0,008$). D'altra banda, no s'observaren canvis en el percentatge de greix corporal, els perímetres de cintura i maluc, ni l'índex cintura-maluc.

Pel què fa a l'exercici físic, no s'observaren canvis en els nivells d'activitat física de les pacients abans i al final del tractament adjuvant. Les pacients es mantingueren sedentàries o amb uns nivells baixos d'activitat física un cop finalitzat del tractament adjuvant.

6.2. Canvis en els paràmetres antropomètrics i d'estil de vida durant el tractament de quimioteràpia

En les pacients amb càncer de mama tractades amb quimioteràpia adjuvant es van mesurar les variables antropomètriques abans, durant i finalitzat el tractament de quimioteràpia. Els resultats s'exposen a la taula 24.

Les pacients tractades amb quimioteràpia adjuvant no van presentar canvis estadísticament significatius en el pes i l'IMC. Tampoc s'observaren canvis en el percentatge de greix corporal, els perímetres de maluc i cintura, ni l'índex cintura-maluc.

Taula 24. Dades antropomètriques en pacient tractades amb QT (n=39). Evolució al llarg del tractament

| | ANOVA mesures repetides * ¹ | | | | | | Comparacions múltiples * ^{2, b} | | | | | |
|-------------------------------|--|---------------|---------------|---------------|--------------------------------|---------|--|---------|--------|---------|--------|---------|
| | N | Abans QT [1] | Durant QT [2] | Fi QT [3] | F (df) | p-valor | 1 vs 2 | p-valor | 1 vs 3 | p-valor | 2 vs 3 | p-valor |
| Dades antropomètriques | | | | | | | | | | | | |
| Pes | 33 | 67,17 ± 13,00 | 68,23 ± 15,21 | 68,18 ± 14,97 | 1,348 (1,7; 54,3) ^a | 0,266 | - | - | - | - | - | - |
| IMC | 33 | 25,82 ± 4,89 | 26,25 ± 5,51 | 26,33 ± 5,32 | 2,104 (1,6;52,4) ^a | 0,140 | - | - | - | - | - | - |
| % greix corporal | 33 | 8,30 ± 5,45 | 8,19 ± 5,04 | 8,25 ± 4,05 | 0,011 (1,4; 45,3) ^a | 0,964 | - | - | - | - | - | - |
| índex cintura-maluc | 33 | 0,89 ± 0,05 | 0,89 ± 0,04 | 0,88 ± 0,05 | 0,928 (2;64) | 0,400 | - | - | - | - | - | - |
| cintura | 33 | 85,04 ± 11,17 | 86,50 ± 12,63 | 85,30 ± 11,95 | 1,538 (2;64) | 0,223 | - | - | - | - | - | - |
| maluc | 33 | 95,44 ± 12,43 | 96,95 ± 12,75 | 96,88 ± 12,49 | 1,726 (2;64) | 0,186 | - | - | - | - | - | - |

*¹ mitjana ± desviació estàndard; ^a GreenHouse-Geisser correction; ^b Pairwise comparisons of means with Bonferroni correction; * ² Diferència de mitjanes (estimació puntual)

7. Evolució de la dieta i l'estrès oxidatiu durant el tractament de quimioteràpia

Per estudiar la relació entre la dieta i l'estrès oxidatiu de l'organisme, es representa gràficament l'evolució de la ingesta de nutrients amb capacitat antioxidant i la capacitat antioxidant de l'organisme en les pacients durant el tractament de quimioteràpia (n=39).

7.1. Antioxidants dietètics i capacitat antioxidant

Tal i com hem descrit prèviament, el sistema antioxidant es classifica en enzimàtic i no enzimàtic. El sistema no enzimàtic inclou antioxidants d'origen dietètic com les vitamines, els minerals i els polifenols. Les vitamines A, E i C tenen un gran potencial antioxidant. Entre els minerals destaquen el zinc, el coure, el magnesi i el seleni. Les vitamines actuen donant o acceptant un electró, mentre que els minerals regulen les activitats de les enzims antioxidants [204].

Es va analitzar l'evolució del sistema antioxidant enzimàtic (ABTS) durant el tractament de quimioteràpia en relació als nutrients que formen part del sistema antioxidant no enzimàtic: vitamina A, vitamina E, vitamina C i seleni. Els gràfics suggeriren que de la mateixa manera que es va observar una disminució dels nivells de l'ABTS durant el tractament de quimioteràpia, hi ha també una tendència en la disminució dels nutrients antioxidants no enzimàtics aportats per la dieta (Figura 12).

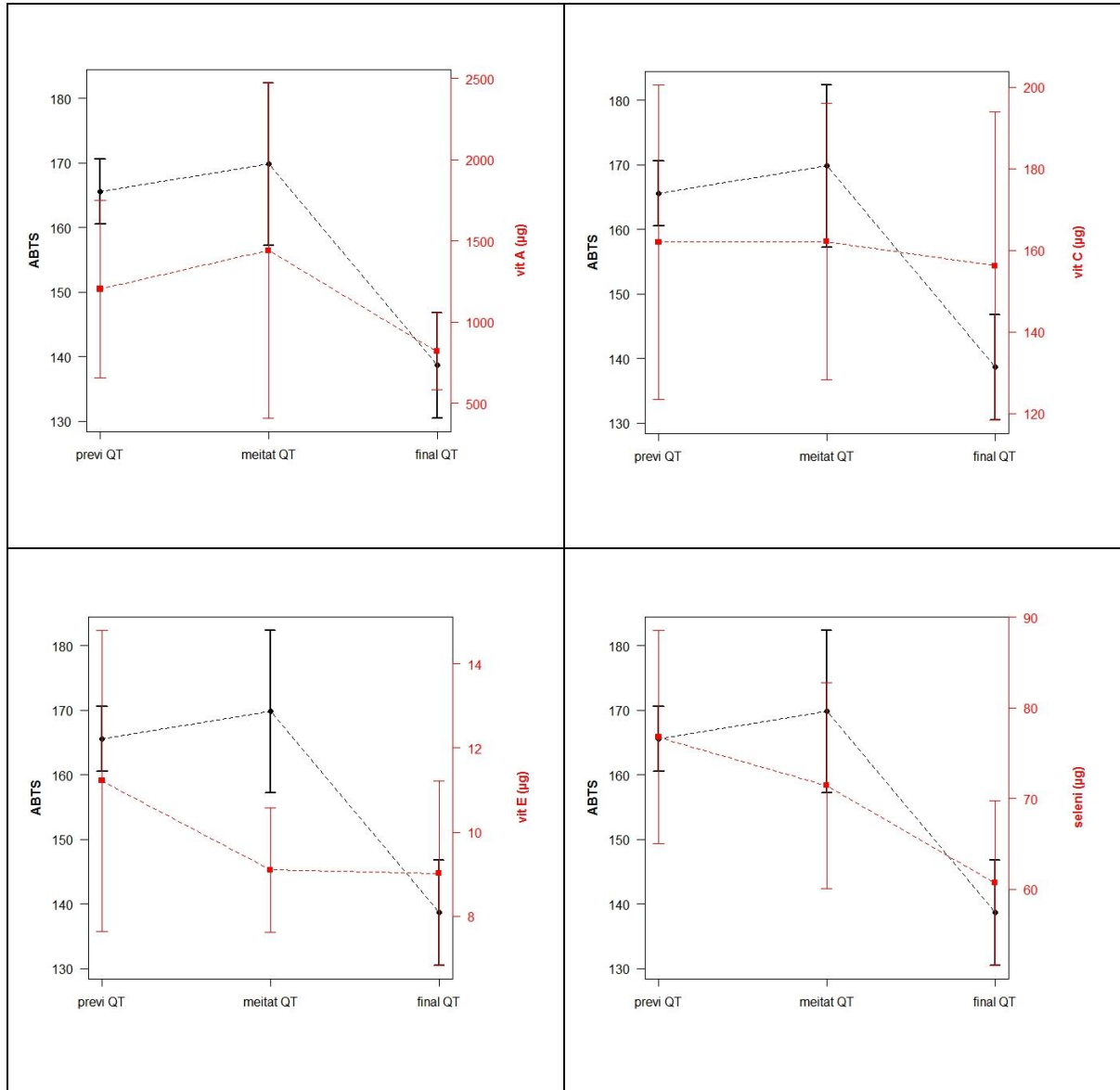


Figura 12. Capacitat antioxidant i antioxidants de la dieta (vitamina A, vitamina C, vitamina E i seleni)

7.2. Antioxidants dietètics i estrès oxidatiu

Algunes vitamines i minerals amb capacitat antioxidant podrien exercir un efecte beneficiós sobre l'oxidació de biomolècules, sobretot els lípids, les proteïnes i l'ADN. Per aquest motiu, es va analitzar la ingesta d'aquestes nutrients durant el tractament de quimioteràpia en relació a l'oxidació de l'ADN, la peroxidació lipídica i l'oxidació de les proteïnes.

Vitamina A. El beta-carotè és un precursor de la vitamina A que té un acció de protecció contra l'oxidació de l'ADN i els lípids [205]. Es van analitzar els nivells de vitamina A durant el tractament de les pacients amb càncer de mama tractades amb quimioteràpia en relació a l'oxidació de l'ADN i lípids. Tal i com representen les gràfiques (Figura 13), es va observar una tendència en la disminució en els nivells de vitamina C durant el tractament mentre que hi hagué un augment progressiu de l'oxidació de l'ADN i la peroxidació dels lípids.

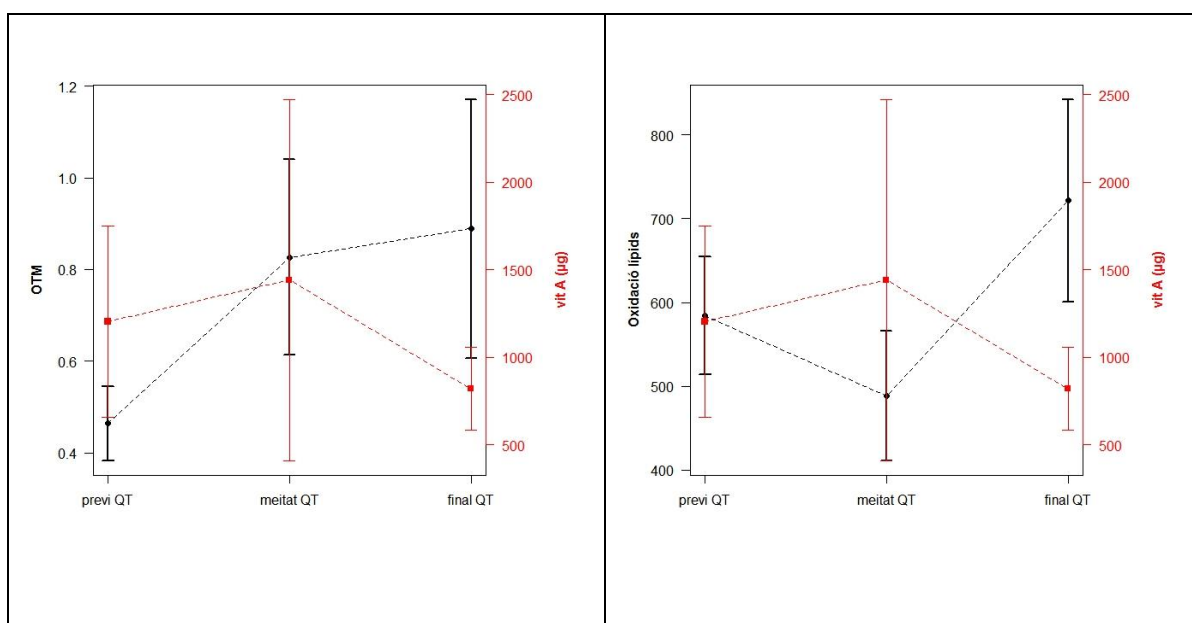


Figura 13. Vitamina A en relació oxidació ADN i peroxidació lipídica

Vitamina C. La vitamina C és un component essencial de la dieta humana que actua neutralitzant radicals lliures i estimulant l'acció d'altres antioxidants com la vitamina E. Pel fet que alguns estudis han suggerit que el dèficit de vitamina C comporta un augment de l'oxidació de l'ADN, es van analitzar els nivells de vitamina C en la nostra cohort de pacients tractades amb quimioteràpia en relació als nivells de dany de l'ADN i la peroxidació lipídica en el curs del tractament. Els resultats van mostrar que durant el tractament disminuïen els nivells de vitamina C en les pacients i augmentava l'oxidació de l'ADN i la peroxidació lipídica (Figura 14).

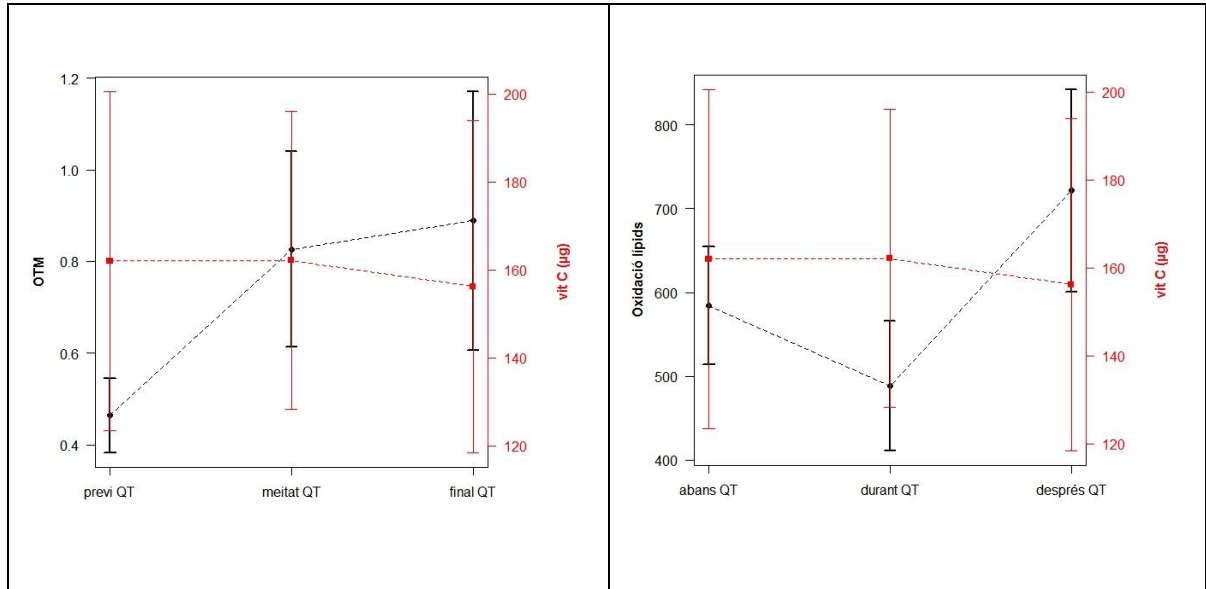


Figura 14. Vitamina C en relació oxidació ADN i peroxidació lipídica

La vitamina C també actua revitalitzant altres nutrients com la vitamina E. Els nivells de vitamina C tenien una tendència a disminuir durant el tractament i no s'observà cap canvi en els nivells de tocoferol (Figura 15).

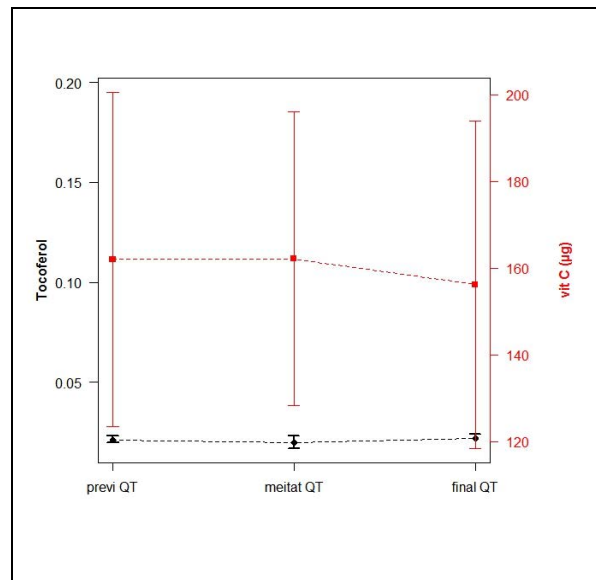


Figura 15. Nivells de vitamina E i vitamina C

Vitamina E. La vitamina E és el terme utilitzat per anomenar una família de components liposolubles, de la qual formen part el tocoferol, que tenen una activitat fisiològica

rellevant pel què fa a les ERO. La vitamina E actua protegint contra l'oxidació dels PUFA, neutralitzant les ERO a les membranes cel·lulars i en altres entorns lipídics. La forma més coneguda de la vit E és el alfa-tocoferol que és altament activa neutralitzant radicals peroxil.

Tal i com hem exposat en apartats anteriors es va evidenciar una disminució de la peroxidació lipídica durant el tractament de quimioteràpia, per augmentar un cop finalitzat el tractament fins a un nivells superiors als basals. Paral·lelament, no s'observà un increment de la ingesta de vitamina E durant el tractament que pogués contrarestar aquest increment en la peroxidació lipídica.

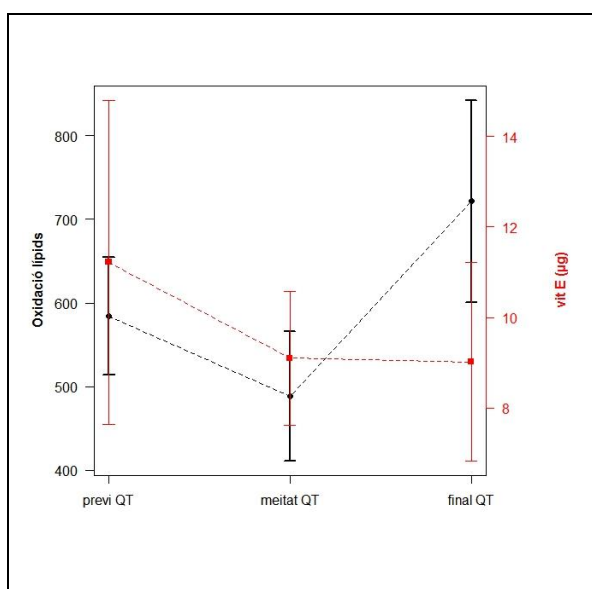


Figura 16. Vitamina E i peroxidació de lípids.

8. Expressió de FAS i relació amb les variables clíniques

L'expressió de FASN en el tumor va ser alta (3+) en 26 pacients, moderada en (2+) en 25 pacients, i normal (0 a 1+) en 2 pacients. La menopausa estava fortament relacionada amb els nivells d'expressió de FASN ($p=0.005$). Dinou de les 28 pacients post-menopàusiques (67,9%) presentaven una sobreexpressió de FASN 3+. L'edat també estava significativament relacionada amb l'expressió de FASN ($p=0,038$). La mitjana d'edat de les pacients amb expressió de FASN 3+ era de 54 anys, mentre que la de les pacients amb expressió 1+ i 2+ era de 46 i 47,7 anys, respectivament. També vam observar relació entre l'expressió de FASN i l'estadi ($p=0.024$) i l'IMC ($p=0.018$).

Adicionalment vam analitzar la relació entre els nivells sèrics de l'expressió de FASN i HER2 en els pacients i no vam observar cap associació.

9. Anàlisi de la supervivència lliure de malaltia i supervivència global

De les 53 pacients amb càncer de mama inicial incloses en aquest estudi, es desconeixia l'estat vital dues pacients que es van excloure de l'anàlisi de supervivència. Als 5 anys de seguiment, 47 dones seguien vives i 4 havien mort (3 com a conseqüència del càncer de mama, i una per un procés sèptic durant el tractament adjuvant). Entre les pacients vives als 5 anys, dues havien presentat una recurrència local, i una pacient una recurrència a distància en forma de metàstasis òssies.

La supervivència lliure de malaltia als 5 anys per a tota la cohort de les pacients va ser del 92,18% (IC 95%; 85,11-99,84). La supervivència global als 5 anys va ser del 96,02% (IC 95%; 90,76-100).

Per avaluar la relació entre l'estrès oxidatiu i el pronòstic, es va comparar el dany de les biomolècules de les pacients d'alt risc amb ganglis positius ($n=30$) amb el de les pacients amb ganglis negatius ($n=23$), abans de l'inici del tractament adjuvant. No es van observar diferències entre els dos grups de pacients en l'oxidació de l'ADN, la peroxidació lipídica ni l'oxidació de proteïnes. Tampoc es van observar diferències en la capacitat antioxidant.

A més a més, hem analitzat l'estrès oxidatiu de les pacients lliures de malaltia respecte les que han presentat algun esdeveniment relacionat amb el càncer de mama, recurrència o mort. La taula 25 mostra les variables d'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant abans del tractament adjuvant en les pacients que seguien vives als 5 anys respecte les que havien mort. Els resultats van suggerir que les pacients que havien mort tenien una major activitat antioxidant abans d'iniciar el tractament respecte les que seguien vives ($P=0,033$).

| Taula 25. Estrès oxidatiu abans del tractament en les pacients vives vs mortes | | | |
|--|-----------------------|------------------------|----------------|
| Variable* | Vives (n=47) | Mortes(n=4) | p-valor |
| Estrès Oxidatiu | | | |
| OTM | 0,47(0,22;0,64) | 0,23(0,17;0,59) | 0,359 |
| Peroxidació lípids* | 520,21(426,94;673,24) | 873,47(502,59;1077,75) | 0,097 |
| Oxidació proteïnes [†] | 0,56(0,40;0,77) | 0,66(0,44;1,82) | 0,396 |
| Capacitat antioxidant | | | |
| Enzimàtica | | | |
| ABTS [‡] | 158,89(151,58;171,59) | 179,21(167,52;184,09) | 0,033 |
| No enzimàtica | | | |
| Retinol [°] | 0,04(0,03;0,05) | 0,04(0,02;0,05) | 1 |
| Beta-carotè ^ª | 0,57(0,41;0,76) | 0,29(0,17;0,57) | 0,038 |
| Tocoferol [°] | 0,20(0,20;0,20) | 0,20(0,16;0,27) | 0,728 |
| * mitjana □ desviació estàndard OTM: olive oil moment ABTS:radical catiònic 2,2'-azinobis-(àcid-3- etilbenzotazolino-6-sulfònic) *µM/l: micromol/litre †nM/mg: nanomol/milígram ‡ µM/l Trolox: micromol/litre Trolox ° ng/ml:nanogram/ml ªµg/ml:micogram/mililitre | | | |

Les variables d'estrès oxidatiu abans del tractament adjuvant van ser analitzades també en les pacients lliures de malaltia respecte les que havien presentat algun esdeveniment (mort o recidiva). La Taula 26 mostra que no es van observar diferències entre els dos grups de pacients.

| Taula 26. Estrès oxidatiu abans del tractament adjuvant vives vs recurrència o mort | | | |
|---|-----------------------|---------------------------------|----------------|
| Variable* | Vives (n=47) | Recurrència o mort (n=7) | p-valor |
| Estrès Oxidatiu | | | |
| OTM | 0,48(0,22;0,66) | 0,27(0,16;0,58) | 0,223 |
| Peroxidació lípids* | 520,04(434,02;668,50) | 736,84(439,10;1053,88) | 0,092 |
| Oxidació proteïnes [†] | 0,57(0,40;0,76) | 0,46(0,41;1,03) | 0,773 |
| Capacitat antioxidant | | | |
| Enzimàtica | | | |
| ABTS [‡] | 159,15(151,83;172,25) | 169,16(153,25;182,14) | 0,375 |
| No enzimàtica | | | |
| Retinol [°] | 0,04(0,03;0,05) | 0,05(0,04;0,05) | 0,753 |
| Beta-carotè ^a | 0,59(0,40;0,76) | 0,44 (0,23;0,64) | 0,203 |
| Tocoferol [°] | 0,20(0,20;0,20) | 0,20(0,20;0,30) | 0,979 |
| * mitjana ± desviació estàndard | | | |
| OTM: olive oil moment ABTS:radical catiònic 2,2'-azinobis-(àcid-3-etilbenzotazolino-6-sulfònic) | | | |
| *µM/l: micromol/litre †nM/mg: nanomol/milígram ‡ µM/l Trolox: micromol/litre Trolox | | | |
| ° ng/ml:nanogram/ml ^a µg/ml:micogram/mililitre | | | |

Es van analitzar també els nivells d'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant total després del tractament adjuvant en les dones vives als 5 anys respecte les que havien mort o presentat recurrència de la malaltia. Els resultats no van mostrar diferències estadísticament significatives en aquestes variables entre els dos grups.

Discussió

L'estrès oxidatiu és una situació bioquímica de desequilibri en l'organisme entre els radicals lliures i els mecanismes de defensa antioxidants. En les darreres dècades, l'estrès oxidatiu ha generat interès pel seu paper en el desenvolupament de malalties, entre elles el càncer de mama. Alguns estudis publicats mostren que els marcadors d'estrès oxidatiu estan elevats en la sang i en les biòpsies de les pacients amb càncer de mama [206]. En el càncer de mama, el rol dels radicals lliures podria no limitar-se a la seva activitat mutagènica que contribueix al desenvolupament de la malaltia. Els radicals lliures podrien condicionar també la resposta al tractament i augmentar el risc de progressió [207-208]. D'altra banda, el tractament del càncer de mama amb quimioteràpia i radioteràpia pot generar radicals lliures que poden danyar les cèl·lules i contribuir a augmentar l'estrès oxidatiu de les pacients. A més a més, la dieta pot influir en els nivells d'estrès oxidatiu per la capacitat antioxidant d'alguns nutrients.

1. Les característiques clíniques i patològiques de les pacients amb càncer de mama inicial.

En aquest estudi s'analitza l'evolució de les variables d'estrès oxidatiu i capacitat antioxidant, la ingesta dietètica i les mesures antropomètriques, de 53 dones amb càncer de mama en estadis inicials que reben tractament adjuvant. Les característiques clíniques de les pacients i patològiques dels tumors, així com el tipus de tractament adjuvant, suggereixen que la mostra és representativa de les pacients diagnosticades de càncer de mama en estadis inicials a Espanya, entorn el mateix període, segons dades de l'estudi epidemiològic del grup GEICAM, *El Álamo III* [209]. L'estudi *El Álamo III* recull les característiques demogràfiques, terapèutiques i evolutives de les dones diagnosticades de càncer de mama a Espanya entre 1998-2001. Els resultats de l'estudi *El Álamo IV*, que comprèn el període entre els anys 2002-2005, i que és més pròxim al nostre període d'inclusió, no han estat encara publicats. Coincidint amb dades de *El Álamo III*, la majoria de pacients han estat diagnosticades d'un carcinoma ductal infiltrant de mama (81,1%), grau II (41,5%) i en estadi I (35,2%). Aquest percentatge d'estadis I és també similar al de la mitjana europea [210]. El percentatge de pacients amb tumors amb expressió dels receptors hormonals positius també és concordant amb estudis previs, situant-se entorn del 83% [211]. Tanmateix, el 13,2% de tumors amb sobreexpressió d'HER-2 es situa en un percentatge lleugerament inferior a l'esperat del 20%, possiblement a la mida de la mostra [212].

Des del punt de vista de la tècnica quirúrgica per extirpar el tumor primari, la cirurgia conservadora amb biòpsia del gangli sentinella és la tècnica d'elecció en la majoria de pacients (77,4%). Cal destacar que el percentatge de pacients sotmeses a una mastectomia (22,6%) és inferior al de l'observat en l'estudi *El Álamo III* (33,4%) [209].

Pel què fa al tractament complementari de quimioteràpia, la majoria de pacients van rebre quimioteràpia (73,4%), i l'esquema seqüencial d'antraciclins i taxans va ser el més freqüent (62,3%), seguit del l'esquema basat només en antraciclins (7,5%). L'esquema seqüencial és el d'elecció en pacients amb càncer de mama amb ganglis negatius d'alt risc i ganglis positius, segons les guies clíniques [213]. Cal destacar, que les antraciclins són un dels agents citostàtics que més estrès oxidatiu produeixen, i les van rebre un 69,8% de les pacients incloses al nostre estudi. Els taxans en canvi, generen nivells baixos d'estrès oxidatiu. L'estrès oxidatiu interfereix en els processos cel·lulars com la progressió del cicle cel·lular que són necessaris per l'acció dels agents citostàtics. En conseqüència, es podria reduir la capacitat citotòxica d'aquest agents [214].

Respecte el tractament de radioteràpia complementària, la majoria de les pacients van rebre radioteràpia complementària (79,2%). Aquest ús generalitzat de la radioteràpia és també coincident amb les dades de l'estudi *El Álamo III* [209], i està en relació amb el el percentatge de cirurgia conservadora.

2. Els factors de risc, l'estrès oxidatiu, la dieta i les mesures antropomètriques en les pacients amb càncer de mama en relació a les dones sanes lliures de malaltia.

Tot i la inclusió d'un grup control de dones lliures de càncer de mama, el disseny de l'estudi no permet establir una relació causal entre els factors relacionats amb l'estil de vida i el desenvolupament del càncer de mama en les nostres pacients. La inclusió del grup control redueix els biaixos de selecció, ja que no hem observat diferències rellevants entre pacients i controls en els factors de risc relacionats amb l'estil de vida (història reproductiva, consum d'alcohol i tabac, exercici físic i obesitat). Aquest fet ens suggereix que malgrat que la selecció de la mostra de pacients no és aleatòria (ja que s'obté del nostre centre hospitalari) no està esbiaixada en relació a les variables que volem mesurar a nivell basal.

D'altra banda, la inclusió del grup control permet obtenir els valors de referència de les variables i determinar si les possibles variacions observades en els nivells d'estrès oxidatiu de les pacients es poden atribuir exclusivament al tractament o hi intervé també la pròpia malaltia oncològica. En aquest sentit, el nostre estudi mostra que les pacients amb càncer de mama presenten abans de l'inici del tractament adjuvant uns nivells d'estrès oxidatiu superiors als controls. Per tant, podríem dir que les pacients amb càncer de mama presenten un increment de l'estrès oxidatiu que pot ser atribuït tant a la pròpia malaltia com al tractament quirúrgic. Aquesta observació s'explica biològicament pel fet que el càncer es *per se* una malaltia inductora d'estrès oxidatiu. Les cèl·lules neoplàsiques produeixen de manera intrínseca una major quantitat d'espècies reactives d'oxigen que les cèl·lules normals [215]. Les espècies reactives d'oxigen també poden actuar indirectament reclutant mediadors de la inflamació que estimulen una segona resposta oxidativa.

L'increment de l'estrès oxidatiu en les pacients respecte els controls es produeix per un augment significatiu de la peroxidació lipídica ($P=0,025$) i l'oxidació de proteïnes ($P=0,022$). Un estudi publicat que comparava l'estrès oxidatiu de pacients amb càncer de mama invasiu i el de dones amb patologia benigna de mama, va observar un augment dels biomarcadors de peroxidació lipídica en les pacients respecte les dones amb patologia benigna i els controls [216]. Altres estudis han reportat també, en concordança amb el nostre, que les pacients amb càncer de mama tenen unes concentracions sèriques augmentades dels productes de l'oxidació de les proteïnes [217]. D'altra banda, ha estat reportat que el dany de l'ADN augmenta el risc del càncer de mama i que les pacients amb càncer de mama tenen minvats els mecanismes de reparació de l'ADN [218]. Contràriament, en el nostre estudi no s'han observat canvis en l'oxidació de l'ADN mesurat pel mètode COMET entre les pacients i controls.

En relació al sistema de defensa antioxidant, el nostre treball suggereix que les pacients amb càncer de mama tenen disminuïda la capacitat antioxidant respecte els controls abans d'iniciar el tractament complementari. Aquest resultat concorden amb els d'estudis previs on s'ha observat un increment de la peroxidació lipídica i una disminució de la capacitat antioxidant en les pacients amb càncer de mama [219]. Les pacients no presenten diferències respecte els controls en els nivells d'antioxidants no enzimàtics sèrics com el retinol i el beta-carotè. En canvi, hem observat un major nivell de tocoferol (vit E) en les pacients respecte els controls. Un estudi publicat va comparar els nivells

d'antioxidants no enzimàtics (vit A, vit E, vit C i beta-carotè) de 125 pacients amb càncer de mama que no havien rebut cap tractament, amb 30 pacients amb patologia benigna de mama i 70 controls sans [220]. Els autors van concloure que nivells elevats de beta-carotè, vit E i vitamina C estaven lligats a un menor risc de càncer de mama, mentre que la vit A estava associada a un augment del risc.

En referència a la dieta, les pacients i controls presenten poques diferències en relació al patró dietètic, com correspon al fet de pertànyer a la mateixa cultura i àrea geogràfica. La quantitat d'ingesta de kilocalories al dia per part de les pacients i els controls segueix la recomanació de < 2000 Kcal/dia [41]. El patró calòric (percentatge de calories aportat per cada macronutrient, lípids, proteïnes i carbohidrats) de les pacients i els controls també s'adequa al recomanat: les proteïnes aporten entorn el 10-15% de les calories totals, els lípids entre el 30-35%, i els carbohidrats el 50-60% restant. Els greixos monosaturats, dels quals és font principal l'oli d'oliva, també són els que s'ingereixen amb major proporció tal i com aconsellen les recomanacions [221]. Igualment, el consum diari de vitamines A, C i E per part de les pacients i els controls es troba en la quantitat diària recomanada. Tot i així, malgrat que pacients i controls tenen una dieta saludable, l'adherència a un patró dietètic, com per exemple la dieta mediterrània, no ha estat associada a una disminució del risc del càncer de mama. El balanç energètic i la adipositat corporal semblen ser més importants per prevenir el càncer de mama que una composició específica de la dieta [222]. La única diferència significativa que hem observat en el nostre estudi pel què fa a la dieta, entre les pacients i els controls, és que les primeres ingereixen menys grams de carbohidrats al dia. L'estudi italià ORDET va observar una associació inversa entre la incidència del càncer de mama en pacients postmenopàusiques i els carbohidrats (RR=0.42;95% CI = 0.18-0.95) [223]. Tanmateix, basant-nos en els resultats del nostre estudi en relació a la dieta de les pacients i els controls, no podem extreure conclusions pel què fa a la influència de la dieta com a factor de risc del càncer de mama en les pacients. En aquest sentit, la majoria d'estudis epidemiològics sobre dieta i risc de càncer de mama no han trobat, fins el moment actual, cap associació consistent excepte pel que fa al consum regular d'alcohol i l'augment de pes. Cal dir que en la majoria d'aquests estudis, com en el nostre, es mesura la dieta durant l'edat adulta. Probablement, la dieta en aquest moment no té un impacte tant important en el risc de càncer de mama, com la dieta abans de la pubertat. Actualment no hi ha cap estudi que inclogui dades sobre la dieta durant o abans de la pubertat.

3. L'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant en les pacients amb càncer de mama inicial després del tractament adjuvant.

El nostre estudi mostra que les pacients amb càncer de mama en estadi inicial presenten un increment de l'estrès oxidatiu després del tractament de quimioteràpia i/o radioteràpia adjuvant. L'estrès oxidatiu es produeix per un augment de l'oxidació de l'ADN i la peroxidació lipídica, i una disminució de la capacitat antioxidant total de les pacients. L'increment de l'oxidació de l'ADN després del tractament adjuvant, i el fet que no hi hagi diferències entre les pacients abans d'iniciar el tractament adjuvant i els controls, suggereix que l'oxidació de l'ADN és degut al tractament amb quimioteràpia i/o radioteràpia. Resultats similars han estat reportats per altres autors que han demostrat una reducció en la capacitat antioxidant total i un increment de la peroxidació lipídica en els pacients amb càncer [224-225]. En canvi, i a diferència d'estudis previs [226], segons els nostres resultats, els nivells de carbonils, que són producte de l'oxidació de les proteïnes, disminueixen després del tractament adjuvant. Convé destacar, que els nostres resultats suggereixen que la disminució de la capacitat antioxidant de les pacients amb càncer de mama, s'observa a partir de la segona meitat del tractament de quimioteràpia. Aquest fet podria produir-se per un possible esgotament de les reserves antioxidants que reaccionen a l'estrès oxidatiu generat pel tractament.

Estudis previs han explorat com el nostre la relació entre l'estrès oxidatiu i el tractament del càncer de mama. Un dels estudis determina els marcadors d'estrès oxidatiu en plasma (oxidació d'ADN i proteïnes, peroxidació de lípids i capacitat antioxidant) abans i després de quimioteràpia, en 30 pacients amb càncer de mama metastàtic quimioresistent, i analitza el possible efecte en la supervivència [227]. A diferència dels nostres resultats, els autors no han detectat diferències significatives en l'oxidació de l'ADN ni la peroxidació lipídica abans i després del tractament de quimioteràpia. En canvi, d'acord amb els nostres resultats, tampoc observen diferències en la producció de grups carbonil com a conseqüència del l'oxidació de les proteïnes pel tractament. L'estudi de Vera L et al. però, està basat en una població molt heterogènia de pacients pel què fa als tractaments rebuts, fet que disminueix la capacitat dels mètodes de mesura per detectar diferències, en contraposició a la nostra mostra que és més homogènia. D'altra banda, malgrat no han detectat diferències en el dany de l'ADN, l'estudi analitza l'activitat de l'enzim KU86 que participa en la reparació de l'ADN, i

observa que la seva activitat es troba disminuïda després de la quimioteràpia tot i que no de manera significativa. Contràriament als nostres resultats, el treball publicat per Vera-Ramirez et al. observa un augment de la capacitat antioxidant després del tractament de quimioteràpia.

Com el nostre estudi, altres treballs han avaluat també l'estrès oxidatiu de les pacients amb càncer de mama en estadis inicials que reben tractament de quimioteràpia i radioteràpia adjuvants [228-229]. En l'estudi de Rockenbach et al., es mesuren els marcadors d'estrès oxidatiu i la capacitat antioxidant en 40 pacients amb càncer de mama inicial tractades amb cirurgia, quimioteràpia o radioteràpia [228]. Els resultats mostren un augment significatiu de l'estrès oxidatiu com a conseqüència d'un increment en els marcadors de peroxidació lipídica i oxidació de proteïnes, i un descens dels sistemes de defensa antioxidant. Els segon estudi inclou 70 pacients amb càncer de mama tractades amb quimioteràpia (38 en neoadjuvència i 32 en adjuvència) i avalua els marcadors d'estrès oxidatiu abans i després de la quimioteràpia en ambdós grups [229]. Els autors observen un augment de dany de l'ADN i l'oxidació de les proteïnes després de la quimioteràpia només en el grup de pacients tractades en neoadjuvència. En canvi, la capacitat antioxidant incrementa els seus valors després del tractament en el grup de pacients tractades amb quimioteràpia adjuvant, i es manté baixa en el grup de neoadjuvència, tot i que no s'observen diferències entre els dos grups.

Malgrat cal ser prudent en la comparació d'estudis metodològicament diferents, els resultats del estudi de Vera et al. [229] i els nostre suggereixen que les pacients que no han estat intervingudes quirúrgicament podrien experimentar un major dany en l'oxidació de les proteïnes. En relació a la peroxidació lipídica, les dades indiquen de manera evident que hi ha un increment significatiu després de la quimioteràpia. L'absència de diferències en la peroxidació lipídica en l'estudi de pacients amb càncer de mama metastàtic podria explicar-se per una baixa especificitat del mètode de mesura. D'acord amb els nostres resultats i els derivats dels altres estudis, la quimioteràpia produeix de manera precoç un dany en l'ADN i lípids, fet que no es dona amb l'oxidació de les proteïnes. En general, els resultats suggereixen l'estrès oxidatiu provoca una activació dels sistemes de defensa antioxidant que acaben sent superats.

Estudis previs suggereixen l'estrès oxidatiu podria influir en la supervivència de les pacients un cop finalitzat el tractament de quimioteràpia i radioteràpia, ja que es relaciona amb la migració, angiogènesi i capacitat metastàsica [230]. L'estudi de Vera et al. conclou

que l'activitat de l'enzim de reparació de l'ADN (KU86) i la capacitat antioxidant s'associen a una millor supervivència lliure de malaltia [229]. Aquests resultats no són concordants amb els nostres, ja que hem observat que les pacients mortes als 5 anys de seguiment presentaven una major activitat antioxidant en el moment basal. Es podria suggerir que en aquestes pacients, l'activació precoç del sistema antioxidant podria ser degut a una situació d'estès oxidatiu més desfavorable secundari a una malaltia més agressiva biològicament. Tot i així, les pacients amb ganglis positius i per tant de pitjor pronòstic, no presenten diferències en els marcadors d'estrès oxidatiu i capacitat antioxidant respecte les pacients amb ganglis negatius. De manera que el nostre estudi, no permet extreure conclusions sobre la relació entre l'estrès oxidatiu i el pronòstic del càncer de mama atès l'escàs nombre d'esdeveniments durant el seguiment.

4. La dieta de les pacients amb càncer de mama inicial durant el tractament adjuvant.

El nostre estudi de la ingesta mostra que la dieta de les pacients amb càncer de mama es modifica durant el tractament adjuvant. En aquest sentit, les pacients després del tractament disminueixen la quantitat diària de kilocalories, el consum de greixos i carbohidrats, així com dels components antioxidants, vitamines (A, C i E) i seleni. La disminució de la ingesta de carbohidrats és la única diferència estadísticament significativa observada en tota la cohort de pacients. Cal destacar hi ha un augment del consum de proteïnes després del tractament adjuvant, malgrat no ser la diferència significativa. En quant al consum d'alcohol, no hem observat variacions significatives durant el tractament, possiblement perquè ja en el moment basal les pacients tenen uns nivells de consum molt baixos (mitjana \pm DE: 1,58 \pm 3,85 g/dia).

En el subgrup de pacients tractades amb quimioteràpia sí que s'observa una disminució estadísticament significativa de les kilocalories diàries aportades per la dieta durant el tractament, així com un descens en la ingesta de carbohidrats i seleni. Pel que fa al consum de proteïnes, hi ha una disminució de la ingesta a la meitat del tractament de quimioteràpia que es recupera finalitzat el tractament superant els nivells de consum basals probablement secundari a la toxicitat gastrointestinal. Coincidint amb els resultats de tota la cohort de pacients, les pacients que reben quimioteràpia, consumeixen també

menys greixos i components antioxidants (vitamines A, C, E i seleni) després del tractament.

Una troballa favorable de l'estudi és que hi ha un descens en el consum de carbohidrats, d'acord amb les recomanacions de reduir la ingesta de sucres de la *World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research* [41].

El descens en el consum de greixos està en concordança amb els resultats d'estudis anteriorment reportats, on les pacients amb càncer de mama disminueixen la ingesta de greixos després del diagnòstic o durant el tractament [231-232]. D'acord amb aquests estudis, les pacients diagnosticades i tractades de càncer de mama inicien precoçment una dieta més saludable per evitar la recurrència o l'aparició d'altres malalties. Convé destacar, que els resultats dels dos principals estudis d'intervenció dietètica, el WINS [157] i el WHEL [5], suggereixen que és la reducció de la ingesta de greixos associada a una disminució moderada del pes, allò que produeix una disminució de la recurrència. Les pacients incloses en el nostre estudi, tot i que disminueixen la ingesta de greixos presenten un guany ponderal després del tractament adjuvant. De manera que, malgrat la possible millora en la qualitat de la dieta amb la disminució del consum de greixos, aquesta mesura per si sola, sense una reducció del pes, probablement no tindria un impacte beneficiós en el seu pronòstic.

La disminució en la ingesta de proteïnes durant el tractament està d'acord amb els resultats d'estudis previs [233], i podria ser deguda a la toxicitat gastrointestinal en forma de disgeusia, anorèxia, nàusees i/o vòmits. Finalitzat el tractament adjuvant les pacients incloses en el nostre estudi recuperen els nivells de consum de proteïnes al dia. Existeix evidència suficient a la literatura per afirmar que reiniciar el consum de proteïnes en les pacients amb càncer de mama no augmenta el risc de recurrència. Un estudi publicat recentment, que inclou 6438 dones amb càncer de mama en estadis I a III, mostra un benefici modest en la supervivència de les pacients que ingereixen una quantitat alta de proteïnes no associat a cap aliment en concret [234]. Tanmateix, l'augment del consum de proteïnes és contrari a les recomanacions dels informes sobre nutrició i prevenció, en pacients que han patit un càncer podria tenir un efecte beneficiós. Alguns estudis han suggerit que un augment del consum de carn vermella per sobre de 500 g a la setmana representa un risc pel càncer de mama. D'acord amb les recomanacions de la *World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research*, el consum de carn

vermella i processada hauria d'estar limitat per tal de prevenir també la recurrència del càncer.

Tal com s'ha dit, les pacients amb càncer de mama no varien el consum de components antioxidants durant el tractament, sinó que tendeixen a disminuir-lo, tot i estar en una situació d'augment de l'estrès oxidatiu secundari tractament. Els aliments rics en vitamines C i E són bàsicament fruites i verdures, mentre que els aliments rics amb vitamina A poden ser d'origen animal o vegetal. El descens en el consum de vitamines i per tant, de fruites i verdures, no concorda amb els resultats d'estudis previs i no estaria en concordança amb les recomanacions sobre nutrició i càncer [235-237]. Atès aquests resultats que mostren una reducció en la ingesta de vitamines durant el tractament, podria suggerir-se la suplementació amb complexos vitamínics en les pacients amb càncer de mama sotmeses a tractament adjuvant. De fet, els suplementos nutricionals són àmpliament utilitzats en els pacients amb càncer ja que tenen la percepció que poden ser beneficiosos per la seva malaltia i poden ajudar a contrarestar la toxicitat del tractament. De tota manera, les guies d'experts recomanen evitar l'ús de suplementos nutricionals i obtenir, sempre que sigui possible, els nutrients dels aliments [41]. A més a més, la majoria dels resultats dels estudis randomitzats que exploren el paper dels suplementos nutricionals en la prevenció del càncer són negatius, i alguns fins i tot, descriuen efectes adversos notables. Possiblement administrar suplementos en pacients no seleccionats no suposa cap benefici. En canvi, podrien ser beneficiosos i apropiats per en aquelles pacients que es detecta un dèficit vitamínic.

En definitiva, la dieta de les pacients amb càncer de mama durant el tractament adjuvant podria no ser l'adequada tenint en compte l'augment de l'estrès oxidatiu secundari al tractament, i el guany ponderal que experimenten malgrat la reducció en la quantitat d'ingesta de kilocalories diàries. Aquest fet podria anar en detriment del seu pronòstic i supervivència, pel què calen mesures d'assessorament dietètic concretes des del moment del diagnòstic, durant i després del tractament.

5. Els paràmetres antropomètrics de les pacients amb càncer de mama en tractament adjuvant

Les pacients amb càncer de mama incloses en el nostre estudi presenten un guany ponderal després del tractament adjuvant de 1,55 Kg de mitjana. L'IMC de les pacients després del tractament és de 26,79(\pm 5,65) Kg/m² de mitjana que correspon a sobrepès segons la classificació de la OMS. Estudis previs ja han mostrat resultats semblants en quant a l'augment de pes com a conseqüència del tractament [238-239]. Tanmateix, la mitjana de guany ponderal de les nostres pacients és inferior a la que s'ha observat en l'estudi de Demark-Wahnefried et al [240], en el que l'augment de pes el primer any després del diagnòstic és de 2,5 Kg a 6,2 Kg, particularment en dones que han seguit tractament de quimioteràpia. Aquesta diferència podria atribuir-se al fet que en el nostre estudi, la mesura del pes es realitza dos mesos després del tractament adjuvant. De manera que no podem observar el probable augment ponderal de les pacients més enllà d'aquest període. Cal destacar que la mitjana de l'IMC després del tractament no està d'acord amb les recomanacions sobre nutrició i prevenció del càncer ja que es recomana mantenir un IMC entre 18,5 i 24,9 Kg/m².

Els motius pel guany ponderal després del tractament adjuvant no estan clarament definits i probablement intervenen múltiples factors. La quimioteràpia pot provocar edema, una disminució de l'activitat física de la pacient com a conseqüència de la toxicitat com l'astènia, i alteracions del metabolisme per inducció de la menopausa. Els corticoesteroides administrats com a prevenció de l'emesi induïda per la quimioteràpia també poden contribuir a augmentar el pes. D'altra banda el tractament hormonal, augmenta els nivells de greixos, disminueix la massa muscular i el metabolisme en general. No tots els estudis sobre els canvis en l' IMC durant el tractament, inclouen dades sobre dieta i exercici físic. En el nostre treball, l'augment de pes que hem observat després del tractament no es pot atribuir a la dieta, ja que hem constatat una disminució de la ingesta de kilocalories diàries durant el tractament estadísticament significativa. Tampoc hem observat una disminució de l'exercici físic durant el tractament. Per tant, suggerim que l'augment de pes dos mesos després d'haver finalitzat el tractament adjuvant és degut als efectes del tractament.

Existeix evidència suficient per afirmar que un excés de pes en les pacients amb càncer de mama augmenta el risc de càncer de mama contra lateral, d'altres tumors

primaris, i totes les causes de mortalitat [241-242]. Un estudi retrospectiu que inclou 18.976 pacients amb càncer de mama tractades en diferents assaigs de quimioteràpia adjuvant a Dinamarca explora la relació entre obesitat i pronòstic. L'estudi confirma que l'obesitat (IMC > 30 Kg/m²) és un factor pronòstic independent pel risc de desenvolupar metàstasis a distància i de mort després del diagnòstic de càncer [243].

Així doncs, considerant que dos mesos després de la fi del tractament adjuvant, les pacients amb càncer de mama incloses en l'estudi presenten sobrepès, i no es pot descartar que més enllà d'aquest moment segueixin experimentant un guany ponderal que podria impactar en el seu pronòstic, creiem que calen mesures d'intervenció per evitar-ho.

6. L'exercici físic de les pacients amb càncer de mama durant el tractament adjuvant.

Les pacients diagnosticades de càncer de mama incloses en el nostre estudi realitzen una activitat física molt escassa abans, durant i després del tractament adjuvant. Diversos treballs han destacat els beneficis de l'activitat física durant i després del tractament, ja que el descens en l'activitat física és un dels factors predictors d'augment de pes en les pacients amb càncer de mama [244]. D'altra banda, diversos estudis han demostrat l'associació entre l'activitat física i un menor risc de recurrència [31]. Atès aquests resultats positius, diverses agències de salut pública, la majoria en països anglosaxons, han elaborat guies per a pacients diagnosticats de càncer on recomanen augmentar l'exercici físic [245, 41]. Alguns autors han conclòs que és en aquelles pacients que mantenen o augmenten l'activitat física després del diagnòstic, on hi ha una disminució de la mortalitat per càncer de mama. No s'observa cap benefici, en canvi, en les pacients que després del diagnòstic es mantenen inactives o disminueixen la seva activitat física [246]. Les dones incloses en el nostre estudi pertanyen a aquest segon grup de pacients que es segueixen inactives durant i després del tractament. Per tant, calen mesures d'intervenció perquè les pacients amb càncer de mama en tractament adjuvant augmentin l'activitat física. Aquest no només milloraria el seu pronòstic, sinó que podria contribuir també a millorar la qualitat de vida, l'ansietat, la depressió i la fatiga [247].

7. Els canvis de la dieta durant el tractament i la seva relació amb l'estrès oxidatiu

La dieta conté diferents nutrients que poden influir en el nivell d'estrès oxidatiu. Els antioxidants tradicionals com les vitamines i alguns minerals poden actuar directament eliminant les ERO, o indirectament, com per exemple el seleni, que és necessari per la funció antioxidant d'alguns enzims. En el nostre estudi la ingesta dels antioxidants tradicionals, les vitamines A, C i E i minerals com el seleni, tenen una tendència a disminuir durant el tractament de quimioteràpia. Per tant, aquest comportament en la dieta de les nostres pacients no afavoriria al sistema de defensa antioxidant encarregat de contrarestar els efectes nocius de l'estrès oxidatiu. Aquests resultats ens podrien fer plantejar si estaria indicat una suplementació vitamínica de les nostres pacients. Alguns estudis han demostrat que la suplementació amb vitamines i minerals pot tenir efectes beneficiosos sobre els marcadors d'estrès oxidatiu de les biomolècules com els lípids [248], les proteïnes i l'ADN. La suplementació del seleni és capaç també d'augmentar l'activitat dels enzims antioxidants.

Diversos estudis prospectius han analitzat la associació entre la suplementació vitamínica i el pronòstic del càncer de mama. Un estudi suggereix que la suplementació amb vitamina E i C després del diagnòstic de càncer de mama està associada a una disminució de la probabilitat de recurrència. El mateix estudi en canvi, observa que la suplementació amb combinats de carotenoides estaria associada a un augment de la mortalitat [249]. Per tant, els resultats dels estudis epidemiològics sobre suplementació amb antioxidants i càncer són discrepants. D'una banda, presenten limitacions i variacions metodològiques que dificulten la seva interpretació. Per exemple, hi ha altres factors com l'hàbit tabàquic, el IMC o les comorbilitats, que poden afectar el nivell d'estrès oxidatiu. A més a més, l'efecte antioxidant de les vitamines depèn també de la seva absorció i biodisponibilitat, així com el tipus de ERO. Finalment, no és possible definir la dosi i el temps de suplementació amb els quals s'aconseguirien millors resultats.

Per tant, encara que l'ús de suplementos dietètics està molt generalitzat en les nostres pacients, hi ha escassa evidència sobre el seu efecte en la recurrència i la supervivència. De manera que seguint les guies clíniques es recomana obtenir els components potencialment beneficiosos de la dieta [250].

8. La relació entre l'expressió de FASN i les variables clíniques

L'expressió de FASN es troba alterada en múltiples neoplasies, inclòs el càncer de mama [251]. L'expressió de FASN ha estat avaluada com a possible biomarcador i diana terapèutica. En el nostre estudi, hem observat una associació entre els nivells d'expressió de FASN amb la menopàusia i l'edat. Malgrat que podria haver-hi una associació entre edat i estat menopàusic, la relació amb FASN s'ha analitzat independentment. Segons els nostres resultats, les dones postmenopàusiques amb càncer de mama inicial presenten nivells d'expressió de FASN superiors a les dones premenopàusiques. En aquest mateix sentit, s'ha observat que el tractament hormonal disminueix l'expressió de FASN en el teixit gras abdominal de les dones postmenopàusiques [252]. Contràriament, un estudi previ va concloure que l'expressió de FAS en pacients amb lesions premalignes era significativament superior en les premenopàusiques [253]. A més a més, hem observat una associació positiva entre l'expressió de FASN i l'IMC, suggerint una associació positiva entre FASN i obesitat. Aquesta troballa pot ser rellevant tenint en compte que l'IMC i la distribució del greix pot variar després de la menopausa i que l'obesitat està associada a un augment del risc del càncer de mama després de la menopausa.

9. Fortaleses i limitacions

8.1. Fortaleses

Aquest és el primer estudi prospectiu realitzat en el nostre entorn, en pacients amb càncer de mama en estadi inicial sotmeses a tractament adjuvant on s'analitza l'estrès oxidatiu, la dieta, les variables antropomètriques i l'activitat física. Convé destacar que la mostra de pacients és homogènia en quant al esquema de tractament complementari de quimioteràpia i radioteràpia. D'altra banda, la inclusió d'un grup control amb les mateixes característiques demogràfiques que les pacients, suggereixen que malgrat que la selecció de pacients no és aleatòria, ja que s'obté en el nostre centre hospitalari, no està esbiaixada en relació a les variables que volem mesurar.

8.2. Limitacions

En primer lloc, una de les principals limitacions de l'estudi és la mida de la mostra que no permet establir l'associació entre la dieta i l'estrès oxidatiu de les pacients amb càncer de mama. D'altra banda, l'avaluació de la dieta en relació al pronòstic del càncer de mama precisa d'estudis molt amplis, amb un gran nombre de pacients, i un temps de seguiment molt llarg. L'escàs nombre d'esdeveniments (recurrencies i morts) i el temps de seguiment de 5 anys de les pacients limita també l'anàlisi de recurrència i supervivència en relació a les variables d'estrès oxidatiu.

En segon lloc, una altre limitació de l'estudi és l'ús dels qüestionaris de freqüència d'aliments per mesurar la dieta. La ingesta dietètica és difícil de mesurar i no hi ha un sol mètode capaç de fer-ho perfectament. Malgrat que els qüestionaris de freqüència són àmpliament utilitzats en els estudis epidemiològics presenten algunes limitacions [254]. El registre de la dieta per part de les pacients i controls pot estar esbiaixat per dèficits de memòria, o per associar preferentment un tipus d'aliment a una determinada condició de salut. A més a més, hi pot haver escassa precisió en l'estimació i la quantificació de les proporcions d'aliments. Aquestes limitacions poden minimitzar-se mitjançant la supervisió dels qüestionaris per personal entrenat com en el nostre cas. També s'ha suggerit per superar aquestes limitacions, incorporar mètodes de mesura directa com l'ús de biomarcadors encara que no estan àmpliament generalitzats.

En tercer lloc, s'estima que un 20-80% dels pacients diagnosticats de càncer fan ús de suplementes dietètics sense recomanació mèdica [255]. Els suplementes dietètics podrien influir en la dieta i en els nivells d'estrès oxidatiu. Una altra possible limitació del nostre treball és que no s'ha interrogat específicament sobre l'ús de suplementes dietètics per part de les pacients.

Finalment, l'estrès oxidatiu és un dels mecanismes de toxicitat de la quimioteràpia i la radioteràpia, i que pot influir en la seva eficàcia. Les toxicitats del tractament poden ser agudes o a llarg termini i poden limitar les dosis dels fàrmacs o de la radioteràpia. El nostre estudi no ha quantificat les toxicitats al tractament de les pacients, pel què no podem explorar la seva relació amb els nivells d'estrès oxidatiu.

Tot i les limitacions metodològiques prèviament esmentades, aquest estudi ens permeten conèixer millor els processos biològics que es produeixen durant el tractament

adjuvant de les pacients amb càncer de mama inicial. A més a més, el nostre treball demostra que calen mesures d'intervenció en les pacients amb càncer de mama durant el tractament adjuvant en relació a la dieta i el control de pes amb l'objectiu de millorar la seva qualitat de vida i el seu pronòstic.

Conclusions

1. Les pacients amb càncer de mama inicial tenen un major estrès oxidatiu que les dones sanes amb les mateixes característiques demogràfiques, atribuïble a la pròpia malaltia oncològica.
2. Les pacients amb càncer de mama inicial tenen una menor capacitat antioxidant que les dones sanes amb les mateixes característiques demogràfiques, atribuïble a la pròpia malaltia oncològica.
3. Els marcadors d'estrès oxidatiu augmenten en les pacients amb càncer de mama en estadi inicial després del tractament adjuvant.
4. La capacitat antioxidant de les pacients amb càncer de mama en estadi inicial disminueix després del tractament adjuvant.
5. La dieta de les pacients amb càncer de mama inicial es modifica durant el tractament de quimioteràpia.
6. Les pacients amb càncer de mama inicial tenen un guany ponderal atribuïble al tractament adjuvant.
7. La ingesta d'antioxidants provinents de la dieta no varia durant el tractament de quimioteràpia.
8. L'activitat física de les pacients amb càncer de mama inicial és molt baixa i no s'incrementa durant i després del tractament adjuvant.
9. Calen mesures d'intervenció precoç per controlar el pes i millorar la dieta de les pacients amb càncer de mama inicial en tractament adjuvant.

Bibliografia

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accès 18/Març/2017.
2. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013; 49(6):1374-403.
3. Ferrari P, Licaj I, Muller David C, Kragh Andersen P, Johansson M, Boeing H et al. Lifetime alcohol use and overall and cause-specific mortality in the European Prospective Investigation into Cancer and nutrition (EPIC) study. *BMJ* 2014;4(7):e005245
4. Hamajima N, Hirose K, Tajima K. Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease., *Br J Cancer*. 2002;87(11):1234-45.
5. Pierce JP, Natarajan L, Caan BL, Parker BA, Greenberg ER, Flatt SW, et al. Influence of a diet very high in vegetables, fruit, and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer: the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) randomized trial. *JAMA* 2007;298(3):289-98.
6. Protani M, Corry M, Martin JH. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Oct;123(3):627-35.
7. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;44:1-40.
8. Vera-Ramirez L, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa MC, Ramirez-Tortosa CL, Granados-Principal S, Lorente JA, et al. Free radicals in breast carcinogenesis, breast cancer progression and cancer stem cells. Biological bases to develop oxidative-based therapies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 80:347-368.
9. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J* 2007;401:1-11.
10. Rockenbach G, Di Pietro PF, Ambrosi C, Boaventura BC, Vieira FG, Crippa CG, Da Silva EL, Fausto MA. Dietary intake and oxidative stress in breast cancer: before and after treatments *Nutr Hosp*. 2011 Jul-Aug;26(4):737-44.
11. Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, Sullivan R. Economic burden of cancer across the European Union: a population-based cost analysis. *Lancet Oncol*. 2013 Nov;14(12):1165-74.

12. Arrospe A, Soto-Gordoa M, Acaiturri T, López-Vivanco G, Abecia L. Coste del tratamiento del cáncer de mama por estadio clínico en el país vasco. *Rev Esp Salud Pública* 2015;89: 93-97.
13. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:36-47.
14. Clavel-Chapleon F, Gerber M. Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat* 2002;86:723-727.
15. MacMahon B, Trichopoulos D, Brown J. Age at menarche, urine estrogens and breast cancer risk. *Int J Cancer* 1982;30:427-431.
16. Trichopoulos D, MacMahon B, Cole P. Menopause and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1972;48:605-613.
17. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:36-47
18. Ventura S, Taffel S. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without disease. *Lancet* 2002;360:187-195.
19. Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2014; 23: 409-422.
20. Westhoff CL. Breast cancer risk: perception versus reality. *Contraception* 1999; 59 (1 Suppl): 25S-28S.
21. Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 346: 2025-2032.
22. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003;348:2339-2347.
23. de Sanjosé S, Leóné M, Bérez V, Izquierdo A, Font R, Brunet JM, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in young breast cancer patients: a population-based study. *Int J Cancer*. 2003 Sep 10;106(4):588-93.
24. Slattery ML, Kerber RA. A comprehensive evaluation of family history and breast cancer risk. The Utah Population Database. *JAMA* 1993;270:1563-1568
25. Land CE, Tokunaga M, Koyama K, Soda M, Preston DL, Nishimori I, et al. Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950-1990. *Radiat Res*. 2003 Dec;160(6):707-17.

26. Pijpe A, Andrieu N, Easton DF, Kesminiene A. Exposure to diagnostic radiation and risk of breast cancer among carriers of BRCA1/2 mutations: retrospective cohort study (GENE-RAD-RISK). *BMJ*. 2012 Sep 6;345:e5660.
27. Land SR, Liu Q, Wickerham DL, Costantino JP, Ganz PA. Cigarette Smoking, Physical Activity, and Alcohol Consumption as Predictors of Cancer Incidence among Women at High Risk of Breast Cancer in the NSABP P-1 Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014 Apr 2
28. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nut* 2002;132:3456S-3464S.
29. Hardefeldt PJ, Edirimanne S, Eslick GD. Physical activity reduces the risk of breast cancer. *San Antonio Breast Cancer Symposium* December 5, 2012.
30. Wu Y, Zhang D, Kang S. Physical activity and risk of breast cancer: a metaanalysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat* 2013;137(3):869-82.
31. Holms MD, Chen WY, Feskanich D, Kroenke CH, Colditz GA. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. *JAMA* 2005;293:2479-86.
32. Irwin ML, McTiernan A, Manson JE, Thomson CA, Strenfeld B, Stefanick ML, et al. Physical activity and survival in postmenopausal women with breast cancer: result from the Women's Health Initiative. *Cancer Prev Res* 2011;4:522-9.
33. Ibrahim EM, AL-Homaidh A. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis: a meta-analysis of publishes studies. *Med Oncol* 2011;28(3):753-65.
34. Arnold M, Pandeya N, Byrnes G, Renehan AG, Stevens GA, Ezzati M, et al. Global burden of cancer attributable to high body mass index in 2012: a population-based study. *Lancet Oncol*. 2015 Jan;16(1):36-46.
35. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S adults. *N Engl J Med* 2003;348:1625-1639.
36. Britton KA, Massaro JM, Murabito JM, Kreger BE, Hoffmann U, Fox CS. Body fat distribution, incident cardiovascular disease, cancer, and all-cause mortality. *J Am Coll Cardiol* 2013 Sep 3;62(10):921-5.
37. Zhang C, Rexrode KM, van Dam RM, Li TY, Hu FB. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: sixteen years of follow-up in US women. *Circulation*. 2008 Apr 1;117(13):1658-67.
38. Travis RC, Key TJ. Oestrogen exposure and breast cancer risk. *Breast Cancer Res*. 2003;5(5):239-47.

39. Minatoya M, Kutomi G, Asakura S, Otokozawa S, Sugiyama Y, Nagata Y, et al. Equol, adiponectin, insulin levels and risk of breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(4):2191-9.
40. Vance V, Mourtzakis M, McCargar L, Hanning R. Weight gain in breast cancer survivors: prevalence, pattern and health consequences. *Obes Rev.* 2011 Apr;12(4):282-94.
41. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Breast. In: World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Breast, editor. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC, 2007 ACIR; 2007-289-298.
42. Sinn HP and Kreipe H, A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. *Breast Care (Basel)*, 2013. 8(2): 149-54.
43. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Peto R, Davies C, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet* 2012;379:432.
44. Hilsenbeck SG, Radvin PM, de Moor CA, Chamness GC, Osborne CK, Clark GM. Time-dependence of hazards ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52:227-237.
45. Veronesi U, Viale G, Paganelli G, Zurrada S, Luini A, Galimberti V, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten-year results of a randomized controlled study. *Ann Surg.* 2010 Apr;251(4):595-600.
46. Carter CL, C. Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63(1):181-7.
47. Foulkes WD, Grainge MJ, Rakha EA, Green AR, Ellis IO. Tumor size is an unreliable predictor of prognosis in basal-like breast cancers and does not correlate closely with lymph node status. *Breast Cancer Res Treat.* 2009 Sep;117(1):199-204.
48. Carstens PH, Greenberg RA, Francis D, Lyon H. Tubular carcinoma of the breast. A long term follow-up. *Histopathol* 1985;99:271-280.
49. Clayton F. Pure mucinous carcinomas of the breast: morphologic features and prognostic correlates. *Hum Pathol* 1986;17:34-38.
50. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, Kinne D, Miké V. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with a ten year follow-up. *Cancer* 1977;40:1365-1385.

51. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer: a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11:359-377.
52. Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S et al. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR). An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer* 1989;64:1914-192.
53. Mohammed RA, Martin SG, Gill MS, Green AR, Paish EC, Ellis IO. Improved methods of detection of lymphovascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. *Am J Surg Pathol*. 2007 Dec;31(12):1825-33.
54. Thomas C, Gustafsson JA The different roles of ER subtypes in cancer biology and therapy. *Nature reviews Cancer* 2011;11(8):597-608.
55. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Jun 1;28(16):2784-95
56. Fisher B, Redmond C, Fisher ER et al. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node-negative breast cancer patients. Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol* 1988;6:1076-1087.
57. Colleoni M, Sun Z, Price KN, Karlsson P, Forbes JF, Thürlimann B, Gianni L, et al. Annual Hazard Rates of Recurrence for Breast Cancer During 24 Years of Follow-Up: Results From the International Breast Cancer Study Group Trials I to V. *J Clin Oncol*. 2016 Mar 20;34(9):927-35.
58. Hynes NE, Lane HA: ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors *Nature Reviews Cancer* 2005, 5 (5):341-354.
59. Wolff AC, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*, 2013. 31(31):3997-4013.
60. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*. 2007 May 21;96(10):1504-13. Epub 2007 Apr 24.

61. Stuart-Harris R1, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008 Aug;17(4):323-34.
62. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12:888-894.
63. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr* 1994;16:35-42.
64. Fredholm H, et al., Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment. *PLoS One*, 2009. 4(11): p. e7695.
65. Perou C, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, et al., Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000. 406: 747-752.
66. Screening for breast cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med*, 2009. 151(10): p. 716-26, W-236
67. Turnbull L, Brown S, Harvey I, Olivier C, Drew P, Napp V, et al. Comparative effectiveness of MRI in breast cancer (COMICE) trial: a randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 563–71.
68. Peters NH, van Esser S, van den Bosch MA, et al. Preoperative MRI and surgical management in patients with nonpalpable breast cancer: the MONET – randomised controlled trial. *Eur J Cancer* 2011; 47: 879–86.
69. Garcia-Saenz JA, Bermejo B, Estevez LG, Palomo AG, Gonzalez-Farre X, Margeli M, et al. SEOM clinical guidelines in early-stage breast cancer 2015. *Clin Transl Oncol*. 2015 17(12):939-45.
70. Senkus E, Kyriakides S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Thompson A, Zackrisson S, Cardoso F; ESMO Guidelines Working Group. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013 Oct;24.
71. NCCN clinical Practice guidelines in Oncology Breast Cancer Version 2.2016 www.nccn.org/patients
72. Bychkovsky BL, Guo H, Sutton J, Spring L, Faig J, Dagogo-Jack I, et al. Use and Yield of Baseline Imaging and Laboratory Testing in Stage II Breast Cancer. *Oncologist*. 2016 Dec;21(12):1495-1501.
73. Edge SB, B.D., Compton CC, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. Chicago, IL: Springer, Part VII Breast. 7th edition. 2009;345–376.
74. Van Dongen JA, Voogd AC, Fentiman IS, et al.: Long-term results of a randomized trial comparing breast-conserving therapy with mastectomy: European

- Organization for Research and Treatment of Cancer 10801 trial. *J Natl Cancer Inst* 92 (14): 1143-50, 2000.
75. Moran MS, Schnitt SJ, Giuliano AE, et al.: Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer. *J Clin Oncol* 32 (14): 1507-15, 2014.
76. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al.: Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 11 (10): 927-33, 2010.
77. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2011 Feb 9;305(6):569-75.
78. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol*. 2015 Aug;26(8):1533-46.
79. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group: Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005, 365: 1687-1717.
80. Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, Cirincione CT, Goldstein LJ, Martino S, et al. Improved outcomes from adding sequential paclitaxel but not from escalating doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol*. 2003, 21: 976-983.
81. De Laurentiis M, Cancellò G, D'Agostino D, Giuliano M, Giordano A, Montagna E, et al. Taxane-based combinations as adjuvant chemotherapy of early breast cancer: a meta-analysis of randomized trials. *J Clin Oncol*. 2008, 26: 44-53.
82. Pérez C1, Agustí MA, Tornos P. Late-onset anthracycline-induced cardiotoxicity]. *Med Clin (Barc)*. 2009 Sep 5;133(8):311-3.
83. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005 353 (16): 1659-72.
84. Perez E, Romond E, Suman V, et al. Updated results of the combined analysis of NCCTG N9831 and NSABP B-31 adjuvant chemotherapy with/without

- trastuzumab in patients with HER2-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2007 25 (Suppl 18): 512, 6s.
85. Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2011 365 (14): 1273-83.
86. Pivot X, Romieu G, Debled M, et al. 6 months versus 12 months of adjuvant trastuzumab for patients with HER2-positive early breast cancer (PHARE): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013 14 (8): 741-8.
87. Ewer MS, O'Shaughnessy JA. Cardiac toxicity of trastuzumab-related regimens in HER2-overexpressing breast cancer.. *Clin Breast Cancer* 2007 Jun;7(8):600-7.
88. Tormey DC, Gray R, Falkson HC: Postchemotherapy adjuvant tamoxifen therapy beyond five years in patients with lymph node-positive breast cancer. Eastern Cooperative Oncology Group. *J Natl Cancer Inst* 1996;88 (24):1828-33.
89. Davies C, Pan H, Godwin J, et al.: Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *Lancet* 2013; 381 (9869): 805-16.
90. Colleoni M, Giobbie-Hurder A. Benefits and adverse effects of endocrine therapy. *Ann Oncol*. 2010 Oct;21 Suppl 7:vii107-11.
91. Clarke M, Collins R, Darby S, et al.: Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 366 (9503): 2087-106, 2005
92. Darby S, McGale P, Correa C, et al.: Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet* 2011 378 (9804): 1707-16.
93. Hughes KS, Schnaper LA, Bellon JR, Cirrincione CT, Berry DA, McCormick B, et al. Lumpectomy plus tamoxifen with or without irradiation in women age 70 years or older with early breast cancer: long-term follow-up of CALGB 9343. *J Clin Oncol*. 2013 Jul 1;31(19):2382-7.
94. Kunkler IH, Williams LJ, Jack WJ, Cameron DA, Dixon JM; PRIME II investigators. Breast-conserving surgery with or without irradiation in women aged 65 years or older with early breast cancer (PRIME II): a randomised controlled trial..*Lancet Oncol*. 2015 Mar;16(3):266-73.
95. Truong PT, Woodward WA, Thames HD et al. The Ratio of Positive to Excised Nodes Identifies High- Risk Subsets and Reduces Inter- Institutional Differences in Locoregional Recurrence Risk Estimates in Breast Cancer Patients With 1-3

- Positive Nodes: An Analysis of Prospective Data From British Columbia and the M.D. Anderson Cancer Center. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;68: 59-65
96. Overgaard M, Nielsen HM, Overgaard J. Is the benefit of postmastectomy irradiation limited to patients with four or more positive nodes, as recommended in international consensus reports? A subgroup analysis of the DBCG 82b randomized trials. *Radiother Oncol* 2007;82: 247-53.
97. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. A comparison of prospective and retrospective assessments of diet in the study of breast cancer. *Am J Epidemiol.* 1993;137:502–511.
98. Prentice RL, Caan B, Chlebowski RT, et al. Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA.* 2006;295:629–642.
99. Michels KB, Mohllajee AP, Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB. Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer.* 2007;109(12 Suppl):2712-49.
100. Michels KB, Rosner BA, Chumlea WC, Colditz GA, Willett WC. Preschool diet and adult risk of breast cancer *Int J Cancer* 2006;118(3):749-54.
101. Burke BS. The dietary history as a tool in research. *J Am Diet Assoc.* 1947;23:1041–1046.
102. Bingham SA. Biomarkers in nutritional epidemiology. *Public Health Nutr* 2002 Dec;5(6A):821-7.
103. Bingham SA. Urine nitrogen as a biomarker for the validation of dietary protein intake. *J Nutr* 2003 Mar;133 Suppl 3:921S-924S.
104. Potischman N, Freudenheim JL. Biomarkers of nutritional exposure and nutritional status: an overview. *J Nutr* 2003 Mar;133 Suppl 3:873S-874S.
105. Tasevska N, Midthune D, Potischman N, Subar AF, Cross AJ, Bingham SA, Schatzkin A, Kipnis V. Use of the predictive sugars biomarker to evaluate self-reported total sugars intake in the Observing Protein and Energy Nutrition (OPEN) study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011 Mar;20(3):490-500.
106. Fletcher O, Gibson L, Johnson N, Altmann DR, Holly JM, Ashworth A, et al. Polymorphisms and circulating levels in the insulin-like growth factor system and risk of breast cancer: a systemic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2-19.
107. Dong JY, Qin LQ. Dietary glycemic index, glycemic load, and risk of breast cancer: meta-analysis of prospective cohort studies *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Apr;126(2):287-94.

108. Genkinger JM, Makambi KH, Palmer JR, Rosenberg L, Adams-Campbell LL. Consumption of dairy and meat in relation to breast cancer risk in the Black Women's Health Study. *Cancer Causes Control* 2013; 24: 675-84.
109. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Long-term meat intake and risk of breast cancer by oestrogen and progesterone receptor status in a cohort of Swedish women. *Eur J Cancer* 2009; 45: 3042-6
110. Zheng W, Gustafson DR, Sinha R, et al. Well-done meat intake and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1724-9.
111. Wu J, Zeng R, Huang J, Li X, Zhang J, Ho JC, Zheng Y. Dietary Protein Sources and Incidence of Breast Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Nutrients*. 2016 Nov 17;8(11). pii: E730.
112. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Long-term meat intake and risk of breast cancer by oestrogen and progesterone receptor status in a cohort of Swedish women. *Eur J Cancer* 2009; 45: 3042-6.
113. Tao P, Li H, Wang Q, Cao LQ, Li JY, Yang F, Wang YP. A case-control study on association of SULT1A1 polymorphism, smoked meat intake with breast cancer risk. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2012; 46: 831-5.
114. Fu Z, Deming SL, Fair AM, Shrubsole MJ, Wujcik DM, Shu XO, et al. Well-done meat intake and meat-derived mutagen exposures in relation to breast cancer risk: the Nashville Breast Health Study. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 129: 919-28.
115. Sinha R, Gustafson DR, Kulldorff M, Wen WQ, Cerhan JR, Zheng W. 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, a carcinogen in high-temperature-cooked meat, and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1352-4.
116. Genkinger JM, Makambi KH, Palmer JR, Rosenberg L, Adams-Campbell LL. Consumption of dairy and meat in relation to breast cancer risk in the Black Women's Health Study. *Cancer Causes Control* 2013; 24: 675-84.
117. Aune D, Chan DS, Vieira AR et al. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *AM J Clin Nutr* 2012;96(2):356-73.
118. Aune D, Chan DS, Vieira AR, Nararro Rosenblatt DA, Vieira R, Greenwood DC, et al. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* 2012;96(2):356e73.
119. Neuhauser ML, Wassertheil-Smoller S, Thomson C, Aragaki A, Anderson GL, Manson JE, et al. Multivitamin use and risk of cancer and cardiovascular

- disease in the Women's Health Initiative cohorts. *Arch Intern Med* 2009;169:294e304.
120. Curtis JR, Larson JC, Delzell E, Brookhart MA, Cadarette SM, Chlebowski R, et al. Placebo adherence, clinical outcomes, and mortality in the Women's Health Initiative randomized hormone therapy trials. *Med Care* 2011;49:427e35.
121. Chlebowski RT. Vitamin D and breast cancer: interpreting current evidence. *Breast Cancer Res* 2011;13:217
122. Chlebowski RT. Vitamin D and breast cancer incidence and outcome. *Anti-Cancer Agents Med Chem* 2012 Oct 23.
123. Amir E, Cecchini RS, Ganz PA, Constatino JP, Beddows S, Hood N, et al. 25-hydroxyvitamin D, obesity, and associated variables as predictors of breast cancer risk and tamoxifen benefit in NSABP-P1. *Breast Cancer Res Treat* 2012 Mar 14.
124. Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, Pettinger M, Wactawski-Wende J, Rohan T, et al. Women's Health Initiative Investigators. Calcium plus Vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1581-91.
125. Smith-Warner SA, Spiegelman D and Yaun SS et al Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies *JAMA* 1998 Feb 18;279(7):535-40.
126. Reichman ME¹, Judd JT, Longcope C, Schatzkin A, Clevidence BA, Nair PP, Campbell WS, Taylor PR. Effects of alcohol consumption on plasma and urinary hormone concentrations in premenopausal women. *J Natl Cancer Inst*. 1993 May 5;85(9):722-7.
127. Seitz HK, Stickel F Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis.. *Nat Rev Cancer*. 2007 Aug;7(8):599-612.
128. van't Veer P¹, Kok FJ, Hermus RJ, Sturmans F. Alcohol dose, frequency and age at first exposure in relation to the risk of breast cancer. *Int J Epidemiol*. 1989 Sep;18(3):511-7.
129. Scoccianti C, Lauby-Scretan B, Bello PY, et al. Female breast cancer and alcohol consumption: a review of the literature. *Am J Prev Med*. 2014;46(3 Suppl 1):S16-S25
130. Austin GL, Ogden LG, Hill JO. Trends in carbohydrate, fat, and protein intakes and association with energy intake in normal-weight, overweight, and obese individuals: 1971–2006. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011; 93(4):836–843.

131. Weichhaus M, Broom I, Bermano G. The molecular contribution of TNF- α in the link between obesity and breast Cancer. *Oncol. Rep.* 2011; 25(2):477–483.
132. Renehan AG, Roberts DL, Dive C. Obesity and Cancer: pathophysiological and biological mechanisms. *Arch. Physiol. Biochem.* 2008; 114(1):71–83.
133. Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and Cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc. Nutr. Soc.* 2001; 60(1):91–106.
134. Schley PD, Jijon HB, Robinson LE, Field CJ. Mechanisms of omega-3 fatty acid-induced growth inhibition in MDA-MB-231 human breast Cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.* 2005; 92(2):187–195.
135. Rose DP, Connolly JM. Regulation of tumor angiogenesis by dietary fatty acids and eicosanoids. *Nutr. Cancer.* 2000; 37(2):119–127.
136. Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of Cancer: a review of potential mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 79(6):935–945
137. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage, and breast Cancer. *AACN Adv. Crit. Care.* 2002; 13(4):540–549.
138. Jump DB. Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2004; 41(1):41–78.
139. Armstrong B, Doll R: Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975, 15:617-631.
140. Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, Beeson L, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, Goldbohm RA, Graham S, Howe GR, Kushi LH, Marshall JR, McDermott A, Miller AB, Speizer FE, Wolk A, Yaun S-S, Willett W: Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer: a pooled analysis. *N Engl J Med* 1996, 334:356-361.
141. Prentice RL, Cann B, Chlebowski RT, Patterson R, Kuller LH, Ockene J, et al. Women's Health Initiative trial of a low-fat dietary pattern and breast cancer. *JAMA* 2006;295:629e42.
142. Martin LJ, Li Q, Melenich O, Greenberd C, Minkin S, Hislop G, et al. A randomized trial of dietary intervention for breast cancer prevention. *Cancer Res* 2011;71:123-33.
143. Menendez JA, Vellon L, Colomer R, Lupu R. Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab

- (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. *Ann Oncol* 2005;16:359-71.
144. Menendez JA, Vellon L, Colomer R, Lupu R.J Effect of gamma-linolenic acid on the transcriptional activity of the Her-2/neu (erbB-2) oncogene. *Natl Cancer Inst.* 2005 Nov 2;97(21):1611-5.
145. Cohen LA, Kendall ME, Zang E, Meschter C, Rose DP. Modulation of N-nitrosomethylurea-induced mammary tumor promotion by dietary fiber and fat. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 496±501.
146. Martin-Moreno JM, Willett WC, Gorgojo L et al. Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. *Int J Cancer* 1994; 58:774±80.
147. Nechuta S, Lu W, Chen Z, Zheng Y, Gu K, Cai H, et al. Vitamin supplement use during breast cancer treatment and survival: a prospective cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:262-71.
148. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Koo J, Hood N. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2757-3763.
149. Vrieling A, Hein R, Abbas S, Schneeweiss A, Flesch-Janys D, Chang-Claude J. Serum 25-hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: a prospective patient cohort study. *Breast Cancer Res* 2011;13. R74.
150. Tretli S, Schwartz GG, Torjesen PA, Robsahm TE. Serum levels of 25-hydroxyvitamin D and survival in Norwegian patients with cancer breast, colon, lung and lymphoma: a population-based study. *Cancer Causes Control* 2012;23:363e70.
151. Kim HJ, Lee YM, Ko BS, Lee JW, Yu JH, Son BH, et al. Vitamin D deficiency is correlated with poor outcomes in patients with luminal-type breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2011;18:1830e6.
152. Coleman RE, Rathbone EJ, Marshall HC, Wilson C, Brown JE, Gossiel F, et al. Vitamin D, not bone turnover markers, predict relapse in women with early breast cancer: an AZURE Translational Study. *San Antonio Breast Cancer Symposium* December 7, 2012.
153. Piura E, Chapman JW, Lipton A, Zhu L, Leitzel K, Wilson CF, et al. Serum 1-OH vitamin D and prognosis of postmenopausal breast cancer patients: NCIC-CTG MA14 trial *J Clin Oncol* 2009;27:15s.
154. Jacobs ET, Thomson CA, Flat SW, Al-Delaimy WK, Hibler EA, Jones LA, et al. Vitamin D and breast cancer recurrence in the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) study. *Am J Clin Nutr* 2011;93:108e17.

155. Cescon DW, Ganz PA, Beddows S, Ennis M, Mills BK, Goodwin PJ. Feasibility of a randomized controlled trial of vitamin D vs. Placebo in women with recently diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;134:759-67.
156. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Tam EK, Castillo A, Sweeney C et al. Alcohol Consumption and Breast Cancer Recurrence and Survival Among Women With Early-Stage Breast Cancer: The Life After Cancer Epidemiology Study *J Clin Oncol*. 2010 Oct 10; 28(29): 4410–4416.
157. Chelowski RT, Blackburn GL, Hoy MK, Thomson CA, Guilano AE, McAndrew P, et al. Survival analyses from Women’s Intervention Nutrition Study (WINS) evaluating dietary fat reduction and breast cancer outcome. *J Clin Oncol* 2008
158. Chlebowski RT, Reeves MM. Weight Loss Randomized Intervention Trials in Female Cancer Survivors. *J Clin Oncol*. 2016 Dec 10;34(35):4238-4248.
159. Protani M, Corry M, Martin JH. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 123:627-635
160. Kamineni A, Anderson ML, White E, et al. Body mass index, tumor characteristics, and prognosis following diagnosis of early-stage breast cancer in a mammographically screened population. *Cancer Causes Control* . 24:305-312
161. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D, Kroenke CH, Colditz GA. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. *JAMA* 2005;293:2479e86.
162. Irwin ML, McTiernan A, Manson JE, Thomson CA, Sternfeld B, Stefanick ML, et al. Physical activity and survival in postmenopausal women with breast cancer: results from the Women’s Health Initiative. *Cancer Prev Res* 2011;4: 522e9.
163. Ibrahim EM, Al-Homaidh A. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis: a meta-analysis of published studies. *Med Oncol* 2011;28(3): 753e65.
164. Gago-Dominguez M, Jiang X, Castela JE. Lipid peroxidation, oxidative stress genes and dietary factors in breast cancer protection: a hypothesis. *Breast Cancer Res*. 2007;9(1):201
165. Chandra J, Samali A, Orrenius S (2000). Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radical Biol Med* 2000; 29: 323-33
166. Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E (). Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem* 2004;11:1163-82.

167. Gonenc A, Tokgoz D, Aslan S, Torun M. Oxidative stress in relation to lipid profiles in different stages of breast cancer. *Indian J Bioch Biophysics* 2005;42, 190-94.
168. Sosa V, Moliné T, Somoza R, et al. Oxidative stress and cancer: an overview. *Age Res Rev* 2013;12, 376-90.
169. M.Valko et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem. Cell Biol* 2007;39:44-84.
170. Valko M, Izakovic M, Mazur M, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004;266:37-56
171. Lau AT, Wang Y, Chiu JF. Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem* 2008 ;104(2):657-67
172. D.Hanahan et al. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674
173. Sharma A, Tripathi M, Satyam A, Kumar L. Study of antioxidant levels in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2009;50:809–15.
174. Kikawa KD, Herrick JS, Tateo RE, Mouradian M, Tay JS, Pardini RS. Induced oxidative stress and cell death in the A549 lung adenocarcinoma cell line by ionizing radiation is enhanced by supplementation with docosahexaenoic acid. *Nutr Cancer* 2010;62:1017–24.
175. Faber M, Coudray C, Hida H, Mousseau M, Favier A. Lipid peroxidation products, and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy, including adriamycin. A preliminary study. *Biol Trace Elem Res*. 1995 Jan-Mar;47(1-3):117-23.
176. K.A Conklin, Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr. Cancer Ther* 2004; 3:294-300.
177. Cataldi A, Di Giacomo V, Rapino M, Zara S, Rana RA. Ionizing radiation induces apoptotic signal through protein kinase Cdelta (delta) and survival signal through Akt and cyclic-nucleotide response element-binding protein (CREB) in Jurkat T cells. *Biol Bull* 2009;217:202–12.
178. Young IS. Measurement of total antioxidant capacity. *J Clin Pathol* 2001;54:339.
179. Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A. Pathways connecting inflammation and cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2008 Feb;18(1):3-10.
180. Miller AB. Diet and cancer. A review. *Acta Oncol*. 1990;29(1):87–95.

181. Dorgan JF, Schatzkin A. Antioxidant micronutrients in cancer prevention. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1991 Feb;5(1):43–68.
182. Block G. The data support a role for antioxidants in reducing cancer risk. *Nutr Rev.* 1992 Jul;50(7):207–213.
183. Ray G, Husain SA (Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Ind J Exp Biol,* 2002. 40, 1213-32.
184. Prakash P, Krinsky NI, Russell RM. Retinoids, carotenoids, and human cell cultures: a review of differential effects. *Nutr Rev* 2000; 58, 170
185. Lykkesfeldt J et al. Ascorbate and dehydroascorbic acid as reliable biomarkers of oxidative stress: analytical reproductibility and long-term stability of plasma samples subjected to acidic deproteinization. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007 16:2513-16
186. Fraga CG, Motchnik PA, Shigenaga MK, Helbock HJ, Jacob RA, Ames BN Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Dec 15;88(24):11003-6
187. Harats D, Ben-Naim M, Dabach Y, Hollander G, Havivi E, Stein O, Stein Y. Effect of vitamin C and E supplementation on susceptibility of plasma lipoproteins to peroxidation induced by acute smoking. *Atherosclerosis.* 1990 Nov;85(1):47-54
188. Yeon JY, Suh YJ, Kim SW, Baik HW, Sung CJ, Kim HS, Sung MK Evaluation of dietary factors in relation to the biomarkers of oxidative stress and inflammation in breast cancer risk. *Nutrition.* 2011 Sep;27(9):912-8.
189. Halliwell B (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev,* 52, 253).
190. Smith S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J* 1994;8:1248-1259.
191. Yang YA et al. Activation of fatty acid synthesis during neoplàsic transformation: role of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Exp Cell Res.* 2002: 279:80-90.
192. Wang Y, Kuhajda FP, Li JN, Pizer ES, Han WF, Sokoll LJ, Chan DW Fatty acid synthase (FAS) expression in human breast cancer cell culture supernatants and in breast cancer patients.. *Cancer Lett.* 2001 Jun 10;167(1):99-104.
193. Puig T, Vázquez-Martín A, Relat J, Pétriz J, Menéndez JA, Porta R, Casals G, Marrero PF, Haro D, Brunet J, Colomer R. Fatty acid metabolism in breast cancer cells: differential inhibitory effects of epigallocatechin gallate (EGCG) and C75. *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Jun;109(3):471-9.

194. Lundholm L, Zang H, Hirschberg AL, et al. Key lipogenic gene expression can be decreased by estrogen in human adipose tissue. *Fertil Steril* 2008;90:44-48
195. Wolff, A.C., et al., American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*, 2007. 25(1): p. 118-45.
196. Durnin JV, Womersley J Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years.. *Br J Nutr.* 1974 Jul;32(1):77-9.
197. The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): plans and progress. Riboli E. *J Nutr.* 2001 Jan;131(1):170S-175S.
198. Faust F, Kassie F, Knasmuller S, et al. (2004). The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. *Mutat Res* 566:209-29
199. Collins AR, Dusinská M, Gedik CM, Stětina R Oxidative damage to DNA: do we have a reliable biomarker?. *Environ Health Perspect* 1996;104 Suppl 3:465-9.
200. Hartmann A, Agurell E, Beevers C. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. 4th International Comet Assay Workshop *Mutagenesis.* 2003;18(1):45-51.
201. Nourooz-Zadeh J1, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylene orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Anal Biochem.* 1994 Aug 1;220(2):403-9.
202. roberta re, nicoletta pellegrini, anna protegente, ananth pannala, min yang, and catherine rice-evans Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay *free radical biology & medicine*, vol. 26, nos. 9/10, pp. 1231–1237, 1999
203. Battino M, Leone L, Bompadre S High-performance liquid chromatography-EC assay of mitochondrial coenzyme Q9, coenzyme Q9H2, coenzyme Q10, coenzyme Q10H2, and vitamin E with a simplified on-line solid-phase extraction.. *Methods Enzymol.* 2004;378:156-62.
204. Opara EC et al. Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *J R Soc Health* 2002:28-34
205. Rodrigo R, Guichard C, Charles R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007 Apr;21(2):111-27

206. Polat MF, Taysi S, Gul M, Cikman O, Yilmaz I, Bakan E, et al. Oxidant/antioxidant status in blood of patients with malignant breast tumor and benign breast disease. *Cell Biochem Funct* 2002; 20: 327-331.
207. Conklin KA. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr Cancer Ther* 2004; 3: 294-300
208. Brown N and Bicknell R. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress: its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001; 3: 323-327.
209. Proyecto El Álamo III. Encuesta de evolución de pacientes con cáncer de mama en hospitales del grupo GEI- CAM (1998-2001). GEICAM. Grupo Español de Investigación en Cáncer de Mama. 2014.
210. Allemani C, Storm H, Voogd AC, Holli K, Izarzugaza I, Torrella-Ramos A, et al. Variation in 'standard care' for breast cancer across Europe: a EURO-CARE-3 high resolution study. *Eur J Cancer*. 2010 Jun; 46(9):1528-36
211. Anderson WF, Chatterjee N, Ershler WB, Brawley OW. Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Breast Cancer Res Treat*. 2002 Nov; 76(1):27-36
212. Salmon DJ et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244:707-712
213. J. A. Garcia-Saenz, B. Bermejo, L. G. Estevez, A. G. Palomo, X. Gonzalez-Farre, M. Margeli, S. Pernas, S. Servitja, C. A. Rodriguez, and E. Ciruelos. SEOM clinical guidelines in early-stage breast cancer 2015 *Clin Transl Oncol*. 2015; 17: 939-945.
214. Chen Y1, Jungsuwadee P, Vore M, Butterfield DA, St Clair DK. Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues. *Mol Interv*. 2007 Jun; 7(3):147-56.
215. Hileman EO, Liu J, Albitar M, Keating MJ, Huang P. Intrinsic oxidative stress in cancer cells: a biochemical basis for therapeutic selectivity. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2004 Mar; 53(3):209-19
216. Kedzierska M1, Olas B, Wachowicz B, Jeziorski A, Piekarski J. Gen The lipid peroxidation in breast cancer patients *Physiol Biophys*. 2010 Jun; 29(2):208-10.
217. Tesarová P, Kalousová M, Trnková B, Soukupová J, Argalásová S, Mestek O, Petruzelka L, Zima T. Carbonyl and oxidative stress in patients with breast cancer--is there a relation to the stage of the disease? *Neoplasma*. 2007; 54(3):219-24

218. Nadin SB, Vargas-Roig LM, Drago G, Ibarra J, Ciocca DR. DNA damage and repair in peripheral blood lymphocytes from healthy individuals and cancer patients: a pilot study on the implications in the clinical response to chemotherapy. *Cancer Lett* 2006;239:84 – 97.
219. Sener DE, Gönenç A, Akinci M, Torun M *Cell Biochem Funct.* 2007 Jul-Aug;25(4):377-82. Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer.
220. Shah FD, Patel JB, Shukla SN, Shah PM, Patel PS. Evaluation of plasma non-enzymatic antioxidants in breast cancer etiology. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2009 Jan-Mar;10(1):91-6
221. Manual de nutrición i dietética. Ángles Carbajal Azcona. Disponible a internet: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal>
222. Can diet and lifestyle prevent breast cancer: what is the evidence? Harvie M, Howell A, Evans DG. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2015:e66-73
223. Sieri S, Krogh V, Muti P, Micheli A, Pala V, Crosignani P, Berrino F. Fat and protein intake and subsequent breast cancer risk in postmenopausal women. *Nutr Cancer.* 2002;42(1):10-7.
224. Durken M, Herrnring C, Finckh B, Nagel S, Nielsen P, Fischer R et al. Impaired plasma antioxidative defense and increased nontransferrin-bound iron during high-dose chemotherapy and radiochemotherapy preceding bone marrow transplantation. *Free Radi. Biol Med* 2000; 28: 887-94.
225. Cetin T, Arpaci F, Yilmaz MI, Saglam K, Ozturk B, Komurcu S et al. Oxidative stress in patients undergoing high-dose chemotherapy plus peripheral blood stem cell transplantation. *Biol Trace Elem Res* 2004; 97: 237-47
226. D Il'yasova, G Mixon, F Wang, PK Marcom, J Marks. *Biomarkers*, 2009; 14(5):321-325.
227. Vera L , Sanchez P , Ramirez MC, Ramirez CI, Granados S, Lorente JA et al. Oxidative stress status in metastatic breast cancer patients receiving palliative chemotherapy and its impact on survival rates *Radical Research* 2012; 46(1): 2-10.
228. Rockenbach G, Di Pietro PF, Ambrosi C, Boaventura BC, Vieira FG, Crippa CG et al. Dietary intake and oxidative stress in breast cancer: before and after treatments. *Nutr Hosp.* 2011;26(4):737-44.
229. Vera-Ramirez L, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa MC, Ramirez-Tortosa CL, Granados-Principal S, Fernandez-Navarro M, et al. Does chemotherapy-induced oxidative stress improve the survival rates of breast cancer patients?

- Antioxid Redox Signal. 2011;15(4):903-9.
230. Vera-Ramirez L, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa MC, Ramirez-Tortosa CL, Granados-Principal S, Quiles JL, et al. Free Radicals in breast cancer carcinogenesis, breast cancer progression and cancer stem cells. Biological Bases to develop oxidative-based therapies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011 Dec;80(3):347-68
231. Maskarinec G, Murphy S, Shumay DM, Kakai H. Dietary changes among cancer survivors. *Eur J Cancer Care* 2001; 10: 12-20.
232. Salminen E, Heikkila S, Poussa T, Lagstrom H, Saario R, Salminen S. Female patients tend to alter their diet following the diagnosis of rheumatoid arthritis and breast cancer. *Prev Med* 2002; 34: 529-35.
233. Salminen E, Heikkila S, Poussa T, Lagstrom H, Saario R, Salminen S. Female patients tend to alter their diet following the diagnosis of rheumatoid arthritis and breast cancer. *Prev Med* 2002; 34: 529-35.
234. Michelle D. Holmes MD, Wang J, Hankinson SE, Tamimi RM, Chen WY. Protein Intake and Breast Cancer Survival in the Nurses' Health Study *J Clin Oncol*. 2017 Jan 20;35(3):325-333
235. Maskarinec G, Murphy S, Shumay DM, Kakai H. Dietary changes among cancer survivors. *Eur J Cancer Care* 2001; 10: 12-20.
236. Salminen E, Heikkila S, Poussa T, Lagstrom H, Saario R, Salminen S. Female patients tend to alter their diet following the diagnosis of rheumatoid arthritis and breast cancer. *Prev Med* 2002; 34: 529-35.
237. Thomson CA, Flatt SW, Rock CL, Ritenbaugh C, Newman V, Pierce JP. Increased fruit, vegetable and fiber intake and lower fat intake reported among women previously treated for invasive breast cancer. *J Am Diet Assoc* 2002; 102: 801-08.
238. Del Rio G, Zironi S, Valeriani L, Menozzi R, Bondi M, Bertolini M, et al. Weight gain in women with breast cancer treated with adjuvant cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil. Analysis of resting energy expenditure and body composition. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 73: 267-73.
239. Ingram C, Brown JK. Patterns of weight and body composition change in premenopausal women with early stage breast cancer: has weight gain been overestimated? *Cancer Nurs* 2004; 27: 483-90.
240. Demark-Wahnefried W, Rimer BK, Winer EP. Weight gain in women diagnosed with breast cancer. *J Am Diet Assoc*. 1997 May;97(5):519-26, 529; quiz 527-8

241. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA, Pierce JP. Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: a review of the epidemiologic literature. *Maturitas*. 2010;66:5–15.
242. McTiernan A, Irwin M, VonGruenigen V. Weight, physical activity, diet and prognosis in breast and gynecologic cancers. *J Clin Oncol*. 2010;28:4074–80.
243. Ewertz M1, Jensen MB, Gunnarsdóttir KÁ, Højris I, Jakobsen EH, Nielsen D, Stenbygaard LE, Tange UB, Cold S. Effect of obesity on prognosis after early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Jan 1;29(1):25-31
244. Demark-Wahnefried W, Peterson BL, Winer EP, Marks L, Aziz N, Marcom PK, Blackwell K, Rimer BK Changes in weight, body composition, and factors influencing energy balance among premenopausal breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2001 May 1;19(9):2381-2389.
245. Davies NJ, Batehup L, Thomas R The role of diet and physical activity in breast, colorectal, and prostate cancer survivorship: a review of the literature.. *Br J Cancer*. 2011 Nov 8;105 Suppl 1:S52-73
246. Irwin ML, McTiernan A, Manson JE, Thomson CA, Sternfeld B, Stefanick ML, et al. Physical activity and survival in postmenopausal women with breast cancer: results from the Women’s Health Initiative. *Cancer Prev Res* 2011;4:522e9
247. Hartman SJ et al. Obesity, physical activity, and sleep may impact cognitive functioning in breast cancer survivors. *Ann Behav Med*. 2014;47:S237.
248. Bunout D, Garrido A, Suazo M, Kauffman R, Venegas P, de la Maza P, Petermann M, Hirsch S..Effects of supplementation with folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. *Nutrition* 2000 Feb;16(2):107-10
249. Antioxidant supplement use after breast cancer diagnosis and mortality in the Life After Cancer Epidemiology (LACE) cohort. Greenlee H, Kwan ML, Kushi LH, Song J, Castillo A, Weltzien E, Quesenberry CP Jr, Caan BJ.*Cancer*. 2012 Apr 15;118(8):2048-58.
250. Brown JK, Byers T, Doyle C, Coumeya KS, Demark-Wahnefried W, Kushi LH, et al .Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices. *CA Cancer J Clin*. 2003 Sep-Oct;53(5):268-91.
251. Stahl MS, Prichard J, Stark A. Adiposity and risk of proliferative diseases of the breast prior to the diagnosis of invasive breast cancer: results from a pilot study. *Breast J* 2012;18:191-194

252. Lundholm L, Zang H, Hirschberg AL, et al. Key lipogenic gene expression can be decreased by estrogen in human adipose tissue. *Fertil Steril* 2008;90:44-48.
253. Chabos D, Escot C, Joyeux C, et al. Expression of the progestin-induced fatty acid synthetase in benign mastopathies and breast cancer as measured by RNA in situ hybridization. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:602-606
254. Shim JS, Oh K, Kim HC Dietary assessment methods in epidemiologic studies. *Epidemiol Health* 2014 Jul 22;36:e2014009.
255. Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M, Kessler RC Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey.. *JAMA*. 1998 Nov 11;280(18):1569-75.

Annex

ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimado/a paciente:

Su doctor le ha explicado que usted padece un cáncer con alto riesgo de progresión y que existen varios tratamientos disponibles que le pueden ayudar. Sin embargo, se desconoce si el tipo de dieta puede tener algún impacto en la eficacia del tratamiento, que pueda influir en el pronóstico de la enfermedad. Nosotros le proponemos participar en un estudio de investigación en el cual le preguntaremos sobre sus hábitos dietéticos y mediremos algunos de sus parámetros antropométricos, tales como el peso, la talla y la cantidad de grasa en el cuerpo. También le pediremos que nos deje extraerle unos 20 mL de sangre para que podamos analizar sus niveles de lípidos, vitaminas y proteínas, así como estudios genéticos.

OBJETIVOS

El principal objetivo del estudio es determinar su patrón dietético puede tener algún papel en la eficacia del tratamiento. El razonamiento de estas investigaciones se basa en las siguientes observaciones: la tasa de mortalidad ajustada por cáncer es superior en Girona que en Jaén a pesar de que los tratamientos de quimioterapia son muy parecidos en toda España. Por lo que nosotros atribuimos estas diferencias a diferentes patrones dietéticos dependiendo del área geográfica en la que viven los pacientes.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Antes de recibir cualquier tratamiento usted deberá responder a una serie de cuestionarios sobre su dieta y deberá permitir la determinación de algunas medidas corporales para poder determinar su patrón dietético y calcular el porcentaje de grasa que contiene su cuerpo respectivamente. Estas medidas incluyen: la talla, el peso y la impedancia eléctrica. También le solicitaremos que nos dé unos 20 ml de sangre para analizar los niveles plasmáticos de ácidos grasos, la expresión de algunas proteínas y extraer ADN para análisis genéticos. Le pediremos repetir la extracción de sangre, las medidas antropométricas y los cuestionarios a las 9-12 semanas de haber iniciado la quimioterapia y al finalizar el tratamiento. Si usted decide participar en el estudio recibirá el mismo tratamiento y seguimiento que los otros pacientes que no participen en el estudio. Toda su información será guardada bajo estricta confidencialidad.

BENEFICIOS ESPERADOS

Su participación en este estudio nos proporcionará información muy valiosa sobre la importancia de algunos componentes de la dieta, tales como los ácidos grasos, foco de nuestras investigaciones. La ingesta de estos nutrientes puede cambiar durante el periodo de tratamiento y estos cambios pueden influir en la efectividad del tratamiento. Por otro lado, su participación en este estudio puede no proporcionarle un beneficio adicional, sin embargo puede ayudar a entender los mecanismos que intervienen en la respuesta al tratamiento de quimioterapia. Conoceremos más del papel de la dieta en el tratamiento del cáncer y estos conocimientos podrán ayudar a futuros pacientes en la curación o a un mejor control de la enfermedad.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

La participación en este estudio es voluntaria. Si usted decide participar y posteriormente cambiara de opinión esta decisión no afectaría al tratamiento médico que usted reciba. Usted no está obligado a dar ninguna explicación pero si a informarnos de su decisión.

CONFIDENCIALIDAD

Si usted decide participar en este estudio sus datos clínicos y personales serán revisados por profesionales de la plantilla del Servicio de Oncología Médica de su hospital. Usted será identificado con un número y los datos derivados de su participación en el estudio puede que sean publicados con propósitos científicos.

Si usted tiene alguna pregunta sobre el estudio y/o sobre sus derechos como participante, puede contactar con: Dr..... Teléfono:

Nombre y apellidos de la paciente: _____

Fecha: _____

Firma:

Nombre y apellidos del médico: _____

Fecha: _____

Firma:

DATOS PERSONALES

IDENTIFICACIÓN

Entrevistador (Coc. de identificación)

Fecha de entrevista

Día de la semana

Hora de inicio de la entrevista

Hora de finalización de la entrevista

QUESTIONARIO

| | |
|-----------|----------------------|
| 1ª visita | <input type="text"/> |
| 2ª visita | <input type="text"/> |
| 3ª visita | <input type="text"/> |
| 4ª visita | <input type="text"/> |

DATOS PERSONALES

Nombre

Edad

Sexo (H-Hombre/W-Mujer)

Teléfono

1 - ¿EN LOS ÚLTIMOS 4 DÍAS, COMIÓ O CENÓ FUERA DE CASA?

SI, una vez

SI, las dos veces

No

2 - ¿CONSIDERA QUE SU DIETA FUE LA HABITUAL DURANTE ESOS 4 DÍAS?

SI, fué un día habitual

La comida fué especial

La cena fué especial

Todas las comidas fueron especiales

3 - ¿REALIZA EN LA ACTUALIDAD ALGUNA DIETA / RÉGIMEN?

1 - Si

2 - No

Motivo

4 - ¿Está tomando vitaminas?

1 - Si

2 - No

¿Qué tipo?

FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

¿DURANTE EL ÚLTIMO AÑO, ¿CON QUÉ FRECUENCIA CONSUMIÓ LOS SIGUIENTES ALIMENTOS?

| ALIMENTOS | NUNCA | VECES/ DIA | VECES/ SEMANA | VECES/ MES | VECES/ AÑO |
|---|-------|------------|---------------|------------|------------|
| GARNES | | | | | |
| Polloncino avestruz | | | | | |
| Ternera/Toro | | | | | |
| Cerdo | | | | | |
| Cordero | | | | | |
| Coney | | | | | |
| Jamón Serrano | | | | | |
| Jamón York | | | | | |
| Embutidos (chorizo, salchichón, morcilla, etc.) | | | | | |
| Hígado, riñón, corazón, sesos, etc. | | | | | |
| PESCADO Y MARISCO | | | | | |
| Pescado blanco (merluza, pescada, lenguado, rape, etc.) | | | | | |
| Pescado azul (atún, boquerón, caballa, sardina, etc.) | | | | | |
| Pescado en conserva | | | | | |
| Caracoles, cangrejos, pulpo, sepia o choco | | | | | |
| Mariscos (gambas, langostinos, almejas, ostras, etc.) | | | | | |
| Peces de río (trucha, salmón, etc.) | | | | | |
| HUEVOS | | | | | |
| Huevo frito, cocido, tortilla | | | | | |
| LEGUMBRES | | | | | |
| Lentejas | | | | | |
| Garbanzos | | | | | |
| Judías blancas | | | | | |
| Guisantes | | | | | |
| CEREALES | | | | | |
| Pan blanco | | | | | |
| Pan integral | | | | | |
| Pan de molde | | | | | |
| Biscotes, hojales | | | | | |
| Cereales para desayuno | | | | | |
| Aroz (en todas sus modalidades) | | | | | |
| Pasta | | | | | |
| Pizza | | | | | |
| Snacks salados a base de maíz o patata | | | | | |
| Pastas (en tortas o a molde) | | | | | |

| ALIMENTOS | NUNCA | VECES/ DIA | VECES/ SEMANA | VECES/ MES | VECES/ AÑO |
|---|-------|------------|---------------|------------|------------|
| LACTEOS | | | | | |
| Leche entera | | | | | |
| Leche descremada | | | | | |
| Leche azucarada | | | | | |
| Leche en polvo | | | | | |
| Leche condensada | | | | | |
| Leche de soja | | | | | |
| Yogur entero | | | | | |
| Yogur desnatado | | | | | |
| Yogur líquido | | | | | |
| Noflaxifán | | | | | |
| Queso fresco | | | | | |
| Queso (en sus distintos variedades) | | | | | |
| Queso en porciones | | | | | |
| Queso fundido | | | | | |
| Queso para fritir | | | | | |
| Crema de queso | | | | | |
| Helado | | | | | |
| GRASAS | | | | | |
| Manteca | | | | | |
| Margarina | | | | | |
| Tecno, manteca | | | | | |
| Acete de oliva virgen | | | | | |
| Acete de oliva refinado | | | | | |
| Acete de orujo (oliva) | | | | | |
| Acete vegetal virgen-refinado | | | | | |
| Acete de semillas (girasol, otros) | | | | | |
| Aceitunas | | | | | |
| VERDURAS | | | | | |
| Lechuga | | | | | |
| Tomate (entero, frito, en ensalada, etc.) | | | | | |
| Peperoncillo natural, frito, en ensalada, etc.) | | | | | |
| Zanahoria | | | | | |
| Judías verdes | | | | | |
| Cebollas | | | | | |
| Calabacín | | | | | |
| Acelgas/espinacas | | | | | |
| Espárragos | | | | | |
| Habas frescas | | | | | |
| Champiñón y setas | | | | | |

CONSUMO DE ACEITE

Tipo de aceite _____
Compra mensual (litros) [] [] [] [] [] []
Nº miembros familia [] [] [] [] [] []

CONSUMO DE PAN

Tipo _____
Compra por día (g) [] [] [] [] [] []
Subasta medio por día (g) [] [] [] [] [] []

Comprobar si la cantidad sobrante del día es aprovechada para el desayuno del día siguiente

CONSUMO DE TABACO

1.- ¿Usas terna actualmente?

- Si fumo (al menos uno al día)
- No fumo actualmente pero fumé tiempo atrás
- No fumo actualmente, no he fumado nunca

[] [] [] [] [] []

2.- ¿Cuál es el tipo de tabaco que fuma habitualmente? (Responda múltiple)

- Rubio
- Negro
- Puros
- En pipa

[] [] [] [] [] []

3.- Si fuma cigarrillos ¿Cuántos fuma al día?

[] [] [] [] [] []

4.- Si fuma puros ¿Cuántos a la semana?

[] [] [] [] [] []

5.- Si fuma pipa ¿Cuánto tabaco (g por semana)?

[] [] [] [] [] []

ACTIVIDAD FÍSIC.

1.- EN EL TRABAJO

Quisieramos saber el tipo y la cantidad de actividad física que implica su trabajo. Señale cuál de las 4 posibilidades siguientes se corresponden mejor con su trabajo actual: (Si tiene más de 1 trabajo, indique aquel a que más horas dedica por semana. Si está jubilado/a o no trabaja actualmente, deje la pregunta en blanco).

- Ocupación sedentaria
Útil para la mayor parte de tiempo sentado (por ejemplo trabajo de oficina...)
- Ocupación que implica estar de pie
Útil para la mayor parte del tiempo de pie o arrodado, pero su trabajo no requiere un esfuerzo físico intenso (por ejemplo, dependiente de una tienda, peluquero...)
- Trabajo manual
Implica cierto esfuerzo físico que puede incluir manejo de objetos pesados y la utilización de herramientas (por ejemplo, fontanero, electricista, carpintero...)
- Trabajo manual pesado
Implica una actividad física muy vigorosa que incluye el manejo de objetos muy pesados (por ejemplo, albañil, minero...)

2.- OTRAS ACTIVIDADES

En una semana habitual durante el año pasado, ¿Cuántas horas dedicó a cada una de las siguientes actividades?

- a) Caminar (incluye desplazamientos al trabajo y tiempo libre)
- | | | |
|----------|--------------------------|--------------|
| Verano | <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
| Invierno | <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
- b) Ir en bicicleta (incluye desplazamientos al trabajo y tiempo libre)
- | | | |
|----------|--------------------------|--------------|
| Verano | <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
| Invierno | <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
- c) Ejercicio físico (fútbol, aeróbic, natación, tenis, correr, gimnasia...)
- | | | |
|----------|--------------------------|--------------|
| Verano | <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
| Invierno | <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
- d) Trabajo en casa (limpiar, lavar, cocinar, cuidar de los niños...)
- | | |
|--------------------------|--------------|
| <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
| <input type="checkbox"/> | Personas |
- e) ¿Cuántos pisos de escaleras sube al día?
- | | |
|--------------------------|--------------|
| <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
|--------------------------|--------------|
- f) Otras actividades (jardinería, bricolaje, manualidades...)
- | | |
|--------------------------|--------------|
| <input type="checkbox"/> | Horas/semana |
|--------------------------|--------------|

CONDICIÓN SOCIOECONÓMICA

NIVEL DE ESTUDIOS DEL ENTREVISTADO

¿Qué estudios ha realizado? (Estudios terminados)

- Superiores (licenciados y doctores)
- Grado medio (Escuelas técnicas, Magisterio, ATS, profesorado mercantil, ...)
- Técnicos profesionales (perifoneos mercantiles, BUP/COCU, bachiller superior, secretariado internacional)
- Oficial industrial, FP 1^{er}, Bachillerato elemental, oficios manuales.
- Estudios primarios (EGB, graduado escolar)
- No ha recibido educación formal (sabe leer y escribir, estudios primarios incompletos)
- Sin estudios (no sabe leer ni escribir)

¿Cuál es su situación laboral actual?

- Estadame
- Area de casa (no trabaja fuera del hogar)
- Area de casa (trabaja fuera del hogar)
- En paro (no cobra subsidio)
- En paro (cobra subsidio, ayuda familiar, PERI)
- Empresario
 - Con más de 50 trabajadores
 - De 10 a 49 trabajadores
 - Con menos de 10 trabajadores

- Trabaja por cuenta propia (autónomo)
- Trabajador asalariado
- Cooperativista
- Pensionista (jubilado)
- Otros

Si el entrevistado es jubilado o está cobrando prestación por desempleo, preguntar por la ocupación que ha desempeñado durante más tiempo.
 Si es area de casa y no trabaja fuera del hogar, estudiarle o persona dependiente, recoger información sobre el cabeza de familia (padre, marido o sustentador principal)
 ¿Qué cargo o categoría tiene, ha tenido en la empresa?

¿Qué actividad realiza la empresa donde trabaja actualmente o ha trabajado en los últimos años?

- Agricultura
- Industria
- Construcción
- Administración pública (total, autonómica, local)
- Comercio, hostelería
- Profesionales (liberales)
- Transporte
- Seguros, banca
- Otras (especificar)

NIVEL DE ESTUDIOS DEL CABEZA DE FAMILIA

¿Qué estudios ha realizado? (Estudios terminados)

- Superiores (licenciados y doctores)
 - Grado medio (Escuelas técnicas, Magisterio, ATS, profesorado mercantil, ...)
 - Técnicos profesionales (perifoneos mercantiles, BUP/COCU, bachiller superior, secretariado internacional)
 - Oficial industrial, FP 1^{er}, Bachillerato elemental, oficios manuales.
 - Estudios primarios (EGB, graduado escolar)
 - No ha recibido educación formal (sabe leer y escribir, estudios primarios incompletos)
 - Sin estudios (no sabe leer ni escribir)
- Cabeza de familia (Ejemplo mismo/a)
- Conyugue/pareja estable
 - Hijo/a
 - Padre, madre, suegro/a
 - Otros familiares
 - Otras personas no familiares

PREGUNTAS GINECOLÓGICAS

- 1.- Edad de menarquia años
- 2.- A la edad de 35 años, ¿Cada cuántos días tenía el periodo? días
- 3.- ¿Está aún menstruando?
- Sí
- 3.1.-¿Toma anticonceptivos orales? Sí
 No
- 3.2.-¿Toma hormonas para el tratamiento de la menopausa? Sí
 No
- 3.3.-¿Cuántos periodos ha tenido en los 12 últimos meses? periodos
- No
- 3.4.-¿A qué edad se le retiró el periodo? años
- 3.5.-¿Ha tenido la menstruación en los últimos 12 meses? Sí
 periodos
 No
- 4.- ¿Cuál fue la fecha de inicio de su última menstruación natural?
(No rellenar si toma terapia hormonal sustitutiva)
- 5.- ¿Ha estado alguna vez embarazada? Sí
- 5.1.-¿A qué edad? años
- 5.2.-¿Ha tenido la tensión alta durante el embarazo? Sí
 No
- 5.3.-¿Ha tenido diabetes durante el embarazo? Sí
 No
 No

BRIEF REPORT

Fatty acid synthase expression is strongly related to menopause in early-stage breast cancer patients

Rut Porta, MD, PhD,^{1,2} Adriana Blancafort,² Gemma Casòliva,³ Miquel Casas, MD,⁴ Joan Dorca, MD,¹ Maria Buxo, PhD,¹ Gemma Viñas, MD,^{1,2} Glòria Oliveras, PhD,^{1,2} and Teresa Puig, PhD²

Abstract

Objective: Overexpression of fatty acid synthase (FASN), the enzyme involved in the de novo synthesis of fatty acids, has been reported in several human carcinomas, including breast cancer, and has been related to poor prognosis. Our aim was to analyze the association of FASN tumor tissue expression with clinicopathological and anthropometrical features in early-stage breast cancer patients.

Methods: We prospectively studied 53 women with early-stage breast cancer who were treated with surgical operation and postoperative chemotherapy.

Results: Menopause status and age were strongly associated with higher levels of FASN tumor expression ($P < 0.005$ and $P = 0.038$, respectively). Body mass index and pathological stage were also related to FASN tumor expression.

Conclusions: Our findings suggest that FASN could be a potential therapeutic target in postmenopausal breast cancer patients. However, further studies are needed.

Key Words: Fatty acid synthase – Breast cancer – Early stage – Menopause.

Fatty acid synthase (FASN) is a multifunctional enzyme that catalyzes the synthesis of long-chain fatty acids by using acetyl coenzyme A, malonyl coenzyme A, and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate precursors.¹ In most human tissues, diet supplies the needs of fatty acids, and FASN expression is low or undetectable. In contrast, in several human carcinomas, lipogenic enzymes (mainly FASN) are highly expressed,²⁻⁷ and de novo fatty acid biosynthesis supplies the needs of long-chain fatty acids for energy production, protein acylation, biological membrane synthesis, DNA synthesis, and cell cycle progression, among other biological

processes, providing an advantage for tumor growth and progression.³⁻⁵ It has been previously reported that pharmacological and genetic FASN inhibition (alone or in a combined regimen) induced apoptosis in several cancer cells⁸⁻¹⁵ and reduced the growth of human breast cancer xenografts.^{11,16,17} In this context, several reports highlight that FASN overexpression in tumor samples could be a putative biomarker and prognostic factor in several carcinomas, including breast cancer.^{7,17-23}

Other studies have indicated that body weight and body fat distribution play important roles in the development of some malignant tumors such as colon, endometrial, and breast cancers.^{24,25} Key lipogenic enzymes (such as FASN) could be relevant to increased adiposity in healthy women during menopause²⁶ and could play a role in postmenopausal breast cancer patients.

Our main objective was to investigate the relationship between FASN tumor expression and several clinicopathological features of prognostic relevance in the early stages of breast cancer. We also studied whether FASN tumor expression could be associated with anthropometrical features related to body fat distribution and obesity.

METHODS

We designed a prospective cross-sectional study that included all patients from the Catalan Institute of Oncology (Girona, Spain) who had been diagnosed between October 2007 and December 2009 as having invasive early-stage

Received March 21, 2013; revised and accepted May 22, 2013.

From the ¹Medical Oncology Department, Catalan Institute of Oncology and Girona Biomedical Research Institute, Girona, Spain; ²Molecular Oncology (NBOMA), Department of Medical Sciences, School of Medicine, University of Girona, Girona, Spain; ³Research Institute of Santa Caterina Hospital, Salt, Girona, Spain; and ⁴Department of Pathology, Dr. Josep Trueta University Hospital of Girona, Girona, Spain. R.P. and A.B. contributed equally to this work.

Funding/support: This work was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (grant FIS PI11/00692 to T.P.) and Sociedad Española de Oncología Médica, and by a predoctoral grant from the University of Girona (to A.B.). This work was also supported by Xarxa de Bancs de Tumors de Catalunya, sponsored by Pla Director d'Oncologia de Catalunya. Instituto de Salud Carlos III had no role in this study.

Financial disclosure/conflicts of interest: None reported.

Address correspondence to: Rut Porta, MD, PhD, Medical Oncology Department, Catalan Institute of Oncology, Girona, Spain. E-mail: rporta@iconcologia.net; Teresa Puig, PhD, Molecular Oncology (NBOMA), Department of Medical Sciences, School of Medicine, University of Girona, Girona, Spain. E-mail: teresa.puig@udg.edu

breast cancer. A written informed consent form was obtained from all patients before surgical operation. This study was approved by the ethical board of Dr. Josep Trueta University Hospital. All data were collected in a database specifically created for the study, and the identification of patients was encoded. Clinicopathological features—including age, menopause status, histological type, histological grade, multifocality by magnetic resonance imaging, tumor size, vascular invasion, lymph nodes metastasis, pathological stage, estrogen and progesterone receptors, HER2 status, Ki-67 level, and p53 mutation—were collected from clinical records. Anthropometrical features included body mass index (BMI), body fat percentage, and waist-to-hip ratio.

Histological type and grade, tumor size, vascular invasion, and lymph node metastasis were assessed on H&E-stained slides. Estrogen and progesterone receptors, p53 mutation, Ki-67 level, and HER2 status were determined by immunohistochemistry (IHC). HER2 *in situ* hybridization in tumors expressing moderate levels (2+) of HER2 was determined by IHC. All procedures were performed routinely by the Department of Pathology.

BMI was calculated as $\text{weight}/(\text{height})^2$. Waist-to-hip ratio was calculated by dividing waist circumference by hip circumference (in cm). We measured the skinfolds of biceps, triceps, subscapular regions, and suprailliac regions with a Harpenden Skinfold Caliper to estimate body fat percentage. All measures were performed in triplicate.

FASN tumor tissue expression was determined by IHC performed on additional 3- μm -thick sections from formalin-fixed paraffin-embedded tissue blocks of the primary breast

tumor. We used FASN polyclonal antibody (Assay design; Enzo Life Sciences, Exeter, UK) at a dilution of 1:100 and the detection kit EnVision™ (Dako, Glostrup, Denmark) using the AutostainerPlus Link (Dako). Negative control, using mouse IgG at a comparable concentration in place of the primary antibody, was included. Muscular tissue was used as a negative expression of FASN. Expression of FASN was graded from 0 to 3+ (0 to 1+, normal amount of FASN protein; 2+, moderate amount of FASN protein; 3+, highest level of FASN expression; Fig. 1). The percentage of staining was recorded as 0% to 33%, 33% to 66%, and 66% to 100% (considering all tissue areas). Results are representative of those obtained from three independent experiments.

Statistical analysis

Patient and tumor characteristics were summarized descriptively and assessed for normality before analysis using normal probability plots and Kolmogorov test statistics. Categorical variables were compared by χ^2 test or Fisher's exact test; the strength of association among ordinal categorical variables was analyzed by Kendall's τ or γ coefficient. For data distributed normally, Student's *t* test and analysis of variance with Bonferroni correction for multiple comparisons were used to measure differences in continuous variables among groups. When assumption of normality was not warranted, Kruskal-Wallis test was used. All tests were two-tailed; *P* values below 0.05 were considered significant. Data analysis was performed using the IBM SPSS V20 statistical software and Intercooled Stata 8.0 for Windows.

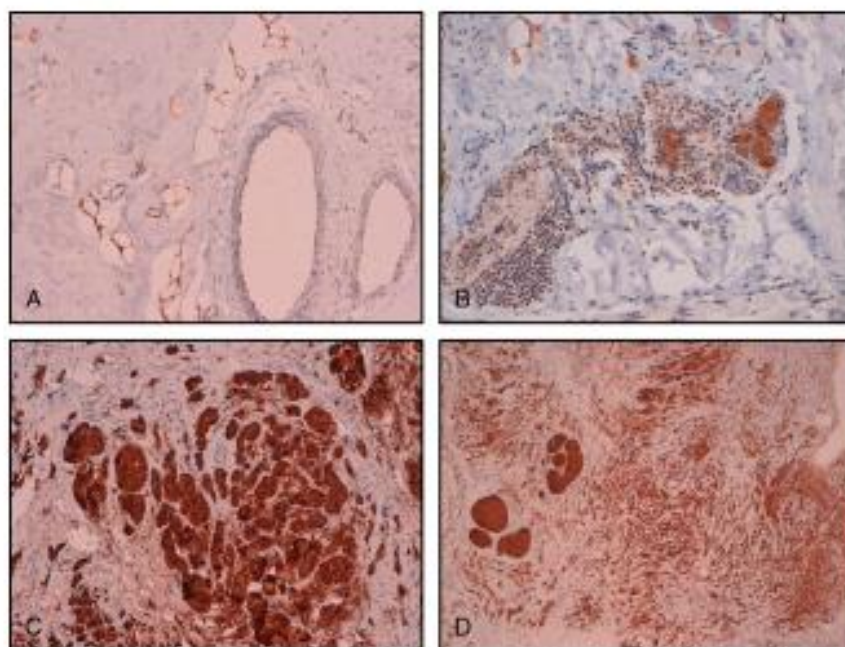


FIG. 1. Immunohistochemical staining for fatty acid synthase (FASN; dilution 1:100; 10 \times magnification). These images are most representative of 53 breast tissue samples stained with FASN (0 to 3+). Brown corresponds to FASN staining. (A) Nontumor breast tissue (0 to 1+). (B) Infiltrating ductal carcinoma (2+). (C) Infiltrating ductal carcinoma (3+). (D) Infiltrating lobular carcinoma (3+).

RESULTS

We prospectively analyzed 53 patients with early-stage breast cancer, whose main characteristics are summarized in Table 1. Briefly, the median (range) age at the time of diagnosis was 49 (33-77) years. Nearly 55% of the patients were postmenopausal at the time of diagnosis. Eighty-three of the

TABLE 1. Clinicopathological and anthropometrical characteristics of breast cancer patients (n = 53)

| Characteristics | Values |
|----------------------------------|--------------------|
| Age, mean (range) [median], y | 50.62 (33-77) [49] |
| Menopause status, n (%) | |
| Premenopausal | 24 (45.3) |
| Postmenopausal | 29 (54.7) |
| Body mass index, n (%) | |
| Normal | 27 (50.9) |
| Overweight | 16 (30.2) |
| Obesity | 10 (18.9) |
| Body fat percentage, mean (SD) | 8.45 (5.99) |
| Waist-to-hip ratio, mean (SD) | 0.88 (0.05) |
| Histology, n (%) | |
| Ductal | 44 (83.0) |
| Lobular | 9 (17.0) |
| Histological grade, n (%) | |
| Well differentiated | 8 (15.2) |
| Moderately differentiated | 21 (47.7) |
| Poorly differentiated | 15 (34.1) |
| Unknown | 9 |
| Multifocality, n (%) | |
| Yes | 15 (30.6) |
| No | 34 (69.4) |
| Unknown | 4 |
| Tumor size, n (%) | |
| ≤30 mm | 10 (18.9) |
| 11-20 mm | 25 (47.2) |
| ≥21 mm | 18 (34.0) |
| Vascular invasion, n (%) | |
| Yes | 10 (25.0) |
| No | 30 (75.0) |
| Unknown | 13 |
| Lymph nodes, n (%) | |
| 0 | 30 (56.6) |
| 1-3 | 17 (32.1) |
| ≥4 | 6 (11.3) |
| AJCC stage group, n (%) | |
| Stage I | 18 (34.0) |
| Stage IIA | 20 (37.7) |
| Stage IIB | 8 (15.1) |
| Stage IIIA | 5 (9.4) |
| Stage IIIB | 2 (3.8) |
| Estrogen receptor, n (%) | |
| Positive | 44 (83.0) |
| Negative | 9 (17.0) |
| Progesterone receptor, n (%) | |
| Positive | 43 (81.1) |
| Negative | 10 (18.9) |
| HER2 status, n (%) | |
| Positive | 7 (13.2) |
| Negative | 46 (86.8) |
| Ki-67 proliferation index, n (%) | |
| ≤10 | 7 (15.9) |
| 11-25 | 12 (27.3) |
| ≥26 | 25 (56.8) |
| Unknown | 9 |
| p53 mutation, n (%) | |
| Positive | 14 (31.1) |
| Negative | 31 (68.9) |
| Unknown | 8 |

AJCC, American Joint Cancer Committee.

tumors were invasive ductal carcinomas. More than 80% of our patients had tumors expressing estrogen or progesterone receptors, and 13% overexpressed HER2.

FASN tumor expression was high (3+) in 26 patients, moderate (2+) in 25 patients, and normal (0 to 1+) in 2 patients.

Menopause was strongly related to higher levels of FASN tumor expression ($P = 0.005$). Nineteen of 28 postmenopausal patients (67.9%) presented tumors overexpressing FASN (3+; Fig. 1).

Age was also found to be statistically significantly related to FASN tumor levels ($P = 0.038$). The mean age of patients with tumors expressing higher levels of FASN (3+) was 54 years, whereas the mean age of patients with tumors expressing 1 and 2+ levels of FASN were 46 and 47.44 years, respectively. We also observed a relationship between breast cancer stage and BMI and FASN tumor tissue levels ($P = 0.024$ and $P = 0.018$, respectively). No significant relationship between FASN tumor levels and waist-to-hip ratio, body fat percentage, multifocality, histological subtype and grade, tumor size, vascular invasion, lymph nodes metastasis, pathological stage, estrogen and progesterone receptors, HER2 status, p53 mutation, and Ki-67 level was found.

In addition, we investigated the relationship between FASN serum levels and HER2 serum levels (data not shown) among patients and found no association.

DISCUSSION

Altered expression of FASN has been found in several cancers, including breast cancer.^{3,27} It has been proposed as a prognosis biomarker^{5,20,28} and potential therapeutic target.⁸⁻¹⁷ We aimed to study whether the expression levels of FASN in early-stage breast cancer tumors could be related to clinicopathological characteristics of prognostic relevance. Thus, we designed a prospective cross-sectional study.

We studied a sample of 53 early-stage breast cancer patients who were treated with surgical operation; this sample was well balanced between premenopausal and postmenopausal patients (45.3% vs 54.7%). Although this study was performed in only 53 women, it is interesting to highlight that the clinicopathological features (postmenopausal, estrogen receptor-positive, progesterone receptor-positive, and HER2-negative) of these patients are the features most frequently observed in the breast cancer population.

We have observed a strong association between FASN tumor levels and menopause status and age. These can be explained by the fact that age and menopause are not independent variables; however, the relationship between menopause and FASN and that between age and FASN were analyzed independently.

As far as we know, this is the first study to report that FASN tumor levels are higher in postmenopausal early-stage breast cancer patients than in premenopausal early-stage breast cancer patients. This finding is supported by the fact that estrogen therapy in postmenopausal women decreased FASN levels in abdominal adipose tissue.²⁶ Opposite results have

been previously observed by Chabos et al,²⁹ who observed that FASN levels in precancerous breast lesions were significantly higher in premenopausal patients than in postmenopausal patients and increased with the grade of tumor differentiation.

Furthermore, BMI and body fat distribution change in postmenopausal women,³⁰ and obesity has been associated with an increased risk of postmenopausal breast cancer. The risk of breast cancer increases with increasing BMI and is associated with increased mortality.³¹ Interestingly, some studies have shown a relationship between waist-to-hip index and FASN tumor levels in postmenopausal endometrial cancer patients.³² Thus, we aimed to analyze the relationship between some anthropometrical characteristics as surrogates of obesity and body fat distribution. We found a positive relationship between FASN tumor levels and BMI, suggesting an association between FASN and obesity. Finally, we also found a relationship between FASN tumor expression levels and tumor pathological stage. However, these associations need further investigations given the limited number of patients in our sample.

Ours is a cross-sectional study that—despite its limitations—allows us to generate a new hypothesis that needs to be tested with a more definitive design.

CONCLUSIONS

This study suggests that researchers carry out prospective studies with larger numbers of breast cancer patients to further investigate the potential relationship between FASN tumor expression and breast cancer clinicopathological characteristics because FASN could be a novel prognosis biomarker and potential therapeutic target.

Acknowledgments: We thank Dr. Brunet for his support, Mrs. Neus Muñoz for blood collection, and Ms. Anna Labrada and Mrs. Anna Bosch for data collection. This manuscript version has been kindly reviewed by the English teacher Katie Linder.

REFERENCES

- Smith S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J* 1994;8:1248-1259.
- Kuhajda FP. Fatty acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. *Nutrition* 2000;16:202-208.
- Kuhajda FP. Fatty acid synthase and cancer: new application of an old pathway. *Cancer Res* 2006;66:5977-5980.
- Mendez JA, Lupu R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. *Nat Rev Cancer* 2007;7:763-777.
- Milgram LZ, Wittes LA, Pasternack GR, Kuhajda FP. Enzymes of the fatty acid synthesis pathway are highly expressed in *in situ* breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997;3:2115-2120.
- Swinnen JV, Roskens T, Joniau S, et al. Overexpression of fatty acid synthase is an early and common event in the development of prostate cancer. *Int J Cancer* 2002;98:19-22.
- Piyathilake CJ, Frost AR, Mann U, et al. The expression of fatty acid synthase (FASN) is an early event in the development and progression of squamous cell carcinoma of the lung. *Histo Pathol* 2000;31:1068-1073.
- Paig T, Vazquez-Martin A, Relat J, et al. Fatty acid metabolism in breast cancer cells: differential inhibitory effects of epigallocatechin gallate (EGCG) and C75. *Breast Cancer Res Treat* 2008;109:471-479.
- Paig T, Colomer R, Brunet J, et al. Novel polyhydroxylated compounds as fatty acid synthase (FASN) inhibitors. *Breast PCT/ES2008/05809*, 2007.
- Paig T, Porta R, Colomer R. [Fatty acid synthase: a new anti-tumor target]. *Med Clin* 2009;132:359-363.
- Paig T, Turado C, Benhamu B, et al. Novel inhibitors of fatty acid synthase with anticancer activity. *Clin Cancer Res* 2009;15:7608-7615.
- Braaschmann K, De Schrijver E, Heyns W, Verhoeven G, Swinnen JV. Epigallocatechin-3-gallate is a potent natural inhibitor of fatty acid synthase in intact cells and selectively induces apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Cancer* 2003;106:856-862.
- Cavaliro MA, Zecchin KG, Seguin F, et al. Fatty acid synthase inhibition with orlistat promotes apoptosis and reduces cell growth and lymph node metastasis in a mouse melanoma model. *Int J Cancer* 2008;123:2557-2565.
- Lee JS, Sal JV, Park JB, et al. Fatty acid synthase inhibition by amantoflavone suppresses HER2/*neu* (erbB2) oncogene in SKBR3 human breast cancer cells. *Phytother Res* 2012;27:713-720.
- Vazquez-Martin A, Ropero S, Brunet J, et al. Inhibition of fatty acid synthase (FASN) synergistically enhances the efficacy of 5-fluorouracil in breast carcinoma cells. *Oncol Rep* 2007;18:973-980.
- Paig T, Aguilar H, Cufi S, et al. A novel inhibitor of fatty acid synthase shows activity against HER2⁺ breast cancer xenografts and is active in anti-HER2 drug-resistant cell lines. *Breast Cancer Res* 2011;13:R131.
- Ohta H, Coulter J, Lennon C, et al. Selective inhibition of fatty acid synthase for lung cancer treatment. *Clin Cancer Res* 2007;13:7139-7145.
- Alo PI, Viscio P, Trombetta G, et al. Fatty acid synthase (FAS) predictive strength in poorly differentiated early breast carcinoma. *Tumori* 1999;85:35-40.
- Nakamura I, Kimijima I, Zhang GJ, et al. Fatty acid synthase expression in Japanese breast carcinoma patients. *Int J Med Biol* 1999;4:381-387.
- Gonsler TS, Hudson W, Hart DA, et al. Increased expression of fatty acid synthase (OA-519) in ovarian neoplasms predicts shorter survival. *Hum Pathol* 1997;28:686-692.
- Shahbaji MS, Kalffleisch JH, Thurmond TS. Immunohistochemical detection of a fatty acid synthase (OA-519) as a predictor of progression of prostate cancer. *Hum Pathol* 1996;27:917-921.
- Notaricicola M, Tatino V, Calvani M, et al. Serum levels of fatty acid synthase in colorectal cancer patients are associated with tumor stage. *J Gastrointest Cancer* 2012;43:508-511.
- Vazquez-Martin A, Fernandez-Rod JM, Olivero-Fernandez C, et al. Fatty acid synthase activity regulates HER2 extracellular domain shedding into the circulation of HER2-positive metastatic breast cancer patients. *Int J Oncol* 2009;35:1369-1376.
- Li H, Yang G, Xiang YB, et al. Body weight, fat distribution and colorectal cancer risk: a report from cohort studies of 134 255 Chinese men and women [pub ahead of print]. *Int J Obes* 2012.
- Yang TY, Cairns BJ, Allen N, et al. Postmenopausal endometrial cancer risk and body size in early life and middle age: prospective cohort study. *Br J Cancer* 2012;107:169-175.
- Lindholm I, Zang H, Hirschberg AL, et al. Key lipogenic gene expression can be decreased by estrogen in human adipose tissue. *Fertil Steril* 2008;90:44-48.
- Stahl MS, Prichard J, Stok A. Adiposity and risk of proliferative diseases of the breast prior to the diagnosis of invasive breast cancer: results from a pilot study. *Breast J* 2012;18:191-194.
- Alo PI, Viscio P, Marci A, et al. Expression of fatty acid synthase (FAS) as a predictor of recurrence in stage I breast carcinoma patients. *Cancer* 1996;77:474-482.
- Chabos D, Escot C, Joyeux C, et al. Expression of the progestin-induced fatty acid synthetase in benign mastopathies and breast cancer as measured by RNA *in situ* hybridization. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:602-606.
- Ley CJ, Lees B, Stevenson JC. Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution. *Am J Clin Nutr* 1992;55:950-954.
- Calte EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MU. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003;348:1625-1638.
- Tsugi T, Yoshinaga M, Togami S, et al. Fatty acid synthase expression and clinicopathological findings in endometrial cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:586-590.

Pendent de publicar a "Oncotarget":

Enviat a publicar : Gener 2017

Acceptat: 4 Maig 2017

Fatty Acid Synthase Expression and its Association with Clinico-histopathological Features in Triple-Negative Breast Cancer.

Giró-Perafita A^{1, †} and Sarrats A^{1, †}, Pérez-Bueno F^{1,2}, Oliveras G^{1,3}, Buxó M⁴, Brunet J^{1,3}, Viñas G^{1,3*} and Puig T^{1*}

¹ New Therapeutics Targets Lab (TargetsLab), Department of Medical Sciences, University of Girona, Spain

² Pathology Department, Dr. Josep Trueta Hospital and Catalan Institute of Health (ICS), Girona

³ Medical Oncology Department, Catalan Institute of Oncology (ICO), Girona, Spain;

⁴Girona Biomedical Research Institute (IDIBGI), Girona, Spain.

† The Authors contributed equally to this work.

***Corresponding Authors:**

Teresa Puig, TargetsLab, Department of Medical Sciences, Emili Grahit 77, University of Girona, 17071 Girona. Phone: +34-972-419628; Fax: +34-972-419617. E-mail: teresa.puig@udg.edu

Gemma Viñas, Medical Oncology Department, Catalan Institute of Oncology (ICO), Hospital Josep Trueta, Avinguda de França, S/N, 17007 Girona. Phone: +34-972-225834 ext. 4034. E-mail: G.vinyes@iconcologia.net.

ABSTRACT

Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) has poor prognosis and no approved targeted therapy. We previously showed that the enzyme fatty acid synthase (FASN) was largely expressed in a small TNBC patients' cohort and its inhibition synergized with cetuximab in TNBC preclinical mouse models. Here, we evaluated FASN and EGFR expression in a cohort of TNBC patients and we study their prognostic role and their association with clinico-histopathological features, intrinsic TNBC subtypes and survival.

FASN, EGFR, CK5/8 and vimentin expression were retrospective evaluated by Immunohistochemistry in 100 primary TNBC tumors. FASN expression was classified into high and low FASN groups. EGFR, CK5/8 and vimentin expression were used in TNBC intrinsic subtypes classification.

FASN was expressed in most of the TNBC patients but did not correlate with overall survival or disease-free survival in this cohort. High FASN group was significantly associated with positive node status. FASN expression was significantly higher in Basal-Like patients than in Mesenchymal-Like ones. EGFR expression was positive in 50% of the tumors, and those patients showed poorer DFS. Altogether, our findings provide a rationale for further investigation the prognostic role of FASN and EGFR expression in a larger cohort of TNBC patients.

