Thomas Jefferson
University - Jefferson
Medical School

Instituto de Ciências Biométicas de Abel Salazar
Universidade do Porto

Instituto Português
de Oncologia
Francisco Gentil

FALÊNCIA DOS MECANISMOS DE REGULAÇÃO ENDÓCRINA NA OBESIDADE E SUA RELAÇÃO COM A CARCINOGÉNESE MAMÁRIA

CURSO DE MESTRADO EM ONCOLOGIA

Dissertação de Mestrado da Licenciada
Ana Paula Soares Santos

PORTO | 2004

FALÊNCIA DOS MECANISMOS DE REGULAÇÃO ENDÓCRINA NA OBESIDADE E SUA RELAÇÃO COM A CARCINOGÉNESE MAMÁRIA

CURSO DE MESTRADO EM ONCOLOGIA

Dissertação de Mestrado da Licenciada

Ana Paula Soares Santos

PORTO | 2004

Dissertação de candidatura ao Grau de Mestre apresentada ao Instituto Português de Oncologia / Centro regional do Porto, SA, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar e Jefferson Medical College, Thomas Jefferson University – USA, sob orientação da Professora Doutora Maria Helena Cardoso.

"Cancer Cells"

" Cancer cells are those which have forgotten how to die"
– nurse, Royal Marsden Hospital

They have forgotten to die
And so extend their killing life.

I and my tumour dearly fight.
Let's hope a double death is out.

I need to see
My tumor dead
A tumor which forgets to die
But plans to murder me instead.

But I remember what they said
Of tumors which would render them
As blind and dumb as they had been
Before the birth of that disease
Which brought the tumor into play.

The black cells will dry up and die
Or sing with joy and have their way.
They breed so quietly night and day,
You never know, they never say.

Harold Pinter, 2002

Ao meu Pai

AGRADECIMENTOS

A decisão de fazer o mestrado em oncologia relacionou-se sobretudo com um certo inconformismo que faz parte da minha maneira de ser. A investigação científica é um dos atributos dos Hospitais de última linha. Nos Institutos de Oncologia, a investigação do cancro é fundamental. A multidisciplinariedade enriquece a qualidade da produção científica e cada especialidade deve procurar estabelecer o elo que liga a sua área de intervenção à oncologia. Ao tentar investigar a fisiopatologia do cancro da mama do ponto de vista endócrino, procurei que a minha especialidade de endocrinologia pudesse dar um contributo para a compreensão da oncologia. Penso que todos enriquecemos, do ponto de vista científico, quando todos partilhamos o nosso saber na área que melhor dominamos.

O sistema de organização hospitalar torna difícil a investigação científica uma vez que não privilegia o tempo dedicado a esse aspecto, também essencial da actividade clínica. O trabalho final aqui apresentado só foi possível com a ajuda dos que, com toda a boa vontade e um certo voluntarismo, disponibilizaram um pouco da sua rotina para participar neste trabalho. Assim, infinitamente grata, não posso deixar de mencionar algumas dessas pessoas, incansáveis na ajuda que me deram, correndo o risco de esquecer alguém:

Colegas do Serviço de Endocrinologia Drs. Ferreira da Silva, Isabel Torres e Ana Paula Barbosa.

Todos os colegas da Unidade de Mama nas pessoas dos Drs. Mário de Oliveira e Vítor Veloso (Cirurgia), Leal da Silva (Medicina Oncológica) e Helena Rodrigues (Radioterapia).

As Sras. Enfermeiras da Consulta de Grupo de Mama e Unidade de Mama: Glória Ferreira, Fátima Figueiredo e Fátima Alvarenga.

Sra. Enfermeira Catarina Braga e colaboradores do Serviço de Colheitas.

Sras. Enfermeiras Celeste Fontoura e Amélia Sousa do Serviço de Endocrinologia.

Auxiliares de acção médica Rosário Costa, Emília Marques, Celina Sousa e Carmen Caneira do Serviço de Endocrinologia; Fátima Vieira da Consulta de Grupo e auxiliares de acção médica da Unidade de Mama e do Serviço de Colheitas.

Agradeço ainda muito especialmente pelo seu entusiasmo no apoio a este trabalho:

Ao Director de Serviço de Endocrinologia do Instituto Português de Oncologia, Centro Regional do Porto, SA (IPOFG/CROP, SA), Dr. Manuel Portocarrero, que um dia me estimulou no sentido de investigar a relação da diabetes com o cancro, abrindo uma porta para uma área que se mostrou fascinante. Apesar dos reduzidos recursos humanos do Serviço que dirige, agradeço-lhe também o facto de me ter facilitado o tempo livre possível para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Luís Araújo, Director do Serviço de Química Clínica, Dra. Madalena Crespo e colaboradoras do Laboratório de Endocrinologia e Marcadores Tumorais.

Ao Dr. Rui Maio, do Departamento de Estudos de Populações do ICBAS, meu colega de curso, responsável por todo o tratamento estatístico dos dados.

À Dra. Gracinda Costa e ao Dr. Lima Bastos do Serviço de Medicina Nuclear do IPOFG/CROP, S.A., Porto, que se disponibilizaram a colaborar no estudo, efectuando a densitometria corporal.

Ao Prof. Dr. Lúcio Santos, que me incentivou a fazer o mestrado em Oncologia e sempre me estimulou para que prosseguisse.

Ao Prof. Dr. Rui Medeiros, Director da Unidade de Patologia Molecular do IPOFG/CROP, S.A., pelo apoio à presente dissertação e estímulo à parceria em trabalhos de investigação.

Aos Directores Clínicos do IPOFG/CROP, S.A., Drs. Pedro Teixeira e Pedro Pimentel e ao subdirector para a Investigação, Mestre Eurico Monteiro, pelo seu apoio a este trabalho. À actual Administração do IPOFG/CROP, S.A. por me ter possibilitado a sua conclusão.

Ao Dr. Guimarães do Santos, coordenador do Mestrado em Oncologia na altura em que iniciei o curso, por todo o apoio e compreensão ao longo destes quatro anos, que por dificuldades em conciliar a rotina diária com o trabalho de investigação, adiei sucessivamente a entrega da dissertação.

Um agradecimento especial às doentes que aceitaram participar no trabalho, apesar de estarem a passar uma fase muito difícil das suas vidas em termos emocionais; a todas as funcionárias do IPOFG/CROP, S.A. que se prestaram a colaborar sem hesitação, e às

voluntárias da Liga Portuguesa Contra o Cancro-Norte, na pessoa da D. Maria Helena Quintas, que aderiram em massa a este projecto, mostrando que voluntariado é também cooperar com a investigação científica.

À minha orientadora, Prof. Dra. Helena Cardoso, a melhor escolha que poderia ter feito para orientar esta dissertação, por todo o seu saber na área da resistência à insulina e da síndrome metabólica e rigor científico. No internato da especialidade no Serviço de Endocrinologia do Hospital Sto. António e durante a orientação da presente tese foi possível aperceber-me das suas qualidades humanas, do seu sentido de justiça e verdade e da sua grande capacidade como clínica e investigadora.

Quero ainda expressar a minha especial gratidão para com os meus amigos que aceitaram pacientemente as minhas ausências; para com o meu irmão, Pedro, pela amizade e ternura demonstradas e para a minha mãe, discreta e carinhosamente sempre presente. Uma última palavra para o Carlos que me tem vindo a ensinar o significado da palavra reciprocidade, em todos os aspectos da minha vida. Sem a sua ajuda, sentido crítico e estímulo, elaborar esta tese teria sido um acto de solidão.

RESUMO

Introdução: O cancro da mama e a síndrome metabólica são doenças dos países desenvolvidos relacionadas com hábitos alimentares de alto valor calórico e vida sedentária. A resistência à insulina parece ser o elo que faltava na relação entre as duas doenças. A hipótese insulínica estabelece a relação entre a insulino-resistência, o hiperinsulinismo e o hiperestrogenismo como base fisiopatológica comum que leva à proliferação das células epiteliais mamárias.

Métodos: A amostra estudada incluiu um grupo de 43 doentes de idade não inferior a 40 anos, não diabéticas com cancro da mama sem qualquer tratamento, nomeadamente adjuvante. Os resultados foram comparados com um grupo controlo de 43 mulheres não diabéticas, não oncológicas, com idades e estádio de menopausa semelhantes. O protocolo de trabalho incluiu um inquérito sobre os factores de risco para cancro da mama e diabetes tipo 2. Foram também avaliados os parâmetros antropométricos (altura, peso, índice de massa corporal, perímetro da cintura, perímetro da anca e razão cintura-anca), a tensão arterial e perfil lipídico. Foi ainda efectuado o doseamento do peptídeo-C, SHBG e análises hormonais, para além de uma prova de tolerância à glicose oral com curva de glicose e insulina.

Resultados: A idade média era de 58,7 anos em ambos os grupos ($p=0,83$). O estádio de menopausa e os factores de risco tradicionais para cancro da mama revelaram-se também semelhantes nos dois grupos. Os elementos do grupo controlo faziam mais exercício físico que os do grupo de doentes ($p<0,01$). As doentes com cancro da mama tiveram mais filhos macrossómicos ($p<0,05$). O perímetro da cintura ($p<0,01$), a TA sistólica ($p<0,01$), os triglicerídeos ($p<0,05$) foram significativamente mais elevados e a HDL-C significativamente mais baixa ($p<0,05$) no grupo de doentes. A síndrome metabólica foi diagnosticada segundo os critérios NCEP/ATPIII em 48.8% das doentes com carcinoma da mama vs. 18.6% dos controlos ($p<0.01$). O *odds ratio* das doentes com síndrome metabólica para cancro da mama foi de 4.2 (95% IC, 1.58-11.05; $p<0,01$). O risco duplicou à medida que

o número de componentes da síndrome metabólica aumentou. Na prova de tolerância à glicose oral, verificaram-se diferenças significativas nos valores de insulina em todos os tempos de colheita ($p<0,05$), bem como dos valores basais do peptídeo-C ($p<0,001$) e dos índices HOMA-RI ($p<0,01$) e ISIcomp ($p<0,01$). A glicemia média ($p<0,05$), a insulina média ($p<0,01$) e o pico insulínico ($p<0,01$) foram também significativamente mais elevados no grupo de doentes. O *odds ratio* para cancro da mama em doentes com HOMA-RI acima dos valores médios de referência foi de 6,5 (95% IC 2,3-18,5; $p<0,001$). O risco para cancro da mama associado aos factores de risco cardiovascular foi na maioria dos casos, agravado pelo sedentarismo. Os níveis de SHBG foram inferiores no grupo de doentes e o valor médio de δ4-androstenediona e da estrona nas mulheres pós-menopausa sem tratamento com THS foi superior, não atingindo no entanto, significado estatístico. Não foi possivel demonstrar qualquer associação entre a IGF1 e leptina e o cancro da mama.

Conclusão: Na amostra estudada, a resistência à insulina, o hiperinsulinismo e a síndrome metabólica são factores de risco para cancro da mama. O risco parece ser proporcional ao número de componentes daquela síndrome. Para além das complicações cardiovasculares, o cancro da mama parece ser mais uma das co-morbilidades da síndrome metabólica. A prevenção e tratamento da resistência à insulina e síndrome metabólica poderão prevenir o cancro da mama, para além de reduzir a incidência de diabetes tipo 2 e doença cardiovascular.

SUMMARY

***Introdution**: Breast cancer and metabolic syndrome are both diseases of western countries related with high-energy food intake and sedentary life. Insulin resistance seems to be the link between the two diseases. Insulin hypothesis establishes the relationship between hyperinsulinism, insulin resistance and hyperoestrogenism as a common pathophysiological basis, which leads to proliferation of mammary epithelial cells.*

***Methods**: We randomly assigned 43 non-diabetic breast cancer patients aged 40 years or more before any treatment, namely adjuvant treatment. Results were compared to a control group of 43 non-diabetic, non-oncological women with the same age and menopausal state. The study protocol included an inquiry about breast cancer and type 2 diabetes risk factors. Anthropometric parameters (height, weight, body mass index, waist and hip circumference and waist to hip ratio), blood pressure, lipid profile, C-peptide and SHBG were assessed. Hormonal assays and an oral glucose tolerance test with glycemic and insulin curve were also performed.*

***Results**: Mean age was 58,7 years in both groups (p=0,83). Menopausal state and traditional risk factors for breast cancer were also similar in patients and controls. Controls were less sedentary than patients (p<0,01). Breast cancer patients had more macrossomic children at delivery (p<0,05). There were significantly differences between waist circumference (p<0,01), systolic blood pressure (p<0,01), triglycerides (p<0.05) and HDL-C (p<0.05). Metabolic syndrome was present in 48.8% of the patients vs. 18.6% of the controls (p<0.01). The risk of metabolic syndrome for breast cancer was 4.2 (95% CI, 1.58-11.05; p<0,01). The risk duplicated as far as the number of NCEP/ATPIII components for metabolic syndrome increased. OGTT showed that the differences between insulinemia (p<0,05), as well as between C-peptide (p<0,001); IR-HOMA (p<0,01) and ISIcomp indexes (p<0,01) were statistical significantly. Mean glucose (p<0,05); mean insulin (p<0,01) and insulin peak (p<0,01) were also significantly different. HOMA-IR above the normal limit increases 6,5 times the risk for breast cancer (95% CI 2,3-18,5; p<0,001). Sedentary life had worsened breast cancer risk caused by almost all of the cardiovascular*

risk factors. SHBG levels were lower and δ4-androstenedione was higher in patients than in controls, but there was no statistical significance. Estrone levels were higher in postmenopausal patients without HRT, but neither this finding was statistically significant. Both IGF1 and leptin didn't show any relationship to breast cancer.

***Conclusion**: In this cohort, metabolic syndrome, hyperinsulinism and insulin resistance are risk factors for breast cancer. The risk seems to be proportional to the number of NCEP/ATPIII criteria. Breast cancer can be another co-morbidity of metabolic syndrome. Metabolic syndrome prevention and treatment could not only reduce type 2 diabetes and cardiovascular disease burden but also decrease breast cancer incidence.*

ÍNDICE

1. Lista de Abreviaturas **14**

2. Lista de Figuras e Quadros **17**

3. Introdução **19**

4. Revisão Bibliográfica **23**

4.1 Dados epidemiológicos 23
4.2 Fisiopatologia da síndrome de resistência à insulina e doença cardiovascular aterosclerótica 26
4.3 Síndrome de resistência à insulina e síndrome metabólica 34
4.3.1 Sensibilidade à insulina e secreção da célula β 34
4.3.2 Quantificação do tecido adiposo visceral 36
4.3.3 Critérios de diagnóstico da síndrome metabólica 36
4.4 Insulino-resistência, diabetes tipo 2 e doença cardiovascular 38
4.5 Insulino-resistência e esteroidogénese ovárica 40
4.6 Insulino-resistência e cancro da mama 42
4.6.1 Associação entre obesidade e cancro 42
4.6.2 Obesidade, resistência à insulina e cancro da mama 43
4.6.3 Mecanismos de carcinogénese mamária na síndrome de resistência à insulina 47

5. Doentes e Métodos **53**

5.1 Selecção do grupo de doentes e do grupo controlo 53
5.1.1 Factores de risco para DM2, DCV e cancro da mama 54
5.1.2 Parâmetros antropométricos e tensão arterial 55
5.1.3 Parâmetros analíticos 55
5.2 Métodos analíticos 57
5.3 Métodos estatísticos 58

6. Resultados **59**

6.1 Análise geral da amostra estudada 59
6.2 Factores de risco para DM2 e DCV 61
6.2.1 Parâmetros antropométricos e tensão arterial 61
6.2.2 Parâmetros bioquímicos 63
6.2.3 Síndrome metabólica 64
6.2.4 PTGO, peptídeo-C, indíces de resistência à insulina 64
6.2.5 IGF1, leptina, SHBG, δ4-androstenediona, estrona 67
6.3 Correlações entre variáveis 68
6.4 Análise do risco para cancro da mama 69
6.4.1 Factores de risco tradicionais 69
6.4.2 Insulino-resistência e síndrome metabólica como factores de risco para cancro da mama 70
6.4.2.1 O efeito do sedentarismo 73
6.5 Avaliação da composição corporal por DEXA 75

7. Discussão **76**

7.1 Considerações gerais 76
7.2 Factores de risco tradicionais para cancro da mama 78
7.3 Factores de risco para DM2 e DCV como factores de risco para cancro da mama 79
7.3.1 O efeito do sedentarismo 87
7.4 IGF1, leptina, SHBG, estrona, δ4-androstenediona 88
7.5 Correlações entre variáveis 91

8. Conclusões **93**

9. Bibliografia **97**

10. Anexos **118**

1 - LISTA DE ABREVIATURAS

ACO – Anticoncepcionais Orais

ADA – *American Diabetes Association*

AGJ – Alteração da Glicemia em Jejum

AGL – Ácidos Gordos Livres

ApoB – Apolipoproteina B

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CGHFBC – *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer*

CI – *Confidence interval*

COX – *Cicloxigenase*

DCV – Doença Cardiovascular

DEXA – *Dual Energy X-ray Absortiometry*

DG – Diabetes Gestacional

DGAT – Diacil Glicerol Acil-Transferase

DM2 – Diabetes Tipo 2

DNL – *De Novo Lipogenesis*

E1 – Estrona

E2 – *17 β-estradiol*

EAM – Enfarte Agudo do Miocárdio

EGF – *Epithelial Growth Factor*

EHNA – Esteato-hepatite não alcoólica

ES – Estrona Sulfatase

FAO – *Food Agriculture Organization*

FSIGTT – *Frequent Sample Intravenous Tolerance Test*

GH – *Growth Hormone*

HOMA – *Homeostasis Model Assessment*

HR – *Hazard Ratio*

HRT – Hormonal Replacement Therapy

HSL – *Hormone Sensitive Lipase*

IC – Intervalo de Confiança

IGF – *Insulin Growth Factor*

IGF1-R - *Insulin Growth Factor-1 Receptor*

IGFBP - *Insulin Growth Factor Binding Protein*

IGT – Intolerância à Glicose

IL-6 – Interleucina-6

IMC – Índice de Massa Corporal

IMGT – *Intramyocellular Triglyceride*

IR – *Insulin Receptor*

IR – Insulino-resistência

IRAS – *Insulin Resistance Atherosclerosis Study*

IRS-1 – *Insulin Receptor Substract-1*

ISI – *Insulin Sensivity Index*

JNC – *Joint National Committee*

LPCC – Liga Portuguesa Contra o Cancro

LPL – Lipoproteina Lipase

MCP-1 – *Monocyte Chemoattractant Protein-1*

MMP – Metaloproteinases

MRFIT- *Multiple Risk Factor Intervention Trial*

MWS – *Million Women Study*

NCEP/ATPIII - *National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III [ATP III]).*

NHS – *Nurses's Health Study*

nr – normal

OMS – Organização Mundial de Saúde

OR – *Odds Ratio*

Pa – Perímetro da anca

PAI – *Plasminogen Activator Inhibitor*

Pc – Perímetro da cintura

PCR – Proteina C Reactiva

PG – Prostaglandina

PN – Peso ao Nascer

PPAR's – *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors*

PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral

PUFA – *Polyunsaturated Fatty Acids*

QML – Quimioluminescência

Rca – Razão cintura anca

RI – Receptor de Insulina

ROS – *Reactive Oxigen Species*

RP – Receptor da Progesterona

RR – *Relative risk*

SAOS – Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono

SHBG – *Sex Hormone Binding Globulin*

SRI – Síndrome de Resistência à Insulina

SM – Síndrome Metabólica

SOP – Síndrome do Ovário Poliquístico

TAD – Tensão Arterial Diastólica

TAS – Tensão Arterial Sistólica

THS – Terapêutica Hormonal de Substituição

TNF-α - *Tumor Necrosis Factor-α*

uPA – *urokinase-Type Plasminogen Activator*

VSMC – *Vascular Smooth Muscle Cells*

WHI – *Women Health Iniciative*

2 - LISTA DE QUADROS E FIGURAS

QUADROS:

Quadro I – Factores de risco para DM2 (ADA, 2004)
Quadro II - Factores de risco tradicionais para cancro da mama (NCI*)
Quadro III - Interpretação dos resultados da PTGO (ADA, 1997)
Quadro IV – Características gerais da população estudada
Quadro V - Factores de risco para DM2 e DCV
Quadro VI – Antropometria e tensão arterial
Quadro VII – Parâmetros bioquímicos
Quadro VIII –Síndrome metabólica (Critérios NCEP/ATPIII)
Quadro IX – Valores médios de glicemia, insulina e peptídeo-C basal
Quadro X – Índices de resistência à insulina
Quadro XI – Estudo hormonal
Quadro XII – Níveis de estrona
Quadro XIII – Correlações entre variáveis
Quadro XIV – Risco para cancro da mama devido aos F. de risco tradicionais
Quadro XV – Risco para cancro da mama devido aos F. de risco para DM2 e DCV
Quadro XVI - Frequência relativa dos componentes do SM
Quadro XVII – Caracteristicas do subgrupo de indivíduos sedentários
Quadro XVIII– Sedentarismo e risco para cancro da mama
Quadro XIX - Incidência e prevalência do cancro da mama (Norte de Portugal)
Quadro XX – Comparação SM na população estudada / população feminina do Porto

FIGURAS:

Fig. 1 – Evolução da prevalência da obesidade nos EUA
Fig. 2 – Insulino-resistência e hiperestrogenismo - Mecanismos
Fig. 3 – Metabolismo dos androgénios: sistema P450 Aro
Fig. 4 – Acção sinérgica entre os estrogénios e os factores de crescimento
Fig. 5 – Critérios de exclusão no grupo de doentes
Fig. 6 – Constituição do grupo controlo
Fig. 7 – Resposta glicémica à PTGO
Fig. 8 – Curva de glicemia (PTGO)
Fig. 9 – Curva de Insulina (PTGO)
Fig. 10 – Frequência dos componentes NCEP/ATPIII para SM
Fig. 11 – Risco para cancro da mama segundo o nº de componentes SM

3 - INTRODUÇÃO

"The living being is stable. It must be so in order not to be destroyed, dissolved or disintegrated by colossal forces, often adverses which surround it. By an apparent contradiction it maintain its stability only if it is excitable and capable of modifying itself according to external stimuli and adjusting it`s response to the stimulation. In a sense: It is stable because it is modifiable – the slight instability is the necessary condition for the true stability of the organism."

Charles Richet (1900)

O título da presente dissertação foi-me sugerido pelo Prof. Oliveira Torres, meu professor de patologia clínica durante o curso de Medicina no ICBAS, o qual fui reencontrar na fase curricular do Mestrado em Oncologia como responsável pela disciplina de Biopatologia. A associação entre a obesidade e o cancro, nomeadamente o cancro da mama, é conhecida de longa data. Os mecanismos fisiopatológicos desta associação ainda não estão bem definidos. No entanto, existem dados epidemiológicos que permitem encontrar pontos comuns entre as duas patologias. Ambas são doenças da civilização ocidental, sendo das principais causas de morte nos países industrializados e a sua incidência tem aumentado nos últimos anos, à medida que os países se vão tornando mais desenvolvidos. À obesidade associa-se a diabetes tipo 2, a dislipidemia e a hipertensão arterial que conduzem ao aparecimento da aterosclerose e doença cardiovascular. A doença cardiovascular e o cancro são as principais causas de morte do mundo ocidental. Então porque não pensar que ambas possam ser manifestações diferentes de uma mesma alteração de base e que essa alteração seria uma consequência do tipo de hábitos alimentares e do sedentarismo que caracterizam os países industrializados? Se essa hipótese tivesse algum fundamento, qual seria o elo comum que estabeleceria a ligação entre as duas doenças?

Nos anos 90 alguns autores propuseram que o efeito mitogénico do excesso de insulina que se verifica na síndrome de resistência à insulina seria o factor que levaria à proli-

feração celular na neoplasia. Esta teoria tem vindo a ganhar progressivamente credibilidade já que os estudos que vêm sendo publicados desde essa altura têm corroborado na validação dessa hipótese.

A diferenciação celular interpretada sob o ponto de vista das teorias neo-evolucionistas que dão grande importância ao processo de embriógenese, implica que o genoma das células progenitoras sofra mutações somáticas que alteram o fenótipo da descendência. Os descendentes que conseguem adaptar-se aos efeitos do ambiente sobre os seus genes sobrevivem, enquanto aqueles que não conseguem interagir com as mudanças do meio transformando-se, são eliminados.

A analogia entre a diferenciação celular e a evolução darwiniana é de especial relevância na compreensão da patogénese do cancro. O dogma actual assume que o hospedeiro selecciona e promove a sua própria destruição, uma vez que o seu genoma sofre mutações que conduzem à selecção das células malignas que melhor se adaptam. Nesse caso, então, a neoplasia não será mais do que uma diferenciação celular na qual é criado um novo orgão que, numa tentativa de se adaptar, se diferencia, em benefício da sobrevivência do hospedeiro.

A diabetes tipo 2 é considerada uma doença de susceptibilidade genética despoletada por factores ambientais. A questão que se põe actualmente relaciona-se com o facto da sua incidência estar a aumentar de uma forma exponencial, devido às profundas alterações do estilo de vida nas últimas décadas.

A teoria do "gene poupador" proposta por Neel em 1962 explicava a diabetes numa perspectiva da biologia evolucionista. Segundo esta teoria, a história nutricional das populações associada a longos períodos de fome, favoreceu a selecção de polimorfismos genéticos que aumentaram a susceptibilidade dessas populações para a diabetes (Neel, 1999). Mais recentemente, a teoria foi reformulada, surgindo o conceito de "fenótipo poupador". Essa hipótese considera que uma má-nutrição tanto *"in utero"* como no período pós-natal precoce induziria mecanismos de poupança nutricional no indivíduo em crescimento (Hales, 1992). As células adiposas tenderiam a formar reservas energéticas, criando depósitos de gordura a disponibilizar nos períodos de carência. Perante um súbito excesso de aporte calórico em situações de superabundância, essas células auto-organizarse-iam de modo a estabelecerem um limite na acumulação de gordura criando uma barreira à entrada de mais substracto energético. A adaptação dos seus genes à mudança do estilo de

vida terá sido efectuada através da criação de uma barreira relativa à acção anabólica da insulina, isto é, através da resistência à insulina. Actualmente existe a tendência para considerar ambas as teorias parcialmente correctas, atribuindo uma causa multifactorial para a alta prevalência de diabetes, relacionada por um lado, com a adaptação fisiológica individual e, por outro lado, com a adaptação genética das populações a ambientes desfavoráveis (Lindsay, 2004).

A insulino-resistência tal como o cancro, poderá surgir numa tentativa de o organismo se adaptar aos estímulos criados pelas modificações introduzidas pelo meio ambiente. Autores como Zajicek defendem que o cancro é apenas uma manifestação local de uma doença metabólica sistémica (Zajicek, 1996). O tumor não seria mais do que uma proliferação celular incontrolável na tentativa de compensar uma "substância" em falta. Segundo o mesmo autor, tal como quando tratamos o enfarte do miocárdio não resolvemos a aterosclerose, não é destruindo o tumor que conseguimos tratar a doença sistémica que o provoca. À luz desses conceitos, a hiperproliferação celular surgiria como um mecanismo de compensação, com consequências fatais para o ser vivo, causando dor, alteração das funções vitais e caquexia. Do mesmo modo, o hiperinsulinismo secundário numa tentativa de compensar a resistência à insulina, exerce efeitos deletérios resultantes da acumulação de gordura em tecidos não adiposos. Ambas as doenças seriam formas de o organismo se adaptar aos novos estímulos do meio ambiente numa estratégia de tentativa de sobrevivência biológica.

Quando me propus realizar o presente trabalho tive como objectivo aprofundar os mecanismos fisipatológicos que relacionam a obesidade e o cancro da mama. Da revisão da literatura efectuada em 2000-2001, destacaram-se alguns artigos que relacionavam o perímetro da cintura, a hiperinsulinemia e a resistência à insulina com a neoplasia mamária. A leitura desses artigos apontou o caminho a seguir. O trabalho começou assim a ser delineado a partir de uma reflexão sobre o assunto.

Numa revisão retrospectiva de processos a amostra estudada poderia ter sido muito maior. No entanto, haveria muitos dados em falta para se poderem tirar conclusões válidas. A realização de um estudo de caso-controlo como o que é apresentado, que requer a participação voluntária das intervenientes torna o caminho mais difícil. Não foi possível que o número final de doentes e controlos estudado fosse superior, para poder realizar o estudo em tempo útil. Em contrapartida, os dados foram colhidos de um modo sistemático

e pré-determinado de modo a que fosse possível poder tirar algumas elacções. O número relativamente pequeno da amostra estudada não permitiu tirar todo o partido dos dados que foram obtidos. Esse facto cria uma obrigação à autora. A de prosseguir o trabalho no sentido do seu maior enriquecimento.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Dados epidemiológicos

A incidência da obesidade, considerada actualmente uma doença crónica, tem vindo a aumentar nos países industrializados desde o pós-guerra, constituindo no início do século XXI um grave problema de saúde pública dada a elevada morbilidade e mortalidade a ela associada. Nos EUA, o estudo NHANES (National Health and Nutrition Survey) 1999-2000 mostra claramente o aumento da prevalência de obesidade para 30,5% na população entre os 20 e os 74 anos (um acréscimo de 8,6% relativamente ao NHANES III, 1988-1994). No mesmo estudo, 64,5% da população adulta apresentava excesso de peso comparativamente a 55,9% no estudo NHANES III (Kuermarski, 1996; Flegal, 2002).

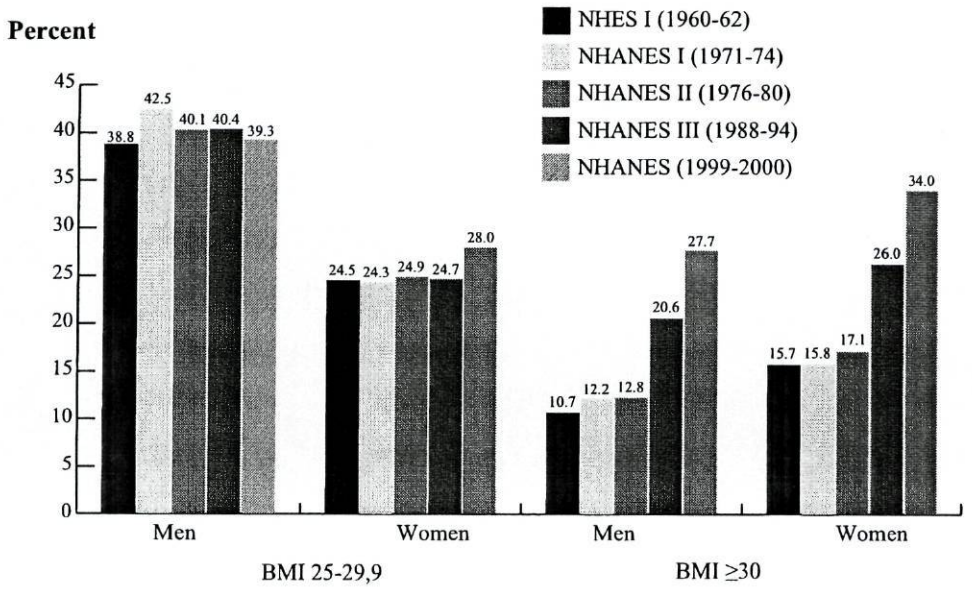


Fig.1 – **Evolução da prevalência da obesidade nos EUA.**

No Reino Unido, a prevalência de obesidade duplicou para 16% entre a década de 1980 e 1990. Nos países em desenvolvimento estima-se que a "epidemia global" venha a

atingir igualmente proporções alarmantes. Na Europa Mediterrânica Oriental e na África do Norte os níveis de obesidade nas mulheres excedem os dos EUA e na América Latina e Europa de Leste são semelhantes. No Brasil e México a obesidade começa também a ser uma característica das classes mais pobres (Chopra, 2002).

Em Portugal, uma publicação de 2000, revela que 47,8% dos indivíduos tinham excesso de peso e 14,4% eram obesos (Carmo, 2000). Dados obtidos através das estatísticas relativas aos jovens portugueses seleccionados para a inspecção do Serviço Militar desde 1960 a 1990 na região de Lisboa revelou um aumento de 10% de jovens com índice de massa corporal (IMC) superior a 27 Kg/m^2 durante esse período de tempo (Jácome de Castro, 1998). A reavaliação da tendência para obesidade realizada posteriormente pelo mesmo grupo do Hospital Militar Principal de Lisboa concluiu que no período 1994-1995, a percentagem de indivíduos com excesso ponderal era de 15% e de obesos 1,44%. No período entre 1998-1999 registou-se um aumento para 22% e 2,29% de mancebos com excesso ponderal e obesidade, repectivamente (Nobre, 2003).

Uma das características do final do século passado e deste início do século XXI é o aumento de obesidade em crianças e adolescentes. Nos EUA, num levantamento efectuado entre 1999-2000 registou-se um aumento da prevalência de excesso ponderal de 5%, 4% e 3,2% nos grupos etários compreendidos entre os 12-19, 6-11 e 2-5 anos, respectivamente (Ogden, 2002). Em Portugal, 20,3% das crianças entre os 6 e os 10 anos tinham excesso de peso e 11,3% eram obesas (Padez).

As previsões da Organização Mundial de Saúde (OMS) para os próximos anos não são animadoras. Estima-se que dentro de poucos anos as doenças não comunicáveis sejam a principal causa de morbilidade e mortalidade a nível mundial. A "*nutrition transition*" perpetuada nas últimas décadas, acarretou uma mudança para hábitos alimentares ricos em produtos altamente refinados, carne e gorduras saturadas associadas a uma redução do dispêndio de energia, o que contribuiu para o aumento de incidência de obesidade e complicações dela decorrentes (Chopra, 2002). O número de mortes na população adulta causada por doenças atribuídas a hábitos alimentares inadequados e inactividade física ou sedentarismo é de 300 000/ano nos EUA (Brown, 2000).

A diabetes *mellitus* tipo 2 é uma dessas co-morbilidades, encontrando-se intrínsecamente ligada à obesidade, de tal modo que foi recentemente descrita uma nova entidade, a diabesidade (Hansen, 1995). O risco de diabetes tipo 2 na população obesa dos

EUA é de 70%. As previsões para o ano 2025 calculam que a prevalência de diabetes e o número de pessoas com diabetes em todo o mundo sofram um aumento de 35% e 122% respectivamente, em relação ao ano 1995. Esse aumento será proporcionalmente maior nos países em desenvolvimento, estimando-se neste caso um aumento de prevalência de diabetes de 38% e no número de diabéticos de 170% (King, 1998). As estatísticas Portuguesas não são muito diferentes. Num estudo levado a cabo por uma rede de médicos-sentinela em vários Centros de Saúde do país, verificou-se que entre 1992 e 1998 a incidência de diabetes aumentou de cerca 240 para 310 doentes por 100 000 habitantes (Falcão, 2000).

A prevalência de hipertensão arterial (HTA) - definida como tensão arterial sistólica (TAS) igual ou superior a 140 mmHg e/ou tensão arterial diastólica (TAD) igual ou superior a 90 mmHg ou uso de anti-hipertensores - nos EUA é de 28,7%, o que representa um acréscimo de 3,7% (95%IC, 0%-8,3%) em relação ao período de 1988-1991 (Hajjar, 2003). Quando discriminamos o sexo e o grau de obesidade, a prevalência de HTA é de 22,1% para os homens e 27,7% para as mulheres com excesso de peso e de 41,9% para os homens e 37,8% para as mulheres obesos. Em relação à hipercolesterolemia, 19,1% dos homens e 21,6% das mulheres com excesso de peso e 22,0% dos homens e 27% das mulheres obesos têm colesterol igual ou superior a 240 mg/dl (Brown, 2000).

Os custos directos e indirectos da obesidade são elevadíssimos correspondendo nos EUA a 122,9 biliões de dólares (Wolf, 2002). Um estudo publicado pela Associação Portuguesa de Economia da Saúde referente a 1995/96 revela que os custos directos da obesidade representam 3,5% das despesas de saúde em Portugal. O total desses custos corresponde a 46 170 551 000$00, sendo 43,1% gastos em medicamentos, 29,3% em internamento e 27,7% em ambulatório (Pereira, 1999). No entanto, o tratamento da obesidade como doença corresponde apenas a 1,9% do total de custos directos associados ao problema. O tratamento das co-morbilidades e suas complicações, ocupa os restantes 98,1% dos gastos.

A síndrome metabólica (SM) descrita mais recentemente é um importante factor de risco que precede a doença cardiovascular e a diabetes. As suas complicações são diagnosticadas menos de 15 anos depois dele se manifestar. Num estudo epidemiológico envolvendo a população europeia saudável (Ferranini, 1996), a síndrome metabólica foi detectada em 15,6% dos indivíduos (*European Group of Insulin Resistance, EGIR)*. Dos

americanos adultos, 23% são portadores da síndrome metabólica (Ford, 2002). Em Portugal, um estudo recente levado a cabo pelo Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina do Porto, demonstrou igualmente uma prevalência na população da cidade do Porto de 23% (Santos, 2004).

A taxa de mortalidade é de tal modo elevada na obesidade, que nas pessoas com IMC igual ou superior a 30 Kg/m^2, o risco de morte global aumenta 50 a 100%, diminuindo a esperança de vida em 2-5 anos. Os indivíduos jovens com IMC superior a 45 têm menor esperança de vida, uma vez que tanto homens como mulheres gravemente obesos com idades compreendidas entre 20 e 30 anos perdem cerca de 13 e 8 anos de vida, respectivamente (Fontaine, 2003). A principal causa de mortalidade é a doença cardiovascular (DCV) aterosclerótica.

Segundo Calle e col., o excesso de peso está ainda associado a 14% dos cancros no homem e 20% na mulher. Os indivíduos com IMC superior a 40 Kg/m^2, têm taxas de mortalidade por cancro aumentadas de 52% no sexo masculino e de 62% no sexo feminino, relativamente à população com peso normal, estando o risco de morte correlacionado com o grau de obesidade (Calle, 2003). Analisando a relação entre mortalidade por cancro da mama e obesidade, verifica-se que na pós-menopausa o risco de morte aumenta de 1,34 (95% IC; 1,23-1,46) nas mulheres com IMC de 25-29,9 Kg/m^2; para 2,12 (95% IC 1,41-3,19) nas mulheres com IMC igual ou superior a 40 Kg/m^2 ($p<0,001$). Por cada aumento de 1Kg/m^2 no IMC, o risco para aquela neoplasia aumenta cerca de 3% (Bergström, 2001).

4.2 Fisiopatologia da síndrome de resistência à insulina e doença cardiovascular aterosclerótica

É conhecida de longa data a associação entre obesidade, dislipidemia, diabetes tipo 2, HTA e DCV. Na década de 50, Vague (1956) referia-se à associação entre obesidade androide, diabetes, hiperlipidemia e aterosclerose como uma única entidade. De Fronzzo e col. (1979) introduziram a técnica do *"clamp"* euglicémico hiperinsulinémico para determinação da resistência à insulina (RI) *in vivo*. No fim da década de 80, os trabalhos de Reaven deram um contributo importantíssimo para a compreensão dos mecanismos que levam ao aparecimento da DCV. Durante uma lição histórica da reunião anual da *American*

Diabetes Association em 1988, este autor propõe o hiperinsulinismo e a insulino-resistência como base fisiopatológica comum às alterações metabólicas referidas (Reaven, 1988), a que deu o nome de síndrome de X, sindrome metabólica (SM) ou de resistência à insulina (SRI).

Desde essa altura, têm sido sucessivos os trabalhos publicados registando avanços no conhecimento desta síndrome (Ferranini,1991; Haffner, 1990, 1991 entre outros). De início, o triumvirato constituído pelo músculo, fígado e célula β pancreática foi envolvido na resistência à insulina (De Fronzzo, 1988). Posteriormente o tecido adiposo foi considerado o "quarto mosqueteiro" (Reaven, 1995).

No final da década de 80, o conceito de obesidade abdominal ou visceral como factor de risco cardiovascular independente, descrito por Vague nos anos 50, foi reactivado depois de se ter concluído que este tipo de gordura é mais aterogénico e, portanto, aquele que mais se correlaciona com as complicações metabólicas da obesidade. Kaplan introduziu o termo "quarteto mortal" referindo-se à associação entre obesidade abdominal, intolerância à glicose, hipertrigliceridemia e HTA como factores de risco cardiovascular (Kaplan, 1989).

As células adiposas viscerais são mais sensíveis do que as células subcutâneas ao efeito lipolítico das catecolaminas e mais resistentes ao efeito antilipolítico e de re-esterificação dos triglicerídeos (TG) da insulina, um fenómeno que tem como consequência o aumento de fluxo de ácidos gordos livres (AGL) para o fígado nas pessoas com predisposição genética para a acumulação de gordura visceral.

As alterações do metabolismo lipídico ocorrem precocemente na resistência à insulina, precedendo a hiperglicemia. Segundo Shulman a insulino-resistência resultaria de um desiquilíbrio da distribuição de gordura entre vários tecidos (Schulman, 2000). O mecanismo envolvido parece relacionar-se com um desvio dos ácidos gordos livres de um tecido adiposo em excesso para tecidos não adiposos como o fígado, o músculo, o pâncreas e o coração. Como consequência, verifica-se uma desregulação do metabolismo dos hidratos de carbono, uma elevação dos triglicerídeos e a sua acumulação no citoplasma das células dos tecidos não adiposos, parecendo ainda ter efeitos nocivos no endotélio, miocárdio e na proliferação celular (Lewis, 2002).

As principais acções metabólicas da insulina estão relacionadas com o metabolismo dos hidratos de carbono e das gorduras, sendo a sua actividade essencialmente anabólica. A acção da insulina começa com uma ligação aos receptores celulares localizados na su-

perfície dos tecidos-alvo. O receptor da insulina (RI) compreende um par de subunidades α e um par de subunidades *β*. A subunidade α, extracelular, contem um local de ligação à insulina e está ligada por ligações covalentes à subunidade *β* que atravessa a membrana celular. A porção intracelular da subunidade *β* possui actividade tirosino-cinase e, por acção da insulina, desencadeia uma reacção de auto-fosforilação em cascata a que se segue a internalização do complexo insulina-receptor, o qual em seguida, é degradado ou reciclado para a membrana celular. Na presença de hiperinsulinismo existe uma redução paradoxal dos RI na superfície celular – "*down regulation*" (Maratos-Flier, 1997).

No tecido adiposo, a resistência à insulina resulta numa diminuição da actividade da enzima lipoproteina lipase (LPL), com diminuição do transporte de AGL para o interior da célula adiposa. Em resultado da mesma resistência à insulina, existe uma diminuição da acção inibidora da insulina sobre a lipase hormono-sensível (HSL), cuja actividade aumenta, o que tem por consequência um aumento da lipólise intracelular dos triglicerídeos. Enzimas lipogénicas como a diacilglicerol acil-transferase (DGAT) são suprimidas (Lewis, 2002). A insulino-resistência resulta portanto, num desvio de AGL do tecido adiposo para outros tecidos.

No fígado, verifica-se um aumento da produção de VLDL, uma vez que para além de um aumento do fluxo de AGL, há uma resistência ao efeito inibitório agudo da insulina na produção de VLDL. As enzimas lipogénicas são estimuladas predominando a re-esterificação dos AGL em desfavor da sua oxidação. O excesso de secreção de VLDL deve-se ao aumento da lipogénese *de novo* (DNL), à acumulação intracitosólica de TG nos hepatócitos e a um aumento da captação das lipoproteinas remanescentes e diminuição pós-translacional de Apo B. Os AGL em excesso interferem também na produção hepática da glicose, aumentando a gliconeogénese (aumento da actividade da enzima fosfofenolpiruvatocinase), diminuindo a glicogénese (inibição da glicogénio sintetase) e a extração hepática de insulina. A diminuição da internalização do receptor da insulina e o aumento da actividade da proteina cinase C parecem ser responsáveis pela diminuição do *clearance* da insulina. Como consequência, a hiperinsulinemia perférica aumenta, aparentemente numa tentativa de compensar a resistência à insulina.

No músculo, o metabolismo dos hidratos de carbono e dos lipídeos encontra-se também alterado. A insulino-resistência associa-se a uma acumulação intramiocelular de triglicerídeos (IMTG, *intramyocellular triglyceride*) devido a uma deficiência na oxidação muscular dos AGL.

Nos anos 60, a hipótese de Randle (1963) explicava a relação entre o excesso de AGL e as alterações do metabolismo da glicose como uma competição entre dois substratos energéticos numa situação de excesso de fluxo de ácidos gordos livres. Segundo esta hipótese, o aumento da disponibilidade de AGL teria como consequência directa o aumento de acetil-CoA e do citrato intramuscular. Ao diminuir a piruvato desidrogenase, a acetil-CoA em excesso reduziria a oxidação da glicose, a glicólise e o transporte de glicose através da membrana celular (Randle, 1963). Estudos subsequentes vieram demonstrar que na realidade, a glicose-6-fosfato se encontra diminuída e a alteração principal da insulino-resistência induzida pelos AGL está no transporte e fosforilação da glicose e que a diminuição da síntese de glicogénio e da oxidação da glicose ocorre posteriormente (Roden, 1996; Dresner, 1999). O excesso de AGL que afluem ao músculo interfere com o metabolismo da glicose por via do ciclo de Randle, mas não só. O excesso de malonyl-CoA leva a um aumento de ácidos gordos de cadeia muito longa, que quer directamente, quer através da esterificação a diacilglicerol, estimulam a actividade da proteína cinase C, que por sua vez exerce um efeito inibidor da acção da insulina e da síntese de glicogénio, assumindo um importante papel na insulino-resistência induzida pelos AGL ao nível do músculo esquelético.

A via das hexosaminas e do stress oxidativo assume também um importante papel na insulino-resistência induzida pelos AGL ao nível do músculo esquelético uma vez que se verifica um aumento das ROS (*reactive oxigen species*) via peroxidação, via produção mitocondrial e pela via das hexosaminas biosintéticas. A activação dos receptores PPARs *(Peroxisome Proliferator-Activated Receptors)* pelos AGL parece, pelo contrário, ter um papel insulinossensibilizador ao estimular a lipogénese muscular, actuando como um mecanismo autoprotector da contínua acumulação de gordura (Schoojans, 1996).

No pâncreas, enquanto as células β tiverem a capacidade de compensar a insulino-resistência através de uma hipersecreção da insulina (hiperinsulinismo), o indivíduo consegue manter-se normoglicémico. No entanto, a exposição das células β a níveis crónicamente elevados de AGL reduzem a secreção de insulina mediada pela glicose (como demonstrado pela primeira fase da resposta da insulina durante um teste de tolerância à glicose intravenosa) e, posteriormente, diminuem a massa de células β através de mecanismos de indução da apoptose celular. Ao fim de alguns anos, os níveis permanentemente elevados de glicose e AGL levam, portanto, à chamada glucotoxicidade e lipotoxicidade

pancreática (Lewis, 2002). Nessa altura verifica-se uma falência pancreática das células β, o que leva ao aparecimento, em primeiro lugar, de uma intolerância à glicose (ITG) e, posteriormente, à diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2).

São condiderados factores de risco para o aparecimento futuro de DM2 os referidos no Quadro I (ADA, 2004).

Quadro I – **Factores de risco para DM2 (ADA, 2004)**

Idade ≥ 45 anos
Excesso ponderal (IMC ≥ 25 Kg/m^2)
História Familiar de DM2
Sedentarismo
Raça / Grupo étnico (afro-americanos; hispano-americanos; americanos nativos, etc.)
Antecedentes de AGJ ou ITG
Antecedentes de Diabetes gestacional ou macrossomia (PN > 4000 g)
História de doença vascular
HTA (≥ 149/90 mmHg)
HDL-c ≤ 35 mg/dL (0,9 mmol/L) e/ou TG ≥ 250 mg/dL (2,82 mmol/L)
Síndrome do Ovário Poliquístico
História de doença vascular

Estudos recentes de prevenção da DM2 como o DPP (*Diabetes Prevention Program*), STOP-NIDDM (*Stop-Non Insulin Dependant Diabetes Mellitus*) e Xendos (*XENical in the Prevention of Diabetes in Obese Subjects*) concluíram que uma mudança do estilo da vida associada a fármacos como a metformina, a acarbose e o "orlistat", respectivamente, podem retardar a progressão da ITG para DM2 nos indivíduos predispostos (DPPRG, 2002; Chiasson, 2002; Torgerson, 2004).

Os mecanismos de insulino-resistência na DM2 compreendem factores genéticos e ambienciais. A nível genético, sabe-se que a DM2 é hereditária em cerca de 80% dos casos, tendo como causa provável mutações em vários genes (Mc Carthy, 1994). Inúmeros trabalhos demonstram o papel do sedentarismo e dietas ricas em açúcares e com alto teor de gordura no agravamento da incidência da obesidade e da síndrome metabólica. Outro dado relaciona-se com o facto de os recém nascidos com baixo peso, terem maior probabilidade de vir a desenvolver DM2 na vida adulta, principalmente se desenvolverem excesso ponderal (Fall, 1995).

A dislipidemia que acompanha a resistência à insulina caracteriza-se, para além de uma elevação dos triglicerídeos, por uma diminuição das HDL circulantes, uma acumulação pós-prandial de partículas remanescentes ricas em TG e uma elevação das LDL pequenas e densas caracterizadas por um perfil mais aterogénico (Howard, 1999).

Analisando outro elemento da SRI, a hipertensão arterial, pensa-se que a insulinoresistência assume um papel fundamental na patogénese da HTA essencial. Os principais mecanismos envolvidos relacionam-se com a retenção de sódio e água no tubo contornado proximal, com a activação do eixo renina-angiotensina-aldosterona e com a estimulação do sistema nervoso simpático, com a diminuição da reactividade vascular, com a redução dos mecanismos de vasodilatação por aumento do ácido nítrico e com o aumento da natriurese por depósitos de gordura à volta do rim (Juhan-Vague, 1993; Jeppesen, 2000; Hall, 2000; Hall, 2003).

Na resistência à insulina existe ainda uma situação de disfunção endotelial. Um dos mecanismos envolvidos relaciona-se com uma deficiência da acção vasodilatadora do ácido nítrico (NO), inibição da proliferação do músculo liso vascular e da adesão das plaquetas e dos leucócitos regulada pela insulina (Yky-Jarvinen, 2003).

A resistência à insulina é também um estado pro-inflamatório. A proteína C reactiva (PCR), marcador de fase aguda característica da formação da placa aterosclerótica, parece ser um importante indicador de eventos cardiovasculares futuros. Verifica-se uma correlação linear entre os níveis séricos de PCR e o número de componentes da SRI (Ridker, 2002). Citoquinas pro-inflamatórias como o TNF-α (*tumor necrosis factor* α), a IL-6 (interleucina-6) e a IL-10 encontram-se elevados na resistência à insulina (Festa,1999; Hotamisligil, 1994). O TNF-α e a IL-6 auto-perpetuam o referido processo de resistência à insulina, uma vez que são produzidos pelo tecido adiposo visceral e bloqueiam a acção daquela hormona.

Para além das referidas, outras citoquinas produzidas pelo tecido adiposo parecem ter um papel importante como mediadores do processo inflamatório. A leptina, uma hormona descoberta há uma década atrás (Zhang, 1994), é produzida pelo gene *ob* e tem um papel muito importante na regulação da ingestão alimentar promovendo a sua inibição, estimulando a perda de peso e aumentando o tonús simpático (Wang, 1997). Parece ter ainda um papel importante na reprodução. A infusão de leptina em ratos fêmeas acelera a puberdade (Ahima, 1997) e reverte o hipogonadismo primário em ratos *ob/ob*, deficientes em leptina

(Chehab, 1996). Os seus níveis circulantes correlacionam-se positivamente com o índice de massa corporal em indivíduos normoponderais, obesos e normoglicemicos, bem como em indivíduos com diminuição da tolerância à glicose e diabéticos tipo 2 (Zimmet, 1996; Courten, 1997; Mohamed-Ali, 1997; Lonnqvist, 1997; Kennedy, 1997; Leyva, 1998). Encontra-se ainda elevada em diferentes raças, existindo uma correlação positiva entre esta hormona e a percentagem de gordura calculada a partir das pregas cutâneas e as áreas de gordura visceral e subcutânea. Não existe, no entanto, correlação com a razão entre as duas últimas (Cardoso, 1999). Os seus níveis parecem correlacionar-se com a resistência à insulina, independentemente da obesidade (Lonnqvist, 1997; Niskanen, 1997). Num trabalho realizado por Cardoso e col. a mulheres com superobesidade, os índices de sensibilidade à insulina medidos pela técnica do modelo mínimo, correlacionavam-se negativamente com a leptina sérica. Estes autores verificaram ainda uma correlação positiva entre leptina e a insulinemia em jejum, o peso, o IMC e o perímetro da cintura (pc) e da anca (pa). A razão cintura-anca (rca) não apresentava qualquer associação com os valores de leptina. A hiperleptinemia que se verifica na obesidade, na SRI e diabetes tipo 2 parece dever-se a uma resistência à leptina que acompanha a resistência à insulina (Zimmet, 1999).

O sistema TNF-α é muito importante na regulação do dispêndio energético e da perda de peso, acções em que se encontra também envolvida a leptina. O sistema TNF-α parece induzir a actividade do sistema da leptina no sentido de aumentar o gasto energético e a perda de peso em situações como estados inflamatórios, doenças do colagénio e cancro. As interações entre o sistema TNF-α, a insulina e a leptina poderão contribuir para o conhecimento da patofisiologia da obesidade e da caquexia nos seres humanos.

A descoberta no início do século XXI de novas citoquinas produzidas pelo tecido adiposo (a resistina e a adiponectina), veio trazer uma nova perspectiva sobre o papel das células adiposas na resistência à insulina. A resistina, identificada em 2001, parece estar envolvida no desenvolvimento da resistência à insulina, embora o mecanismo ainda seja desconhecido. A adiponectina, pelo contrário, tem um papel insulinossensibilizador, anti-inflamatório e anti-aterogénico. Os seus níveis estão correlacionados negativamente com a adiposidade, razão cintura-anca, dislipidemia diabética e DCV. Esta citoquina correlaciona-se negativamente com a hiperinsulinemia e resistência à insulina, mais do que com a obesidade ou a gordura corporal. Existe alguma evidência de que níveis baixos

de adiponectina sejam mais um factor de risco para DM2, mas não para obesidade (Pittas, 2004). Uma vez que a investigação mais recente parece indicar que a insulino-resistência é uma doença inflamatória, as citoquinas produzidas pelo tecido adiposo parecem ter um papel de regulação importante. A presença de tecido adiposo visceral excessivo favorece a resistência à insulina através da produção de mediadores como o TNF-α, a IL-6 e a resistina. Pelo contrário a leptina e a adiponectina exercem um papel insulinossensibilizador. Na obesidade, a resistência à insulina está associada a uma resistência à leptina e a uma diminuição da adiponectina (Guerre-Millo, Pittas, 2004). O tecido adiposo deixou de ser encarado como apenas um local de armazenamento de energia sob a forma de gordura, mas antes um tecido metabólicamente activo e com um papel importante na resistência à insulina como processo inflamatório.

Os indivíduos portadores da SM caracterizam-se ainda por um estado pró-coagulante, uma vez que se verifica uma dimunuição da fibrinólise e aumento dos níveis de fibrinogénio e factores de coagulação (Devaraj, 2004). O estudo clínico IRAS (*Insulin Resistance Atherosclerosis Study*) demonstrou que durante a progressão da IGT para a DM2, existe um aumento progressivo de PAI-1 (*Plasminogen Activator Inhibitor type 1*), um importante factor de inibição da fibrinólise (Festa, 1999).

A análise do NHANES III permitiu concluir que os indivíduos portadores da SM diagnosticada segundo os critérios NCEP/ATPIII, têm valores mais elevados de fibrinogénio, PCR e leucócitos do que aqueles que não apresentam esta síndrome (Ford, 2003).

A avaliação das relações entre a PCR e a síndrome metabólica no WHI mostrou um aumento de PCR proporcional ao número de componentes da SM, assim como uma correlação entre a PCR e o risco de eventos cardiovasculares futuros (Ridker, 2003).

Na última década, a descoberta da família de receptores nucleares hormonais denominada PPAR's, veio desencadear intensa investigação no sentido de aprofundar o conhecimento das suas funções. Salienta-se a acção dos PPARγ sobre a homeostasia energética e resposta inflamatória, tornando-os importantes actores no controle de doenças crónicas como a diabetes, a obesidade e a aterosclerose (Wahli, 2002). Os agonistas dos receptores PPARγ foram inicialmente utilizados como insulino-sensibilizadores na diabetes tipo 2, caso do grupo das tiazolinedionas, mas parecem ter também uma importante acção no tratamento da SRI e na prevenção da DCV. Com efeito, trabalhos recentes demonstraram o papel cardioprotector destes agentes, elevando as HDL-c_2, reduzindo o número de LDL

pequenas e densas, diminuindo a inflamação e melhorando a fibrinólise. Além disso, verifica-se que reduzem os níveis de MCP-1 *(monocyte chemoattractant protein-1)* e ROS, inibem a migração das VSMC's *(vascular smooth muscle cells)* e diminuem as MMP-9 (metaloproteinases da matriz-9), importantes mediadores na formação e ruptura da placa aterosclerótica (Mohanty, 2001; Parulkar, 2001; Patel, 2002).

4.3 Síndrome de resistência à insulina e síndrome metabólica

O conceito de síndrome metabólica é diferente do conceito de síndrome de resistência à insulina. O SRI não é uma doença, mas antes a descrição de um estado fisiológico que de um modo geral aumenta a probabilidade de desenvolver determinadas anomalias metabólicas e manifestações clínicas. O conceito de SM visa, sobretudo, identificar as síndromes associadas à resistência à insulina com vista à implementação de medidas que têm como objectivo diminuir o risco cardiovascular (Reaven, 2004). São consideradas actualmente manifestações clínicas da resistência à insulina a DM2, a DCV, a HTA essencial, a SOP, a esteatohepatite não-alcoólica (EHNA), algumas formas de cancro e a síndrome da apneia obstructiva do sono (SAOS). O impacto crescente da SM em matéria de saúde pública levou à adopção de um código próprio na Classificação Internacional das Doenças - DCI-9 277.7, Síndrome Dismetabólico - (ACE, 2003).

4.3.1 Sensibilidade à insulina e secreção da célula β

Inicialmente, o diagnóstico de síndrome metabólica passava pela determinação da sensibilidade à insulina. O "*clamp*" euglicémico hiperinsulinémico e o "*clamp*" hiperglicémico, continuam a ser os métodos de referência na avaliação da sensibilidade e secreção de insulina, respectivamente. No entanto, a complexidade da sua execução, torna a técnica pouco exequível na prática clínica. Os métodos que utilizam testes de tolerância à glicose intravenosa como é o caso do FSIGTT (*Frequent Sample Intravenous Tolerance Test*) pela técnica do modelo mínimo, embora mais simples, são ainda muito trabalhosos, requerendo pessoal altamente especializado e obrigam à utilização de programas informáticos complicados.

Os métodos baseados no doseamento basal de insulina como é o caso do método HOMA (*Homeostasis Model Assessment*), embora simples e aplicáveis em estudos populacionais, apresentam limitações condicionadas essencialmente pela precisão da técnica de doseamento da insulina, uma vez que a comparação dos resultados de diferentes estudos não é possível sem que a técnica de doseamento da insulina seja uniformizada. Os referidos métodos permitem, no entanto, calcular de um modo aproximado a sensibilidade à insulina e a função da célula β através das seguintes fórmulas: sensibilidade à insulina,

$$HOMA\text{-}RI = [Glicose_0\ (mmol/l) \times Insulina_0\ (\mu U/ml)] / 22,5\ (valores\ médios: 2,06 \pm 0,14)$$

$$QUICKI = 1/ [log\ Insulina_0 (\mu U/ml) + log\ Glicose_0 (mg/dl)]\ (valores\ médios: 0,382 \pm 0,007)$$

secreção da célula β,

$$HOMA\text{-}B = Insulina_0 (\mu U/ml) \times 20 / [Glicose_0\ (mmol/l) - 3,5]$$

(Mattews, 1985; Pacini, 2003).

Em alguns casos, o doseamento do peptídeo-C tem vantagens em relação ao doseamento de insulina basal na avaliação da secreção da célula β, uma vez que é segregado em doses equimolares com a insulina e apresenta uma extracção hepática negligível, representando uma medida mais fiável da quantidade de insulina segregada pelo pâncreas.

Recentemente, a prova de tolerância à glicose oral (PTGO) veio despertar a atenção neste campo, já que é um exame diagnóstico relativamente simples, aplicável na prática e que nos pode fornecer bastante informação, pois estimula não só a secreção de insulina como a disponibilidade da glicose. Os índices calculados pela fórmula ISI (*insulin sensitivity index*) introduzida por Matsuda e De Fronzzo permitem uma razoável aproximação àqueles obtidos pela realização do "*clamp*" euglicemico hiperinsulinemico, uma vez que utilizam os valores médios de insulina e glicose durante a PTGO para além dos valores basais, obtendo uma estimativa muito aproximada da sensibilidade hepática e periférica à insulina (Matsuda, 1999):

$$ISI_{comp} = 100000/ log\ [glicose_0\ (mg/dl) \times insulina_0 (\mu U/ml)] \times [glicose\ média\ (mg/dl) \times insulina\ média\ (\mu U/ml)]$$

4.3.2 Quantificação do tecido adiposo visceral

A identificação do tecido adiposo visceral como metabolicamente activo e o seu papel na resistência à insulina, veio estimular os investigadores no sentido de se encontrar um método simples e exacto para a sua quantificação. A razão entre o perímetro da cintura e o perímetro da anca (rca) foi um dos parâmetros antropométricos mais utilizados. A Sociedade Portuguesa para o Estudo da Obesidade, no seu Relatório de Consenso de 1995 (SPO, 1995) considerou como indicador de obesidade andróide uma razão cintura-anca superior a 0,95 no homem e 0,8 na mulher. Uma revisão do referido relatório em 2001, determina valores iguais ou superiores a 1,0 no homem e 0,85 na mulher (SPO, 2001). De acordo com as conclusões de Lean e col., o perímetro da cintura isolado permite estabelecer critérios para definir dois níveis de risco de complicações metabólicas associadas à obesidade. No homem e na mulher respectivamente, um pc $\geq$ 94 cm e $\geq$ 80 cm são indicadores de risco aumentado e um pc $\geq$ 102 cm e $\geq$ 88 cm, de risco muito aumentado. Segundo o mesmo autor, o perímetro da cintura é o método mais simples para a avaliação do risco cardiovascular associado à obesidade (Lean, 2000).

Para a quantificação da gordura corporal total são diversos os métodos utilizados, desde a medição da prega cutânea à bioimpedância eléctrica. A TAC, a RMN e a densitometria corporal permitem também determinar a sua distribuição. Embora a quantidade de tecido adiposo visceral medido por TAC se correlacione significativamente com o perímetro da cintura (Zamboni, 1998), a densitometria corporal tem, no entanto, a vantagem de ser rápido, de simples execução, minimamente invasivo, fácilmente reprodutível e não emitir radiação (Bertin, 2000).

4.3.3 Critérios de diagnóstico da síndrome metabólica

Uma vez que não existe um único teste que permita fazer o diagnóstico, têm sido efectuadas várias tentativas no sentido de simplificar os critérios para SM, de modo a permitir a sua fácil identificação na prática clínica. Inicialmente a definição de SM entrava em linha de conta com a medição da resistência à insulina, o que obrigava à realização do "*clamp euglicémico hiperinsulinemico*".

Um relatório da OMS (Alberti, 1998) propõe a designação de SM, definida como:

- Intolerância à glicose (diminuição da tolerância ou diabetes *mellitus*) e/ou
- Insulinorresistência (definida como captação da glicose inferior ao quartil mais baixo para população estudada em *clamp euglicémico*) associadas a dois ou mais dos seguintes componentes:
  - Hipertensão arterial (≥140/90 mmHg)
  - Hipertrigliceridémia (≥150 mg/dL) e/ou diminuição do HDL-C (<35 mg/dl no sexo masculino e < 39 mg/dL no sexo feminino)
  - Obesidade central (rca > 0,9 no sexo masculino e >0,85 no sexo feminino)
  - Microalbuminúria ≥ 20mg/24h ou relação albumina/creatinina ≥ 30

Em 2001, o 3º Relatório do *"National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III [ATP III])"* definiu como síndrome metabólica, a presença de três ou mais dos seguintes critérios:

- Obesidade Abdominal – perímetro da cintura > 102 cm no homem; > 88 cm na mulher
- Hipertriglicerídemia – TG ≥ 150 mg/dl (1,7 mmol/L)
- HDL-c diminuida – HDL-c < 40 mg/dl (1,0 mmol/L) no homem; < 50 mg/dl (1,3 mmol/L) na mulher
- Hipertensão arterial - TA ≥ 130/85 mmHg
- Glicemia em jejum ≥ 110 < 126 mg/dL (≥6,1 < 7,0 mmol/L)

Estas normas chamam a atenção para a importância do controle dos diversos factores, com o objectivo da redução do risco cardiovascular nos indivíduos com síndrome metabólica, tendo sido adoptado por várias entidades, nomeadamente a *American Diabetes Association (ADA)*. Tem a vantagem de utilizar critérios essencialmente clínicos, eliminando a dificuldade criada pela determinação da resistência à insulina pelo método do *"clamp"* euglicémico. No entanto, existe alguma polémica sobre a selecção dos critérios adoptados, que estão de momento a ser alvo de amplo debate, pelo que provávelmente virão a ser revistos no futuro. Alguns autores consideram os valores adoptados para a TA demasiado baixos. Outro problema relaciona-se com o facto de o pc não ser uma medição utilizada por rotina e ser pouco rigorosa, uma vez que depende de factores subjectivos. A utilização apenas do valor da glicemia em jejum também tem vindo a ser contestada (Reaven, 2004). O estudo *DECODE* demonstrou que o valor de glicose às duas horas na

PTGO se correlacionava melhor com o risco cardiovascular que a glicemia em jejum (Tuan, 2003).

4.4 Insulino-resistência, diabetes tipo 2 e doença cardiovascular

A complicação mais estudada da DM2 é a doença cardiovascular aterosclerótica. No Estudo Framingham, nos anos 70, concluia-se que a mortalidade anual por doença coronária duplicava no caso de se tratar de um doente diabético, independentemente do sexo (Kannel, 1979).

O estudo MRFIT (*Multiple Risk Factor Intervention Trial*) mostrou que o risco de morte por DCV era três vezes superior nos diabéticos independentemente da raça, idade, nível económico, colesterol sérico, tensão arterial e consumo de cigarros/dia (Stamler, 1993). As conclusões do mesmo estudo mostravam que a diabetes amplificava o risco de morte dos outros factores de risco clássicos para DCV: 59/10000 vs. 12/10000 mortes, com um factor de risco adicional, 91/10000 vs. 22/10000 com dois factores e 125/10000 vs. 47/10 000 com três factores de risco. Em doentes diabéticos, o mau controlo glicémico e a dislipidemia, eleva cerca de três vezes o risco de morte por doença coronária (Lehto, 1997).

No *"East-West Study"*, a incidência de enfarte agudo do miocárdio (EAM) fatal e não fatal durante um *follow-up* de sete anos, foi superior nos doentes diabéticos, principalmente se tivessem tido um EAM anterior: 18,8 vs. 3,5% ($p<0,001$) nos doentes não diabéticos com e sem EAM prévio, respectivamente; e 45 vs. 20,2% ($p<0,001$) nos doentes diabéticos com ou sem EAM prévio. O resultado foi semelhante para os AVC`s: a incidência de AVC foi de 7,2 vs. 1,9% ($p=0,01$) nos doentes não diabéticos com e sem EAM prévio e de 19,5 vs. 10,3% ($p<0,001$), no grupo de doentes diabéticos (Haffner, 1998).

O estudo OASIS (Malmberg, 2000) que analisou a mortalidade a longo prazo de doentes hospitalizados por angina instável ou EAM sem onda Q, revelou que o grupo de doentes diabéticos sem doença cardiovascular prévia tinha um risco de mortalidade por EAM agudo semelhante ao grupo de doentes não diabéticos com história prévia de DCV (RR 1,98; IC 95% 1,52-2,6 vs. RR 1,71; IC 95% 1,44-2,04, respectivamente).

Nos últimos anos, a investigação tem sido direccionada para a síndrome metabólica e a insulino-resistência como factor de risco cardiovascular independente da diabetes.

O *"Quebec Cardiovascular Study"* foi dos primeiros trabalhos publicados a demonstrar o risco predictivo dos níveis de insulina basais para a doença cardíaca isquémica. O mesmo se verificava em relação aos níveis de triglicerídeos, de apolipoproteina B (Apo B) e de partículas LDL pequenas e densas (Després, 1996; Lamarche, 1997).

O *"Helsinki Policemen Study"* (Pyorala, 1998), um estudo prospectivo realizado ao longo de 22 anos a homens saudáveis de meia idade revelou que a hiperinsulinemia era factor predictivo independente de doença coronária, embora esse valor diminuisse com o tempo.

Já no século XXI, a análise dos resultados de estudos como o NHANES III, *"San António Heart Study"* (SAHS), *"Framingham Offspring Study"* (FOS), *"Verona Diabetes Complication Study"* (VDCS) e 4S/AFCAPS/TexCAPS *(Air Force/ Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study)*, revelaram que a resistência à insulina e a síndrome metabólica determinados através do método HOMA e dos critérios NCEP/ATPIII ou OMS, parecem ser factores de risco independentes para DCV (Alexander, 2003; Meigs, 2003; Bonora, 2004a; Helaine, 2004; Hanley, 2002; Bonora, 2004b).

Os resultados da análise do NHANES III demonstraram que os doentes com DM2 sem SM não têm aumento de doença coronária. Pelo contrário nos doentes portadores da SM, a prevalência de doença coronária é 13,9% superior nos não diabéticos e 19,2% mais elevada nos diabéticos, quando comparada com indivíduos sem SM nem diabetes (Alexander, 2003). A síndrome metabólica tem neste estudo, um *odds ratio* para doença coronária de 2,07 (95% IC 1,66-2,59).

A SM está associado a um aumento de eventos coronários *major* quer nos indivíduos hipercolesterolemicos com doença coronária no estudo 4S, quer nos indivíduos com HDL-C diminuida sem doença coronária no estudo AFCAPS/TexCAPS (Girman, 2004).

O *"San Antonio Heart Study"* revela que existe um aumento de DCV proporcional aos valores da resistência à insulina determinada pela fórmula HOMA-RI depois de corrigida para a idade, sexo e raça e que essa associação sofre apenas uma ligeira redução quando corrigida para os valores de LDL-C, TG, HDL-C, TAS, tabagismo, consumo de álcool, exercício físico e perímetro da cintura (Hanley, 2002). Este índice de resistência à insulina revela-se também um factor predictivo independente da prevalência e incidência

de DCV no *"Verona Diabetes Complications Study"* (Bonora, 2004b). O aumento de uma unidade no (log) HOMA-RI está associado a um *odds ratio* para a prevalência de DCV de 1,31 (95% IC 1,10-1,56; p=0,002) e para o aparecimento de novos casos ao fim de 4,5 anos de 1,56 (95% IC 1,14-2,12; p<0,001).

4.5 Insulino-resistência e esteroidogénese ovárica

Sabe-se que as gonadotrofinas hipofisárias (LH e FSH) não são os únicos factores de regulação da função ovárica. Outras hormonas e alguns factores de crescimento, especialmente a insulina e os factores de crescimento "*insulin-like*" (IGFs) têm um papel importante na fisiologia do ovário (Stoll, 1997a). A insulina contribui também para o hiperandrogenismo ao diminuir a produção hepática de SHBG (*sex hormone binding globulin*), a principal hormona transportadora de esteroides sexuais, aumentando os níveis de androgénios livres e, portanto, a sua forma activa (Nestler, 1991; Plymate, 1988), e ao estimular a produção de androgénios pelas células da teca ovárica que em situações de resistência à insulina mantém a sensibilidade a esta hormona (Lanzone, 2004).

A síntese de IGFBP's (*insulin growth factor binding proteins*), essencialmente a IGFBP1, pelo fígado e ovário são também inibidas pela insulina, aumentando assim a quantidade de IGF1 livre que estimula a produção de androgénios pelos ovários (Weaver, 1990) (Fig.2).

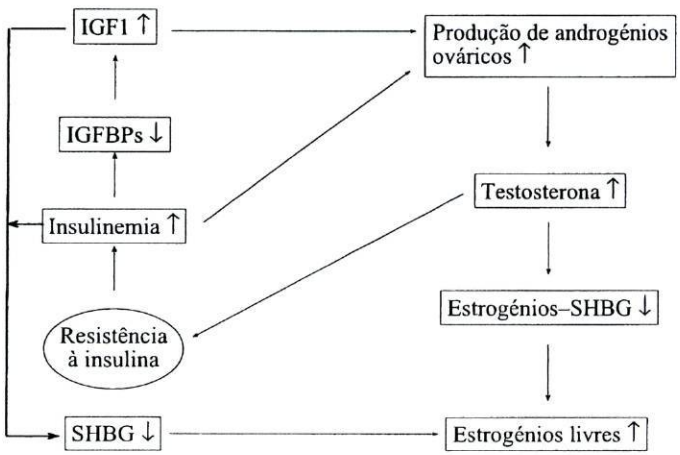


Fig. 2 – **Insulino-resistência e hiperestrogenismo - Mecanismos.**

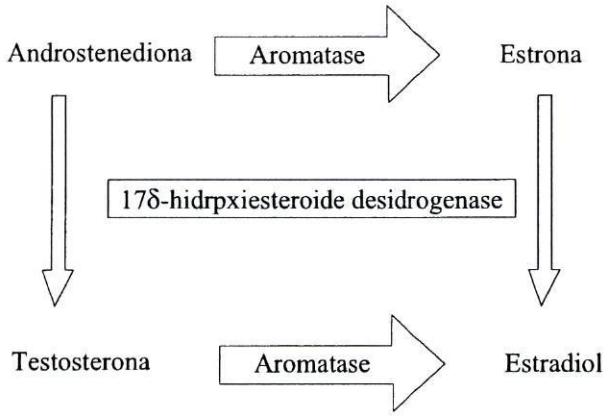


Fig. 3 – **Metabolismo dos androgénios: sistema P450 Aro.**

Na SOP com resistência à insulina, o excesso de produção de androgénios pela teca e estroma dos ovários parece ser provocado quer pelo efeito gonadotrófico directo da insulina, quer indirectamente através da estimulação da produção hepática de IGF1 (Barbieri, 1985; Pignatelli, 1996).

O hiperandrogenismo estimula a actividade da enzima aromatase (P450aro) que existe na suprarenal, ovário, tecido adiposo e outros tecidos, nomeadamente nas células epiteliais da mama. A P450aro tem como função converter os androgénios em estrogénios (Fig. 3), levando em caso de actividade excessiva, a um estado de hiperestrogenismo (Killinger, 1987).

A SOP é uma entidade clínica definida por dois dos seguintes critérios: oligomenorreia e/ou anovulação, sinais clínicos ou boiquímicos de hiperandrogenismo e ovários poliquísticos diagnosticados ecograficamente (ESHRE/ASRM, 2003). A quantidade de androgénios livres em excesso é responsável pela anovulação e pelo hirsutismo. As mulheres com ovários poliquísticos caracterizam-se por defeitos na secreção e acção da insulina, da esteroidogénese ovárica e fibrinólise, sendo frequentemente obesas (50%), com maior incidência de irregularidades menstruais, infertilidade e hirsutismo que as mulheres não obesas com SOP (Kiddy, 1990). As doentes obesas com SOP têm uma rca aumentada, maior incidência de DM2, dislipidemia e HTA e apresentam um risco aumentado de DCV (OR 1.4; 95% IC 0,75-2,40). O cancro da mama parece ser a principal causa de mortalidade (OR 1.48; 95%IC 0,79-2,54) (Pierpoint, 1998; Balen, 2001). As mulheres portadoras da SOP têm maior risco de morbilidade e mortalidade cardiovascular, mesmo em idades

jovens, uma vez que é elevada a prevalência da SM e alterações da tolerância à glicose neste grupo de doentes (Legro, 2003; Korhonen, 2001). A hiperinsulinemia e a resistência à insulina parecem existir antes da anovulação e o mecanismo em causa envolve a interação da insulina e IGF's com o ovário (Robinson, 1993). Parece existir também um aumento da prevalência da SOP nas diabéticas tipo 2 (Conn, 2000). Na década de 90 pensava-se que apenas as doentes com SOP, obesas e com rca aumentada apresentavam resistência à insulina (Holte, 1996). Os trabalhos de Yldirin e col. revelaram que mesmo em mulheres normoponderais com ovário poliquístico, se verificava um aumento da gordura visceral, hipertrigliceridemia, alterações da tolerância à glicose e dos níveis de insulinemia quando comparadas com um grupo de doentes sem critérios para SOP (Yildirim, 2003).

A leptina parece ter um importante papel na reprodução. Embora a hiperleptinemia induza infertilidade, uma vez que contraria o efeito sensibilizador da IGF1 ao nível dos folículos ováricos, não parece existir evidência de aumento da leptina nas mulheres portadoras da SOP (Mantzoros; Rouru; Laughlin, 1997). Quando estas doentes são submetidas a restrição calórica e perda de peso, os níveis de SHBG aumentam e esse aumento é devido a uma redução dos níveis de insulina e IGF1. A rca, as irregularidades menstruais e a fertilidade melhoram e a sensibilidade à insulina aumenta (Kiddy, 1992; Pasqualini, 1993).

Os fármacos sensibilizadores da insulina como a metformina e as glitazonas têm sido utilizados com sucesso em ensaios clínicos no tratamento da SOP (Ehrmann, 1997; Nestler, 1998). Num estudo que incluiu 650 doentes com SOP, Nestler e col. demonstraram um aumento da taxa de ovulação nos grupos que receberam tratamento com metformina, rosiglitazona ou ambas, comparativamente com aquelas que fizeram placebo (Nestler, 2004). Para além da sua acção sobre a fertilidade, a metformina parece reduzir o número complicações da gravidez (nomeadamente o abortamento expontâneo) nas mulheres portadoras da SOP (Vanky, 2004).

4.6 Insulino-resistência e cancro da mama

4.6.1 Associação entre obesidade e cancro

Em 1940, Tannenbaun escreve que "trabalhos experimentais em animais e as análises

das estatísticas das companhias de seguros sugerem fortemente que o peso corporal é um factor que afecta a incidência de cancro" (Tannenbaun, 1940). No final da década de 40 surgiram os primeiros estudos epidemiológicos correlacionando o excesso ponderal com certos tipos de cancro, nomeadamente os tumores hormonodependentes.

Com efeito, estudos posteriores, vieram a demonstrar uma maior incidência de cancro nos indivíduos com excesso ponderal. Salienta-se o risco de carcinoma colorectal e da próstata no homem e do endométrio, vesícula biliar, colo, ovário e mama na mulher, bem como a neoplasia do rim em ambos os sexos (Moller, 1994; Wolk, 2001, Bergström, 2001).

O risco global de morte por cancro nos indivíduos obesos é de 1,33 no homem e 1,55 na mulher (Garfinkel, 1985). Estima-se que 36000 casos de cancro seriam evitados na Europa, caso fosse possível diminuir a obesidade e o excesso de peso em 50% (Bergström, 2001).

Trabalhos experimentais em animais e estudos epidemiológicos correlacionando certo tipo de alimentação com o aparecimento de cancro demonstraram que a dieta do tipo ocidental rica em gorduras saturadas e pobre em fibras se associa a um maior risco para o desenvolvimento de neoplasias, nomeadamente do cólon, do endométrio, da próstata, da mama e do ovário (NCI, 2001).

A análise do consumo alimentar *per capita* em vários países demonstrou uma correlação positiva entre o consumo de gordura animal e a mortalidade por cancro e uma correlação negativa com o consumo de vegetais (Rose, 1986).

Estudos como o *"Malmo Diet and Cancer Study"* (Manjer, 2001a), mostram uma menor incidência e mortalidade por cancro nos doentes participantes (doentes submetidos a um questionário, seguido de determinação dos parâmetros antropométricos e a dieta rica em vegetais e pobre em gordura saturada) quando comparada com o grupo de não participantes (RR 1,08; 95% IC 1,01-1,17 e RR 3,55; 95% IC 3,13-4,03).

Actualmente, todas as *"guidelines"* internacionais preconizam como formas de prevenção do cancro a perda de peso, o exercício físico e uma alimentação saudável, rica em fruta e vegetais e com ingestão adequada de açúcares e gorduras saturadas.

4.6.2 Obesidade, resistência à insulina e cancro da mama

Dados da *"Food Agriculture Organization"* (FAO) nos anos 80 (Correa, 1981) revelam que o risco de cancro da mama em indivíduos cuja alimentação é hipercalórica é de

0,84, comparativamente com o risco de 0,7 se a dieta é rica em vegetais. Estudos realizados em mulheres japonesas (onde a alimentação é ainda rica em fibras e vegetais) que emigraram para os EUA, demonstraram um aumento da incidência de cancro da mama depois da mudança para um estilo de vida ocidental (Buell, 1973). Em países asiáticos sujeitos a uma urbanização rápida e crescente, uma mudança no estilo de vida com excesso de ingestão calórica e tendência ao sedentarismo (como por exemplo em Singapura) verifica-se um aumento crescente da incidência de cancro da mama (Ng, 1997). Trabalhos experimentais efectuados em ratos alimentados com dietas ricas em gordura polinsaturada mostraram uma incidência aumentada de tumores mamários (Carroll, 1971).

O interesse despertado por este tipo de conclusões levou ao surgimento de inúmeros trabalhos com vista ao esclarecimento dos mecanismos que conduzem à associação entre obesidade e cancro da mama. Com efeito, sabe-se actualmente que existe uma incidência aumentada de neoplasia mamária em mulheres pós-menopausa com IMC superior a 25 kg/m^2, principalmente se o aumento de peso tiver ocorrido na pré-menopausa (Huang, 1997). Pelo contrário, nas mulheres em idade fértil, o excesso de peso parece exercer um papel protector. O facto de na pré-menopausa, aos estrogénios segregados pelos ovários se opor a acção da progesterona, será mais uma explicação para que tal aconteça. Após a pós-menopausa, a principal fonte de estrogénios é o tecido adiposo, não existindo a oposição da progesterona. Estudos mais recentes revelam no entanto, esse papel protector do excesso de peso na pré-menopausa é verdadeiro apenas nas mulheres com distribuição glúteo-femoral da gordura. As mulheres pré-menopausicas com distribuição abdominal do tecido adiposo também têm um risco aumentado de neoplasia da mama (Sonnenschein, 1999).

Os factores de risco para o cancro da mama (Quadro II) incluem a obesidade, o hiperestrogenismo e o tipo de alimentação. O mecanismo inicialmente proposto para explicar a associação entre a obesidade e este tipo de cancro, incluía o hiperestrogenismo derivado do aumento da conjugação dos esteroides biliares produzidos pelo aumento do número de bactérias anaeróbias do lúmen intestinal, bem como uma alteração da composição lipídica das membranas celulares No entanto, a investigação tem evoluído no sentido de uma melhor compreensão da fisiopatologia do cancro da mama.

No mundo ocidental, a incidência do cancro da mama, da próstata, do endométrio e do cólon têm aumentado da mesma forma que a obesidade, a DM2 e a DCV.

Quadro II – **Factores de risco tradicionais para cancro da mama (NCI*)**

Idade
Hereditariedade
Cancro na mama contralateral
História familiar positiva
Lesões proliferativas benignas em biópsias anteriores
Idade menarca < 12 anos
Idade menopausa > 50 anos
Idade 1º parto de termo > 30 anos
Nuliparidade
Consumo de álcool
Tabagismo
Dieta rica em gorduras polinsaturadas
Excesso ponderal
Radioterapia prévia ao tórax
THS com duração superior a 5 anos

* *National Cancer Institut*

O perfil metabólico das mulheres com neoplasia da mama diagnosticada após a menopausa, coincide com as características do SM (Stoll, 1999). O hiperinsulinismo parece ser o elo de ligação que faltava entre as duas entidades, de tal modo que tem sido considerado por alguns autores como mais um factor de risco para o aparecimento daquela neoplasia maligna (Ciampelli, 1998).

O aumento da razão entre os ácidos gordos polinsaturados (PUFA's) n-6/n-3, característico da dieta ocidental favorece o aparecimento das manifestações clínicas do hiperinsulinismo nos indivíduos geneticamente predispostos, do mesmo modo que parece promover a carcinogénese mamária (Stoll, 1998). Por outro lado, uma dieta rica em n-3 PUFA's relativamente aos n-6 PUFA's inibe o crescimento das células mamárias em ratos e em cultura de células mamárias humanas *in vitro* (Stoll, 1998).

A incidência do cancro da mama na Europa ocidental e nos EUA é de cerca de 60-90/100 000 casos/ano, muito superior à do Japão, China e dos países em desenvolvimento que é de cerca de 20-30/100000 casos/ano. Algumas características epidemiológicas desta neoplasia variam conforme o tipo de população afectada. O cancro da mama, nas mulheres de países com grande prevalência, manifesta-se sobretudo após a menopausa. A puber-

dade tem início mais cedo e o aumento do IMC está mais associado ao carcinoma na pós-menopausa do que na pré-menopausa. Pelo contrário, nos países de menor prevalência, o início da menarca é mais tardio e a obesidade está relacionada com o cancro da mama tanto na pré como na pós-menopausa (Stoll, 1996).

O Nurses'Health Study (NHS) avaliou a associação entre a ocorrência de DM2 e carcinoma invasivo da mama em 116 488 mulheres (Michels, 2003). Concluiu que o risco de cancro da mama estava ligeiramente aumentado nas mulheres com diabetes tipo 2 na pós-menopausa (OR 1,6; 95% IC 0,98-1,62).

Numa recente revisão efectuada em doentes diabéticos e não diabéticos internados no Hospital de São João do Porto entre 1989 e 2000, verificou-se que os doentes diabéticos tinham um risco significativamente aumentado para cancro da mama (1,9 vs. 0,7, $p<0,001$) bem como do intestino, endométrio e ovário (Neves, 2002).

Um estudo realizado em 12 239 mulheres revelou que a presença de calcificações arteriais na mamografia estava presente em 15,4% das doentes com DM2, comparativamente com 9% na totalidade da amostra. As doentes com calcificações apresentavam ainda um excesso de risco de mortalidade por doença cardiovascular de 40% na totalidade da amostra, vs. 90% no grupo de diabéticas (Kemmeren, 1996).

A relação entre obesidade e cancro é ainda mais estreita se considerarmos a incidência desta neoplasia em mulheres com obesidade visceral. Os estudos históricos de Schapira e col. (1990, 1994) demonstraram que as mulheres com excesso deste tipo de gordura apresentavam maior risco para cancro da mama, tanto através da medição da razão cintura-anca e das pregas cutâneas, como posteriormente, através da determinação da gordura visceral por TAC. Na mesma altura Folsom publicou um estudo que revelava que a rca, o peso, o IMC e o aumento ponderal desde os 18 anos era superior nas mulheres com cancro da mama, quando comparados com um grupo controlo, depois de efectuado o ajuste para a idade (Folsom, 1990).

O perímetro da cintura surge como um marcador mais fiável do que o peso corporal e a rca na avaliação do risco de cancro da mama (Kaaks, 1998; Huang, 1999). A distribuição da gordura corporal revelou ser melhor marcador para cancro da mama do que o índice de massa corporal e explicar as diferenças que são encontradas entre as mulheres obesas na pré e pós-menopausa (Stoll, 1996). Isso é pertinente tanto antes como após a menopausa. Mes-

mo mulheres jovens magras com excesso de gordura visceral avaliada por TAC ou RMN, apresentam risco aumentado de cancro da mama após a menopausa (De Ridder, 1992a).

Os trabalhos de Leong sugerem que a conjugação dos factores que levam ao aparecimento desta neoplasia tem início muito precocemente, mesmo na altura do nascimento. Mulheres com peso ao nascer (PN) igual ou superior a 4,5 Kg ou inferior a 2,3 Kg, têm um risco para obesidade na idade adulta de 1.99 (95% IC 1,13-3,48) e de 1,67 (95% IC 1,01-2,76), respectivamente (Leong, 2002). O SM é uma das complicações no adulto das crianças com atraso de crescimento intra-uterino (Fall, 1995) e a macrossomia fetal (peso ao nascer superior a 4000g) é marcador de DM2 no futuro. Num trabalho realizado em 881 mulheres com cancro da mama diagnosticado antes dos 40 anos, foi demonstrado um OR de 1,25 (95% IC 1,0-2,51) nas doentes com peso ao nascer superior a 4000 g e de 1,59 (95% IC 1.0-1,55) nas nascidas com peso inferior a 2500 g (Mellemkjer, 2003). Por outro lado o aumento ponderal em jovem parece condicionar o aparecimento de cancro da mama após a menopausa. Um aumento de peso superior a 9 Kg desde os 18 anos até à idade adulta duplica o risco para aquela neoplasia (Michels, 2003).

4.6.3 Mecanismos de carcinogénese mamária na síndrome de resistência à insulina

De todos os factores de risco para o aparecimento de carcinoma da mama, o mais importante é certamente o hiperestrogenismo persistente e prolongado. Se até há relativamente pouco tempo se pensava que a anovulação e a insuficiência luteal eram considerados factores de protecção para o carcinoma da mama, o avanço no conhecimento da fisiopatologia da SOP e dos mecanismos hormonais implicados na patogénese do cancro da mama permite actualmente fazer o raciocínio contrário (Stoll, 1997). Um número elevado de mulheres com cancro da mama tem história prévia de anovulação crónica, independente de se encontrarem ou não na menopausa (Grattarola, 1973, 1974). O risco para esta neoplasia parece estar elevado nas fases do ciclo de vida da mulher já por si associadas a um aumento fisiológico da resistência à insulina, como na puberdade, gravidez e menopausa, especialmente se acompanhadas de ganho excessivo de peso. A menarca precoce e menopausa tardia são factores de risco tradicionais, o que sugere uma associação com uma maior duração da exposição da glândula mamária aos esteroides ováricos na

pré-menopausa (Kelsey, 1979). As mulheres com níveis elevados de estrogénios na pré-menopausa têm risco aumentado para o desenvolvimento de carcinoma da mama na pós-menopausa (Thomas, 1997).

A utilização de estrogénios exógenos também parece associar-se a um maior risco para cancro da mama (Lawson, 2001). Com efeito, a expressão dos receptores de estrogénios-α (RE-α) parece correlacionar-se com o IMC nas mulheres sob tratamento com THS (Terapêutica Hormonal de Substituição).

Um estudo elaborado pelo *"Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer"* (CGHFBC, 1997) demonstrou um risco relativo acrescido de 1,02 (95% IC; 1,011-1,036) por cada ano de uso de THS e um risco global após 5 anos de utilização de 1,35 (1,21-1,49; p=0,00001).

O *"Women Health Iniciative"* (WHI) confirma o risco de cancro da mama (HR 1,24; p<0,001) nas mulheres saudáveis utilizadoras de THS que apresentavam maior incidência de carcinoma invasivo. Estas doentes apresentavam ainda tumores de maiores dimensões (média 1,7 cm vs. 1.5 cm; p=0,04) e em estados mais avançados (metastização regional e à distância de 25,4% vs. 16,0%; p=0,04), quando comparadas com um grupo de não utilizadoras de THS. Neste trabalho, o risco aumenta, mesmo durante os primeiros cinco anos de utilização (ao contrário dos resultados iniciais do WHI, em que o risco se elevava apenas no caso de tratamentos de duração igual ou superior a cinco anos), é proporcional à duração da THS e desaparece com a sua suspensão (WHI, 2002; Chlebowski, 2003).

O *"Million Women Study"* (MWS), recentemente publicado, demonstra mais uma vez o risco aumentado de cancro da mama nas utilizadoras de THS (RR 1,66; 95%IC 1,58-1,75), principalmente de estroprogestativos orais, independentemente do tipo de estrogénios e progestativos utilizados e do modo de utilização, contínuo ou intermitente (MWSC, 2003).

Se durante a pré-menopausa o principal estrogénio circulante é o 17ß-estradiol (E2), já na pós-menopausa os níveis de estrogénios são determinados pelos níveis de estrona (E1), um esteroide de origem essencialmente supra-renal que resulta da conversão da androstenediona pela enzima aromatase (P450aro). Esta enzima existe também nos tecidos periféricos, nomeadamente nas células mamárias e no tecido adiposo. No cancro da mama existe uma hiperactividade da P450aro, principalmente a nível periférico (Enriori, 1984). Outra fonte de estrona na mulher na pós-menopausa é provavelmente a sua produ-

ção local no tecido mamário a partir do sulfato de estrona pela enzima estrona sulfatase (ES). A estrona parece ser o mais potente estrogénio que induz a proliferação das células epiteliais da mama. Nas células tumorais da mama, existe uma maior quantidade de estrona sulfatase (Pasqualini, 1997) do que nas células epiteliais normais, assim como de 17*ß*-hidroxiesteroide desidrogenase, a enzima que converte a estrona em 17*ß*-estradiol. Está bem estabelecido que na obesidade, principalmente se do tipo visceral, existe uma hiperactividade do P450aro no tecido adiposo com elevada taxa de produção de estrogénios pelos mecanismos referidos (Fig. 3).

A "hipótese insulínica" introduzida nos anos 90 estabelece o hiperinsulinismo como o elo de ligação entre resistência à insulina e o cancro, nomeadamente o cancro da mama (Brunning, 1992). Com efeito, como foi referido anteriormente, o hiperinsulinismo induz alterações hormonais que favorecem o hiperandrogenismo e o hiperestrogenismo necessários para a estimulação da proliferação das células epiteliais da mama.

Tanto a insulina como a IGF1 são importantes mitogénios celulares, *in vivo* e *in vitro*. As mulheres com cancro da mama têm níveis de peptídeo-C mais elevados e apresentam maior incidência de alteração da tolerância à glicose do que as mulheres sem cancro, mesmo na pré-menopausa (Yang, 2001).

Os níveis de estrogénios e androgénios livres são elevados e a SHBG e IGFBP3 estão diminuidas nestas doentes (Kaaks, 1996).

As células epiteliais mamárias possuem ainda receptores para insulina e IGF's (IR, *insulin receptor;* IGF1-R's, *insulin growth factor receptors*). Os níveis de IGF1-R estão elevados nas células tumorais malignas, quando comparados com as células normais e de tumores benignos (Sachdev, 2001). No cancro da mama, os receptores estrogénicos (RE) e de progesterona (RP) nas células neoplásicas tem valor prognóstico, sendo o seu número directamente proporcional à resposta ao tratamento hormonal (Stoll, 1997). Na mulher com carcinoma mamário existe uma correlação positiva entre o "*status*" dos RE e o dos receptores da IGF1-R e uma correlação negativa entre os RE e a expressão de IGFBP3 (Stoll, 2000). Estudos recentes indicam que toda a família dos IGF-R estão sob controle dos RE, que regulam não só a transcrição da IGF, como dos IGF-R's, IGFBP's e IRS-1 *(insulin receptor substrat –1)*. Por outro lado, existe alguma evidência de que a IGF e IGFBP1 regulam a expressão dos RE e RP de um modo positivo e negativo, respectivamente. Tudo indica ainda que têm um papel importante na estimulação da aromatase no

tecido mamário, convertendo a testosterona em estradiol (Sachdev, 2001). Deste modo, tanto a insulina directamente como através dos factores de crescimento *insulin-like*, parece actuar sinergicamente com os estrogénios contribuindo para a estimulação da proliferação das células mamárias (Fig.4).

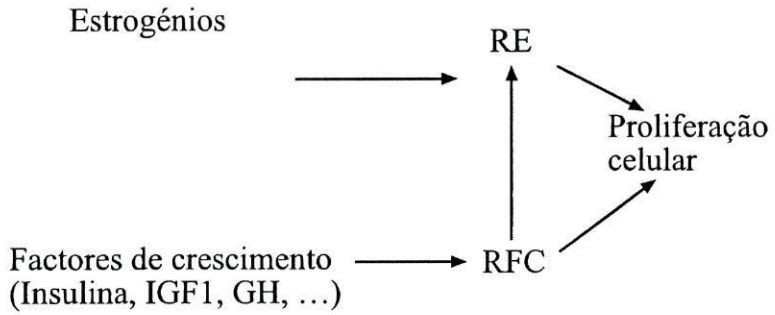


Fig. 4 – **Acção sinérgica entre os estrogénios e os factores de crescimento** (RE – Receptores estrogénios; RFC – Receptores F. Crescimento).

Um modelo que poderá ser utilizado para tentar compreender a influência do eixo da hormona de crescimento-IGF1 na patogénese de determinados cancros é a acromegalia. Esta doença resulta da hiperprodução de hormona de crescimento (GH) por um tumor da hipófise e do consequente aumento de IGF1. Os avanços no diagnóstico e tratamento desta doença têm permitido prolongar a vida dos doentes, evidenciando o elevado risco de morte por doença oncológica. Sabe-se que o risco de morte por carcinoma colorectal está aumentado 2,5 vezes nos acromegálicos (Orme, 1998) e que o risco de cancro do colon é 2,5 vezes superior nos doentes com IGF1 no limite superior do normal (Jenkins, 2000). Outras neoplasias associadas a esta patologia são o cancro da mama e da próstata. As mulheres acromegálicas têm o quádruplo do risco para cancro da mama (Nabarro, 1987) e o homens com acromegalia apresentam um volume prostático e níveis de PSA superiores aos indivíduos sem cancro (Orme, 1998). Estes doentes têm ainda uma tendência aumentada para a DM2, HTA e dislipidemia. A principal causa de morte nos doentes acromegálicos é a doença cardiovascular. A acromegalia pode funcionar assim como um modelo para tentar compreender a relação entre o sistema IGF, a insulino-resistência, a doença cardiovascular e o cancro.

Outra área que tem vindo a despertar o interesse dos investigadores está relacionada com os efeitos da terapêutica com hormona de crescimento para os indivíduos com deficiência de GH. Um estudo prospectivo recente (Swerdlow, 2002) concluiu que o tratamento com hormona de crescimento em doses suprafisiológicas nos doentes portadores de deficiência de GH revelaram um risco aumentado de mortalidade por cancro em geral (OR 2,8; 95% IC 1,3-5,1) e aumento da incidência e mortalidade por cancro colorectal (OR 7,9; 95% IC 1,0-28,7 e OR 10,8; 95% IC 1,3-38,8, respectivamente).

É ainda controverso se a obesidade agrava o prognóstico do carcinoma da mama, independentemente do facto de o aumento do volume mamário nas mulheres obesas contribuir para um diagnóstico tardio.

No entanto, são vários os estudos demonstrando uma maior agressividade em termos de invasão, metastização e resistência à quimioterapia nestes casos (Boyd, 1981; Verreault, 1989; Falkson, 1990; Daniell, 1999; Chlebowski, 2002).

Os mecanismos que explicam a eventual invasibilidade e capacidade de angiogénese e metastização começam agora a ser intensamente investigados. A leptina parece ter um papel fundamental neste processo. Nas doentes com cancro da mama, os níveis plasmáticos de leptina e a expressão desta hormona ao nível do tecido adiposo e tecido tumoral são mais elevados do que nas mulheres sem doença (Tessitore, 2000; Hu, 2002). A leptina está ainda positivamente relacionada com os níveis de estrogénios livres e de insulina: a secreção de leptina estimulada pela insulina aumenta por sua vez a actividade da P450aro e a angiogénese tanto *in vitro* como *in vivo*.

Este processo envolve outros mediadores que fazem também parte do processo inflamatório e da resistência à insulina. Nele se incluiem a Proteina C-reactiva, as metaloproteinases, as prostaglandinas (PG's), a família das urocinases e os receptores PPAR's.

Em modelos animais de experimentação a expressão excessiva de PCR estimula a expressão genética celular, levando ao aumento do crescimento tumoral e potencial metastático, estando associada a neoplasia da mama (Blobe, 1994). Animais submetidos a dietas ricas em gorduras, nomeadamente n-6 PUFA's, apresentam aumento da actividade da PCR em vários tecidos, incluindo o epitélio mamário (Hilakivi-Clarke, 1998).

No carcinoma invasivo da mama verifica-se um aumento da expressão das metaloproteinases MMP2 e MMP9, proteinases responsáveis pela ruptura do tecido conjuntivo envolvida no processo de invasão e metastização (Rha, 1997).

As prostaglandinas, principalmente a PGE_2, sintetizada a partir do ácido gordo ω-6 ácido araquidónico sob influencia da cicloxigenase (COX), estão também envolvidas na invasão, metastização e angiogénese, parecendo, além disso, estimular a produção de leptina (Rose, 2002).

A *"urokinase-type plasminogen activator"* (uPA), é uma enzima proteolítica recentemente descoberta, que tem como função converter o plaminogénio em plasmina e parece ter um importante papel na destruição da matriz extracelular, um dos principais mecanismos de metastização. Os seus níveis são regulados pelo PAI-1 e PAI-2. Está demonstrado que tanto os níveis de uPA como de PAI-1 são factores independentes de mau prognóstico no cancro da mama. A síntese de uPA e de PAI-1 no tecido mamário é controlada pela insulina e IGF1, estando elevados na resistência à insulina (Bouchet, 1994; Peyrat, 1998; Stoll 2000).

A expressão da aromatase (principal fonte de estrogénios na pós-menopausa) ao nível do tecido adiposo é também regulada por diversas citoquinas, nomeadamente a oncostatina-M, a IL-6 e IL-11 e o TNF-α, que também inibem a diferenciação do tecido adiposo. Os agonistas dos receptores PPARγ, utilizados no tratamento da DM2 e da síndrome metabólica, ao antagonizar esta acção provaram inibir a proliferação de células tumorais mamárias em cultura. Os agonistas dos receptores dos retinoides potencializam esta acção inibidora das glitazonas (Mehta, 2000).

A descoberta de novas citoquinas produzidas pelo tecido adiposo veio estimular os investigadores no sentido de estudar a sua relação com o cancro. Com efeito, a adiponectina parece relacionar-se inversamente com o risco de carcinoma do endométrio (Dal Maso, 2004). Mantzoros e col. publicaram recentemente um estudo (Mantzoros, 2004) que conclui que níveis baixos de adiponectina estão associados a um maior risco para cancro da mama (OR 0,84; 95% IC 0,71-0,99), especialmente na pós-menopausa (OR 0,82; 95% IC 0,67-1,0) e independentemente do sistema IGF1, leptina, IMC, variáveis socio-demograficas e outros factores de risco para cancro da mama.

5. DOENTES E MÉTODOS

5.1 Selecção do grupo de doentes e do grupo controlo

O recrutamento de doentes e do grupo controlo foi efectuado entre Janeiro de 2001 e Agosto de 2003. As doentes foram seleccionadas aleatoriamente na Consulta de Grupo de mama do IPOFG/CROP, S.A.. Os critérios de inclusão consistiram no facto de terem idade igual ou superior a 40 anos, cancro da mama recém diagnosticado, não ter diagnóstico de diabetes, não ter antecedentes de doença oncológica e aceitar cooperar no trabalho. A selecção do grupo controlo foi efectuada entre os funcionários do IPOFG/CROP, S.A., as voluntárias da Liga Portuguesa Contra o Cancro (LPCC) e doentes daquela instituição não oncológicas, com patologia tiroideia benigna. A constituição do grupo controlo obedeceu a todos os critérios do grupo de doentes exceptuando o facto de ter cancro da mama. Foi ainda considerado critério de exclusão ter antecedentes de patologia proliferativa benigna da mama. Na selecção da amostra estudada pretendeu-se que às doentes fosse colhido sangue logo após terem dado entrada no IPO, de modo a que a terapêutica, nomeadamente o tratamento adjuvante (radioterapia e quimioterapia) não interferisse com a avaliação. Sete controlos apresentavam patologia nodular benigna da tiroide, que segundo a literatura não se associa ao cancro da mama (Simon, 2002). Embora a selecção do grupo controlo tivesse sido aleatória, procurou-se que fosse semelhante ao grupo de doentes em termos de idade e estádio de menopausa.

Depois de inquiridas sobre os critérios referidos, as participantes no estudo assinavam o Consentimento Informado (anexo 1), e eram submetidas ao Protocolo do Trabalho (anexo 2). O Protocolo teve a aprovação da Comissão Coordenadora do Mestrado em Oncologia e da(s) Direcção(s) Clínicas do IPOFG/CROP, S.A., nomeadamente do Departamento de Investigação, que também aprovou o modelo para o Consentimento Informado.

No grupo de doentes foram seleccionadas 77 mulheres, 34 das quais foram excluídas. Os motivos de exclusão constam da Fig. 5.

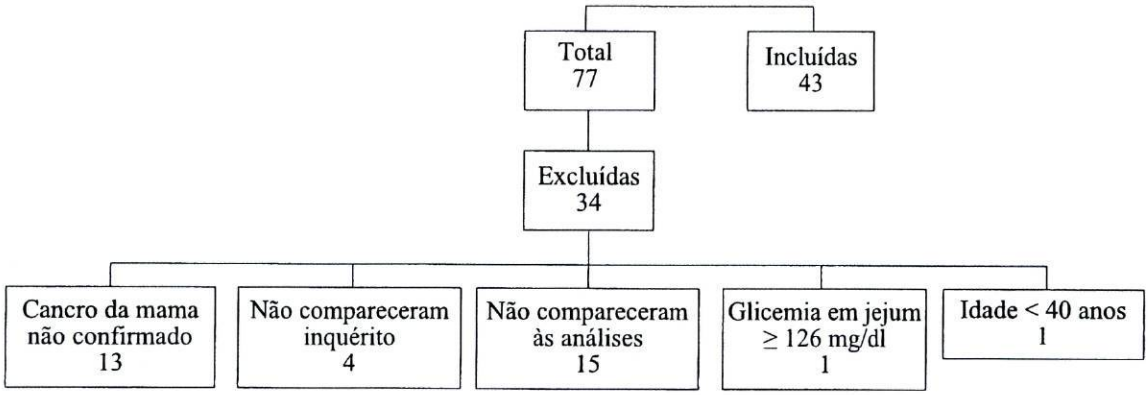


Fig. 5 – **Critérios exclusão no grupo de doentes.**

Todos as voluntárias que aceitaram participar no trabalho foram incluídas no grupo controlo (Fig. 6).

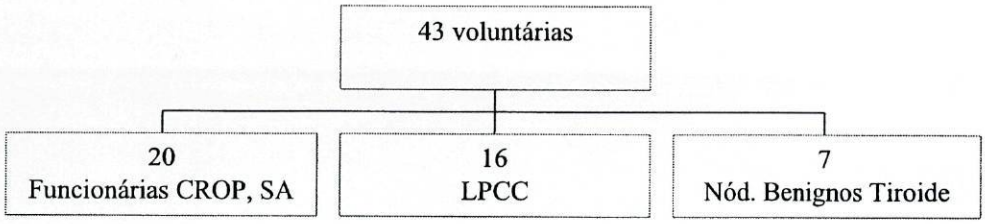


Fig. 6 – **Constituição do grupo controlo.**

Os parâmetros avaliados foram:

5.1.1 Factores de risco para DM2, DCV e cancro da mama

- Hábitos tabágicos e alcoólicos (sim/não).
- Prática de exercício físico (sim/não).
- Idade da menarca e/ou menopausa.
- Utilização (sim/não) de anticoncepcionais orais (ACO) e/ou terapêutica hormonal de substituição (THS) e duração do tratamento.

- Paridade e idade do primero parto de termo; número de gestações e partos.
- Antecedentes conhecidos de diabetes gestacional (DG) e/ou macrossomia fetal (PN ≥ 4000g).
- Antededentes conhecidos de HTA, dislipidemia, hiperuricemia.
- Antecedentes familiares de DM2.
- Antecedentes familiares de cancro da mama - familiares do primeiro grau (mãe, irmã, filhas).

5.1.2 Parâmetros antropométricos e tensão arterial

- Peso (Kg), altura (cm), IMC (Kg/m^2).
- Tensão arterial medida no membro superior direito, na posição de sentada, após 10 minutos de repouso (*Criticare, 506 DX-NT, B. Braun Medical, Lda.).*
- Perímetro da cintura (ponto médio entre o rebordo da 12ª costela e a crista ilíaca), perímetro da anca (ponto mais largo entre os dois trocanteres) e razão cintura-anca.

5.1.3 Parâmetros analíticos

- Perfil lipídico (CT, TG, HDL-C, LDL-C)
- Ácido úrico
- PTGO com doseamento de glicose e insulina aos 0', 30', 60', 90' e 120', com início

Quadro III - **Interpretação dos resultados da PTGO (ADA, 1997)**

	Glicemia jejum	***Glicemia 120'***
Normal	< 6,1 mmol/L	< 7,8 mmol/L
ITG (intolerância à glicose)	< 6,1 mmol/L	≥7,8 < 11,1 mmol/L
AGJ (alteração da glicemia em jejum)	≥ 6,1 <7,0 mmol /L	< 7,8 mmol/L
DM2	≥ 7,0 mmol/L	≥ 11,1 mmol/L

entre as 8 e as 9 horas, após 10-12h de jejum, segundo as normas da OMS (OMS,1980). Os resultados da prova foram interpretados segundo os critérios mais recentes da ADA (ADA, 1997).

- TSH e cortisol urinário (para exclusão de hipotiroidismo e hipercortisolismo).
- Gonadotrofinas (para confirmação de menopausa).
- IGF1, leptina, SHBG, δ4-androstenediona, estrona.

Os critérios adoptados para definição da síndrome metabólica foram os critérios do NCEP/ATPIII (cap 5.3.3).

O cálculo da resistência e sensibilidade à insulina foi obtido através das fórmulas HOMA-RI e ISIcomp (cap. 5.3.1).

Por motivos relacionados com o programa de recuperação das listas de espera cirurgicas, 4 doentes fizeram o estudo analítico após a cirurgia, mas antes de qualquer tratamento adjuvante.

O doseamento de TSH não foi efectuado a duas doentes. O cortisol urinário não pode ser determinado em 18 mulheres (17 doentes e 1 controlo), uma vez que a urina de 24 horas não foi entregue no laboratório. A δ4-androstenediona não foi doseada em 2 mulheres.

Do protocolo de estudo fazia também parte a determinação da composição corporal total e da distribuição da gordura por Dexa (densitómetro *QDR-4500* da *Hologic*, equipado com software para determinação da composição corporal) a todas as doentes e controlos. A percentagem de massa gorda da cintura foi determinada criando uma região de interesse ao nível de L4-L5, e a percentagem de massa gorda da anca criando uma região de interesse ao nível da bacia. O estudo da composição corporal e distribuição da gordura só foi possível efectuar parcialmente, uma vez que nem todas as doentes compareceram ao exame e, além disso, a realização de tal exame a todos os controlos aumentava significativamente os custos. No entanto, foi possível realizar um estudo comparativo entre as medidas antropométricas clássicas e a percentagem de gordura corporal total e sua distribuição a um grupo de 44 doentes, que incluiu um subgrupo de 34 mulheres pertencentes ao grupo de doentes com cancro da mama e 10 doentes cuja histologia do nódulo suspeito revelou patologia benigna da mama (cap. 6.6).

A correlação com os níveis dos receptores dos estrogénios e progesterona, com o índice ki67 e o estadiamento do tumor, bem como o estudo dos polimorfismos dos recep-

tores dos estrogénios e progesterona, previstos no protocolo inicial tiveram que ser adiados por questões de logística e tempo para estudos posteriores.

O inquérito foi sempre efectuado pela autora do trabalho. As medições do peso, da altura, dos perímetros da cintura e da anca e da tensão arterial foram sempre determinados pelo mesmo grupo de observadores. A balança e o aparelho de medição da TA não variaram ao longo de toda a recolha dos dados. Todas as análises foram processadas no mesmo laboratório, pela mesma técnica laboratorial e pelos mesmos profissionais. A análise estatística ficou a cargo de uma única pessoa.

5.2 Métodos analíticos

- A FSH, LH, TSH e a insulina foram doseados por quimioluminescência (QML) ("Immulite" 2000, DPC, Los Angeles, USA) com limites de sensibilidade do método de 0,1 mUI/ml, 0,1 mUI/ml, 0,002 μUI/mL e 2μUI/ml respectivamente.
- O Peptídeo-C foi determinado por imunoensaio competitivo de fase sólida por quimioluminescência (DPC, Autoanalizador "Immulite"; DPC, Los Angeles, U.S.A.); limite de sensibilidade de 0,3 ng/mL.
- O cortisol urinário foi determinado por imunoensaio competitivo, CAC, tubo revestido por ligação competitiva (RIA) (Contador Gama, LKB1271 RIAGAMA, DiaSorin, Stillwater, U.S.A.), sensibilidade analítica 0,21 μg/dL.
- A δ4-androstenediona foi doseada por imunoensaio competitivo, CAC, tubo revestido por ligação competitiva (RIA) (Contador Gama, LKB1271, RIAGAMA, DSL, Webster, USA), sensibilidade analítica 3 ng/dL.
- A IGF1 e a leptina foram determinadas por imunorradiometria, IRMA (Contador Gama, LKB1271 RIAGAMA, DSL, Webster, U.S.A), sensibilidade analítica 0,80 ng/mL e 0,10 ng/mL, respectivamente.
- A SHBG foi doseada por IRMA (Contador Gama, LKB1271 RIAGAMA, DPC, Los Angeles, USA), limite de sensibilidade 0,04 nmol/L.
- A estrona foi doseada através de um ensaio que se baseia na competição entre a estrona marcada com iodo das amostras dos calibradores por um número limitado de locais de ligação do anticorpo que se adiciona. Após incubação, a quantidade de

estrona marcada ligada ao anticorpo, relaciona-se inversamente com a quantidade presente na amostra. A separação entre o antigénio ligado e livre é efectuada recorrendo a um sistema de duplo anticorpo (Contador Gama, LKB1271 RIAGAMA, DPC, Los Angeles, USA), limite sensibilidade 1.2 pg/mL.

5.3 Métodos estatísticos

Os dados obtidos no inquérito, no exame físico e os resultados das análises efectuadas foram registadas numa folha do Microsoft Excel, versão 2000.

Utilizou-se o programa SPSS for Windows (versão 12.0, Chicago, IL, USA) na análise estatística dos dados.

O nível de significância adoptado foi de 0,05.

A comparação entre grupos foi analisada pelo teste t de *student* em relação às variáveis contínuas e qui-quadrado (χ^2) para as variáveis categóricas.

O risco foi estimado utilizando o *odds ratio* (OR) e respectivo intervalo de confiança (95% IC), através de análise de regressão logística univariável e multivariável.

O teste de *Pearson* foi utilizado na análise de correlação entre variáveis contínuas.

6. RESULTADOS

6.1 Análise geral da população estudada

Quadro IV - **Características gerais da população estudada**

	Ca Mama (n = 43)	*Controlos (n=43)*	*p*
Idade (anos)	58,7±11,7	58,7±9,9	0,98 (ns)
Pós-Menopausa – n (%)	34 (79,1%)	31 (72,1%)	0,45 (ns)
Idade menopausa (anos)	48,8±5,3	48,4±4,8	0,72 (ns)
LH (nr = 1,9-10,0 mU/mL)	17,8±10,0	16,4±11,2	0,57 (ns)
FSH (nr = 1,9-10,0 um/mL)	44,1±29,0	44,9±26,1	0,90 (ns)
TSH (n=84) (nr = 0,4-4,0 uUI/mL)	1,57±1,1	3,5±6,2	0,06 (ns)
Cortisol u (n=68) (nr = 75-270 ug/dia)	161,5± 69,7	149,8±71,5	0,07 (ns)
Hábitos tabágicos	4 (9,3%)	2 (4,7%)	0,65 (ns)
Hábitos alcoólicos	3 (7,0%)	1 (2,3%)	0,31 (ns)
Exercício físico	4 (9,3%)	14 (32,6%)	0,04
Idade menarca (anos)	13,6±1,5	12,4±1,5	< 0,001
ACO (n=42)	16 (37,2%)	21 (50,0%)	0,23 (ns)
Duração ACO (anos)	11,6±8,0	8,7±7,0	0,20 (ns)
THS (n=65)	7 (22,6%)	7 (20,6%)	0,50 (ns)
Duração THS (anos)	1,7±1,3	5,1±3,1	0,03
Paridade (n=85)	34 (81,0%)	32 (74,4%)	0,47 (ns)
Idade 1ª gravidez (anos)	24,9±4,9	25,0±4,8	0,88 (ns)
Nº de gestações (n=69)	3,1±3,1	3,0±1,8	0,77 (ns)
Nº de partos(n=69)	2,6±1,7	2,5±1,7	0,86 (ns)
Cancro da mama familiar	34 (81,0%)	32 (74,4%)	0,60 (ns)

A análise do Quadro IV permite concluir que ambos os grupos (doentes e controlos) eram homogéneos do ponto de vista da idade, do estado de menopausa (confirmada através do doseamento de FSH e LH) e da idade de início da mesma. Do ponto de vista da

função tiroideia e cortisolúria, também não havia diferenças significativas entre os dois grupos, embora a TSH fosse mais baixa no grupo de doentes.

Em relação aos antecedentes pessoais e patológicos verificamos que apenas uma pequena percentagem de mulheres tinha hábitos tabágicos ou alcoólicos, não se tendo verificado em ambos os casos significado estatístico na diferença entre os dois grupos. No que se refere à prática de exercício físico constatou-se que o grupo controlo tinha de um modo geral mais actividade física que o grupo de doentes e que essa diferença era significativa (32,6% vs. 7,0%; p=0,04).

A idade média da menarca era superior a 12 anos em ambos os grupos sendo, no entanto, significativamente superior no grupo de doentes (13,6 vs. 12,4 anos; p<0,001).

A referência à utilização de ACO foi mais frequente no grupo controlo, sem atingir no entanto significado estatístico (50,0% vs. 37,2%, p=0,23). A percentagem de doentes que referiu ter alguma vez feito THS foi semelhante nos dois grupos. Nesta amostra, os controlos fizeram mais tempo THS, com diferenças significativas em relação às doentes. Apenas um controlo fez THS durante mais de cinco anos.

Não se registaram diferenças entre os dois grupos no que se refere à percentagem de nulíparas e à idade do primeiro parto de termo. A idade média do primeiro parto de termo rondou os 25 anos em ambos os grupos. A maioria das mulheres era multípara, sendo que 81% das doentes vs. 74,4% dos controlos tinham tido pelo menos um filho (p=0,47). Não foram registadas diferenças entre o grupo de doentes com cancro e os controlos no que respeita ao número de gravidezes e partos de termo (p=0,77 e 0,86 respectivamente).

Quando inquiridas acerca da presença de familiares obedecendo aos critérios utilizados para a definição de cancro da mama familiar, 81,0% das doentes e 74,4% dos controlos referiam, pelo menos uma familiar tratada de neoplasia da mama, diferença não significativa entre os dois grupos (p = 0,60).

6.2 Factores de risco para DM2 e DCV

Quadro V - **Factores de risco para DM2 e DCV**

	Ca Mama (n=43)	*Controlos (n=43)*	*p*
Diabetes Gestacional (n=69)	0 (???)	0 (???)	–
Macrossomia fetal (n=69)	11 (31,4%)	3 (8,6%)	0,02
Antecedentes familiares de DM2	16 (37,2%)	14 (32,6%)	0,65 (ns)
Dislipidemia	20 (46,5%)	19 (44,2%)	0,83 (ns)
HTA	21 (48,8%)	12 (27,9%)	0,46 (ns)
Hiperuricemia	4 (9,3%)	3 (7,0%)	0,69 (ns)

Nenhuma das mulheres inquiridas referiu ter tido diabetes gestacional. No entanto, a grande maioria (71,4% em ambos os grupos) não tinha efectuado rastreio de DG durante a gravidez. Este facto poderá ser explicado pela faixa etária a que pertencem, uma vez que na época em que a maioria delas engravidou, não era feito o rastreio sistemático da doença, que terá passado despercebida em muitos casos. No entanto, quando inquiridas acerca do peso ao nascer dos filhos, quase todas respondiam com absoluta certeza, com excepção daquelas que tinham tido partos no domicílio. A segurança destas respostas permite afirmar que o grupo de doentes tinha significativamente maior prevalência de macrossomia fetal do que os controlos (31,4% vs. 8,6%, p=0,02). A história familiar de DM2 era conhecida de 37,2% das doentes e 32,6% dos controlos (p=0,65). A maioria das inquiridas que não referiam diabetes tipo 2 nos famíliares, não tinha, no entanto, certeza das respostas.

As respostas obtidas no inquérito em relação ao conhecimento prévio de dislipidemia, HTA e hiperuricemia não diferiram nos dois grupos com p = 0,83; 0,46 e 0,69, respectivamente (Quadro V).

6.2.1 Parâmetros antropométricos e tensão arterial

Como é possível observar no Quadro VI, ambos os grupos eram homogéneos em termos de altura (155,9 vs. 157,7 cm; p=0,24), peso (68,0 vs. 65,4 kg; p=0,36) e IMC (28,0 vs. 26,3; p=0,06), embora o grupo controlo fosse de um modo geral mais alto e mais

magro. Apesar da diferença entre as médias não atingir significado estatístico, as doentes com cancro da mama tinham um IMC mais elevado e apresentavam uma maior prevalência de excesso ponderal (55,8% vs. 44,2%) e obesidade (23,2% vs. 16,3%), embora as diferenças não tivessem sido estatísticamente significativas.

Quadro VI – **Antropometria e tensão arterial**

	Ca Mama (n=43)	*Controlos (n=43)*	*p*
Altura (cm)	155,9±6,5	157,7±6,7	0,21 (ns)
Peso (kg)	68,0±11,8	65,4±10,0	0,26 (ns)
IMC (kg/m²)	28,0±4,5	26,3±3,7	0,06 (ns)
< 25	9 (20,9%)	17 (39,5%)	0,54 (ns)
≥25<29,9	24 (55,8%)	19 (44,2%)	0,15 (ns)
≥30<34,9	8 (18,6%)	7 (16,3%)	0,31 (ns)
≥35	2 (4,6 %)	0 (0,0%)	1,0 (ns)
pc (cm) (n=85)	91,8±84,3	84,3±12,1	0,004
pc > 80	38 (88,4%)	26 (60,5%)	0,003
pc > 88	26 (60,5%)	18 (41,9%)	0,08 (ns)
pa(cm) (n=85)	102,9±10,2	99,5±8,5	0,09 (ns)
rca (n =85)	0,89±0,08	0,85±0,1	0,55 (ns)
rca ≥ 0,85	28 (65,1%)	22 (51,2%)	0,2 (ns)
Nº de hipertensos	32 (74,4%)	19 (44,2%)	0,004
TAS (mmHg)	144,7±24,4	127,2±16,8	<0,001
TAS ≥ 130	29 (67,4%)	14 (32,6%)	0,002
TAD (mmHg)	75,8±12,0	73,5±10,3	0,83 (ns)
TAD ≥ 85	9 (20,9%)	5 (11,6%)	0,24 (ns)

Quando analisamos o pc, as diferenças foram altamente significativas entre os dois grupos (91,8 vs. 83,3 cm; p=0,004). Segundo os critérios de Lean, o risco cardiovascular estava aumentado (pc >80 cm) em 88,4% das doentes vs. 60,5% dos controlos, e muito aumentado (pc >88cm) em 60,5% das doentes vs. 41,9% dos controlos. A diferença era altamente significativa para pc superior a 80 cm (p=0,003), não tendo atingido significado estatístico para pc superior a 88 cm (p=0,08).

Não se registaram diferenças com significado estatístico entre casos e controlos para o perímetro da anca e para a rca (p=0,09 e 0,55, respectivamente).

A percentagem de doentes com HTA era significativamente superior aos controlos (p=0,004). A TAS média era também mais elevada nas mulheres com cancro da mama (p=0,002). No entanto, não existiam diferenças com significado estatístico entre os dois grupos quando foi analisada a TAD média (p=0,83). Considerando a definição de HTA segundo os critérios NCEP/ATPIII, a medição da TAS revelou que 67,4% das mulheres com cancro vs. 32,6% das voluntárias sem cancro tinha TAS igual ou superior a 130 mmHg (p=0,002). Quanto à TAD, não se verificaram diferenças entre os dois grupos, quer considerando o seu valor médio, quer considerando o valor de 85 mmHg como *"cut-off"* (p=0,24).

6.2.2 Parâmetros bioquímicos

Quadro VII – **Parâmetros bioquímicos**

ANALITO (mmol/l)	***Ca Mama (n=43)***	***Controlos (n=43)***	***p***
Glicemia em jejum (nr=4,2-6,4)	5,5 ± 0,7	5,5 ± 0,4	0,59 (ns)
Colesterol Total (nr=3,44-5,69)	5,9 ±1,1	5,8 ± 1,1	0,60 (ns)
Triglicerídeos (nr =0,5-1,71)	1,6±0,7	1,3±0,67	0,02
LDL-C (nr = 1,71-3,81)	4,2 ±1,0	3,8±0,9	0,09 (ns)
HDL-C (nr = 0,91-1,55)	1,3±0,29	1,4±0,24	0,02
Ác. Úrico (nr =143-416)	230,2±67,7	230,6±57,2	0,98 (ns)

No Quadro VII pode observar-se que as médias dos valores da glicemia basal não apresentaram diferenças com significado estatístico (p=0,59). Em relação aos parâmetros lipídicos, os dois grupos eram significativamente diferentes no que se refere aos TG e HDL-C. As doentes tinham valores mais elevados de TG (1,6 vs. 1,3 mmol/L, p=0,02) e mais baixos de HDL-C (1,3 vs. 1,4 mmol/L, p=0,02) do que os controlos. Quando comparamos os valores médio de CT e ácido úrico em ambos os grupos, verificamos não existirem diferenças com significado estatístico (p=0,60 e 0,98; respectivamente). A LDL-C média foi mais elevada no grupo de doentes, diferença muito próxima do limiar da significância (p=0,09).

6.2.3 Sindrome metabólica

Quadro VIII – **Síndrome metabólica (Critérios NCEP/ATPIII)**

Componentes da SM	*Ca Mama (n=43) % (nº)*	*Controlos (n=43) % (nº)*	*p*
HTA	74,4% (40)	44,2% (19)	0,004
pc > 88 cm	60,5% (26)	41,9% (18)	0,08
HDL-C < 1,3 mmol/l	58,1% (25)	41,9% (18)	0,13
TG ≥ 1,7 mmol/l	39,5% (17)	20,9% (9)	0,06
AGJ (glicemia ≥ 6,1< 7,0 mmol/l)	20,9% (9)	11,6% (5)	0,24
Sínd.Metabólica	48,8% (21)	18,6% (8)	0,003

A análise individual de cada um dos critérios para SM (Quadro VIII) demonstrou que apenas existem diferenças com significado estatístico relativamente à HTA (p=0,004).

Quando classificamos as doentes da nossa amostra de acordo com a definição NCEP/ ATPIII, verificamos que 48,8% das doentes vs. 18,6% dos controlos apresentavam critérios para aquela síndrome, diferença essa estatisticamente significativa (p=0,003).

6.2.4 PTGO, peptídeo-C, índices de resistência à insulina

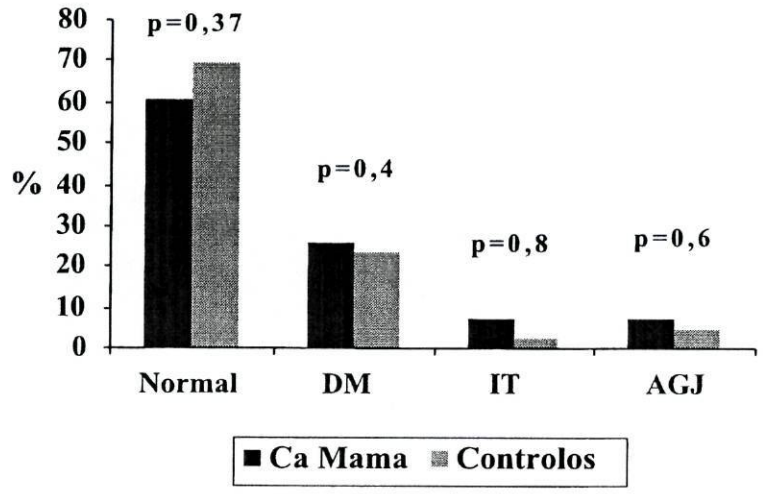


Fig.7 – **Resposta glicémica à PTGO.**

A análise da Fig.7 permite observar as diferenças entre as doentes e os controlos no que se refere aos resultados da PTGO. Esta prova foi normal em 69,8% dos controlos e 60,5% das doentes (p=0,37). Aproximadamente a mesma percentagem de doentes e controlos tinha critérios para DM2 (23,3% e 25,6%, p=0,4). Quanto à ITG e AGJ, embora fossem mais frequentes no grupo de doentes, a diferença entre os dois grupos não foi significativa (p= 0,80 e p=0,59).

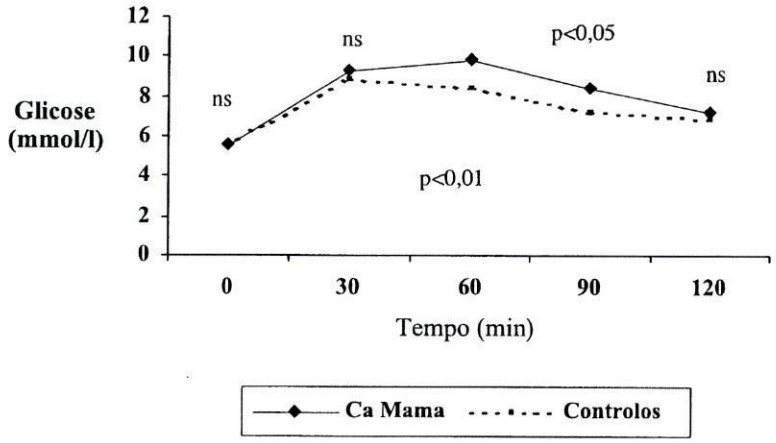


Fig. 8 – **Curva de Glicemia (PTGO).**

Analisando o gráfico da Fig. 8, verificamos não existirem diferenças significativas entre os valores das glicemias no início (tempos 0 e 30 min.) e no final da prova (tempo 120 min.). Já em relação aos tempos 60 e 90 minutos a glicemia média era significativamente mais elevada no grupo de doentes do que no grupo controlo (9,8±2,7 vs. 8,4±2,6 mmol/L aos 60'e 8,5±2,9 vs. 7,2±2,0 mmol/L aos 90').

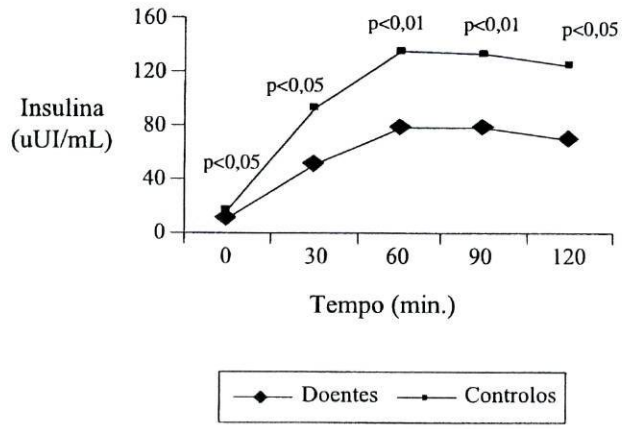


Fig. 9 – **Curva de insulina (PTGO)**

A curva da insulinemia mostra valores de insulina média significativamente mais elevados no grupo de doentes, ao longo de toda a prova (Fig. 9).

Quadro IX - **Valores médios de glicemia, insulina e peptídeo-C basal**

	Ca Mama (n=43)	*Controlos (n=43)*	*p*
Glicemia média (mmol/L)	8,04±1,8	7,33±1,5	0,04
Pico glicémico (mmol/L)	10,06±2,6	9,3±2,1	0,15 (ns)
Insulina média (uUI/mL)	57,57±30,9	42,3±24,9	0,009
Pico insulínico (uUI/mL)	90,17±48,3	75,3±56,8	0,027
Peptídeo-C basal (nr= 0,8-4,0 ng/ml)	3,3±0,8	1,6±0,7	<0,001

A análise do Quadro IX permite verificar que os valores médios de glicemia e insulinemia e o pico da insulinemia durante a PTGO foram também mais elevados nas doentes com cancro da mama. Apenas o pico glicémico não diferiu nos dois grupos. Quanto ao peptídeo-C, as doentes com cancro da mama apresentavam valores médios de 3,3 ng/ml, 50% mais elevados que os valores médios do grupo controlo (1,6 ng/ml; p<0,001).

Por outro lado, ao observarmos o Quadro X concluímos que os índices de resistência à insulina calculada pelas fórmulas HOMA-RI e ISIcomp mostraram que o grupo de doentes com cancro da mama era mais insulinorresistente do que o grupo controlo, uma vez que apresentava valores médios de HOMA-RI significativamente superiores (p=0,03) e de ISIcomp significativamente inferiores (p=0,001).

Quadro X – **Índices de resistência à insulina**

	Ca Mama (n=43)	*Controlos (n=43)*	*p*
HOMA-RI (valores médios: 2,06±0,14)	2,5±1,6	1,6±0,8	0,003
Isi-comp	4,6±2,6	6,9±3,5	0,001

6.2.5 IGF1, leptina, SHBG, δ4-androstenediona, estrona

Quadro XI – **Estudo hormonal**

	Ca mama (n=43)	*Controlos (n=43)*	*p*
IGF1 (ng/mL)			
• 40-70 anos	204,70±110,0	207,6±82,0	0,89 (ns)
• 40-50 anos	284,95±67,27 (n=11)	287,2±129,4 (n=8)	0,97 (ns)
• ≥50 anos	176,40±87,98 (n=32)	189,89±75,17 (n=35)	0,50 (ns)
LEPTINA (ng/mL)			
Grupo global	32,8 ± 11,5	40,1 ± 18,8	0,50 (ns)
• IMC <30 Kg/m²	28,13±11,52 (n=33)	39,6±18,24 (n=36)	0,01
• IMC ≥ 30 Kg/m²	42,47±23,04 (n=10)	48,22±17,05 (n=7)	0,47 (ns)
SHBG	39,1 ± 20,5	47,9±24,6	0,08 (ns)
δ4-ANDROST.	179,1 ± 96,1 (n=41)	160,8 ± 62,2 (n=43)	0,30 (ns)

Como é possível observar no Quadro XI, não se registaram diferenças significativas entre o grupo de doentes e o grupo controlo no que respeita aos níveis sanguíneos de IGF1, leptina e δ4-androstenediona. A δ4-androstenediona média foi superior no grupo de doentes com cancro, embora a diferença não seja estatisticamente significativa (p=0,3). Os níveis de SHBG são inferiores no grupo de doentes; sem contudo atingir significado estatístico (p=0,08).

Paradoxalmente, os níveis de IGF1 e leptina são mais elevados no grupo controlo, apesar de esta diferença não ser estatísticamente significativa. A análise das médias da IGF1 em função da variável que mais influencia o seu valor (a idade), revela que continuam a não existir diferenças entre os dois grupos. Quando estratificamos os valores médios da leptina em função do IMC, verificamos que nas doentes e nos controlos com obesidade (IMC≥30 Kg/m²) a leptina média foi mais elevada que nas mulheres com IMC<30 Kg/m², como seria de esperar. Além disso, as doentes magras apresentavam valores de leptinemia significativamente inferiores aos controlos (p=0,01). No grupo de obesas (IMC≥30 Kg/m²) a média dos valores de leptina foi superior no grupo controlo, mas neste caso a diferença não teve significado estatístico (p=0,57).

Quadro XII– **Níveis de estrona**

	Ca mama (n=43)	*Controlos (n=43)*	*p*
ESTRONA (pg/mL)			
(Total da amostra)	46,9 ± 81,2	61,8 ±142,2	0,56 (ns)
• Pré-menopausa	(n=12)	(n=8)	
• C/ ACO	87,4±140,3 (n=9)	29,7±8,1 (n=7)	0,30 (ns)
• S/ ACO	52,8±31,3 (n=3)	121,8 (n=1)	-
• Pós-menopausa	(n=34)	(n=31)	
• C/ THS	34,10±11,8 (n=7)	269,4±280,7 (n=7)	0,14 (ns)
• S/ THS	41,0±77,0 (n=27)	15,3±12,3 (n=24)	0,09 (ns)

A comparação entre os níveis de estrona no total da amostra não revelou também diferenças significativas entre as doentes e os controlos (Quadro XII). No entanto, a estratificação dos níveis médios de estrona em função das variáveis que mais os influenciam (uso de ACO e THS e menopausa), permite salientar que as doentes na pós-menopausa que não tiveram influência da THS apresentavam valores de estrona superiores aos controlos, e que a diferença entre as médias estava muito próxima do limite de significância (p=0,009). No subgrupo de mulheres na pós-menopausa sob tratamento com THS e no subgrupo na pré-menopausa, os valores médios de estrona não apresentavam diferenças com significado estatístico. O reduzido número de mulheres pré-menopausicas não permitiu tirar qualquer conclusão.

6.3 Correlações entre variáveis

A análise global entre variáveis (Quadro XIII) revela correlações positivas significativas entre o IMC e pc (r=0,70, p<0,001), IMC e insulina basal (r=0,25, p=0,02), IMC e leptina (r=0,38, p<0,001) e pc e insulina basal (r=0,32, p=0,003).

Quadro XIII – **Correlações entre variáveis**

	IMC		*pc*		*Insulina basal*		*Leptina*		*SHBG*		*Estrona*		*Delta-4 And.*	
	r	*p*	*r*	*p*	*r*	*p*	*r*	*p*	*r*	*p*	*r*	*p*	*r*	*p*
IMC	1,0	-	**0,70**	**<0,001**	**0,25**	**0,02**	**0,38**	**< 0,001**	**-0,3**	**<0,001**	-0,05	0,6	0,15	0,16
pc	-	-	1,0	-	**0,32**	**0,003**	0,21	0,05	**-0,27**	**0,01**	- 0,09	0.44	0,01	0,89
Insulina basal	-	-	-	-	1,0	-	0,09	0,40	-0,21	0,05	0,04	0,7	-0,05	0,68
Leptina	-	-	-	-	-	-	1,0	-	0,009	0,9	0,04	0,69	-0,03	-0,78
SHBG	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	0,04	0,70	-0,12	-0,28
Estrona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	0,04	0,96
Delta-4 And.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-

Verificaram-se ainda correlações negativas entre IMC e SHBG assim como entre pc e SHBG (r =- 0,3, p<0,001 e r=- 0,27, p=0,01, respectivamente). No limiar da significância encontrou-se a relação positiva entre o pc e a leptinemia (r=0,21; p=0,05) e a relação inversa entre a insulina basal e a SHBG (r=-0,21; p=0,05). A associação entre as restantes variáveis estudadas não teve significado estatístico.

6.4 Análise do risco para cancro da mama

6.4.1 Factores de risco tradicionais

Quadro XIV– **Risco para cancro da mama devido aos factores de risco tradicionais**

	Nº de casos	*OR*	*95%IC*	*p (χ^2)*
Hábitos Alcoólicos	3	3,1	0,3-31,6	0,3 (ns)
Menarca < 12 anos	4	0,2	0,1-0,7	0,008
Menopausa ≥ 55 anos	4	2,1	0,4-12,1	0,4 (ns)
Nuliparidade	8	0,7	0,2-1,9	0,47 (ns)
Idade da 1ª parto > 30 anos	3	0,5	0,1-1,8	0,28 (ns)
Hx familiar de Ca mama	10	1,3	0,5-3,8	0,60 (ns)

Em relação aos factores de risco tradicionais para cancro da mama que foram analisados (Quadro IV), apenas se registaram diferenças entre os dois grupos em relação à idade da menarca. No entanto, ao contrário do que é tradicionalmente descrito, a idade da menarca apresenta, de acordo com os nossos resultados, um OR protector com significado estatístico. Do mesmo modo, a nuliparidade e a idade do primeiro parto de termo superior a trinta anos, estão associadas uma diminuição do risco para cancro da mama, mas sem significado estatístico (p=0,47 e p=0,28, respectivamente), o que também contradiz a convicção clássica de que a ausência de filhos e o primeiro parto tardio são também factores de risco para aquela neoplasia.

Nos restantes factores que analisamos, apesar de se verificar um aumento de risco para cancro da mama, ele não assume significado estatístico.

Não foi possível analisar a influência da duração da THS, uma vez que apenas um controlo fez terapêutica de substituição hormonal por um período superior a cinco anos. O efeito dos hábitos sedentários será analisado em capítulo seguinte (cap. 6.4.2.1).

6.4.2. Insulino-resistência e síndrome metabólica como factores de risco para cancro da mama

Da análise dos factores de risco para SM e DM2 como factores de risco para cancro da mama (Quadro XV), verifica-se que macrossomia fetal representa um risco cerca de seis vezes mais elevado.

Quanto à história familiar de DM2, o aumento de risco não tem significado estatístico, o mesmo acontecendo com os resultados da PTGO. Ao analisar os componentes da síndrome metabólica individualmente, foi possivel concluir que embora sem significado estatístico, estão associados a um maior risco para cancro da mama, com excepção da HTA (OR 3,7; 95%IC 1,48-9,15; p=0,04). No entanto, o perímetro da cintura superior a 88 cm duplica o risco para neoplasia da mama, encontrado-se próximo do limiar de significância.

A síndrome metabólica definida segundo os critérios NCEP/ATPIII confere um risco para cancro da mama cerca de quatro vezes mais elevado quando comparado com o grupo controlo (OR 4,2; 95% IC 1,58-11,5; p<0,01).

Quadro XV – **Risco para cancro da mama devido aos F. risco para DM2 e DCV**

	Nº casos	*OR*	*95%IC*	*p (χ^2)*
Macrossomia fetal	11	5,9	1,45-24,09	0,008
Hx. Familiar de DM2	16	1,2	0,51-2,99	0,65 (ns)
IMC ≥ 25<30 Kg/m²	24	2,1	0,85-5,50	0,11 (ns)
IMC ≥ 30 Kg/m²	10	1,5	0,53-4.57	0,42 (ns)
pc > 80 cm	38	5,0	1,6-15,2	0,003
pc > 88 cm	26	2,1	0,90-5,02	0,08 (ns)
rca ≥ 0,85	28	1,8	0,75-4,3	0,19 (ns)
LDL-c ≥ 2,58 mmol/L (100 mg/dL)	41	2,1	0,36-12,14	0,40 (ns)
LDL-c ≥ 4,13 mmol/L (160 mg/dL)	18	1,9	0,76-4,58	0,18 (ns)
TG ≥ 1,7 mmol/L (150 mg/dL)	17	2,5	0,95-6,42	0,06 (ns)
HDL-c < 1,3 mmol/L (50 mg/dL)	25	1,9	0,82-4,54	0,13 (ns)
HDL-c < 1,03 mmol/L (40 mg/dL)	6	6,8	0,78-59,2	0,049
TA ≥ 130/85 mmHg ou uso de anti-HTA	32	3,7	1,48-9,15	0,04
Glicemia em jejum ≥6,1<7,0 mmol/L	7	1,5	0,43-5,08	0,53 (ns)
Sind. Metabólica	21	4,2	1,58-11,05	0,003
PTGO anormal	17	1,5	0,62-3,69	0,37 (ns)
Insulinemia basal > 15 μUI/mL	5	5,5	0,62-49,5	0,09 (ns)
HOMA-RI > 2,2	22	6,5	2,3-18,5	<0,001

Na amostra que estudamos, são ainda factores de risco para neoplasia mamária o perímetro da cintura superior a 80 cm (OR 5,0; 95%IC 1,6-155,2; p<0,01) e o índice HOMA-RI acima do limite superior dos valores médios de referência (OR 6,5; 95%IC 2,3-18,5; p < 0,001). Se considerarmos o valor de HDL-C inferior a 1,03 mmol/L (40 mg/dL), o limite utilizado na definição de risco cardiovascular clássico, verificamos que o risco aumenta aproximadamente oito vezes, e que esse OR tem significado estatístico (p=0,049). A avaliação dos resultados da LDL-C, revelou que valores iguais ou superiores a 2,58 (100 mg/dL) e 4,13 mmol/L (160 mg/dL) respectivamente, correspondem a aumentos de risco de cerca de 50%, embora os ORs não tenham significado estatístico (p=0,4 e p=0,18).

Quadro XVI – **Frequência relativa dos componentes da SM**

Componentes da SM	*Ca Mama (n=43) % (nº)*	*Controlos (n=43) % (nº)*	*p*
HTA	74,4% (40)	44,2% (19)	< 0,01
pc > 88 cm	60,5% (26)	41,9% (18)	0,08
HDL-C < 1,3 mmol/L	58,1% (25)	41,9% (18)	0,13
TG ≥ 1,7 mmol/L	39,5% (17)	20,9% (9)	0,06
AGJ (glicemia ≥ 6,1< 7,0 mmol/L)	20,9% (9)	11,6% (5)	0,24
Sínd. Metabólica	48,8% (21)	18,6% (8)	<0,01

Se analisarmos a frequência relativa dos critérios para SM (Quadro XVI), verificamos que no presente trabalho, a HTA é o critério mais frequente (74,4% das doentes), seguido do perímetro da cintura (60,5%), HDL-c (58,1%) e TG (39,5%). A alteração da glicemia em jejum é o critério menos frequente (20,9%), o que está de acordo com a literatura (Ford, 2002).

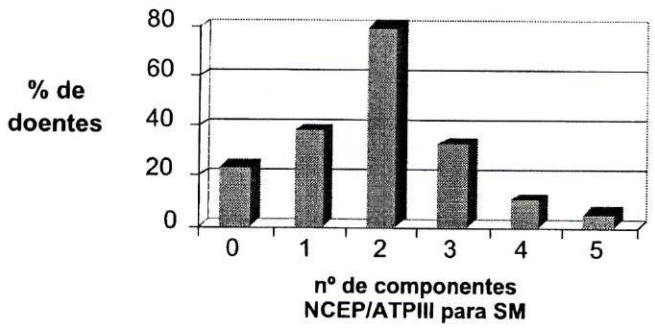


Fig. 10 – **Frequência dos componentes NCEP/ATPIII para SM.**

Na amostra por nós estudada, a grande maioria das doentes apresentava dois critérios para SM (79,1%), enquanto apenas 4,7% reunia os cinco critérios do NCEP/ATPIII (Fig.10).

O risco para neoplasia da mama duplicava à medida que o número de componentes da SM aumentava. Enquanto a presença de dois critérios confere um risco de 2,3 vezes, as doentes com quatro ou mais critérios apresentam um risco 9,3 vezes mais elevado para cancro da mama (Fig.11). Como já foi referido, a SM (presença de três ou mais critérios), aumenta quatro vezes o risco para cancro da mama.

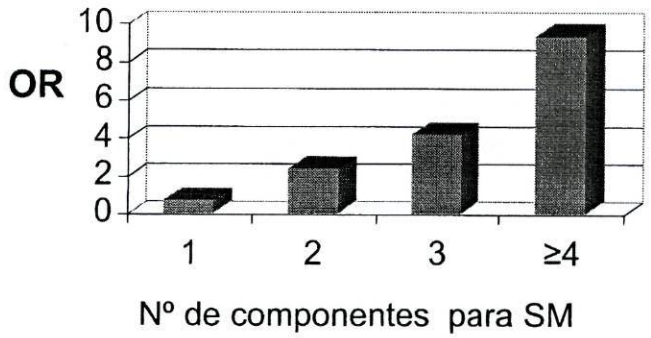


Fig. 11 – **Risco para cancro da mama segundo o nº de componentes SM.**

6.4.2.1. O efeito do sedentarismo

Da análise das características da amostra estudada, pudemos constatar que o sedentarismo foi um dos factores em que as diferenças entre os dois grupos se fizeram sentir. Por esse motivo decidimos analisar separadamente o risco para cancro da mama no grupo de indivíduos sedentários. As características deste subgrupo são apresentada no Quadro XVII.

Embora as características gerais do subgrupo dos indivíduos sedentários fossem muito semelhantes às da amostra geral, o sub-grupo de doentes sedentárias apresentava idade, pc, TAS e insulinemia basal e média superiores à amostra em geral.

Quadro XVII – **Características do subgrupo de indivíduos sedentários**

	Amostra Global (n=86)		*Sedentários (n=68)*	
	Doentes (n=43)	***Controlos (n=43)***	***Doentes (n=39)***	***Controlos (n=29)***
Idade média (anos)	58,7±11,7	58,7±9,9	62,7±17,0	58,9±10,4
IMC (Kg/m²)	28,0±4,5	26,3±3,7	28,22±4,6	26,0±3,9
pc (cm)	91,8±84,3	84,3±12,1	92,4±10,6	84,0±13,7
TAS (mmHg)	144,7±24,4	127,2±16,8	145,4±25,2	127,9±18,7
Glicemia Jejum (mmol/L)	5,5±0,68	5,5±0,4	5,6±0,7	5,4±0,4
TG (mmol/L)	1,6±0,7	1,3±0,7	1,6±0,67	1,2±0,6
HDL-C (mmol/L)	1,3±0,3	1,4±0,2	1,3±0,3	1,4±0,7
Insulina basal (uUI/mL)	9,8±5,8	6,6±3,1	10,1±6,0	6,6±3,6
Insulina média (uUI/mL)	57,6±30,9	42,3±24,9	59,0±31,1	43,3±28,3
Peptídeo-C basal (ng/mL)	3,3±0,8	1,6±0,7	3,4±0,8	1,7±0,8

Como podemos observar no Quadro XVIII, o sedentarismo agrava o risco para cancro da mama da maioria dos parâmetros analisados em que o risco já era significativo (macrossomia fetal, perímetro da cintura superior a 80 cm, tensão arterial sistólica, tensão arterial diastólica).

Quadro XVIII - **Sedentarismo e risco para cancro da mama**

	Sedentarismo		
	OR	***95%IC***	***p***
Macrossomia fetal	16,0	1,85-138,19	0,01
IMC ≥ 25<30 Kg/m²	6,28	1,62-24,,36	0,01
IMC ≥ 30 Kg/m²	6,03	1,57-23,13	0,01
pc > 80 cm	6,06	1,51-24,37	0,01
pc > 88 cm	5,47	1,40-21,37	0,01
rca ≥ 0,85	5,75	1,49-22,19	0,02
LDL-c ≥ 2,58 mmol/L (100 mg/dL)	6,35	0,65-24,44	0,01
LDL-c ≥ 4,13 mmol/L (mg/dL)	6,09	1,58-23,5	0,01
TG ≥ 1,7 mmol/L (150 mg/dL)	2,50	0,95-6,42	0,06 (ns)
HDL-c < 1,3 mmol/L (50 mg/dL)	6,21	1,59-24,27	0,01
TAS ≥ 130 mmHg	5,22	1,27-21,49	0,02
TAD ≥ 85 mmHg	5,83	1,57-23,07	0,01
Glicemia em jejum ≥6,1<7,0 mmol/L	1,48	0,43-5,08	0,53 (ns)
Sind. Metabólica	4,16	1,04-16,,70	0,05
PTGO anormal	5,96	1,55-22,93	0,01
HOMA-RI > 2,2	4,82	1,18-19,74	0,03

Além disso, mesmo na maioria dos parâmetros em que o risco para cancro da mama não era significativo, ele passa a ter significado estatístico quando se analisa o subgrupo dos indivíduos sedentários (excesso ponderal e obesidade, perímetro da cintura superior a 88 cm, rca igual ou superior a 0,85, LDL-C igual ou superior a 2,58 e 4,13 mmol/L, PTGO anormal). No entanto, o risco mantem-se tanto para a síndrome metabólica como para valores de HOMA-RI superiores a 2,2.

6.5 Avaliação da composição corporal por DEXA

Foi efectuado um estudo comparativo entre as medidas antropométricas clássicas e as percentagens de gordura corporal total e regional obtidas por Dexa a 44 mulheres, que incluíram um subgrupo da amostra de doentes com carcinoma da mama (n=34) e outro grupo constituído por mulheres cuja histologia do nódulo mamário suspeito revelou benignidade (n=10). Os parâmetros antropométricos clássicos (peso, perímetro da cintura, perímetro da anca, IMC e razão cintura-anca) foram comparados com a percentagem de massa gorda corporal total, percentagem de massa da cintura e ao nível da anca determinadas por Dexa. Verificou-se uma correlação estatisticamente significativa entre o peso por determinação clássica e por Dexa ($r=0,993$; $p<0,001$), entre o IMC e a percentagem de massa gorda corporal total ($r=0,766$; $p<0,001$), entre o perímetro da cintura e a percentagem de massa gorda da cintura ($r=0,697$; $p< 0,001$) e entre o perímetro da anca e a percentagem de massa gorda a esse nível determinado por Dexa ($r=0,783$; $p<0,001$).

A avaliação efectuada permitiu validar a medição clássica, determinada de uma forma mais grosseira. Verificou-se que a quantificação da gordura corporal por Dexa permite avaliar com radiação mínima não só a gordura corporal total, como a sua distribuição. Os parâmetros determinados deste modo correlacionaram-se de um modo significativo com os métodos clássicos (Santos, 2003). Quando se comparou o grupo com cancro da mama com o grupo com patologia benigna, não se registaram diferenças significativas em relação ao peso, percentagem de massa gorda corporal total e percentagem de massa gorda da cintura e da anca determinadas por Dexa.

7. DISCUSSÃO

7.1. Considerações gerais

O cancro da mama é a doença maligna mais frequente no sexo feminino, afectando uma em cada oito mulheres ao longo da vida (Sondik, 1994; Ries, 1999). Em cada ano são diagnosticados cerca de um milhão de casos, causando a morte de 400 000 doentes no mesmo intervalo de tempo (Forbes, 1997). A sua incidência tem aumentado cerca de 1-2% por ano nos EUA, ocorrendo a partir da quarta década de vida e aumentando com a idade (Forbes, 1997; Lynn, 1995). A taxa de mortalidade diminuíu cerca de 25% nas mulheres de meia idade entre 1987 e 1997 devido à maior precocidade do diagnóstico e aos avanços na terapêutica (Peto, 1998, 2000).

Quadro XIX – **Incidência e prevalência do cancro da mama (Norte de Portugal)**

*Ca Mama (RORENO)**	*INCIDÊNCIA (/ 100000 hab.)*	*PREVALÊNCIA (total dos cancros) (%)*	*PREVALÊNCIA SEXO FEM. (%)*
1993	55,9	12,4	25,3
1994	53,8	11,7	24,7
1995	50,3	11,2	23,9
1999	-	17,6	32,7
2000	-	19,3	36,1

* *Distritos Porto, Braga, V. Castelo, Vila Real, Bragança e Região Entre Douro e Vouga.*

Em Portugal, o Registo Oncológico Regional do Norte (RORENO, 1993, 1994, 1995, 1999 e 2000) mostra que o cancro da mama é responsável aproximadamente um quarto das neoplasias do sexo feminino com taxas de incidência de 50-55/100000 habitantes (Quadro XIX). A prevalência desta neoplasia no sexo feminino aumentou de 25,3% em 1993 para 36,1% em 2000, uma diferença de cerca de 10% em sete anos.

Embora a hereditariedade tenha um papel importante na carcinogénese mamária, é apenas responsável por cerca de 10% dos casos. Os restantes dependem essencialmente dos chamados factores de risco modificáveis entre os quais o excesso de peso e o ambiente hormonal favorável são dos mais importantes. No futuro há, portanto, que apostar, sobretudo na prevenção deste tipo de neoplasia através da interferência nos factores modificáveis, sendo para isso necessário compreender muito bem o modo como estes factores actuam na carcinogénese mamária.

Desde a década de 70 que estudos experimentais em animais e *in vitro* demonstraram que os estrogénios são o principal factor hormonal que influencia a patologia mamária. Foi também comprovado que a insulina em doses suprafisiológicas é necessária para o crescimento e manutenção das células epiteliais mamárias em cultura (Imagawa, 1986; Deeks, 1988). A insulina actua estimulando os IGF1-R aos quais se ligam as IGFs, que por sua vez são também mitogénicas. Por outro lado a GH tem também um papel importante no crescimento mamário, através da estimulação da expressão do mRNA da IGF1 (Ruan, 1995).

A diabetes *mellitus* e as alterações da tolerância à glicose estão associadas ao cancro do cólon, sobretudo nos indivíduos do sexo masculino de tal modo que esta neoplasia é hoje considerada por alguns autores como mais uma complicação da DM2 (Will, 1998, Hu, 1999). A incidência de neoplasia colorectal é 1,3 vezes superior nos homens (95% IC 1,03-1,65) e 1,16 vezes superior nas mulheres (95% IC 0,87-1,53) diabéticos. O atraso no trânsito intestinal e o efeito tóxico dos ácidos biliares sobre o epitélio intestinal provocados pela obstipação crónica característica da neuropatia diabética, foram desde o início a explicação lógica para essa associação. Na década de 90 a hipótese de uma relação entre resistência à insulina, o hiperinsulinismo e o cancro do cólon começou a ganhar consistência (Giovannucci, 1995, 2001). Com efeito, sabe-se que actualmente existe uma associação entre o IMC, o perímetro da cintura e os níveis séricos de triglicerídeos e o risco de neoplasia colorectal (Ford, 1999 Schoen, 1999) A insulina basal, a IGF1 e o peptídeo-C parecem estar também associados a um maior risco de cancro do colon (Schoen,1999; Pollak, 1999; Giovannucci, 2000; Kaaks, 2000; Renehan, 2001).

Nos últimos anos a investigação tem sido direccionada no sentido de explicar o modo como a alimentação, o sedentarismo e a obesidade interferem na patogénese do cancro da mama. O modelo que atribui à resistência à insulina e ao hiperinsulinismo um papel pri-

mordial no aumento do hiperestrogenismo endógeno e na estimulação dos factores de crescimento tumoral tem vindo progressivamente a ganhar consistência.

7.2 Factores de risco tradicionais para cancro da mama

Os factores de risco tradicionais para cancro da mama estão descritos no Quadro II.

Embora o inquérito englobasse a questão dos antecedentes familiares de cancro da mama, o estudo genético não fez parte do âmbito deste trabalho. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em relação à história familiar de cancro da mama, aos hábitos tabágicos e alcoólicos, à nuliparidade, ao número de partos de termo e à idade do primeiro parto de termo. Em relação à idade da menarca e duração da THS, foi o grupo controlo que apresentou idade média da menarca mais baixa e maior duração da THS. Portanto, os factores de risco tradicionais não têm o peso esperado ou dão resultados contrários ao que seria expectável.

A explicação tradicional para a idade da menarca inferior a 12 anos como factor de risco é, como referido, o maior número de ovulações e o aumento de duração do tempo de exposição aos estrogénos. Sabe-se que a obesidade infantil e o excesso de gordura abdominal nesta idade estão correlacionados com uma menarca cerca dos 10-11 anos, acompanhada de níveis elevados de estradiol e testosterona, e também de IGF1 (De Ridder 1992b; Aicardi, 1991). No contexto do presente estudo, a observação de que a obesidade, a síndrome metabólica, a resistência à insulina e a hiperinsulinemia são marcadores para o cancro da mama, traz uma nova perspectiva sobre este assunto, uma vez que a precocidade da menarca como factor de risco pode significar que já na altura da puberdade, as mulheres com cancro da mama eram mais insulinorresistentes. Na verdade, a literatura é consensual quando refere que a promoção da carcinogénese mamária tem início na idade jovem.

Do mesmo modo se poderia explicar a influência da nuliparidade. O cancro da mama é uma das principais causas de morte das mulheres com síndrome do ovário poliquístico, que se acompanha de anovulação, infertilidade e insulino-resistência. Uma hipótese possível é de que não é a nuliparidade por si só que condiciona a neoplasia, mas sim as alterações hormonais que acompanham as mulheres insulinorresistentes, com excesso de

produção de androgénios e estrogénios, ciclos anovulatórios e excesso ponderal e que, como é característica da SOP, têm mais dificuldade em engravidar.

Deste modo os factores de risco obesidade, dieta rica em gorduras polinsaturadas, idade precoce da menarca e nuliparidade seriam apenas um só: resistência à insulina.

7.3 Factores de risco para DM2 e DCV como factores de risco para cancro da mama

Embora nos últimos dez anos, a literatura que relaciona a resistência à insulina com a neoplasia da mama tenha vindo a multiplicar-se, muitos dos mecanismos envolvidos não estão completamente esclarecidos e carecem de opiniões consensuais.

Existem numerosos trabalhos sobre a dieta, a obesidade, os parâmetros antropométricos e a neoplasia da mama. Foram ainda encontrados ainda alguns estudos sobre a relação entre tensão arterial, dislipidemia e alterações do metabolismo da glicose com o cancro da mama. No entanto, de toda a pesquisa bibliográfica efectuada, tivemos dificuldade em encontrar estudos em que a relação entre a síndrome metabólica, a resistência à insulina como entidade clínica e o cancro da mama é analisada em termos práticos, nomedadamente utilizando a definição NCEP/ATPIII para SM.

Na amostra estudada a grande maioria dos factores de risco para DM2 e DCV são também factores de risco para cancro da mama. Salienta-se a história prévia de macrossomia fetal (OR=5,91; p=0,008), o perímetro da cintura superior a 80 cm (OR 5,0; p=0,003), a hipertensão arterial (OR 3,68; p=0,04) e o índice HOMA-RI superior a 2,2 (OR 6,5; p<0,001), factores em que o risco para cancro da mama apresentava significado estatístico. Com excepção da hipertensão arterial, em todos os restantes critérios do NCEP/ATPIII para SM, considerados individualmente, o aumento de risco não era estatísticamente significativo. No entanto, quando analisamos o subgrupo dos indivíduos sedentários (o sedentarismo agrava o risco de cancro da mama), esses critérios passam a representar individualmente um aumento de risco com significado estatístico. Ao avaliar a SM como factor de risco, verificamos que este síndrome apresenta um OR de quatro, quer no grupo total, quer no subgrupo sedentário, e com significado estatístico em ambos os casos.

A ADA inclui a história familiar de DM2, e os antecedentes pessoais de diabetes

gestacional e/ou macrossomia fetal como factores de risco para DM2 no futuro (Quadro I). Na amostra por nós estudada o único destes parâmetros que apresenta significado estatístico como factor de risco para cancro da mama é a macrossomia fetal ($p<0,05$). Embora a percentagem de doentes que referiam ter antecedentes familiares de DM2 fosse ligeiramente superior à do grupo controlo, esse facto não teve relevância estatística. A grande maioria das doentes e dos controlos desconhecia ter tido diabetes gestacional pelos motivos préviamente explicados. Ao analisarmos os antecedentes de diabetes gestacional e macrossomia fetal, verificamos que no nosso grupo de doentes a macrossomia fetal é um dos factores de risco para cancro da mama com expressão mais significativa (OR 5,9; 95%IC 1,45-24,09; p=0,008). Na literatura internacional consultada, não havia referência a estudos que versassem este problema. No entanto, o *"British Woman's Heart and Health Study"* faz referência à associação entre história prévia de glicosúria e diabetes gestacional e risco para cancro da mama (Lawlor, 2004).

O grupo controlo e o grupo de doentes não diferiu significativamente em relação à altura e ao peso. Quanto ao IMC as diferenças entre os dois grupos encontravam-se no limiar da significância. Quando estratificamos a amostra segundo o grau de obesidade, verificamos também, que em relação a todos os graus de obesidade não se registavam diferenças entre os dois grupos, embora a percentagem de doentes com peso inferior a 25 Kg/m^2 fosse superior no grupo controlo e as duas mulheres com IMC igual ou superior a 35 Kg/m^2 pertencessem ao grupo de doentes.

Num artigo de revisão sobre os parâmetros antropométricos a neoplasia em estudo, Friedenreich refere-se à associação positiva com altura final (Friedenreich, 2001). Uma explicação possível teria a ver com o facto de as pessoas mais altas terem tido uma melhor nutrição na infância, o que aumentaria a secreção de GH e IGF1. Aquando do "salto" pubertário, a conjugação dos efeitos do aumento de esteroides sexuais com a elevação da GH, IGF1 e insulina resultaria na estimulação do desenvolvimento mamário na adolescência e aumentaria a probabilidade de atípia e carcinogenese na idade adulta (Stoll, 1998).

No que respeita ao estudo da relação entre obesidade e cancro da mama, a literatura é também abundante verificando-se diferenças nesta associação de acordo com o estádio de pré/pós-menopausa. A chamada de atenção para a associação entre a distribuição da gordura corporal do tipo visceral e aquela neoplasia, independentemente do grau de obesidade é conhecida desde os trabalhos de Schapira e Folsom já citados (1990, 1994).

Uma metanálise recente que avalia os resultados de cinco estudos de coorte sobre obesidade central e risco para cancro da mama, conclui que as mulheres na pós-menopausa com perímetro da cintura e razão cintura-anca mais baixos têm menos 39% e 24% de risco, respectivamente. No caso das doentes na pré-menopausa essa associação não se verifica. No entanto, quando é efectuada a correcção para o IMC, a importância da obesidade central desaparece na pós-menopausa, tornando-se um importante factor de risco para cancro da mama na pré-menopausa (Harvie, 2003).

Na amostra por nós estudada, verifica-se uma diferença nítida entre o perímetro da cintura do grupo de doentes e o do grupo controlo (p=0,004). As doentes com perímetro da cintura superior a 80 cm apresentam, para além do risco cardiovascular, cinco vezes mais risco para cancro da mama (p=0,003). A associação entre o pc superior a 88 cm (risco cardiovascular muito aumentado) e o cancro da mama que encontramos não atingiu significado estatístico (p=0,08), embora a percentagem de doentes seja superior à do grupo controlo (60,5% vs 41,9%). Mais uma vez a pequena dimensão da amostra pode ter interferido nos resultados já que a diferença está muito próxima do limiar de significância.

Quando analisamos a rca verificamos que não existiam diferenças entre os dois grupos (p=0,55), nem mesmo quando consideramos o limite de 0,85 acima do qual se considera haver aumento de risco cardiovascular (p=0,19).

O pc é considerado como melhor factor de risco para cancro da mama do que a rca (Huang, 1999), uma vez que a rca depende de duas variáveis e está mais sujeita a erro de medição. No entanto, outros autores atribuem à rca um valor predictivo para carcinoma mamário igualmente importante tanto na pré-menopausa (Männisto, 1996), como na pós-menopausa (Ballard-Barbash, 1990; Schapira, 1990; Brunning, 1992; Männisto, 1996). Além disso, uma rca elevada tende a ser factor predictivo de mortalidade, especialmente nas mulheres na pós-menopausa com receptores de estrogénios positivos (Borugian, 2003).

Na literatura existem inúmeros artigos sobre alimentação e cancro; no entanto apenas um pequeno número se refere à relação entre o perfil metabólico e o cancro, nomeadamente da mama, sendo os resultados, além disso, muito contraditórios.

A relação entre HTA e o cancro da mama não está bem definida. Os estudos que abordaram esse tema são discordantes revelando correlações positivas (de Waard, 1960; Tornberg, 1998; Neves, 2004), negativas (Thompson, 1989;) ou mesmo ausência de cor-

relação (Adami&Rimsten, 1978; Franceschi, 1990; Land, 1994; Moseson, 1997, Peeters, 2000; Manjer, 2001b).

Um estudo italiano de 1999 envolvendo 3 406 mulheres revelou no entanto, que o *odds ratio* para cancro da mama era de 1,2 (95%IC; 1,1-1,4) nas doentes com hipertensão tratada (Soler, 1999). O risco aumentava para 1,5 (95%IC 1,1-2,0) nas mulheres com IMC ≥ 30 Kg/m^2.

O *"DOM cohort"*, um rastreio de cancro da mama realizado na Holanda, associava a hipertensão arterial a um aumento de risco para neoplasia mamária de cerca de 14% (HR=1,14; 95% IC 0,93-1,40), depois de corrigidas as variáveis de confusão e independentemente da utilização ou não de anti-hipertensores (Peeters, 2000).

No nosso trabalho concluimos que as doentes com TA igual ou superior a 130/85 mmHg ou a tomar anti-hipertensores tinham maior risco para cancro da mama. Verificamos ainda diferenças fortemente significativas entre as doentes e os controlos em relação à TAS, mas não em relação à TAD. O Sétimo relatório da JNC *(Joint National Committee on Prevention, Detection and Treatment of High Blood Pressure)* assinala a hipertensão sistólica nas pessoas com mais de 50 anos como um factor de risco para DCV muito mais importante do que a hipertensão diastólica (Chobanian, 2003). Ora, no grupo de doentes com cancro da mama que estudamos, é precisamente na TAS que se verificam as diferenças entre os dois grupos tanto de um modo geral como quando consideramos o "cutt-off" de 130 mmHg.

A análise do estudo de Framingham publicada em 1981 concluia que os níveis séricos de colesterol se correlacionavam inversamente com a incidência de cancro do colon e de outras localizações no homem e que essa associação não existia na mulher (Williams, 1981). Resultados semelhantes foram encontrados por Tornberg (1988), Vatten & Foss (1990) e Tulinius (1997). *O "Malmö Preventive Project"* (Manjer, 2001) pelo contrário, encontrou uma correlação positiva entre os valores de colesterol e o risco de cancro da mama nas mulheres após a menopausa (RR 1,43; 95%IC 0,91-2,25 no quartil mais elevado vs. quartil mais baixo). Esta associação foi também descrita mais recentemente nas mulheres pré-menopausa (Abu-Bedair, 2003).

A relação entre triglicerídeos e o cancro da mama é também controversa. Com efeito, uma associação positiva é descrita em alguns estudos (Goodwin, 1997; Sinagra, 2002; Abu-Bedair, 2003) embora outros autores não tenham encontrado qualquer associação (Tornberg, 1988; Vatten&Foss, 1990; Gaard, 1994; Steenland, 1995; Manjer, 2001).

A HDL-C está associada em alguns estudos a um aumento de risco para esta neoplasia (Moorman, 1998) e noutros a uma diminuição (Hoyer & Engholm, 1992; Moorman, 1998). Moorman e col. encontraram um *odds ratio* de 0,96 (95%IC, 0,99-1,05) nas mulheres pré-menopausa e de 1,02 nas mulheres pós-menopausa por cada elevação da HDL-C de 1mg/dl. A análise de dois estudos populacionais noruegueses envolvendo 38 823 mulheres entre os 17 e os 54 anos durante um período de *follow-up* de 17,2 anos, revelou que valores baixos de HDL-C estão associados a um maior risco de cancro da mama em mulheres na pós-menopausa obesas ou com excesso ponderal (Furberg, 2004).

No nosso estudo, as doentes com cancro da mama apresentavam um perfil lipídico que coincide exactamente com aquele que é descrito no SM: valores elevados de TG, baixos de HDL-C. As diferenças entre as médias dos valores de TG e HDL-C tiveram significado estatístico, o que não se verificou com os valores de CT. A diferença entre as médias dos valores de LDL-C nos dois grupos quase atingiu significado estatístico. Analisando os factores lipídicos relacionados com aumento de risco cardiovascular na SM, verificamos que valores da TG superiores a 1,7 mmol/L (150 mg/dL) e de HDL-C inferiores a 1,3 mmol/L (50 mg/dL, embora se acompanhassem de aumento de risco para cancro da mama, não tinham significado estatístico. No entanto, quando consideramos o limite 1,03 mmol/L (40 mg/dL) para a HDL-C, o risco aumenta cerca de sete vezes, passando a ter significado estatístico (OR=6,8, p=0,049). Na nossa amostra, a LDL-C elevada (outro factor de risco cardiovascular, embora não fazendo parte da SM), eleva também o risco para cancro da mama cerca de duas vezes, quer quando se utiliza o limite de 2,58 (100 mg/dL) como de 4,13 mmol/L (150 mg/dL). No entanto, provávelmente mais uma vez devido ao reduzido tamanho da amostra, o aumento de risco não tem significado estatístico.

Da revisão da literatura no que respeita às alterações do metabolismo da glicose, sobressaiem três trabalhos. Num estudo que incluiu 2569 doentes com neoplasia da mama confirmada histologicamente, existia uma associação entre aquela doença oncológica e o índice glicémico médio da dieta diária (OR 1,4; p<0,01) (Augustin, 2001). Dois estudos recentes, concluem que os níveis de glicemia em jejum se associam a um maior risco para cancro da mama (Muti, 2002; Lawlor, 2004). Com efeito, no primeiro caso, um estudo prospectivo realizado entre 1987 e 1994 em Itália, as mulheres com níveis de glicemia mais elevados têm um risco 2,8 vezes superior para neoplasia da mama do que as que apresentavam valores mais baixos de glicose no sangue (95% IC 1,2-6,5; p=0,02). No

nosso trabalho, a dimensão da amostra pode subvalorizar as alterações do metabolismo da glicose nas doentes com cancro da mama. A glicemia basal e no final da prova é semelhante nos dois grupos. No entanto, o facto de as duas curvas de glicemia se afastarem durante a PTGO mostrando valores de glicose significativamente mais elevados aos 60 e 90 minutos (Fig.8), leva a pensar que o grupo de doentes apresenta já algumas alterações precoces do metabolismo da glicose. Apesar das alterações da PTGO não serem relevantes, o grupo de doentes por nós avaliado apresenta no entanto, valores de insulina e peptídeo-C significativamente mais elevados que o grupo controlo. A análise da curva de insulina permite avaliar as diferenças entre os dois grupos ao longo de toda a prova (Fig.9).

Na revisão bibligráfica que efectuamos encontramos outro trabalho onde é avaliada a resposta à sobrecarga com glicose oral (100 g). Foram doseados a insulina e o peptídeo-C basais e após 60 e 120 minutos (Tekden, 1996). Os autores concluiram, tal como nós que, embora não se tenham registado diferenças na glicemia média em jejum, os níveis médios de insulina e peptídeo-C eram mais elevados nas doentes com neoplasia da mama do que nos controlos. No nosso caso foi avaliada também a insulinemia média e o pico máximo de insulina que eram significativamente superiores nas doentes com cancro (p inferior a 0,05 no caso do pico insulínico e a 0,01 no caso da insulinemia média). Verificamos ainda que valores de insulinemia basais superiores a 15 μU/mL (considerado *"cut-off"* para hiperinsulinismo) estão associados a um aumento de risco para cancro da mama próximo do limiar da significância (OR 5,5; 95% IC 0,62-49,5; p=0,09).

Na literatura consultada, os estudos que relacionam a hiperinsulinemia com o cancro da mama baseiam-se geralmente nos valores de insulina em jejum. Num estudo efectuado a 99 doentes na pré-menopausa imediatamente após a cirurgia foram encontradas valores de insulinemia basal significativamente superiores nas doentes com carcinoma da mama, quando comparadas com um grupo controlo constituido por doentes com patologia benigna não proliferativa (Del Giudice, 1998). Esta relação conferia um risco aumentado para aquela neoplasia de 1,71 vezes (95%IC 0,83-3,54), embora sem significado estatistico. No mesmo estudo os autores concluem que o efeito mitogénico da insulina só parece fazer-se sentir quando é atingido um limiar da insulinemia (último quartil).

O estudo prospectivo de Muti já citado (Muti, 2002) revela uma ligeira associação, embora sem significado estatístico, entre a insulinemia basal e o carcinoma mamário (RR 1,7 entre o quartil superior e inferior; 95% IC 0,7-4,1; p=0,14).

Recentemente, a análise de 151 casos publicados no *"British Woman`s Heart and Health Study"* (Lawlor, 2004) demonstrou que por cada unidade de aumento do logarítmo da insulinemia o *odds ratio* para cancro da mama em mulheres não diabéticas era de 1,34 (1,02-1,77). Numa coorte de 512 mulheres não diabéticas com cancro da mama em fase inicial (T1 a T3, N0 a N1, M0), as doentes com valores de insulina no quartil superior tinham pior prognóstico (traduzido por metastização à distância e taxa de mortalidade) do que aquelas com valores de insulina no quartil inferior (HR 2,1; 95%IC 1,2-3,6 e HR 3,3; 95% IC 1,5-7,0) (Goodwin, 2002a).

Na revisão da literatura respeitante ao peptídeo-C, encontramos no âmbito desta problemática, uma associação positiva entre esta proteina e o cancro da mama nos estudos de Brunning (1992), Del Giudice (1998), Yang (2001) e Schairer (2004). O trabalho que apresentamos tem a vantagem de incluir valores em jejum e antes de qualquer tratamento. Apenas no estudo de Yang a colheita de sangue foi efectuada em jejum, embora imediatamente após a cirurgia. Este autor encontrou um risco aumentado para cancro da mama significativamente superior nas mulheres pré e pós-menopausicas com peptídeo-C no tercil mais elevado quando comparado com o tercil inferior (OR 2,7; 95% IC 1,2-5,9; p=0,01), depois de ajustado para o IMC e idade do primeiro parto de termo. O risco mantinha-se mesmo depois de corrigido para os restantes factores de risco. Em 2004, uma publicação de Nashville revelou que as mulheres com valores de peptídeo-C no quartil superior tinham um risco duas a três vezes aumentado para cancro da mama em relação ao quartil inferior (Malin, 2004).

O estudo histórico de Brunning foi o primeiro a descrever um risco três vezes mais elevado para neoplasia mamária nas mulheres com peptídeo-C elevado, independentemente do IMC e do estado de menopausa, embora os doseamentos não tenham sido efectuados em jejum e as doentes já tivessem sido submetidas a tratamento. Resultados semelhantes foram obtidos por Del Giudice (1998). Tonitolo e col. (2000) encontraram uma ligeira associação entre o peptídeo-C e o cancro da mama e Jernström (1999), quando efectuou este doseamento após cinco anos de tratamento a uma amostra de 45 doentes, não encontrou qualquer relação.

Na revisão da literatura foi encontrada uma publicação relacionada com a associação entre a síndrome metabólica como entidade clínica e o cancro da mama. Pertence a um grupo de investigadores da Universidade de Palermo, Itália, que comparam doentes com

cancro da mama, patologia benigna da mama e mulheres saudáveis, revelando um aumento de prevalência de DM2, hipertensão e dislipidemia no grupo de doentes oncológicas comparado com os outros grupos (Sinagra, 2002). No entanto, este trabalho engloba um pequeno número de doentes (n=25) e utiliza os da OMS para SM, não os do NCEP/ATPIII.

Um estudo epidemiológico recentemente publicado pela equipa do Prof. Henrique de Barros da Faculdade de Medicina do Porto (Santos, 2004) sobre a prevalência da síndrome metabólica na população da cidade do Porto utilizando os critérios NCEP/ATPIII, conclui que cerca de 26,4% da população do sexo feminino com idade igual ou superior a 40 anos (total de 678 mulheres) são portadoras de síndrome metabólica, resultado superior ao do nosso grupo controlo (18,6%), mas muito inferior ao encontrado no grupo de doentes com cancro da mama por nós estudado (48,8%).

Quadro XX – **Comparação SM na pop. estudada / pop. feminina do Porto**

Componentes da SM	***Ca Mama (n=43) % (nº)***	***Controlos (n=43) % (nº)***	***P***	***Pop. feminina do Porto (n=678)* % (nº)***
HTA	74,4% (40)	44,2% (19)	< 0,01	68,0% (461)
pc > 88 cm	60,5% (26)	41,9% (18)	0,08	40,6% (275)
HDL-C < 1,3 mmol/L	58,1% (25)	41,9% (18)	0,13	31,1 % (211)
TG ≥ 1,7 mmol/L	39,5% (17)	20,9% (9)	0,06	21,5% (146)
AGJ (glicemia ≥ 6,1 < 7,0 mmol/L)	20,9% (9)	11,6% (5)	0,24	6,0% (111)
Sínd.Metabólica	48,8% (21)	18,6% (8)	<0,01	26,3% (178)

**mulheres com idade igual ou superior a 40 anos*

No mesmo estudo, a ordem de frequência dos cinco critérios NCEP/ATPIII é a mesma daquela por nós encontrada, sendo a HTA o parâmetro mais frequente e as alterações da glicemia em jejum a menos frequente. No entanto também neste caso e para todos os critérios considerados individualmente, a frequência das alterações metabólicas é muito superior no grupo de mulheres afectadas pela patologia da mama quando comparadas com a população feminina da região do Porto em geral (Quadro XVIII).

No nosso grupo de doentes encontramos mais frequentemente dois componentes do SM. Apenas duas doentes são portadoras dos cinco critérios. Verificamos que na amostra

por nós estudada existe uma associação entre síndrome metabólica e cancro da mama, uma vez que encontramos um OR de quatro para cancro da mama nas mulheres portadoras de síndrome metabólica. Quando analisamos o risco para cancro da mama em função do número de critérios NCEP/ATPIII, vericamos com surpresa que a presença de apenas um critério dimuinui o risco. No entanto, a partir dos dois critérios o risco aumenta progressivamente, aumentando nove vezes se a doente tiver mais de três critérios. O cálculo do risco nas doentes com cinco factores NCEP/ATPIII foi feito por estimativa, já que o reduzido número de doentes com cinco factores não permitiu determinar o risco directamente. A explicação para a redução do risco no caso de só existir um critério pode resultar da baixa prevalência de um factor de risco na população.

O índice HOMA foi avaliado no *"British Women's Heart and Health Study"*, tendo-se concluido que existia uma associação entre a resistência à insulina calculada através desta fórmula e o cancro da mama (Lawlor, 2004).

Passando agora aos nossos resultados, concluimos que as doentes com cancro têm mais resistência à insulina (maior índice HOMA-RI; p=0,003) e por consequência menor sensibilidade à insulina (menor valor médio de ISI; p<0,001) do que os controlos. Concluimos ainda que as mulheres com HOMA-RI superior a 2,2, apresentam um risco para neoplasia mamária seis vezes e meia mais elevado do que aquelas que têm menor resistência à insulina. Embora os meios de que dispomos não permitam efectuar qualquer tipo de medição mais directa da sensibilidade à insulina, como por exemplo a técnica de *"clamp"*, as medições indirectas que obtivemos poderão dar uma medida aproximada da resistência à insulina de que estas doentes são portadoras, uma vez que existe uma boa correlação com a técnica de referência que é o *"clamp"* (Matzuda, 1999). Os resultados do nosso trabalho indicam, portanto, que a síndrome metabólica é mais frequente nas mulheres com doença maligna da mama, uma vez que apresentavam níveis de insulina e peptídeo-C mais elevados e índices de resistência à insulina superiores ao grupo controlo.

7.3.1 O efeito do sedentarismo

É consensual o efeito benéfico da mudança do estilo de vida, nomeadamente da prática do exercício físico na melhoria dos diversos parâmetros da síndrome metabólica, prevenindo o aparecimento da diabetes e da DCV. Por um lado o exercício físico promove a

manutenção ou mesmo a perda de peso e, por outro lado melhora a sensibilidade à insulina.

No nosso estudo verificou-se que nas mulheres que não faziam qualquer tipo de exercício, o risco para cancro da mama provocado pelos diversos factores de risco cardiovascular aumentava ainda mais. Por exemplo, as mulheres sedentárias com tensão sistólica igual ou superior a 130 mmHg tinham um risco cerca de 30 vezes superior para cancro da mama e aquelas em que o perímetro da cintura era superior a 80 cm, apresentavam também trinta vezes mais probabilidade de sofrer desta patologia.

Nas mulheres com rca igual ou superior a 0,85, o aumento de risco não era significativo (p=0,20). No entanto se fossem sedentários, o risco para neoplasia da mama passava para 5,8 (95% IC; p=0,016), tornando-se significativo. O sedentarismo agravava de duas para seis vezes o risco para cancro da mama nas mulheres com HDL-C<1,3 mmol/l (p=0,009). Tinha também um efeito potenciador sobre a influência do IMC no cancro da mama, agravando o OR de dois para seis nas mulheres com excesso de peso (p=0,008) e de 1,5 para 6 nas obesas (p=0,009).

Alguns estudos abordando este assunto foram recentemente publicados. Experiências em ratos adolescentes revelaram que o exercício físico moderado retarda o crescimento dos tumores mamários (Westerlind, 2003). O excesso de peso associado ao sedentarismo parece estar na origem de cerca de um quarto a um terço dos cancros (Vainio, 2002).

Uma análise do estudo WHI conclui que a prática regular de exercício físico reduz o risco de cancro da mama (McTiernan, 2003). Por outro lado, o exercício físico associado a uma dieta rica em vegetais e frutos parece melhorar o prognóstico do cancro da mama já diagnosticado (Stoll, 1996).

7.4 IGF1, leptina, SHBG, estrona, δ4-androstenediona

No estudo por nós efectuado não se verificou uma associação entre os níveis séricos de IGF1 e o cancro da mama, mesmo quando separamos a amostra em função da idade, o maior factor determinante dos níveis séricos de IGF1. Pelo contrário, a IGF1 média era mais elevada no grupo controlo, mas sem significado estatístico. Embora a relação entre o sistema IGF e a carcinogénese mamária esteja demonstrada (Macaulay, 1992; Sachev, 2002; Jerome, 2003; Helle, 2004), não existe consenso acerca da associação entre os ní-

veis séricos de IGF1 e o carcinoma da mama. Alguns estudos demonstram uma correlação entre os níveis séricos de IGF1 e este tumor maligno (Hankinson, 1998; Bohlke, 1998; Malin, 2004). Salienta-se este último, que incluiu 400 casos do *"Shangai Breast Cancer Study"*. Concluiu que a IGF1 e a IGFBP3 no quartil superior aumenta duas a três vezes o risco para cancro da mama e que esse risco se eleva para cerca de quatro vezes quando o peptídeo-C também está elevado. Outros autores não verificaram qualquer relação entre estes factores de crescimento e suas proteinas de ligação com a neoplasia da mama (Del Giudice, 1998; Petridou, 2000; Schairer, 2004).

A razão desta disparidade ainda não foi esclarecida, embora vários modelos tivessem sido propostos. Uma das hipóteses relaciona-se com o facto de em todos os trabalhos, inclusivé no nosso, ser doseada a IGF1 total. Uma vez que esta hormona circula ligada às IGFBPs, apenas a IGF1 livre está disponível para actuar nos IGF-R mamários podendo exercer o seu efeito mitogénico e anti-apoptótico (Benjamin, 2001). O risco para cancro da mama é cerca de três vezes superior quando se utiliza a IGF1 livre em vez da IGF1 total (OR 6,31 vs. 2,00; p=0,376 vs. p=0,047). Uma outra explicação pode ser o facto de a acção mitogénica da IGF1 ser essencialmente autócrina e parácrina, independentemente dos níveis séricos (Sachdev, 2001). Segundo outros autores a razão deste problema poderia estar relacionada com o facto de a IGF1 necessitar de níveis relativamente elevados de estrogénios para exercer o seu efeito mitogénico. Ora, o hipoestrogenismo característico da pós-menopausa situação em que a ausência de correlação mais se verifica, bloquearia esse efeito (Dupont, 2001).

O protocolo do nosso estudo não incluiu o doseamento da GH, IGFBP3, IGFBP1 ou do IGF-R.

Uma metanálise publicada no corrente ano sobre a IGF1, IGFBP3 e cancro (Renehan, 2004) resume a referida controvérsia demonstrando que, no caso do cancro da mama, a IGF1 está associada a um aumento de risco na pré-menopausa (OR 1,65; 95% IC 1,26-2,08; p<0,001), mas não na pós-menopausa (OR 0,95; 95% IC 0,77-1,17; p=0,63), o mesmo acontecendo à IGFBP3 (OR 1,51; 95% IC 1,01-2,27 na pré-menopausa vs. OR 1,01 95% IC 0,74-1,38; p=0,93 na pós-menopausa). Não foi demonstrada uma associação entre os níveis séricos IGFBP1 e o cancro da mama (Del Giudice, 1998), mas parece existir uma associação inversa entre os níveis de IGFBP3 e o risco para aquela neoplasia (Del Giudice, 1998). Níveis baixos de IGFBP1 estão relacionados com um aumento de risco de

recorrência e morte e níveis elevados de IGFBP3 parecem aumentar o risco de recorrência nas mulheres pós-menopausicas com receptores de estrogénios positivos (Goodwin, 2002b).

Os resultados por nós obtidos em relação ao doseamento de leptina sérica não mostraram qualquer relação com o cancro da mama. A média dos valores de leptina é superior no grupo controlo, diferença que atinge significado estatístico nas mulheres com IMC<30 Kg/m^2. Embora se encontrem diversos trabalhos publicados sobre o papel da leptina no processo de invasão e metastização do cancro da mama (cap. 3.6.3), na bibliografia consultada apenas quatro avaliam o risco de cancro da mama em função da leptina sérica. Num estudo realizado em 83 mulheres na pré-menopausa a leptina não aumentava substancialmente o risco para carcinoma *in situ* (Mantzoros, 1999). Numa publicação de origem italiana envolvendo apenas 23 doentes, a leptina estava aumentada nas doentes com cancro da mama principalmente naquelas que apresentavam doença metastática (Tessitore, 2000). Um outro estudo italiano do mesmo autor (Tessitore, 2004) mostrou que os níveis de leptina sérica estavam correlacionados com os níveis de estradiol e progesterona e os respectivos receptores, assumindo papel prognóstico. Um trabalho publicado por autores gregos (Petridou, 2000) concluiu que em 75 mulheres na pré-menopausa existia uma forte correlação inversa entre os níveis de leptina e o carcinoma da mama.

Existem cerca de uma dezena de trabalhos que abordam o tema da relação entre os níveis séricos de SHBG e o cancro da mama. Os resultados são, contudo, controversos. Numa análise efectuada a 169 mulheres na pré-menopausa (Sturgeon, 2004), a SHBG estava associada a uma diminuição do risco para cancro da mama (OR 0,81; 95% IC 0,4-1,6). No NYU/WHI (Zeleniuch-Jacquotte, 2004) efectuado a mulheres na pós-menopausa, as conclusões são semelhantes (OR 0,51; 95% IC 0,31-0,82; p<0,001). A maioria dos estudos não demonstraram no entanto, qualquer relação entre a SHBG sérica e o risco de neoplasia da mama tanto na pós como na pré-menopausa (Berrino, 1996; Thomas, 1997; Verkasalo, 2000; Kabuto, 2000; McTiernen, 2003; Hu, 2003; Manjer, 2003). No nosso estudo, e tal como esperado, a SHBG média foi inferior no grupo de doentes quando comparado com o grupo controlo, atingindo o limiar da significância (p=0,05).

O *"Nurses Health Study"* foi o único estudo da década de 90 em que a δ4-androstenediona foi avaliada (Hankinson, 1998). Não foi demonstrada nessa altura qualquer relação entre este marcador sérico de SOP na pré-menopausa e de "hipertecose ovárica" na mulher pós-menopausa, e o cancro da mama. No entanto, a partir de 2000 foram publi-

cados quatro trabalhos que se debruçaram sobre este androgénio sexual e a neoplasia em estudo. Em três deles, a δ4-androstenediona estava associada a um maior risco de cancro da mama na pré-menopausa (Stugeon, 2004) e na pós-menopausa (*EHBCCG*, 2003; Zeleniuch-Jacquotte, 2004). Na publicação restante o aumento de risco não tinha significado estatístico (Manjer, 2003). A análise dos nossos dados revela também que o valor médio de δ4-androstenediona era mais elevado no grupo de doentes relativamente aos controlos, embora a diferença não fosse significativa (p=0,3).

A literatura referente ao doseamento dos níveis de estrona no cancro da mama foi efectuado apenas em oito trabalhos, sendo mais representativos aqueles que foram publicados nos últimos anos. Os estudos anteriores a 2000 para além de envolverem pequeno número de doentes, não são na sua maioria randomizados, sendo as colheitas de sangue e os métodos de doseamento muito díspares. Os trabalhos publicados a partir do ano 2000 tendem a envolver maior número de doentes, havendo um esforço para uma maior uniformização na metodologia da colheita de dados no sentido em que as conclusões possam ser mais fiáveis. Os resultados foram, no entanto, unânimes em concluir que este esteroide sexual se encontra associado a um maior risco para cancro da mama, tanto na pré como na pós-menopausa (Tonitolo, 1995; Hankinson, 1998; Miyoshi, 2003; McTiernan, 2003; Hu, 2003; *EHBCCG*, 2003; Manjer, 2003; Zeleniuch-Jacquotte, 2004).

No nosso estudo não se verificaram diferenças entre casos e controlos em relação aos níveis de estrona no subgrupo de mulheres na menopausa. No entanto, a análise efectuada relativamente às mulheres na pós-menopausa cujo doseamento de estrona não foi influênciado pela THS, revelou que os níveis daquela hormona eram mais elevados nas doentes com cancro, diferença muito próxima do limiar de significância (p=0,009). Eventualmente, o reduzido número de mulheres incluidas neste estudo poderá, mais uma vez, condicionar os resultados obtidos.

7.5 Correlações entre variáveis

As correlações encontradas entre os diversos parâmetros analisados estão de acordo com a literatura. A análise de correlação foi, no entanto, efectuada apenas na amostra global, não tendo sido feita a comparação entre o grupo de doentes e os controlos. Apesar

do grupo de doentes ter um IMC superior aos controlos, a leptina sérica era mais elevada nos controlos do que nas doentes. No entanto, na amostra global existia uma correlação positiva e significativa entre a leptina e o IMC. A análise de correlação entre os dois grupos poderia contribuir para explicar a disparidade encontrada.

8. CONCLUSÕES

O estudo de caso-controlo que agora termina permite concluir que na amostra estudada se verifica uma relação entre cancro da mama e hiperinsulinismo, resistência à insulina, risco cardiovascular e síndrome metabólica. Os factores de risco para cancro da mama clássicos que foram avaliados não assumiram no nosso estudo um papel relevante para a determinação do risco para esta neoplasia. Pelo contrário, a síndrome metabolica assume nos nossos doentes um papel importante como factor de risco para cancro da mama, uma vez que o grupo de doentes apresentava características antropométricas, perfil lipídico e tensões arteriais que são características desta síndrome. As doentes com cancro tinham mais alterações da PTGO do que os controlos, embora sem atingir em significado estatístico. Os níveis médios de peptídeo-C e a curva de insulinemia durante a PTGO apresentavam valores mais elevados nas mulheres com cancro da mama. O índice HOMA-RI mostrava que o grupo de doentes era mais insulinorresistente que o grupo controlo e que as mulheres com índice HOMA-RI acima dos valores médios da referência tinham maior risco de desenvolver neoplasia da mama. Do mesmo modo, o grupo controlo apresentava maior sensibilidade à insulina evidenciado por um índice ISI inferior ao grupo de doentes. Quando analisamos o subgrupo de indivíduos que não praticavam qualquer tipo de exercício físico, verificamos que o sedentarismo multiplicava de um modo significativo o risco para neoplasia da mama associado à sindrome metabólica. Tanto na amostra global como nos indivíduos sedentários, as mulheres portadoras de síndrome metabólica apresentam um risco quatro vezes aumentado para cancro da mama. O sedentarismo potenciava o aumento de risco provocado pelos vários elementos do SM encontrado na amostra global. O aumento do IMC, da razão cintura-anca e da LDL-C, também aumentava significativamente o risco para cancro da mama nas mulheres que não fazem exercício físico. O grupo de doentes apresentava ainda valores de δ4-androstenediona mais elevados e de SHBG mais baixos do que os controlos, embora os níveis médios de leptina e IGF1 não diferissem nos dois grupos. As doentes na pós-menopausa que não fizeram THS apresentavam valores de estrona superiores às dos controlos.

De um modo geral, tanto a aterosclerose como o cancro são doenças relacionadas com a idade. Ambas têm tido uma incidência crescente nos países desenvolvidos, onde os hábitos alimentares e o sedentarismo contribuem para que o seu aparecimento seja cada vez mais frequente e precoce. Se há alguns anos não conseguiamos estabelecer qualquer relação entre elas para além da coincidência de ocorrerem no indivíduo idoso, actualmente parece ser possível relacionar estas duas patologias. O estabelecimento de uma base fisiopatológica comum para a doença cardiovascular e o cancro da mama nas mulheres – a resistência à insulina e o hiperinsulinismo – pode dar uma nova perspectiva no sentido de se avançar para uma visão global dos mecanismos do envelhecimento humano e da ligação entre as várias especialidades. A mais recente investigação sobre o papel comum do processo inflamatório na fisiopatologia como base de várias doenças crónicas até aqui consideradas independentes umas das outras (diabetes tipo 2, doença cardiovascular, alguns cancros, artrite reumatoide, doença de Alzheimer) pode vir a permitir o estabelecimento da uma estratégia comum de prevenção e tratamento dessas doenças.

O conhecimento dos mecanismos que estão na base da relação entre o tipo de alimentação, a obesidade e a carcinogénese da mama vão permitir encontrar meios para a intervenção em alguns dos principais factores de risco modificáveis. Medidas como o exercício físico regular e dietas ricas em hidratos de carbono complexos, fibras, vegetais e frutos, para além de contribuirem para a prevenção e tratamento da síndrome metabólica, da diabetes tipo 2 e da doença cardiovascular, vão poder evitar novos casos de neoplasias como a do cólon e da mama. Essa intervenção ainda é mais precoce do que aquela que é considerada outra das medidas fundamentais para diminuir a sua morbilidade e mortalidade: o rastreio. Se além disso se comprovar que o exercício físico, a perda de peso em excesso e a melhoria da sensibilidade à insulina melhoram o prognóstico da doença, a prevenção secundária poderá ser outro alvo de actuação.

A intervenção farmacológia é igualmente importante já que drogas como os salicilatos, têm um papel importantíssimo não só no processo inflamatório comum, mas também na prevenção das doenças cardiovasculares nos indivíduos de risco e na prevenção do cancro do cólon, ao actuar na via das Cox-2. As estatinas e, mais recentemente as glitazonas têm revelado um espectro de acção que se estende para além do efeito inicialmente proposto (hipocolesterolemiante e insulinosensibilizador, respectivamente) ao apresentarem propriedades pleiotrópicas que actuam nos mediadores do processo inflamatório do endotélio

contribuindo para uma regressão e estabilização das lesões da placa aterosclerótica. Para além disso, parecem diminuir a proliferação celular actuando como inibidores da promoção da transformação neoplásica, nomeadamente na mama. Os resultados de estudos de prevenção da diabetes tipo 2 como o DPP, o STOP-NIDDM e o XENDOS, ao concluirem que a intervenção intensiva em termos de modificação do estilo de vida e farmacológia reduz a progressão da ITG para DM2, assim como previnem o aparecimento de HTA e doença cardiovascular.

A importância do sistema IGF na transformação maligna, proliferação celular, protecção da apoptose e metastização tem vindo a estimular a investigação no sentido de desenvolver terapêuticas que actuem nesta via. Tal é o exemplo dos análogos da somatostatina, anticorpos monoclonais e drogas anti-angiogénicas. O conhecimento de novos factores de risco para o cancro da mama poderá, no século XXI, ajudar a definir estratégias de prevenção que passam, tal como na doença cardiovascular aterosclerótica, por uma mudança dos hábitos de vida que caracterizaram o século passado. O novo desafio que se coloca será se a intervenção terapêutica com os fármacos que actuam na resistência à insulina e no processo inflamatório produzirá o mesmo efeito (estão em curso trabalhos com a metformina). Esse facto permitiria abrir o leque de agentes com indicação na quimioprofilaxia da neoplasia mais frequente na mulher.

Um outro problema de saúde pública ainda não consensual é a possível associação entre o uso de terapêutica hormonal de substituição e um aumento de risco cardiovascular e de cancro da mama. Embora seja objecto de controvérsia, a evidência dos resultados dos vários estudos epidemiológicos que têm vindo a ser publicados sugere que as mulheres submetidas a tratamento com THS, principalmente se de longa duração, apresentam maior risco de vir a sofrer de EAM, de AVC's, de tromboembolismo pulmonar e de cancro da mama. Pensamos que os resultados aqui apresentados poderão dar um contributo para a compreensão da patogénese desse problema, uma vez que concluimos que as mulheres com cancro da mama apresentam nesta amostra um risco cardiovascular aumentado, que se relaciona com uma maior resistência à insulina e hiperinsulinismo e uma maior prevalência de síndrome metabólica. A instituição indiscriminada de terapêutica hormonal de substituição a mulheres pós-menopausa pode revelar-se imprudente, já que ao prescrever estrogénios exógenos a mulheres com hiperestrogenismo endógeno e tendência para resistência à insulina e hiperinsulinismo, estamos não só a agravar o risco cardiovascular

como de cancro da mama. A selecção das mulheres candidatas a este tipo de tratamento pressuporia portanto, uma prévia avaliação do risco cardiovascular (e consequentemente de carcinoma da mama).

A influência dos mecanismos de resistência à insulina na patogénese do cancro está neste momento a ser objecto de intenso trabalho de investigação a nível mundial. Os resultados por nós obtidos confirmam a associação entre insulino-resistência, hiperinsulinismo e síndrome metabólica e o cancro da mama, bem como o agravamento pelo sedentarismo do risco de carcinoma mamário provocado pelos vários componentes da síndrome metabólica. Nesse caso, a intensificação das campanhas destinadas à sensibilização da opinião pública para os benefícios da mudança de estilo de vida e da prevenção da obesidade e da síndrome metabólica, com vista à redução da morbilidade e mortalidade por doença cardiovascular, teriam também como objectivo a prevenção do cancro.

Em conclusão, se na década de 90, os trabalhos realizados para estudo da síndrome de resistência à insulina incidiram principalmente sobre a aterosclerose acelerada, pensamos que o futuro da investigação nesta área vai ser direccionada no sentido de explorar outras vertentes desta síndrome, nomeadamente a sua relação com a outra grande causa de morte que é o cancro.

A realização deste estudo e a reflexão sobre o seu tema permitiu ainda à autora abrir novas perspectivas de trabalhos futuros, uma vez que levanta inúmeras questões: Como evoluirá o perfil glicémico destas doentes? Qual a percentagem de mulheres que vai desenvolver diabetes tipo 2 no futuro? Será que os fármacos sensibilizadores de insulina e as estatinas melhoram o prognóstico do cancro da mama nas mulheres com este perfil metabólico? Qual a relação entre a insulino-resistência, o hiperinsulinismo, os factores de risco cardiovascular e os receptores hormonais, nomeadamente os receptores de estrogénios, IGF1 e leptina?

9 - BIBLIOGRAFIA

Abu-Bedair FA, El-Gamal BA, Ibrahim NA, El-Aaser AA. Serum lipids and tissue DNA content in Egyptian female breast cancer patients. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33(6):278-282.

ACE. Position Statement on the Insulin Resistance Syndrome. *Endoc Pract* 2003; 9(3):240-252.

Adami H-O, Rimsten A. Prevalence of hypertension and diabetes in breast cancer: a case-control study in 179 patients and aged matched, non-hospitalized controls. *Clin Oncol* 1978; 4:243-249.

Ahima RS, Dushay J, Flier SN, Prabakaran D, Flier JS. Leptin accelerates the timing of puberty in normal female mice. *J Clin Invest* 1997; 99:391-5.

Aicardi G, Di Battista E, Vognolo M, e col. IGF1 trend in obese children and adolescents; comparison with normal subjects. *Acta Paediatr* 1991; (suppl 372):159.

Alberti KG; Zimmet PZ. Definition, diagnosis, and classification of diabetes *mellitus* and its complications: Part I: diagnosis and classification of diabetes *mellitus* provisional report of WHO consultation. *Diabet Med* 1998: 15:539-553.

Alexander CM, Landsman PB, Teutsh SM, Haffner SM, Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III); National Cholesterol Education Program (NCEP). NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes* 2003; 52(5):1210-1214.

American Diabetes Association (ADA) report. *Diabetes Care* 1997; 20:1183-1197.

Augustin LS, Dal Maso L, La Vecchia C, Parpinel M, Negri E, Vaccarella S, Kendall CW, Jenkins DJ, Francesch S. Dietary glycemic load and breast cancer risk: a case control study. *Ann Oncol* 2001; 12(11):1507-9.

Balen A. Polycystic ovary syndrome and cancer. *Hum Reprod Update* 2001; 7(6):522-525.

Ballard-Barbach R, Schatzkin A, Carter CL, Kannel WB, Kregger BE, Dàgostino RB, Splansky GL, Anderson KM, Hesel WE. Body fat distribution and breast cancer in the Framingham study. J Natl Cancer Inst 1990; 82(24): 1943-1944.

Ballard-Barbash R. Anthropometry and breast cancer. Body Size – a moving target. *Cancer* 1994; 74:1090-1100.

Barbieri RL, Makis A, Randall R, Daniels G, Kistner R, Ryan K. Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of ovarian stroma obtained from women with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metabol* 1985; 62:904-910.

Benjamin DL, Khosravi MJ, Berkel H, Diamandi A, Dayton MA. Free insulin-like growth factor-I and breast cancer. *Int J Cancer* 2001; 91:736-739.

Bergström A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer* 2001; 91:421-430.

Berrino F, Muti P, Micheli A, Bolelli G, Krogh V, Sciajno R. *et al.* Serum Sex hormone levels after menopause and subsequent breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:291-296.

Bertin E, Marcus C, Ruiz JC, Eshard JP, Leutnegger M. Measurement of visceral tissue by DXA combined to anthropometry in obese humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24(3):263-270.

Blobe GC, Obeid LM, Hannun YA. Regulation of PKC and the role of cancer biology. *Cancer Metast Rev* 1994; 13:411-431.

Bohlke K, Cramer DW, Trichopoulos D, Mantzoros CS. Insulin-like growth factor-I in relation to premenopausal ductal carcinoma in situ of the breast. Epidemiology 1998; 9(5): 570-573.

Bonneterre J, Peyrat JP, Beuscart R, Demaille A. Prognostic significance of insulin-like growth factor 1 receptors in human breast cancer. *Cancer Res 1990* ; 50 (21):6931- 6935.

Bonora E, Targher G, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, Marini F, Zenari L, Saggiani F, Poli M, Perbellini S, Raffaelli A, Gemma L, Santi L, Bonadonna RC, Muggeo M. The metabolic syndrome is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects. Prospective data from the *Verona Diabetes Complications Study. Diabet Med* 2004a; 21 (1):52-58.

Bonora E, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, Marini F, Zenari L, Saggiani F, Poli M, Perbellini S, Raffaelli A, Cacciatori V, Santi L; Targher G, Bonadonna R, Muggeo M. HOMA-estimated insulin resistance is na independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2004b; 21(1):52-58.

Borugian MJ, Sheps SB, Kim-Sing C, e col. Waist-to-hip ratio and breast cancer mortality. *Am J Epidemiol* 2003; 158:963-968.

Bouchet C, Spyratos F, Martin PM, Hacène, Gentile A, Oglobine J. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitors PAI-1 and PAI-2 in breast carcinomas. *Br J Cancer* 1994; 69:398-405.

Boyd NF, Campbell JE, Germanson T, Thomson DB, Sutherland DJ, Meakin JW. Body weight and prognosis in breas cancer. *J Natl Cancer Inst* 1981; 67(4):785-789.

Brown CD, Higgins M, Donato KA, Rohde RC, Garrison R, Obarzanek E, Ernst ND, Horan M. Body mass index and prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obesity Research* 2000; 8(9):605-619.

Brunning PF, Bonfrére JMG, van Noord PAH, Hart AAM, de Jong-Bakker M, Nooijen WJ. Insulin resistance and breast cancer risk. *Int J Cancer* 1992; 52:511-16.

Buell, P. Changing incidence of Breast Cancer in Japanese-American women. *J Natl Cancer Inst* 1973; 51(5):1479-1483.

Calle EE, Rodriguez C, Kinberly Walker-Thurmond BA, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US Adults. *N Engl J Med* 2003; 348 (17):1625-38.

Cardoso MH. Contribuição para o estudo da sensibilidade à insulina na obesidade e noSíndrome metabólico. *Tese de Doutoramento*, 1999.

Carmo I. et al. Prevalence of obesity i portuguease population. Int J Obes 2000; 24(suppl):S91

Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL & Considine RV. Leptin- the tale of na obesity gene. *Diabetes* 1996; 45(11), 1455-1462.

Carroll KK. Dietary fats and cancer. *Am J Clin Nutr* 1991; 53(4 Suppl):10664S-1067S.

Chehab F, Lim M, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet* 1996; 12:318.

Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M, for the STOP-NIDDM Trial Research Group. Acarbose for prevention of type 2 diabetes *mellitus*: the STOP-NIDDM randomized trial. *Lancet 2002*; 359:2072-2077.

Chlebowski RT, Aiello E, Mc Tiernan A. Weight loss in breast cancer patient management. *J Clin Oncol* 2002; 20(4):1128-1143.

Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, *et al.* Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healyhy postmenopausal women The Women's Health Iniciative Randomized Trial. *JAMA* 2003; 289(24):3243-3253.

Chobanian AV, Bakkris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Roccela EJ. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *JAMA* 2003; 289:2560-2572.

Chopra M, Gallbraith, Darnton-Hill I. A global response to a global problem: the epidemic of overnutrition. *Bull WHO 2002*; 80(12):952-958.

Ciampelli M, Lanzone A. Insulin and polycystic ovary syndrome: a new look to an old subject. *Gynecology-Endocrinology* 1998; 12 (4):277-292.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer. *Lancet* 1997; 350:1047-1059.

Conn JJ, Jacobs HS, Conway GS. The prevalence of polycystic ovaries in women with type 2 diabetes *mellitus*. *Clin Endocrinol* 2000; 52(1): 81-86.

Correa P. Epidemyological correlations between diet and cancer frequency. *Cancer Res* 1981; 41:3685-3690.

Courten M, Zimmet P, Hodge P *et al.* Hyperleptinemia: the missing link in the metabolic syndrome? *Diabet Med* 1997; 14(3):200-208.

Dal Maso L. Augustin LS, Karalis A, Talamini R, Franceschi S, Trichopoulos D, Mantzoros CS, La Vecchia C. Circulating adiponectin and endometrial cancer risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(3):1160-1163.

Daniell HW. Increased limph node metastasis at mastectomy for breast cancer associated with host obesity, cigarette smoking, age and large tumor size. *Cancer* 1988; 62:429-435.

De Fronzzo RA, Tobin JD, Anders R.glicose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979; 6: E214-23.

De Fronzzo RA. The Triunvirate: ß-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988; 37:667-686.

De Ridder CM, De Boer RW, Nieuwenhoff CM, Jenson JAL, Bakker CJG, Zonderland ML, Erich WBM. Body fat distribution in pubertal girls quantified by magnetic resonance imaging. *Int J Obes* 1992a; 16:443-449.

De Ridder CM, Thijssen JHH, Bruning PF, Van den Brande JL, Zonderland ML, Erich WBM. Body fat mass, body fat distribution and pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1992b;75:442-446.

De Waard F, de Laive JWJ, Baanders-van Halewijn EA. On the bimodal age distribution of mammary carcinoma. *Br J Cancer* 1960; 14:437-448.

Deeks S, Richards J, Nandi S. Maintenance of normal rat mammary epithelial cells by insulin and insulin-like growth factors. *Annu Ver Physiol* 1988; 47:425-442.

Del Giudice ME, Fantus IG, Ezzat S, McKeown-Eyssen G, Page D, Goodwin PJ: Insulin and related factors in premenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 47:111-120.

Despres JP, Lamarche B, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, Lupien PJ. Hyperinsulinemia as an independent risk for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996; 334(15):952-957.

Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic Syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33(2):431-453.

Diabetes Prevention Program (DPP) Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346(6):393-403.

Dresner A e col. Effects of free fatty acids onglicose transport and IRS-1 and associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 1999; 103:253-259.

Dupont J, Le Roith C. Insulin-like growth factor-I and oestradiol promote cell proliferation of MCF-7 breast cancer cells: new insights into their synergistic effects. *J Clin Pathol* 2001; 54:149-154.

Durrunty P, Garcia de los Rios M. Glucotoxocity and lipotoxicity: factors in the pathogenesis and evolution of type 2 diabetes. *Rev Med Chil* 2001; 129(6):671-9.

Editorial Obesity: the cancer connection. *Lancet* 1982; 1:1223-1224.

Ehrmann DA, Schneider DJ, Sobel BE, Cavaghan MK, Imperial J, Rosenfield RL, Polonsky KS. Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(7):2108-2116.

Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Body mass index, serum sex hormones and breast cancer risk in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(16):1218-1226.

Enriori CL, Reforzo-Membrives J. Peripheral aromatization as a risk factor for breast and endometrial cancer in pos-menopausal women: a rewiew. *Gynecol Oncol* 1984; 17:1-21.

European Society for Human Reprodution/ American Society of Reproductive Medicine. Joint meeting of the European Society for Human Reprodution and the American Society of reproductive Medicine. Rotterdam PCOS Workshop. May, 2000.

Falcão IM, Nogueira PJ. Incidência da Diabetes em Portugal. Notas sobre..., Setembro 2000.

Falkson G, Gelman RS, Leone L, Falkson CI. Survival of premenopausal women with metastatic breast cancer. Long-term follow-up of Eastern Cooperative Group and Cancer and Leukemia Group B studies. *Cancer* 1990; 66(7):1621-1629.

Fall CHD, Osmond C, Barker DJP, et. al. Fetal and infant growth and cardiovascular risk-factors in women. *Br Med J* 1995; 310:428-432.

Ferranini E, Haffner SM, Mitchell BD e col. Hyperinsulinemia: The key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 1991; 34: 416-422.

Ferranini E, Vichi S, Beck-Nielsen H, e col. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Insulin action and age. *Diabetes* 1996; 45: 947-953.

Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S & De Fronzo RA. Effect of fatty acids onglicose prodution and utilization in men. *J Clin Invest* 1983; 72: 1737-1747.

Festa A, D'Agostino RJ, Mykkanen L, e col. Relative contribution of insulin and its precursors to fibrinogen and PAI-1 in a large population with different states ofglicose tolerance. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Atherosclerosis, thrombosis and vascular biology* 1999; 19:562-568.

Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA* 2002; 288(14):1772-3.

Folsom AR, Kaye SA, Prineas RJ, Potter JD, Gapstur SM, Wallace RB. Increased incidence of carcinoma of the breast associated with abdominal adiposity in postmenopausal women. *Am J Epidemiol 1990*; 131(5):794-802.

Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison D. Years lost due to obesity. *JAMA* 2003;289:187-193.

Forbes JF, The control of breast cancer : The role of tamoxifen. *Seminars in oncology* 24 (1) suppl 1:S1-5-S1-19, 1997.

Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of metabolic syndrome among US adults. Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287:356-359.

Ford ES. Body mass index and colon cancer in a national sample of US men and women. *Am J Epidemiol* 1999; 150:390-339.

Ford ES. The metabolic syndrome and C-reactive protein, fibrinogen and leukocyte count: findings from the national health and nutrition examination suvey. *Atherosclerosis* 2003; 168(2):351-358.

Franceschi S, La Vecchia C, Negri E, Parazzini F, Boyle P. Breast cancer risk and history of selected medical conditions linked with female hormones. *Eur J Cancer* 1990; 26:781-785.

Friedenreich CM. Review of anthropometric factors and breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 2001; 10:15-32.

Furberg A-S, Veierød MB, Wilsgaard T, Bernstein L, Thune I. Serum high-density lipoprotein cholesterol, metabolic profile and breast cancer risk. J Natl Cancer Inst 2004; 96(15):1152-1160.

Gaard M, Tretli S, Urdal P. Risk of breast cancer in relation to blood lipids: a prospective study of 31, 209 Norwegian women. *Cancer Causes Control* 1994; 5:501-509.

Garfinkel L. Overweight and cancer. *Ann Int Med* 1985; 103(6 pt 2):1034-1036.

Giovannucci E, Pollak MN, Platz EA, Willett WC, Stampfer MJ, Majeed N, Colditz GA, Speizer FE, Hankinson SE. A prospective study of plasma insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and risk of colorectal neoplasia in women. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2000; 9:620-625.

Giovannucci E. Insulin and colon cancer. *Cancer Causes Controls* 1995; 6:164-179.

Giovannucci E. Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer : a review of evidence. *J Nutrition* 2001; 131:3109S-3120S.

Girman CJ, Rhodes T, Mercuri M, Pyorala K, Kjekshus J, Pedersen TR, Beere PA, Gotto AM, Clearfield M, 4S Group and the AFCAPS/TexCAPS). The metabolic syndrome and the risk of major coronary events in the Scandinavian Sinvastatin Survival Study (4S) and the Air Force/ Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). *Am J Cardiol* 2004; 93(2):136-141.

Giusti V, Pralong FP, Landry M, BrucKKhardt P, Gaillard RC, Relationship of serum leptin levels with body compartment and adipose tissue distribution in obese women. OR-11-5, abstracts

of the IV European Congress of Endocrinology, 1998.

Goodwin P, Ennis M, Pritchard KI, Trudeau ME, Koo J, Madarnas Y, Hartwick, Hoffman B, Hood N. Fasting insulin and outcome in early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study. *J Clin Oncol* 2002a; 20(1):42-51.

Goodwin PJ, Boyd NF, Hanna W, Hartwick W, Murray D, Qizilbash A, Redwood S, Hood N, Del Giudice ME, Sildlofsky S, McCready D, Wilkinson R, Mahoney L, Connelly P, Page DL. Elevated levels of triglycerides are associated with histologically defined premenopausal breast cancer risk. Nutr Cancer 1997; 27(3):284-292.

Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Maureen ET, Koo J, Hartwick W, Hoffman B, Hood N. Insulin-like growth factor binding proteins 1 and 3 and breast cancer outcomes. *Breast Cancer Res Treat* 2002b; 74:65-76.

Grattarola R, Secreto G, Recchione C, Castellini W. Androgens and breast cancer. II. Endometrial adenocarcinoma and breast cancer in married premenopausal women. *Am J Obstet Gynaecol* 1974:173-178.

Grattarola R. Androgens and breast cancer. I. Atypical endometrial hyperplasia and breast cancer in married premenopausal women. *Am J Obstet Gynaecol* 1973; 116:324-328.

Green S, Furr B. Prospects for the treatment of endocrine-responsive tumours. Endoc Rel Cancer 1999; 6:349-371.

Guerre-Millo M. Adipose Tissue and adipocytoquines: for better and worse. *Diabetes Metab* 2004; 30(1):13-19.

Haffner SM, Lehto, S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339(4):229-234.

Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK, Cardiovascular risk factors confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start tickling before the onset of clinical diabetes? *JAMA* 1990; 263:2893-2898.

Hajjar I, Kotchen TA. Trends and prevalence, awareness, treatment and control of hypertention in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003; 290(2):199-206.

Hales CN, Barker DJP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes *mellitus*: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992; 35:595-601.

Hall JE. Pathophysiology of obesity hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2000; 2(2):139-147.

Hall JE. The kidney, hypertension and obesity. *Hypertension* 2003; 41 (3 Pt 2):625-633.

Hankinson SE, Willett WC, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ, Spiegelman D, *et al*. Plasma Sex steroid hormones levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer*

Inst. 1998; 90: 1292-1299.

Hanley A, Williams K, Stern M, Haffner SM. Homeostasis Model Assessment of insulin resistance in relation to incidence of cardiovascular disease. *Diabetes Care* 2002; 25:1177-1184.

Hansen BC. Obesity, diabetes and insulin resistance: implications from molecular biology, epidemiology and experimental studies in humans and animals. *Diabetes Care* 1995; 18:A2-9.

Harvie M, Hooper L, Howell AH. Central Obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obes Rev* 2003; 4(3):157-173.

Helaine E, Jones K, Ruotolo G, Jain AK, Henderson, Lu W, Howard BV. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular disease in non-diabetic American Indians. The Strong Heart Study. *Diabetes Care* 2003; 26(3):861-867.

Helle SI. The insulin-like growth factor system in advanced breast cancer. *Best Practice & Research Clin Endocrinol Metabol* 2004; 18(1):67-79.

Hilakivi-Clarke L, Stoica A, Raygada M, Martin MB. Consuption of high fat diet alters ER content, PKC activity and mammary gland morphology in virgin and pregnant mice and female offspring. *Cancer Res* 1998; 58:654-660.

Holte J. Disturbances in insulin secretion and sensivity in women with the polycystic ovary syndrome. *Ball Clin Endocrinol Metabol* 1996; 10 (2):221-247.

Hotamisligil GS, & Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha – a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994; 43: 1271-1278.

Howard BV. Insulin resistance and lipid metabolism. *Am J Cardiol* 1999; 84:28J-32J.

Hoyer AP, Engholm. Serum lipids and breast cancer risk: a cohort study of 5207 Danish women. *Cancer Causes Control* 1992; 3:403-408.

Hu FB, Manson JE, Liu S, Hunter D, Colditz GA, Michels KB, Speizer PF, Giovannucci E. Prospective study of adult onset diabetes *mellitus* (type 2) and risk of colorectal cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:542-547.

Hu H, Shu XO, Shi R, Daí Q, Daí Q, Li BDL, Zheng W. Plasma Sex hormones and breast cancer risk in chinese women. *Int J Cancer* 2003; 105: 92-97.

Hu X, Juneja SC, Maihle NJ, Cleary MP. Leptin - a growth factor in normal and malignant breast cells and for normal mammary gland development. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94:1704-1711.

Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Dual effect of weight and weight gain on breast cancer risk. *JAMA* 1997; 278 (17):1407-1411.

Huang Z, Willet WC, Colditz GA, Hunter DJ, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hankinson SE. Waist circumference, waist: hip ratio, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Am J*

Epidemiol 1999; 150(12):1316-1324.

Imagawa W, Spencer E, Larson L, Nandi S. Somatomedin-C substitutes for insulin for the growth of mammary epithelial cells from normal virgin mice in serum free-collagen gel cell culture. *Endocrinology* 1986; 119:2695-2699.

Jácome de Castro J, Dias A, Baptista F, Garcia e Costa J, Galvão-Teles & Camilo-Alves A. Secular trends of weight, height and obesity in cohorts of young Portuguese males in the District of Lisbon: 1960-1990. *Eur J Epidemiol* 1998; 14:299-303.

Jenkins PJ, Frajese AMJ, Camacho-Hubner C, Lowe DG, Fairclough SLC, Grossman AB, Monson JP, Besser GM. Insulin-like growth factor I and the development of colorectal neoplasia in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(9):3218-3221.

Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. High triglycerides and low HDL cholesterol and blood pressure and the risk of ischemic heart disease. *Hypertension* 2000; 36:226-232.

Jernström H, Barrett-Connor E. Obesity, weight change fasting insulin, proinsulin, C-peptide, and insulin-like growth factor-1 levels in women with and without breast cancer: the Rancho Bernardo Study. *J Women's Health Gender Based Med* 1999; 8: 1265-1272.

Jerome L, Shiry L, Leyland-Jones B. Deregulation of the IGF axis in cancer: epidemiological evidence and potential therapeutic interventions. *Endocrine-related cancer* 2003; 10:561-578.

Juhan-Vague I, Thompson SG, on behalf of ECAT Angina Pectoris Study Group. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1865-1873.

Kaaks R, Tonitolo P, Akhmed A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud H, Rinaldi S, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Riboli E. Serum peptide-C, insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF-binding proteins and colorectal risk in women. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:1592-1600.

Kaaks R. Nutrition, hormones and breast cancer: Is insulin the missing link? *Cancer Causes and Controls* 1996; 7:605-625.

Kabuto M, Suminori A, Stevens RG, Neriishi K, Land CE. A prospective study of estradiol and breast cancer in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2000; 9:575-579.

Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA* 1979; 241(19):2035-2038.

Kaplan NM. The Deadly Quartet. Upper-Body Obesity,glicose Intolerance, Hypertriglyceridemia and Hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1514-1520.

Kelsey JL. A review of the epidemiology of human breast cancer. *Epidemiol Rev* 1979; 1:74-109.

Kemmeren JM, Beijerinck D, van Noord PAH, Banga JD, Deurenberg JJM, Pameijer FA, Graaf Y. Breast arterial calcifications: association with diabetes *mellitus* and cardiovascular mortality.

Radiology 1996; 201:75-78.

Kennedy A, Gettys TW, Watson P, *et al.* The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensivity and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metabol* 1997; 82(4):1293-1300.

Khosravi J, Diamandi A, Jehangir M, Seorilas A insulin-like growth factor I (IGF1) and IGF binding protein-3 in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(2):694-699.

Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Bush A, Short F, Anyaoku V, Reed MJ, Franks S. Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 1992; 36:105-111.

Kiddy DS, Sharp PS, White DM, Scalnon MR, Manson HD, Bray CS, Polson DW; Reed MJ, Franks S. Differences in clinical and endocrine features between obese and non-obese subjects with polycystic ovary syndrome:an analysis of 263 consecutive cases. *Clin Endocrinol* 1990; 32:213-220.

Killinger DW, Perer E, Daniilescu D, Kharlip L, Lindsay WR. The relationship between aromatase activity and body fat distribution. *Steroids* 1987; 50:61-72.

King H, Aubert RE, Herman RH. PROCOR: 1/19/99: Global Burden of Diabetes: Present and Future. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-1431.

Korhonen S, Hippelainen M; Niskanen L, Vanhala M, Saarikoski S. Relationship of the metabolic syndrome and obesity to polycystic ovary syndrome: a controlled, population-based study. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184(3):289-96.

Kuermarski, RJ, Flegel RM, Campbel SM et. al. Increasing prevalence of overweight among US adults: the National Health and Nutrition Surveys, 1960 to 1991. *JAMA* 1994; 272:205.

Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP. Small dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997; 95(1):69-75.

Land CE, Hayakawa N, Machado SG e col. A case-control interview study of breast cancer among Japanese a-bomb survivors. I. Main effects. *Cancer Causes and Control* 1994; 5:157-165.

Lanzone A.glicose metabolism, insulin and ovarian androgens: what is the linkage? *Gynecol Endocrinol* 2004; 18 (suppl 1): 50

Laughlin GA, Morales AJ, Yen SSC. Serum leptin levels in women with Polycystic Ovary Syndrome: the role of insulin resistance/hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(6):1692-1696.

Lawlor DA, Smith GD, Ebrahim S. Hyperinsulinaemia and increased risk of breast cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. *Cancer Causes Control* 2004; 15(3):267-275.

Lawson JS, Andrew SF, Tran DD, Houssami N. Hormone replacement therapy use dramatically increases breast oestrogen receptor expression in obese postmenopausal women. *Breast Cancer Res 2001*; 3 (5):342-345.

Lean ME. Pathophysiology of obesity. *Proc Nutr Soc* 2000; 59(3):331-336.

Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003; 4(3):302-12.

Lehto S, Ronnemaa T, Haffner SM, Pyorala K, Kallio V, Laakso M. Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle aged patients with NIDDM. *Diabetes* 1997; 46(8):1354-1359.

Leong N, Mignone LI, Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Baron JA, Trentham-Dietz, Stampfer MJ, Willett WC, Egan KM. Early life risk factors in cancer. The relation of birth weight to adult obesity. *Int J Cancer* 2003; 103:789-791.

Lewis GF, Carpenter A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endoc Rev* 2002; 23(2): 201-229.

Leyva F, Godsland IF, Ghatei M *et al.* Hyperleptinemia as a component of metabolic syndrome of cardiovascular risk. Arterioscler *Thromb Vasc Bol* 1998; 18(6): 928-933.

Li BDL, Khosravi JM, Berkel HJ, Diamandi A, Dayton MA, Smith M, Yu H. Free insulin-like growth factor-1 and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2001; 91:736-739.

Lindsay RS. Is type 2 diabetes the result of a "Thrifty Genotype" or a "Thrifty Phenotype"? In DeFronzo RA, Ferranini E, Keen H, Zimmet P. (eds.). *International Textbook of Diabetes*, 3th ed. Chinchester, UK: Wiley & Sons, 2004: pp584-596.

Lonnqvist F, Wennlund A, Arner P. Relationship between circulating leptin and peripheral fat distribution in obese subjects. *Int J Obesity Relat Metab Disord* 1997; 21:255-260.

Lynn AG, Ries MS. Top 5 cancers for females and males in the US. *J Natl Cancer Inst* 1995 87:867.

Macaulay VM. Insulin-like growth factors and cancer. *Br J Cancer* 1992; 65:311-320.

Malin A, Daí Q, Yu H, Shu XO, Jin F, Gao YT, Zheng W. Evaluation of the synergistic effect of insulin resistance and insulin-like growth factors on the risk of breast carcinoma. *Cancer* 2004; 100(4):694-700.

Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC, Brown J, Zhao F, Hunt D, Piegas L, Calvin J, Keltai M, Budaj A. *Circulation* 2000; 102(9):1014-1019.

Mänisto S, Pietinen P, Pyy M, e col. Body size indicators and risk of breast cancer according to menopause and estrogen receptor status. *Int J Cancer* 1996; 68:8-13.

Manjer J, Carlsson S, Elmstahl S, Gullberg B, Janzon L, Lindstrom M, Mattisson I, Berlung G. The Malmo cancer and diet study: representativity, cancer incidence and mortality in participants and non-participants. *Eur J Cancer Prev* 2001a; 10:489-499.

Manjer J, Johansson R, Berglund G, Janzon L, Kaaks R, Agren A, Lenner P. Postmenopausal breast cancer risk in relation to sex steroid hormones, prolactin and SHBG (Sweden). *Cancer Causes Control* 2003; 14(7): 599-607.

Manjer J, Kaaks R, Riboli E, Berlung G. Risk of breast cancer in relation to anthopometry, blood pressure, blood lipids andglicose metabolism: a prospective study within the Malmö Preventive Project. *Eur J Cancer Prev* 2001b; 10:33-42.

Mantzoros C, Petridou e, Dessypris N, Chavelas C, Dalamaga M, Alexe DM, Papadiamantis Y, Markopoulos C, Spanos E, Chrousos G, Trichopoulos D. Adiponectin and breast cancer risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(3):1102-1107.

Mantzoros CS, Bolhke K, Mochos S, Cramer DW. Leptin in relation to carcinoma *in situ* of the breast: a study of pre-menopausal cases and controls. *Int J Cancer* 1999; 80:523-526.

Mantzoros CS, Dunaif A, Jeffrey SF. Leptin Concentrations in the Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(6):1687-1691.

Maratos-Flier E, Goldstein BJ, Kanh CR. Insulin receptor and pós-receptor mechanisms. In: Pickup JC & Williams G (eds*). Texbook of Diabetes*, 2nd ed. Pp. Oxford, UK. Blackwell Science, 1997. pp 10.1-10.22.

Matsuda M, De Fronzzo RA. Insulin sensivity indices obtained from oralglicose tolerance testing. Comparison with euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999; 22(9):1462-1470.

Mattews DR, Hosker JP, Rudenski AS, e col. Homeostasis model assessment: insulin resistance and b-cell funcion from fasting plasmaglicose and insulin concentration. *Diabetologia* 1985; 28:412-419.

Mc Carthy MI, Froguel P, Hitman GA. The genetics of non insulin dependent diabetes *mellitus*: tools and aims. *Diabetologia* 1994; 37:959-968.

Mc Tiernan A, Rajan K, Tworoger SS, Irwin M, Bernstein L, Baumgartner R, Gilliand F, Stanczyk FZ, Yasui Y, Ballard-Barbach R. Adiposity and sex hormones in postmenopausal breast cancer survivors. *J Clin Oncol* 2003; 21(10): 1961-1966.

McTiernan A, Kooperberg C, White E, Wilcox S, Coates R, Adams-Campbell LL, Woods N, Ockene J. Recreational physical activity and the risk of breast cancer in postmenopausal women. The Women's Health Iniciative Cohort Study. *JAMA* 2003; 290(10): 1331-1336.

Mehta RG, Williamson E, Patel MK, Koeffler HP. A ligand of peroxisome proliferator-activated receptor g, retinoids, and prevention of preneoplastic mammary lesions. J Natl Cancer Inst 2000; 92(5):418-423.

Meigs JB, Wilson PW, Nathan DM, D'Agostino RB Sr, Williams K, Haffner SM. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in the San Antonio Heart and Framingham Offspring Studies. *Diabetes* 2003; 52 (8):2160-2167.

Michels KB, Solomon CG, Hu FB, Rosner BA, Hankinson SE, Colditz GA, Manson GE. Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 2003; 26(6):1752-1758.

Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362:419-27.

Mohamed-Ali, Pinkey JH, Panahloo A, *et al.* Relationships between plasma leptin and insulin concentrations, but not insulin resistance, in non-insulin dependant (type2) diabetes *mellitus*. Diabet Med 1997; 14(5):376-380.

Mohanty P, Aljada A, Ghanim H, e col. Rosiglitazone improves vascular reactivity, inhibits reactive oxigen species (ROS), generation, reduces p47phox subunit expresión in mononuclear cells (MNC) and reduces C reactive protein (CRP) and monocyte chemotatic protein – 1 (MCP-1):evidence of a potent anti-inflammatory effect. *Diabetes* 2001; 50 (suppl2): A68.

Moller H, Mellemgaard A, Lindvig K, Olsen JH. Obesity and cancer risk: a Danish record-linkage study. *Eur J Cancer* 1994; 30A(3): 344-350.

Moorman PG, Hulka BS, Hiatt RA, Krieger N, Newman B, Vogelman JH, Orentreich N. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1998; 7(6): 483-448.

Mosenson M, Koening KL, Shore RE, Paternack BS. The influence of medical conditions associated with hormones on the risk of breast cancer. *Int J Epidemiol* 1997;26:484-90.

Muti P, Quattrin T, Brydon JBG, Krogh V, Micheli A, Schünemann HJ, Malathi Ram, Freudenheim JL, Sieri S, Trevisan M, Berrino F. Fastingglicose is a risk factor for breast cancer. A prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11:1361-1368.

Myoshi Y, Tanji Y, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. Association of serum estrone levels with estrogen receptor-positive breast cancer risk in postmenopausal Japanese women. *Clin Cancer Res* 2003; 9:2229-2233.

Nabarro JD. Acromegaly. *Clin Endoc* (Oxf) 1987; 26(4):481-512.

National Cancer Institut Press Office. *Obesity and cancer* (301) 496-6641. Set 2001.

National Cholesterol Education Program. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285:2486-2497.

National Institut of Health Health implications of obesity: an NIH consensus development conference statment. *Ann Int Med* 1985; 103:147-151.

Neel JV. The "Thrifty Genotype"in 1998. *Nutr Ver* 1999; 57(5) (Pat II) S2-S9.

Nestler JE, Jakubowicz J, Evans WS, Pasquali R. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene-induced ovulation in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338:1876-1880.

Nestler JE, Powers LP, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Rittmaster RS, Clore JN, Blackard WG.A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metabol* 1991; 72:83-89.

Nestler JE. Rationale and strategies for the use of metformin to treat infertility in the polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2004; 18 (suppl 1):50.

Neves C, Medina JL, Lopes M. Hipertensão arterial e risco de carcinoma. *Arquivos de Medicina* 2004; 18 (supl 1):103.

Neves C, Medina L, Lopes F. Diabetes *mellitus* and risk of cancer. Abstracts of the 38th Annual Meeting of EASD, 2002.

Ng EH, Gao F, Ji CY, Ho GH, Soo KC. Risk factors for breast carcinoma in Singaporean Chinese women: the role of central obesity. *Cancer* 1997; 80(4):725-31.

Niskanen L, Haffner S, Karhunen LJ, e col. Serum leptin in relation to resting energy expenditure and fuel metabolism in obese subjects. *Int J Obesity* 1997; 21:309-313.

Nobre EL, Jorge Z, Macedo A, Jácome de Castro J. Trends of weight, height and obesity in cohorts of young Portuguese males:1995-1999. *Eur J Epidemiol* 2003; 18:1165-1166.

Odgen CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. *JAMA* 2002; 288(14):1728-1732.

Orme SM, McNally RJ, Cartwright RA, Belchetz PE, Mortality and cancer in acromegaly: a retrospective cohort study. *J Clin Endocrinol Metab*1998; 83:2730-2734.

Pacini G, Mari A. Methods for clinical assessment of insulin sensivity and b cell function. *Best Pract Clin Endocrinol Metab* 2003; 17:305-322.

Padez C. Stature and stature distribution in Portuguese male adults 1904-1998: the role of environmental factors. Am J Hum Biol. 2002; 14(1):39-49

Parulkar AA, Pendergrass ML, Granda-Ayala R, e col. Non-hypoglycemic effects of thiazolinediones. *Ann Int Med* 2001; 134:61-71.

Pasqualini JR, Cortes-Prieto J, Chetrite G, Talbi M & Ruiz A. Concentrations of estrone, estradiol and their sulphates and evaluation of sulfatase and aromatase activities in patients with breast fibroadenoma. *Int J Cancer* 1997; 70:639-643.

Pasqualini JR. Role of androgens in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 45(1-3): 167-172.

Patel L, Charlton SJ, Marshall IC, e col. PPARg is not a critical mediator of primary monocyte differenciation or foam cell formation. *Bioch Bioph Res Communications* 2002; 290:707-712.

Peeters PH, van Noord PA, Hoes AW, Frachboud J, Gimbrere CH, Grobbee DE. Hypertension and breast cancer risk in a 19-year follow-up study (the DOM cohort). Diagnostic investigation into mammarian cancer. *J Hypertens* 2000; 18(3):249-54.

Pereira J, Mateus C, Amaral MJ. Custos da obesidade em Portugal. Artigo a publicar como Documento de Trabalho da Associação Portuguesa de Economia de Saúde (APES). Lisboa, 1999.

Peto R. Mortality from breast cancer in UK has decreased suddenly. *Brit Med J* 1998; 317:476-477.

Peto R. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20-69 years. *Lancet* 2000; 355:1822.

Petridou E, Papadiamantis Y, Markopoulos C, Spanos E, Dessypris N, Trichopoulos D. Leptin and insulin growth factor I in relation to breast cancer. *Cancer Causes Control* 2000; 11(5):383-388.

Peyrat JP, Vanlemmens L, Fournier J, Huet G, Révillion F, Bonneterre J. Prognostic value of p53 and urokinase-type plasminogen activator in node-negative human breast cancers. *Clin Cancer Res* 1998; 4:189-196.

Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs AJ, Wild SH, Jacobs HS. Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long time follow up. *J Clin Epidemiol* 1998; 51(7):581-586.

Pignatelli D. A insulina e a esteroidogenese ovárica. *Endoc Metab Nut* 1996; 5 (2):79-91.

Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(2):447-452.

Plymate SR, Matej LA, Jones RE, Friedl KE. Inhibition of sex hormone-binding globulin production in the human hepatoma (Hep2)cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 460-464.

Pollak MJ, Giovannucci E, Chan JM, Hennekens TT, Stampfer MJ. Prospective study of colorectal cacer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF-1) and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:620-625.

Pyorala M, Miettinen H, Laakso M, Pyorala K. Hyperinsulinemia predicts coronary heart disease risk in healthy middle-aged men: the 22 year follow-up results from the Helsinki Policemen Study. *Circulation* 1998; 98(5):398-404.

Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. Theglicose fatty-acid cycle: its role in insulin sensivity and the metabolic disturbances of diabetes *mellitus*. *Lancet.* 1963; i: 785-789.

Reaven G. The fourth mosketeer-from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia* 1995; 38:3-13.

Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol Metabol Clin N Am* 2004; 33: 283-303.

Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595-1607.

Registo Oncológico. Anos 1999-2000. IPOFG/CROP, SA. 2004.

Renehan AG, Painter JE, Atkin WS, Potten CS, Shalet SM, Dwyer ST. High-risk colorectal adenomas and serum insulin-like growth factors. *Br J Surg* 2001; 88:107-113.

Renehan AG, Zwahlen M, Minder C, O'Dwyer ST, Shalet SM, Egger M. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Lancet* 2004; 363:1346-1353.

Rha SY, Kim JH, Roh JH e col. Sequencial prodution and activation of MMP9 with breast cancer progression. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 43:175-181.

Ridker PM, Rifai N, Rose L, e col. Comparison of C-reactive protein and low density lipoprotein cholesterol levels in the predition of first cardiovascular events. *New Engl J Med* 2002; 347:1557-1565.

Ridker PM. Clinical application of c-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3):363-369.

Ries LAG, Kosary CKL, Hankey BF, e col. SEER cancer statistics rewiew 1973-1996. *Nat Cancer Inst* 1999; Bethesda, MD, USA.

Robinson S, Kiddy D, Gelding SV. The relationship of insulin sensivity to menstrual pattern in women with hyperandrogenism and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol* 1993; 39:351-355.

Roden M e col. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resiastance in humans. *J Clin Invest* 1996; 97:2859-2865.

RORENO (Registo Oncológico Regional do Norte). IPO-Porto, 1993

RORENO (Registo Oncológico Regional do Norte). IPO-Porto, 1994

RORENO (Registo Oncológico Regional do Norte). IPO-Porto, 1995

Rose DP. Dietary Factors and breast cancer. Cancer Surv 1986; 5(3): 671-687.

Rose DP, Gilhooly EM, Nixon DW. Adverse effects of obesity on breast cancer prognosis, and the biological actions of leptin (Review). *Int J Oncol* 2002; 21:1285-1292.

Rouru J, Leena A, Koskinen P, Penttila TA, Kerttu I, Huuponen, Koulu M. Serum Leptin Concentrations in women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(6):1697-1700.

Ruan W, Catanese V, Wieczorek R, Feldman M, Kleinberg D. Estradiol enhances the stimulatory effect of insulin-like growth factor (IGF1) on mammary development and growth hormone-induced

IGF-1 messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 1995; 136:1296-1302.

Sachdev D, Yee D. The IGF system and breast cancer. *Endoc Relat Cancer* 2001; 8:197-209.

Santos AC, Lopes C, Barros H. Prevalência do Síndrome metabólico no Porto. *Rev Port Cardiol 2004* ; 23(1):45-52.

Santos AP, Sousa G, Bastos L, Maio R, Portocarrero M. Avaliação da composição corporal e regional por DEXA numa amostra de doentes com patologia mamária. *Oncologia* 2003 (ed. especial):49.

Schairer C, Hill D, Sturgeon SR, Fears T, Pollak M, Mies C, Ziegler RG, Hoover RN, Sherman ME. Serum concentrations of IGF1, IGFBP-3 and C-peptide and risk of hyperplasia and cancer in postmenopausal women. *Int J Cancer* 2004; 108(5):773-779.

Schapira DV, Clark RA, Wolff P, Jarrett AR, Kumar NB, Aziz NM. Visceral obesity and breast cancer risk. *Cancer* 1994; 74(2): 632-639.

Schapira DV, Kumar NB, Lyman GH, Cox C. Abdominal Obesity and Breast Cancer Risk. *Ann Int Med* 1990; 112:182-186.

Schoen RE, Tangen CM, Kuller LH, Burke GL, Cushman M; Tracy RP, Dobs A, Savage PJ. Increased bloodglicose and insulin, body size, and incident colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1147-1154.

Schoojans K, Staels B, Auwerx J. The Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARS) and their effecrs on lipid metabolism and adipocyte differenciation. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1302:93-109.

Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106(2):171-176.

Simon MS, Tang MT, Bernstein L, Norman SA, Weiss L, Burkman RT, Daling JR, Deapen D, Folger SG, Malone K, Marchbanks PA, McDonald JA, Strom BL, Wilson HG, Spirtas T. Do thyroid disorders increase the risk of breast cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11:1574-78.

Sinagra D, Amato C, Scarpilta AM, Brigandi M, Amato M, Saura G, Latteri MA, Caimi G. Metabolic syndrome and breast cancer risk. Eur *Rev Med Pharmacol Sci* 2002; 6(2-3):55-59.

Sociedade Portuguesa para o Estudo da Obesidade. Conferência de Consenso: Obesidade e sua terapêutica. *Endocrinol Metab Nutr* 1995; 4(2):45-102.

Sociedade Portuguesa para o Estudo da Obesidade. Conferência de Consenso: Obesidade e sua terapêutica 2001. *Obesidade, Diabetes e Complicações* 2001; 1(1):33-54.

Soler M, Chatenoud L, Negri E, Frenceschi S, la Vecchia C. *Hypertension* 1999; 34(2):320-325.

Sondik EJ. Breast Cancer trends: incidence, mortality and survival. *Cancer* 1994; 74:995-999.

Sonnenschein E, Toniolo P, Terry MB, Bruning PF, Kato I, Koening KL, Shore RE. Body fat distribution and obesity in pre-and postmenopausal breast cancer. *Int J Epidemiol* 1999; 28:1026-1031.

Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16(2):434-444.

Steenland K, Nowlin S, Palu S. Cancer incidence in the National Health and Nutrition Survey I. Follow-up data: diabetes, cholesterol, pulse and physical activity. *Cancer Biomarkers Prev* 1995; 4:807-11.

Stoll BA. Biological mechanisms in breast cancer invasiveness: relevance to preventive interventions. *Eur J Cancer Prev* 2000; 9(2):73-79.

Stoll BA. Breast Cancer: further metabolic-endocrine risk markers? *Br J Cancer* 1997; 76 (12):1652-1654.

Stoll BA. Impaired ovulation and breast cancer risk. *Eur J Cancer* 1997; 33 (10):1532-1535.

Stoll BA. Obesity and breast cancer. *Int J Obesity* 1996; 20: 389-392.

Stoll BA. Teenage obesity in relation to breast cancer risk. *Int J Obes* 1998; 22:1035-40.

Stoll BA. Western nutrition and the insulin resistance syndrome: a link to breast cancer. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53 (2):83-87.

Sturgeon SR, Potischman N, Malone KE, Dorgan JF, Daling J, Schrairer C, Brinton LA. Serum levels of Sex hormones and breast cancer risk in premenopausal women: a case-control study (USA). *Cancer Causes Control* 2004; 15(1):45-53.

Swederlow AJ, Higgins CD, Adlard P, Preece MA. Risk of cancer in patients treated with human pituitary growth hormone in the UK, 1959-85: a cohort study. *Lancet* 2002; 360:273-277.

Tannenbaum A, Relationship of body weight to cancer incidence. *Arch Pathol* 1940; 38:509-5017.

Tekden N, Kahraman H, Yucel I, Adam B, Yildiz C, Tanyeri F. Insulin and C-peptide response to oral glucose in patients with breast cancer. *Ann Oncol* 1996; 7(suppl.5):24.

Tessitore L, Vizio B, Jenkins O, Stefano I, Ritttossa C, Argiles JM, Benedetto C, Mussa A. Leptin expression in colorectal and breast cancer patients. *Int J Mol Med* 2000; 5(4):421-426.

Tessitore L, Vizio B, Pesola D, Cecchini F, Mussa A, Argiles JM, Benedetto C. Adipocyte expression and circulating levels of leptin increase in both gynaecological and breast cancer patients. *Int J Oncol* 2004; 24(6):1529-1535.

Thomas HV, Reeves GK, Key TGA. Endogenous estrogen and postmenopausal breast cancer: a

quantitative review. *Cancer causes and control* 1997; 8:922-928.

Thompson WD, Jacobson HI, Negrini B, Janerich DT. Hypertension, pregnancy, and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81:1571-1574.

Tonitolo P, Brunning PF, Akhmedkhanov A, Bonfrer JM, Koening KL, Lukanova A, Shore RE, Zeleniuch-Jacquotte A. Serum insulin-like growth factor-I and breast cancer. *Int J Cancer* 2000; 88:828-832.

Torgerson JS, Hauptman J, Boldrin MN, Sjostrom L. XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of "orlistat" as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese subjects. *Diabetes Care* 2004; 27(1):155-161.

Tornberg AS, Holm LE, Carstensen JM. Breast Cancer risk in relation to serum cholesterol, serum beta-lipoprotein, height, weight and blood pressure. *Acta Oncol* 1988; 27:31-37.

Tuan C-Y, Abbasi F, Lamendola C, Mc Laughlin T, Reaven G. Usefulness of plasmaglicose and insulin concentrations in identifying patients with insulin resistance. *Am J Cardiol* 2003; 92:606-610.

Tulinius H, Sigvaldason H, Bjarnadóttir K, Trygvadóttir L. Risk factors for malignant diseases: a cohort study on a population of 22,946 Icelanders. *Cancer Biomarkers Prev* 1997; 6:863-873.

Turpeinen AK, Haffner SM, Louheranta AM e col.. Serum leptin in subjects with impairedglicose tolerance in relation to insulin sensivity and first-fase insulin response. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1977; 21: 284-287.

Vague J. The degree of masculine differenciation of obesities. A factor determining the predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout and calculous disease. *Am J Clin Nutr* 1956; 4:20-34.

Vainio H, Kaaks R, Bianchini F. Weight control and physical activity in cancer prevention: international evaluation of the evidence. Eur J Cancer Prev 2002; 2:S94-S100.

Vanky E. Metformin reduces pregnancy complications in PCOS women. Results of a prospective, randomized, double blind pilot study. *Gynecol Endocrinol* 2004; 18 (suppl 1):48.

Vatten LJ, Foss OP. Total serum cholesterol and triglycerides and risk of breast cancer: a prospective study of 24,329 Norwegian women. *Cancer Res* 1990; 50:2341-2346.

Vauhkonen I, Niskanen L, Vanninen S e col.. effects in insulin secretion and insulin-resistant phnotype is associated with high serum leptin levels in offspring of patients with non-insulin-dependant diabetes *mellitus*. *Eur J Endocrinol* 1998 ;139(6):598-604.

Verkasalo PK, Thomas HV, Appleby PN, *et al.* Circulating levels of sex hormones and their relation to risk factors for breast cancer: A cross-sectional study in 1092 pre- and postmenopausal women (UK). *Cancer Causes Control* 2001; 12:47-59-

Verreault R, Brisson J, Deschenes L, Naud F. Body weight and prognostic indicators in breast cancer. Modifying effect of estrogen receptors. *Am J Epidemiol* 1989; 129(2):260-268.

Wahli W. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): from metabolic control to epidermal wound healing. *Swiss Med Wkly* 2002; 132:83-91.

Wang Q, Bing C, Al-Baranji K, e col. Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat. *Diabetes* 1997; 46(3):335-41.

Weaver JU, Holly JMP, Kopelman PG, Giadom CG, White N, Virdee S, Wass JAH. Decreased sex hormone binding globulin (SHBG) and insulin-like growth factor binding protein (IGFBP1) in extreme obesity. *Clin Endocrinol* 1990; 33:115.

Westerlind KC, Mc Carthy, Schulthesiss, Story R, Reed AH, Baier ML, Strange R. Moderate exercice training slows mammary tumour growth in adolescent rats. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12:281-287.

Wilding J, Williams G. Diabetes and Obesity. In Kolpelman PG, Stock MJ (eds). *Clinical Obesity*. 1rst ed. Oxford, UK. Blackwell Science, 1999: pp308-349.

Will JC, Galuska DA, Vinicor F, Calle EE. Colorectal cancer: another complication of diabetes *mellitus*? *Am J Epidemiol* 1998; 147:816-825.

Williams G, Pickup J. The causes of non-insulin dependant diabetes *mellitus*. In Handbook of Diabetes. Williams G, Pickup J (eds). Oxford, UK. Blakwell Science, Oxford, 1998:pp.15.

Williams RR, Sorlie PD, Manning F, McNamara P, Kannel WK, Dawber TR. Cancer incidence by levels of cholesterol. *JAMA* 1981; 245: 247-252.

Wolf AM, Manson JE, Colditz GA. The Economic Impact of Overweight, Obesity and Weight Loss. In: Eckel R, (ed). Obesity: Mechanisms and Clinical Management. Philadelphia, USA. Lippincott, Williams and Wilkins; 2002.

Wolk A, Gridley G, Svensson, Nyren O, Mc Laughlin JK, Fraumeni F, Adami Jr&H-O. A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control* 2001; 12:13-21.

World Health Organization 1989

World Health Organization: Who expert Committee on Diabetes *Mellitus*. Second Report. 1980; Geneva, WHO (tech. Rep. Ser., nº 646-1).

Writing Group for the Women's Health Iniciative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principal Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2002; 288:321-333.

www.medscape.com/viewarticle/441282

Yang G, Lu G, Jin F e col. Population based , case-study on blood C-peptide level and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2001; 10:1207-1211.

Yildirim B, e col. Visceral fat may signal risk of metabolic complications in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79:1358-1364.

Yki-Jarvinen. Insulin resistance and endothelial dysfunction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17(3):411-430.

ZajicekG. A new cancer hypothesis. *Med Hypothesis* 1996; 47: 111-115.

Zamboni M, Turcato E, Armellini F, Kahn HS, Zivelonghi A, Santana H, Bergamo-Andreis IA, Bosello O. Sagittal abdominal diameter as a practical predictor of visceral fat. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998;22(7):655-60.

Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Koening KL, Akmhmedkhanov A, Afanasyeva Y, Kato I, Kim MY, Rinaldi S, Kaaks R, Tonitolo P. Postmenopausal levels of oestrogen, androgen, and SHBG, and breast cancer: long term results of a prospective study. Br J Cancer 2004; 90(1): 153-159.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse ob gene and its human homologue. Nature 1994; 372: 425-432.

Zimmet P, Boyko EJ, Collier GR, de Courten M. Etiology of the metabolic syndrome : potencial role of insulin resistance, leptin resistance, and other players. Ann N Y Acad Sci 1999; 18:892:25-44.

Zimmet P, Hodge A, Nicolson M *et al.* Serum leptin concentration, obesity and insulin resistance in Western Samoans: cross sectional study. *BMJ* 1996; 313(7063):965-9.

10 - Anexos

ANEXO 1

CONSENTIMENTO INFORMADO

MÉDICO:

Eu, Ana Paula Soares Santos, abaixo assinada, cédula profissional nº30858, confirmo que expliquei à doente em epígrafe de forma adequada e inteligível o objectivo do estudo "Falência dos mecanismos de regulação endócrina na obesidade e sua relação com a carcinogénese mamária", assim como dos riscos e complicações da Prova de Tolerância Oral à Glicose, que faz parte do Protocolo de Avaliação.

Assinatura_____

DOENTE:

Eu, _____ ,
Abaixo assinada declaro que concordo em participar no estudo que me foi proposto e autorizo a realização dos actos médicos indicados, nomeadamente a prova diagnóstica referida.

Assinatura_____

BI nº_____de__/__/__ , AI de

Porto e IPOFG, __/__/__

ANEXO 2

PROTOCOLO AVALIAÇÃO CANCRO DA MAMA/ OBESIDADE

ANO IPO _____/_____/____

IDADE _____ **ANOS** **NATURALIDADE** _____

MOTIVO _____

ANTECEDENTES PESSOAIS:

FUMADORA ☐ SIM ☐ NÃO

HÁBITOS ALCOOLICOS: ☐ NÃO ☐ 1x/SEMANA ☐ 2-3 x/SEMANA ☐ > 3x/SEMANA

EXERCICIO FISICO: ☐ NÃO ☐ 1-2 x/SEMANA ☐ 2-4x/SEMANA ☐ > 4 x/SEMANA

IDADE MENARCA: _____ ANOS IDADE MENOPAUSA: _____ANOS

ACO: ☐SIM ☐NÃO DURAÇÃO: _____ ANOS

THS: ☐SIM ☐NÃO DURAÇÃO: _____ANOS

PARIDADE: ☐NÃO ☐ SIM IDADE 1ª GRAVIDEZ _____ ANOS

____ Gesta ____ Para DG MACROSSOMIA

DM: ☐SIM ☐NÃO DISLIPIDEMIA: ☐SIM ☐NÃO

HTA: ☐ SIM ☐ NÃO ÁC. URICO: ☐SIM ☐NÃO

ANTECEDENTES FAMILIARES:

DM TIPO 2: ☐ SIM ☐ NÃO CA MAMA: ☐ SIM ☐ NÃO

Exame Físico:

Altura: _____ m Peso: _____ Kg IMC _____ Kg/m^2

TA: _____/_____ mmHg PC _____/ PA_____ = _____

Outros:_____

Bioquímica:

Glicose: _____mmol/l CT _____ mmol/l TG _____mmol/l

HDL-C: _____mmol/l LDL-C: _____ mmol/l Ac. Urico: _____mmol/l

Endocrinologia:

TSH: _____Um/L Cortisol _____ mg/24h

FSH: _____ mU/ml LH _____ mU/ml IGF1: _____ ng/ml

Leptina: _____ pg/ml Peptídeo C: _____ ng/ml

Delta 4 And. _____ ng/ml SHBG _____ Estrona _____

TTOG:

Glicose: _____/_____/_____/_____/_____ mmol/l

Insulina: _____/_____/_____/_____/_____uU /ml

Densitometria Corporal:

Receptores Hormonais:

RE _____ RP _____ RIGF1_____

Genética:

Polimorfismos Er325: _____

Polimorfismos PGr: _____

Citometria Fluxo

Fase S _____

Ki67 _____

Diagnóstico:

Maligno IR ☐ Benigno IR ☐ Maligno NIR ☐

Histologia: _____