

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE FARMÁCIA**



**A CONTRIBUIÇÃO DAS DOENÇAS METABÓLICAS
NO DESENVOLVIMENTO DO CANCRO**

Joana Nery Ramos

Monografia realizada sob orientação da Professora Doutora Maria João Silva

V Mestrado em Análises Clínicas

Lisboa, 2014

RESUMO

A presente monografia tem como objetivo sumarizar os mecanismos patogénicos que apoiam a hipótese do cancro ser primariamente uma doença metabólica e/ou uma sua consequência. Discute-se a utilização da glicólise aeróbia pelas células cancerígenas, a importância do sistema “fator de crescimento semelhante à insulina” (IGF) na indução das vias de sinalização da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK) e da fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K), os efeitos de alguns oncogenes e supressores tumorais na regulação do metabolismo, e o papel da disfunção mitocondrial no desenvolvimento de mutações no genoma nuclear. É ainda discutida a hipótese, apontada por vários estudos, de a síndrome metabólica, obesidade e diabetes serem possíveis fatores etiológicos do cancro. Esta hipótese, a ser confirmada, deverá alterar radicalmente a abordagem preventiva e terapêutica do cancro.

Palavras-chave: cancro, glicólise aeróbia, síndrome metabólica, obesidade, diabetes.

ABSTRACT

The present monograph aims to summarize the pathogenic mechanisms supporting the hypothesis that cancer is primarily a metabolic disease and/or a consequence of it. It is discussed the use of aerobic glycolysis by cancer cells, the importance of the insulin-like growth factor (IGF) system in the induction of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) signaling pathways, the effects of some oncogenes and tumor suppressors in the regulation of metabolism, and the role of mitochondrial dysfunction in the development of nuclear genome mutations. Pointed out in several studies, it is also discussed the hypothesis that metabolic syndrome, obesity and diabetes are possible etiologic factors of cancer. This hypothesis, to be confirmed, will radically modify the approaches to cancer prevention and therapy.

Keywords: cancer, aerobic glycolysis, metabolic syndrome, obesity, diabetes.

ÍNDICE

RESUMO	i
ABSTRACT	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
1. Introdução.....	1
2. Metodologia	4
3. Metabolismo e vias de sinalização celular	5
3.1. Mecanismos gerais de produção de energia.....	5
3.2. Metabolismo do cancro e hipóxia	6
3.3. Espécies reativas de oxigénio e regulação da glicólise.....	10
3.4. O sistema IGF	11
3.5. Vias de sinalização da regulação do metabolismo.....	13
3.6. A importância da via das pentoses de fosfato	16
4. As alterações do metabolismo celular e o cancro	18
5. As alterações sistémicas do metabolismo e o cancro	23
5.1. Síndrome metabólica	23
5.2. Obesidade.....	24
5.3. Hipertensão	29
5.4. Dislipidemia.....	29
5.5. Resistência à insulina, hiperglicémia e diabetes	30
6. Conclusão.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Relação entre as principais vias associadas ao metabolismo da glucose em células cancerígenas e seus principais destinos metabólicos	7
Figura 2. Cooperação entre o metabolismo da glucose e da glutamina nos tumores em crescimento.....	8
Figura 3. Fatores reguladores do HIF-1 e consequências da sua expressão	10
Figura 4. Efeitos dos IGFs e do IGF-1R em células normais e cancerígenas e sua relação com moléculas mitogénicas e antiproliferativas, produtos de genes supressores tumorais e estilo de vida.....	12
Figura 5. Diagrama representativo da relação entre a síndrome metabólica e o desenvolvimento de cancro.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS

Acetil-CoA:	Acetil-Coenzima A
ADP:	Adenosina difosfato
AMP:	Adenosina monofosfato
AMPK:	Proteína cinase ativada por AMP (<i>AMP-activated protein kinase</i>)
ATP:	Adenosina trifosfato
CAT:	Ciclo dos ácidos tricarboxílicos
cHDL:	Lipoproteína de alta densidade (<i>High-density lipoprotein</i>)
cLDL:	Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low-density lipoprotein</i>)
DM:	Diabetes <i>mellitus</i>
DNA:	Ácido desoxirribonucleico (<i>Deoxyribonucleic acid</i>)
FH:	Fumarato hidratase
G6P:	Glucose-6-fosfato
GLUT:	Transportador da glucose (<i>Glucose transporter</i>)
HIF-1:	Fator induzido pela hipóxia 1 (<i>Hypoxia-inducible factor 1</i>)
HK:	Hexocinase (<i>Hexokinase</i>)
IDH:	Isocitrato desidrogenase
IGF-1:	Fator de crescimento semelhante à insulina 1 (<i>Insulin-like growth factor 1</i>)
IGF-1R:	Recetor do IGF-1 (<i>IGF-1 receptor</i>)
IGFBP:	Proteínas de ligação ao IGF (<i>IGF binding proteins</i>)
IL:	Interleucina
IMC:	Índice de Massa Corporal
LDH:	Lactato desidrogenase
LKB1:	Cinase hepática B1 (<i>Liver kinase B1</i>)
LMA:	Leucemia mielóide aguda
MAPK:	Proteína cinase ativada por mitogénio (<i>Mitogen-activated protein kinase</i>)
mtDNA:	DNA mitocondrial
mTOR:	Proteína alvo da rapamicina nos mamíferos (<i>Mammalian target of rapamycin</i>)
mTORC:	Complexo da mTOR (<i>mTOR complex</i>)
MYC:	<i>v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog</i>
NAD ⁺ :	Dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado (<i>Nicotinamide adenine dinucleotide oxidized</i>)

NADH:	Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (<i>Nicotinamide adenine dinucleotide reduced</i>)
NADPH:	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced</i>)
NF-κB:	Fator nuclear κB
OXPPOS:	Fosforilação oxidativa (<i>Oxidative phosphorylation</i>)
p53:	Proteína tumoral p53
PAI-1:	Inibidor do ativador do plasminogénio 1 (<i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>)
PDH:	Piruvato desidrogenase (<i>Pyruvate dehydrogenase</i>)
PDK1:	Piruvato desidrogenase cinase 1 (<i>Pyruvate dehydrogenase kinase 1</i>)
PFK:	Fosfofrutocinase (<i>Phosphofrutokinase</i>)
PHD:	Prolil-4-hidroxilase
PI3K:	Fosfatidilinositol 3-cinase (<i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>)
PK:	Piruvato cinase (<i>Pyruvate kinase</i>)
PKB:	Proteína cinase B (<i>Protein kinase B</i>)
PKM2:	Piruvato cinase M2
PP:	Pentoses de fosfato
pRB:	Proteína do retinoblastoma
PTEN:	<i>Phosphatase and tensin homolog</i>
Ras:	<i>Rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
RE:	Recetores de estrogénio
RI:	Recetor(es) de insulina
RNA:	Ácido ribonucleico (<i>Ribonucleic acid</i>)
ROS:	Espécies reativas de oxigénio (<i>Reactive oxygen species</i>)
RR:	Resposta retrógrada
SDH:	Succinato desidrogenase
SHBG:	Globulina de ligação às hormonas sexuais (<i>Sex hormone-binding globulin</i>)
SM:	Síndrome metabólica
TAG:	Triacilgliceróis
TKTL1:	Proteína análoga à transcetolase 1 (<i>Transketolase-like 1</i>)
TNF-α:	Fator de necrose tumoral α (<i>Tumor necrosis factor α</i>)
TSC:	Complexo da esclerose tuberosa (<i>Tuberous sclerosis complex</i>)
VEGF:	Fator de crescimento endotelial vascular (<i>Vascular endothelial growth factor</i>)
α-KG:	α-cetoglutarato

1. Introdução

A complexidade do cancro tem fomentado, nas últimas décadas, uma extensa investigação acerca do processo biológico através do qual as células normais se transformam em células malignas tumorais mas, apesar de todos os esforços, esse processo ainda não é completamente compreendido. A carcinogénese é um tema envolto em alguma confusão e, sem esse esclarecimento, torna-se impraticável a definição de uma estratégia eficaz de prevenção, manutenção da terapêutica a longo prazo ou mesmo de cura da doença. A investigação tem-se focado principalmente nas alterações genéticas e, mais recentemente, epigenéticas, dos oncogenes e genes supressores tumorais como sendo o fator causal das múltiplas etapas da transformação maligna. (1,2)

Apesar de um processo muito específico estar na base da transformação maligna, um grande número de influências não específicas, tais como radiação, produtos químicos, vírus ou processos inflamatórios, pode iniciar a doença. Assim, parece que a exposição prolongada a qualquer agente irritante pode, potencialmente, causar cancro. (1)

A instabilidade do genoma, que conduz a um estado de mutabilidade aumentado, tem sido considerada o fator essencial que permite a manifestação de todas as características que definem um cancro. No entanto, a taxa de mutação da maioria dos genes é baixa, o que torna pouco provável que as numerosas mutações patogénicas apresentadas pelas células cancerígenas possam todas ocorrer esporadicamente no tempo de vida de um indivíduo. (1,3)

A perda dos processos de controlo do genoma, envolvidos na deteção e reparação do ácido desoxirribonucleico (DNA) danificado, foi apontada como sendo a possível explicação para o aumento da taxa de mutação nas células tumorais. No entanto, tem sido, também, difícil definir com certeza a origem da pré-malignidade e os mecanismos através dos quais os processos de controlo se perdem durante o estado maligno emergente. (1)

Estão definidas seis alterações na fisiologia celular que são consideradas essenciais ao crescimento das células malignas: autossuficiência em sinais de crescimento, insensibilidade aos sinais inibidores do crescimento, evasão à apoptose, potencial de replicação ilimitado, invasão dos tecidos e metástases, e angiogénese continuada. Para além destas alterações, praticamente todos os tumores expressam a glicólise aeróbia ou efeito de Warburg, independentemente do tipo de tecido ou de célula de origem, apesar de nenhuma mutação génica ou alteração cromossómica específica ser comum a todos os tumores. (1,3-5)

A investigação em torno das características metabólicas do cancro, que foram originalmente consideradas a força motriz do processo tumoral e, mais tarde, uma mera

consequência resultante da compensação da hipóxia na massa tumoral, tem vindo a receber maior destaque. A realização de estudos metabólicos numa variedade de cancros demonstrou que a disfunção mitocondrial e a glicólise aeróbia precedem a aparição do processo maligno e, hoje em dia, sabe-se que a glicólise aeróbia sustentada em algumas células cancerígenas está relacionada com a ativação dos oncogenes e/ou com a perda de função dos genes supressores de tumores, e representa uma característica fenotípica que pode resultar nas propriedades biológicas atribuídas ao cancro. Se o metabolismo energético disfuncional for o principal responsável pelo cancro, então a maioria dos cancros pode ser considerado um tipo de doença metabólica, sendo necessárias abordagens menos complexas que aquelas que são utilizadas para prevenir e gerir o cancro como doença primariamente genética. (1,2,6)

O efeito de Warburg, por si só, não explica a persistência da respiração mitocondrial em alguns cancros, nem o papel da glicólise aeróbia na acumulação da massa tumoral e na proliferação celular. Para além disso, a glucose, não fornece todos os componentes necessários às células em crescimento, sendo necessários outros nutrientes. (6)

Em adição às alterações celulares que conduzem à proliferação das células cancerígenas e que contribuem para a tumorigénese, as alterações generalizadas do metabolismo, tais como a obesidade, diabetes *mellitus* (DM), síndrome metabólica (SM) e outras condições relacionadas, estão associadas a um risco aumentado de desenvolvimento de vários tipos de cancro. (6,7)

Têm sido realizados diversos estudos que apoiam, embora de modo ainda limitado, a hipótese da SM poder ser um fator etiológico do cancro. A SM e doenças concomitantes são um grave problema de saúde a nível mundial e no futuro irão, provavelmente, adquirir uma importância ainda maior, uma vez que a sua prevalência continua a aumentar, paralelamente à crescente incidência de cancro. (7)

Muitos estudos epidemiológicos têm-se centrado na ligação entre a obesidade, o risco de cancro e a mortalidade associada. A obesidade é um fator de risco de cancro e está associada ao aumento desse risco e à elevada taxa de mortalidade associada aos cancros mais comuns. O comprometimento da oxidação dos ácidos gordos, a disfunção mitocondrial e a concentração sérica alterada de adipocinas, em indivíduos obesos, contribuem para o desenvolvimento da resistência à insulina e da hiperinsulinémia compensatória. As elevadas concentrações séricas de insulina conduzem ao aumento da biodisponibilidade do IGF-1, que desempenha uma função crítica na carcinogénese. (8,9)

O conhecimento completo da fisiopatologia do metabolismo deficiente das células cancerígenas apresenta um enorme potencial clínico, uma vez que poderia alterar

radicalmente o tipo de abordagem aplicada à manutenção do cancro, assim como potencializar a exploração de estratégias terapêuticas baseadas nas suas propriedades metabólicas. (2)

A presente monografia pretende ajudar a clarificar estas questões, resumindo os mecanismos patogénicos subjacentes às alterações metabólicas que potencialmente contribuem para o desenvolvimento do cancro.

2. Metodologia

A pesquisa de literatura médica relevante foi efetuada com recurso ao banco de dados PubMed. Os termos utilizados na pesquisa incluíram: cancro, doença metabólica, metabolismo, síndrome metabólica e diabetes. Adicionalmente, ao longo da pesquisa bibliográfica, foram utilizados termos ou expressões mais específicos para identificar mecanismos e estudos relevantes. A seleção da literatura baseou-se na data da sua publicação, na relevância demonstrada pelo seu título e resumo, na sua imparcialidade e no seu livre acesso *online*. Além disso, foram identificadas referências bibliográficas relevantes a partir dos artigos assim selecionados. Os artigos selecionados foram analisados, sendo as referências citadas devidamente identificadas. Não pode deixar de ser referida a existência de uma vasta bibliografia, além das referências bibliográficas citadas, que auxiliou a compreensão de vários temas.

3. Metabolismo e vias de sinalização celular

3.1. Mecanismos gerais de produção de energia

O conhecimento atual acerca das vias metabólicas baseia-se maioritariamente no estudo de células não proliferativas em tecidos diferenciados, nas quais aproximadamente 88% da adenosina trifosfato (ATP) é produzida por fosforilação oxidativa (OXPHOS) e os restantes 12% são produzidos através da glicólise, no citosol, e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (CAT), na matriz mitocondrial. Na presença de oxigénio, a maioria das células diferenciadas metaboliza a glucose em dióxido de carbono através da oxidação do piruvato pelo CAT. Esta reação produz a forma reduzida do dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH), que sustenta a OXPHOS, de modo a maximizar a produção de ATP com uma produção mínima de lactato. As células diferenciadas apenas produzem grandes quantidades de lactato sob condições anaeróbias. Pelo contrário, as células cancerígenas produzem grandes quantidades de lactato independentemente da disponibilidade de oxigénio e, por isso, o seu metabolismo é frequentemente denominado por glicólise aeróbia, sendo este fenómeno conhecido por efeito de Warburg. Nas células proliferativas, cerca de 10% da glucose é dirigida para as vias de biossíntese antes de ser convertida em piruvato. (2,10,11)

A glicólise aeróbia é uma forma pouco eficiente de gerar ATP que, no entanto, confere às células cancerígenas vantagens que não estão, ainda, completamente esclarecidas. É proposto em diversos estudos que o metabolismo das células cancerígenas, e de todas as células proliferativas, se adapta de modo a facilitar a captação e incorporação de nutrientes necessários para produzir novas células. (2,10)

A prevenção da proliferação descontrolada em organismos multicelulares, cuja maioria das células está exposta ao fornecimento constante de nutrientes, deve-se ao facto de as células de mamíferos normalmente não captarem nutrientes do meio envolvente, a menos que sejam estimuladas por fatores de crescimento. As células cancerígenas superam esta dependência do fator de crescimento através da aquisição de mutações que alteram a funcionalidade dos recetores iniciadores das vias de sinalização. Esta ideia é apoiada por diversos estudos, que demonstraram que várias vias de sinalização implicadas na proliferação celular também regulam as vias metabólicas que conduzem à incorporação de nutrientes na biomassa, e que certas mutações associadas ao cancro possibilitam às células cancerígenas adquirir e metabolizar nutrientes de modo favorável à sua proliferação e não à produção eficiente de ATP. (2,10)

A replicação de células proliferativas requer grandes quantidades de nucleótidos, aminoácidos e lípidos. Apesar da hidrólise do ATP fornecer energia livre para algumas das reações bioquímicas responsáveis pela replicação da biomassa, estas reações possuem requisitos adicionais. Muitas das reações de síntese consomem mais equivalentes de carbono e de fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (NADPH) que de ATP. Assim, para as células proliferarem, a glucose não pode estar toda comprometida com a síntese de ATP. Se fosse esse o caso, o aumento da razão ATP/adenosina difosfato (ADP) resultante comprometeria seriamente o fluxo dos intermediários glicolíticos, limitando a produção de acetil-coenzima A (acetil-CoA) e de NADPH requeridos para a síntese macromolecular. (10)

3.2. Metabolismo do cancro e hipóxia

Em células proliferativas e cancerígenas existem três vias metabólicas centrais à produção de ATP: a glicólise, o CAT e a OXPHOS. Na realidade, o CAT não gera diretamente ATP mas está intimamente ligado à OXPHOS, fornecendo vários intermediários metabólicos que conduzem à sua produção. Além disso, os intermediários metabólicos da glicólise e do CAT podem ser utilizados como fontes de carbono para produção de colesterol, lípidos, ribose e outras moléculas. (Figura 1). As células em repouso ou não proliferativas dependem muitas vezes da β -oxidação mitocondrial dos lípidos. Em contraste, as células proliferativas geralmente reduzem a oxidação lipídica e conservam os lípidos para apoiar o crescimento celular. (12)

O metabolismo celular de cancros agressivos é frequentemente dominado pelo consumo de grandes quantidades de glucose, excedendo entre 20 a 30 vezes as necessidades das células normais. A utilização de substratos marcados, em estudos acerca do perfil metabólico dessas células, permitiu revelar que os átomos de carbono da glucose surgem predominantemente no lactato, nos ácidos gordos e na ribose associada aos ácidos nucleicos (Figura 1). Esta distribuição reflete a elevada taxa de proliferação e a redução da OXPHOS em células de cancros agressivos. (13)

A glutamina também é utilizada como substrato energético e fornece azoto para as células em proliferação. A glutamina entra no CAT através da conversão a glutamato e, depois, a α -cetoglutarato (α -KG). Uma vez no CAT, os esqueletos de carbono contribuem para um ciclo misto, que compreende os carbonos provenientes da glucose e da glutamina. A glutamina contribui para a formação de citrato e para o metabolismo lipídico através da

inversão do CAT, por carboxilação redutora do α -KG pela IDH para formar citrato, ou seguindo o sentido direto do CAT (Figura 2). (1,6,12)

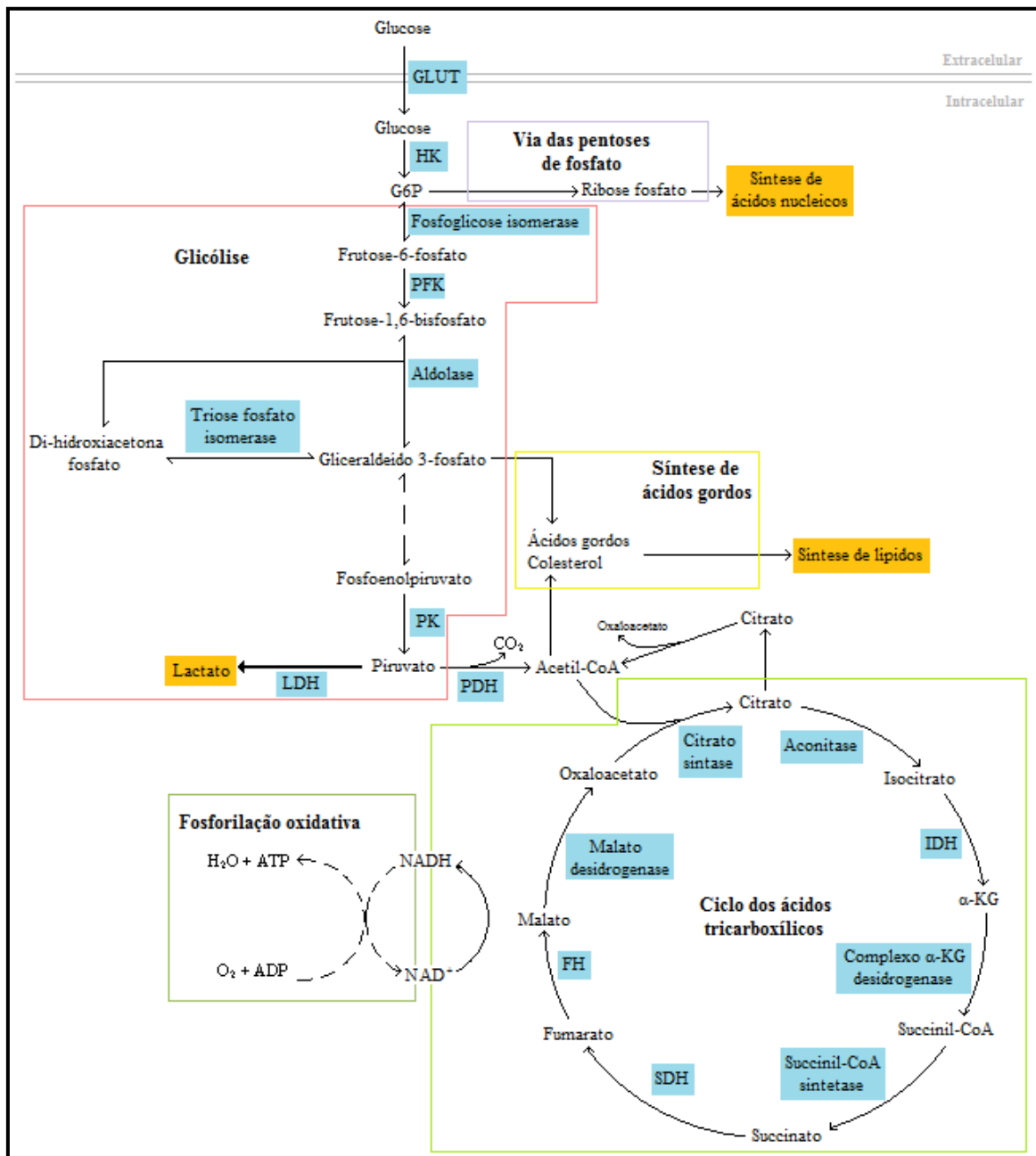


Figura 1. Relação entre as principais vias associadas ao metabolismo da glicose em células cancerígenas e seus principais destinos metabólicos. A glicose entra na célula através de proteínas transportadoras (GLUT), sendo fosforilada pela hexocinase (HK) a glicose-6-fosfato (G6P), que pode ser catabolizada através da glicólise ou utilizada como fonte de carbono para a síntese de ribose através da via das pentoses de fosfato. A maioria do piruvato é convertida a lactato pela lactato desidrogenase (LDH). A piruvato desidrogenase (PDH) converte o restante piruvato em acetil-CoA, que é utilizada para produzir ATP através do CAT e da OXPHOS, ou é convertida em ácidos gordos para produzir lípidos estruturais. Em vários pontos da glicólise e do CAT, os intermediários das reações podem ser removidos para fornecer carbonos para a biossíntese de aminoácidos (não está representado). PFK: fosfofrutocinase; PK: piruvato cinase; IDH: isocitrato desidrogenase; SDH: succinato desidrogenase; FH: fumarato hidratase. (6,12,14,15)

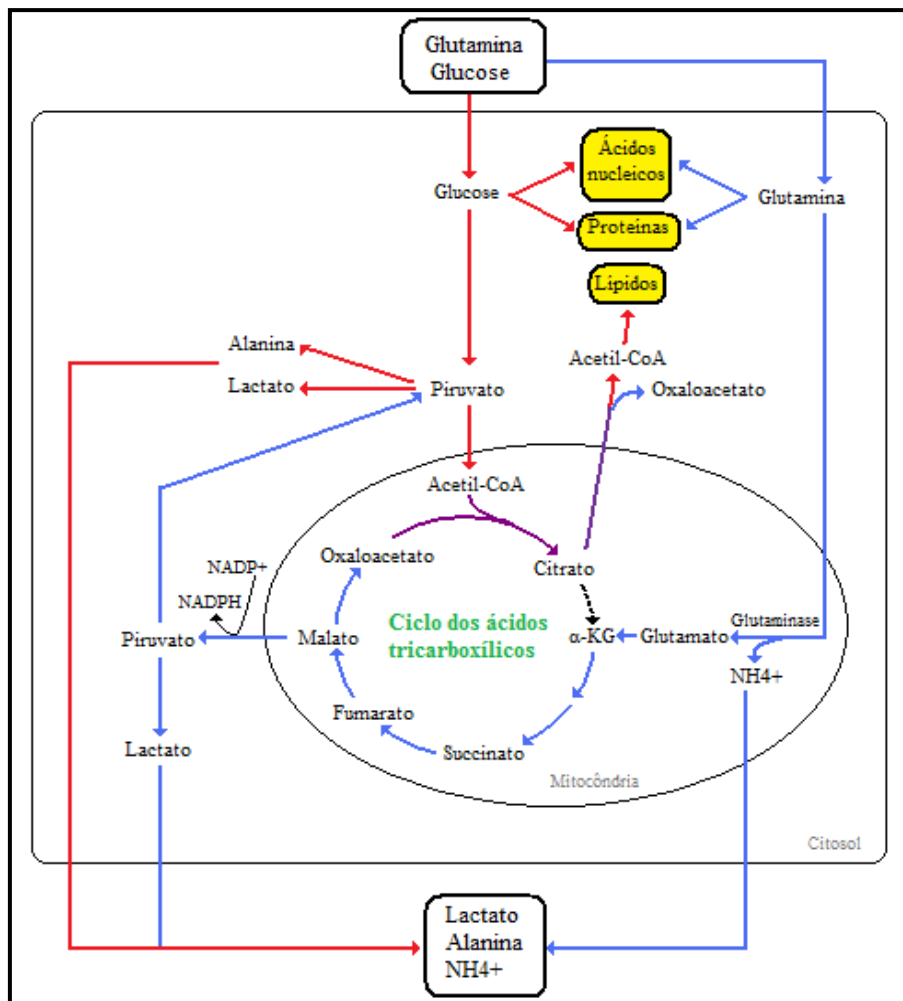


Figura 2. Cooperação entre o metabolismo da glicose e da glutamina nos tumores em crescimento. A glicose e a glutamina são os principais nutrientes consumidos pelos tumores, fornecendo precursores para a síntese de ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. As vias metabólicas da glutamina (setas azuis) e da glicose (setas vermelhas) são complementares, convergindo na produção de citrato (setas púrpura). Como consequência do rápido metabolismo destes dois nutrientes, o tumor excreta lactato, alanina e amônia. (16) [Adaptado]

As células tumorais tendem a apresentar grandes quantidades de glutamato intracelular, mas a manutenção destas quantidades depende da capacidade de converter a glutamina a glutamato, que se deve em grande parte à atividade da glutaminase dependente de fosfato, que é altamente expressa em tumores e linhagens de células tumorais. Alguns estudos demonstraram que a atividade da glutaminase se correlaciona com a taxa de crescimento dos tumores *in vivo* e que a limitação da sua atividade resulta na redução da taxa de crescimento das células tumorais. Assim, esta enzima é essencial para o fenótipo metabólico dos tumores em crescimento. (16)

A exportação do citrato para o citosol, para a síntese de lipídios, resulta na perda de oxaloacetato, que deve ser regenerado de modo a manter a integridade do CAT. Nas células

proliferativas, a glutamina é utilizada para gerar uma *pool* de α -KG, que pode ser metabolizado através do CAT para regenerar o oxaloacetato consumido nos processos de biossíntese. Isto pode explicar por que a glutamina é um metabolito essencial à proliferação celular. Assim, num meio com concentração limitada de glucose, o CAT pode ser reprogramado e mantido, somente através da glutamina, gerando citrato que apenas conterá carbonos provenientes da glutamina. Dada a importância da reposição destes intermediários metabólicos, é provável que os reguladores deste processo possuam propriedades oncogénicas. (Figura 2) (6,17)

A conversão de toda a glucose a dióxido de carbono através da OXPHOS para maximizar a produção de ATP vai contra as necessidades das células proliferativas, devendo parte da glucose ser dirigida para os precursores macromoleculares. Isto pode explicar, em parte, a vantagem seletiva fornecida pelo efeito de Warburg. Esta hipótese é suportada por determinações efetuadas por espectroscopia de ressonância magnética nuclear com ^{13}C , que demonstraram que as células do glioblastoma em cultura convertem até 90% da glucose e 60% da glutamina que adquirem em lactato e alanina. Tanto a conversão de glucose como de glutamina a lactato envolve a LDH, cuja inibição compromete a proliferação celular, possivelmente por interferir com a capacidade celular para excretar o excesso de carbono, que é necessária para gerar NADPH em quantidade suficiente para sustentar a proliferação. A sinalização por fatores de crescimento regula a atividade da PK e modula o fluxo de carbonos nos últimos passos da glicólise, o que pode facilitar o redirecionamento dos metabolitos da glucose para a via das pentoses de fosfato (PP), assim como para as vias de síntese de nucleótidos e aminoácidos. (10,16)

Para a maioria das células proliferativas os nutrientes não são limitantes, pois, caso se tornem escassos, existem vias ativas em tecidos especializados não proliferativos que permitem a reciclagem do excesso de lactato e de alanina descartados durante o crescimento e proliferação celulares. Esta capacidade para reciclar o desperdício orgânico produzido pelas células proliferativas tem um impacto mínimo nas reservas energéticas do organismo. Além disto, existem evidências de que o metabolismo celular num tumor pode ser muito heterogéneo, existindo algumas células que utilizam o lactato gerado em excesso como combustível da OXPHOS. (10)

Em situações de hipóxia, o fator induzido pela hipóxia 1 (HIF-1) ativa a piruvato desidrogenase cinase 1 (PDK1) que inibe a PDH, o que bloqueia a conversão de piruvato a acetil-CoA, desviando o piruvato para a conversão a lactato. Nas células em repouso, esta é a via que constitui a glicólise anaeróbia. A hipóxia intermitente ocorre em quase todos os

carcinomas celulares e contribui para a estabilização do HIF-1, que representa um fator chave na regulação da expressão fenotípica das células tumorais em proliferação, no aumento da fermentação da glucose, na supressão da apoptose e na angiogénese. Ao orientar o piruvato no sentido da produção de lactato e da forma oxidada do nucleótido de nicotinamida e adenina (NAD^+), a regulação da PDK1, dependente do HIF-1 α , pode contribuir para o efeito de Warburg manifestado pelas células tumorais (Figura 3). (1,6,11,13,17)

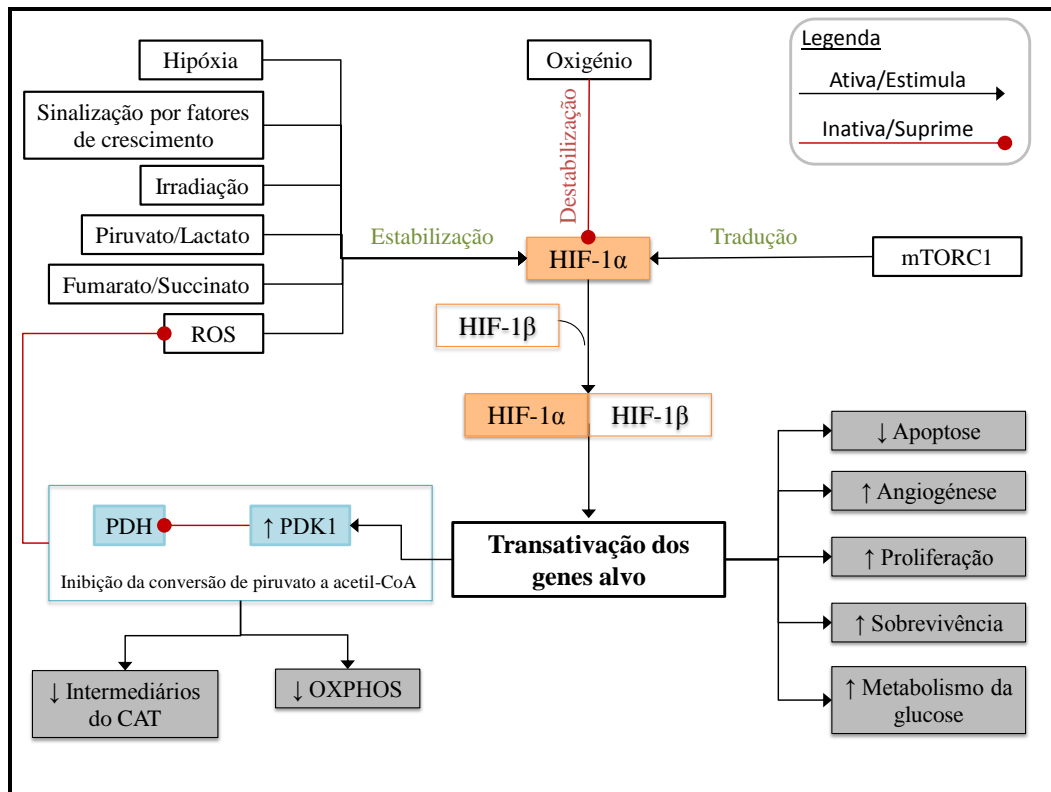


Figura 3. Fatores reguladores do HIF-1 e consequências da sua expressão. O HIF-1 é constituído por duas subunidades: HIF-1 β , que é expresso constitutivamente, e HIF-1 α , cuja expressão e estabilidade é rigorosamente controlada. A atividade do complexo 1 da proteína alvo da rapamicina nos mamíferos (mTORC1) induz a tradução do HIF-1 α , relacionando a atividade deste com as vias de sobrevivência. O HIF-1 α é estabilizado pela hipóxia, assim como por vários outros fatores que refletem a perda de atividade metabólica da mitocôndria. O HIF-1 α conduz à ativação de genes que contribuem para as características associadas aos cancros agressivos. Um desses genes, o PDK1, reprime diretamente o CAT e a OXPHOS, através da inibição da PDH. (6,13,17)

3.3. Espécies reativas de oxigénio e regulação da glicólise

Parte do metabolismo celular consiste na coprodução de espécies reativas de oxigénio (ROS), que podem ser mutagénicas e provocar dano nas membranas. (6)

Em contraste com as células diferenciadas, as células proliferativas expressam seletivamente a isoforma M2 da piruvato cinase (PKM2), que apresenta baixa atividade, o que

é útil às células cancerígenas, uma vez que promove a utilização dos intermediários glicolíticos nas vias de biossíntese. (10,11)

As ROS elevadas modificam a PKM2, inativando-a, o que resulta no desvio da glucose da glicólise para a via das PP. Além disso, as ROS estabilizam o HIF-1 que, sua vez, ativa os genes alvo, como a PDK1, que desvia o piruvato da oxidação mitocondrial, e a 6-fosfofruto-2-cinase/frutose-2,6-bisfosfatase 4, que resulta na diminuição da atividade da PFK, dirigindo a glucose para via das PP. Esta via gera NADPH, que reduz a glutatona a antioxidante ativo que protege a célula. Assim, o desvio da glucose para a via das PP é um mecanismo essencial ao equilíbrio de oxidação-redução. (6,18)

As células que captam excesso de nutrientes e que não utilizam a glicólise aeróbia irão, possivelmente, apresentar um aumento da OXPHOS e da produção de ROS. Este estado de má adaptação metabólica pode ser a base da seleção evolutiva para a indução da apoptose e/ou senescência quando existe um aumento dos níveis de ROS. Deste modo, a capacidade antioxidante das células cancerígenas pode influenciar profundamente a resposta destas ao *stress* metabólico, relacionando a resistência à terapêutica com o aumento da capacidade antioxidante. (6,10)

3.4. O sistema IGF

Quando existe um amplo fornecimento de energia, as células rodeadas por nutrientes são estimuladas, através de fatores de crescimento, como o IGF-1, a diferenciar-se e a acumular biomassa. Diversos estudos sugerem que o IGF-1 e o recetor do IGF-1 (IGF-1R) são necessários ao normal crescimento e desenvolvimento celular. Outros estudos observaram que o IGF-1R e o recetor da insulina (RI) se encontram sobre-expressos nas células cancerígenas. Alguns tumores, como o carcinoma de células escamosas e o cancro do pulmão de pequenas células, produzem, eles próprios, elevados níveis de IGF-1. No entanto, a principal fonte de IGF-1 é o fígado, cuja produção é aumentada por influência da hiperinsulinémia. Por outro lado, o cancro da mama geralmente não produz IGF-1 mas secreta pequenas quantidades de IGF-2, que é mais mitogénico. Além disso, os estrogénios induzem a expressão de IGF-1R em linhagens de células do cancro da mama com recetores de estrogénio (RE) positivos. (7,8,19)

O sistema IGF compreende a insulina, o IGF-1, o IGF-2, os respetivos recetores e proteínas de ligação ao IGF (IGFBPs). Tanto o IGF-1 como o IGF-2 apresentam grande

afinidade para o IGF-1R. Os efeitos dos IGFs e IGF-1R encontram-se sumarizados na Figura 4. (7,19)

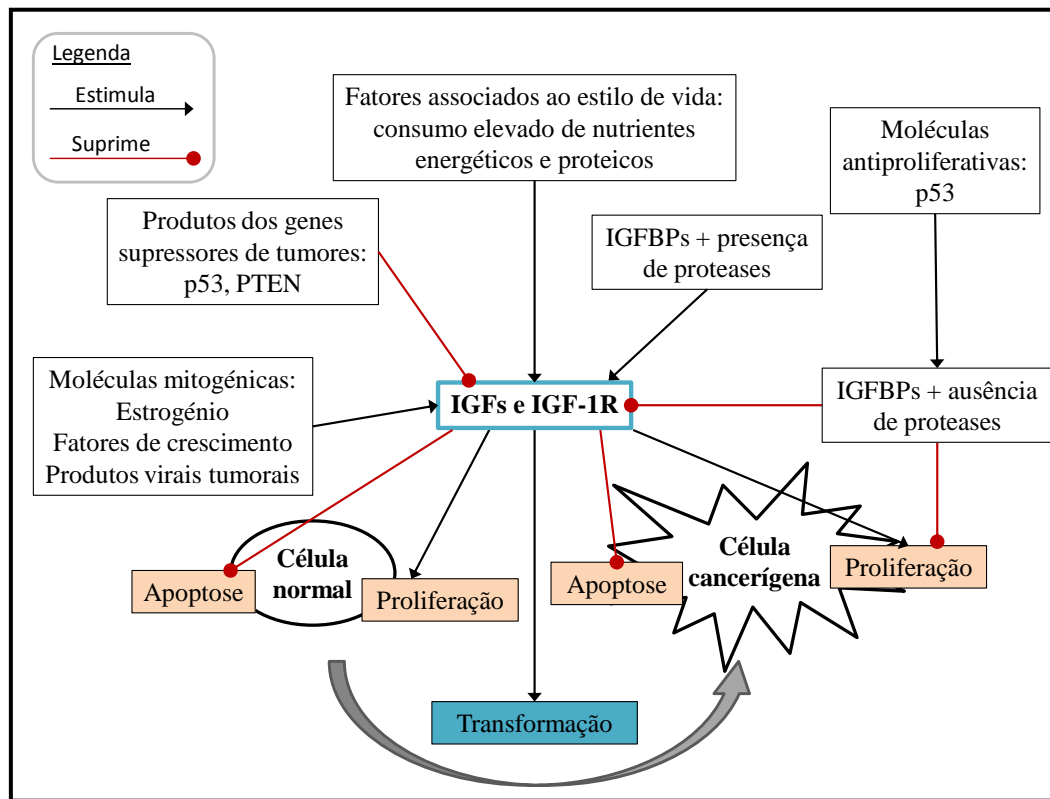


Figura 4. Efeitos dos IGFs e do IGF-1R em células normais e cancerígenas e sua relação com moléculas mitogénicas e antiproliferativas, produtos de genes supressores tumorais e estilo de vida. As células normais e cancerígenas seguem a via da apoptose ou da proliferação, dependendo do contexto do sistema IGF. O sistema IGF tem um papel importante na transformação e é influenciado por vários fatores (representados nas caixas de fundo branco). (20) [Adaptado]

Os fatores de crescimento que se ligam aos RI e IGF-1R induzem duas vias de sinalização: a via mitogénica da MAPK, que desempenha um papel importante no crescimento e proliferação celular, e a via metabólica e anti-apoptótica da PI3K, comumente desregulada nas células cancerígenas. (6,7)

As células que expressam RI e IGF-1R podem formar recetores híbridos. Existem dois tipos diferentes de recetores híbridos: o IGF-1/RI-A, que tal como o RI-A resulta principalmente em sinalização mutagénica, e o IGF-1/RI-B, que resulta em sinalização metabólica. A insulina apresenta baixa afinidade para o IGF-1R e uma afinidade ainda menor para os recetores híbridos. No entanto, o IGF-1 retém uma elevada afinidade para o IGF-1R, assim como para os recetores híbridos, e é capaz de mediar tanto os efeitos anti-apoptóticos como os efeitos pró-apoptóticos, atuando sobretudo a nível dos primeiros. O IGF-1 medeia os

seus efeitos através de diferentes cascatas de sinalização, não sendo de excluir a possibilidade de que, em alguns tipos de células, pode ser necessário ativar simultaneamente múltiplas vias de sinalização, de modo a atingir uma proteção total contra a apoptose. Alguns estudos demonstraram que o RI-A é expresso de modo aberrante nas células fetais e em muitas células tumorais e, além disso, possui elevada afinidade para IGF-2, ao contrário do RI-B. Estes mecanismos de sinalização podem explicar por que a hiperinsulinémia possui um efeito promotor de tumores em doentes diabéticos e obesos. (7,19)

3.5. Vias de sinalização da regulação do metabolismo

Durante a privação de nutrientes, os níveis baixos de glucose ou glutamina conduzem ao aumento da razão AMP/ATP, que é detetada pela proteína cinase ativada por AMP (AMPK), que fosforila o substrato para elevar a produção de energia, enquanto reduz os processos que a consomem. A AMPK fosforila e inibe a acetil-CoA carboxilase, que consome ATP e produz malonil-coenzima A para a síntese de ácidos gordos, conduzindo à translocação destes para a mitocôndria, onde são oxidados produzindo ATP. A AMPK fosforila o complexo da esclerose tuberosa 2 (TSC2), que inibe a proteína alvo da rapamicina nos mamíferos (mTOR), que, por sua vez, constitui o maior estimulante do crescimento celular. A AMPK está também envolvida na medição da autofagia, que recicla os componentes celulares para a produção de energia. Assim, em condições de privação de nutrientes, a AMPK desempenha uma função crítica na sobrevivência celular. A cinase hepática B1 (LKB1), um ativador da AMPK, está ausente em muitos tumores, o que torna estas células mais sensíveis à privação de nutrientes. (6,11)

Vários dos efeitos da AMPK na adaptação metabólica podem ser atribuídos à ativação do p53 dependente da AMPK. Esta resposta ao *stress* metabólico é reforçada por genes alvo da p53, que ativam a AMPK num mecanismo de retroalimentação. A ativação da AMPK pode ser positiva ou prejudicial para o crescimento tumoral, dependendo do contexto da p53. Quando a p53 está presente, a AMPK induz um ponto de controlo metabólico que restringe a proliferação celular. Além disso, a p53 também modela o equilíbrio entre a utilização das vias respiratória e glicolítica. No entanto, o p53 encontra-se inativado numa elevada percentagem de cancros e, portanto, este ponto de controlo metabólico apresenta-se frequentemente perturbado. Foi então proposto que a atividade da AMPK pode ser prejudicial e, por isso, é

suprimida nas etapas precoces do cancro, sendo reativada no cancro avançado, com os supressores tumorais inativados, de modo a adquirir energia por via da glicólise. (13,17)

O oncogene Ras é ativado por fatores de crescimento e medeia a ativação das vias efetoras PI3K/PKB/mTOR e MAPK. (11)

A PI3K é também ativada por sinais de sobrevivência transmitidos do exterior da célula através de recetores transmembranares. A sinalização da PI3K ativa a proteína cinase B (PKB), que por sua vez ativa a mTOR, que medeia os efeitos do crescimento celular. A desregulação da sinalização mediada pela mTOR tem sido associada a numerosos cancros em humanos. A via de sinalização PI3K/PKB/mTOR é regulada negativamente pela *phosphatase and tensin homolog* (PTEN), que está frequentemente inativa em vários tipos de cancro. (6,7,11,13,21)

Para além de direcionar os aminoácidos disponíveis para a síntese de proteínas, a via da PI3K/PKB/mTOR regula a captação e utilização da glucose. A sinalização pela PI3K pode regular a expressão de transportadores da glucose através da PKB, aumentando a captação de glucose pela HK e estimulando a atividade da PFK1, mesmo em tecidos não dependentes de insulina. A ativação desta via torna as células dependentes do fluxo de glucose em níveis elevados. A medição, em tumores, da ¹⁸fluorodeoxiglucose, por tomografia por emissão de positrões, permitiu demonstrar que pequenas moléculas que perturbam a sinalização pela PI3K conduzem à diminuição da captação de glucose pelas células tumorais e que a capacidade de inibir a captação da ¹⁸fluorodeoxiglucose se correlaciona com a regressão do tumor. (5,10)

A interferência da mTOR com a via da PI3K é complexa e, provavelmente, não se encontra ainda completamente elucidada. Estão descritos dois complexos importantes para o processo cancerígeno: o mTORC1 e o mTORC2, que provocam efeitos distintos nas células. O mTORC1 é ativado pela via de sinalização PI3K, através da inibição do seu inibidor, o TSC, mediada pela PKB. O mTORC1 regula o crescimento celular através da ativação da tradução e da biogénese ribossómica, e contribui para o aumento da tradução do HIF-1 α . O mTORC2, que responde à sinalização por fatores de crescimento, ativa diretamente a PKB, o que conduz à interpretação confusa de que a mTOR, como proteína, se encontra a montante e a jusante da atividade da PKB. (13)

O TSC, formado pelo TSC1 e TSC2, incorpora e transfere fatores de crescimento celular e sinais de *stress*, que regulam negativamente a atividade da mTOR, e regula a acumulação de HIF-1 α . A PKB ativada conduz à fosforilação do TSC2, que perde a influência

inibitória sobre a mTOR. A AMPK interage com TSC e mTORC e reduz a capacidade de ativação da mTOR de modo direto e indireto antagonizando a sinalização da PKB. (6,7,13,21)

Depois do p53, o *PTEN* é o gene supressor tumoral mais comumente mutado no cancro em humanos. A *PTEN* contraria o crescimento e o ciclo celular através da inativação da PI3K. Cerca de 50% das mulheres com cancro da mama apresentam uma mutação ou inativação de pelo menos uma das cópias do gene *PTEN*. Em células do cancro da mama da linhagem MCF-7 a perda do *PTEN* resulta numa sinalização aumentada pelo IGF-2. (7)

Para além das vias de sinalização já referidas, existe uma via de transcrição estimulada por fatores de crescimento com ativação de genes de resposta precoce, como *MYC*, e de genes tardios, que são estimulados pelos primeiros. (6)

A sobre-expressão do Myc está descrita em muitos tipos de cancro. O Myc é ativado por fatores de crescimento e regula a transcrição de milhares de genes ou microRNAs envolvidos na proliferação. (11)

São vários os estudos que documentam que o Myc é essencial para a ativação dos genes envolvidos na glicólise e na glutaminólise das células em crescimento e proliferação, de tal modo que a deleção do *Myc* nas células T resulta na incapacidade destas em constituir uma via de crescimento. O Myc induz a glutaminase mitocondrial, que inicia o catabolismo mitocondrial da glutamina para entrar no CAT, e promove a glicólise aeróbia aumentando o GLUT1 e a LDH, contribuindo assim para o efeito de Warburg. Os genes alvo do Myc incluem aqueles envolvidos no transporte da glucose, na glicólise, na glutaminólise, na síntese de ácidos gordos, na biogénese e função mitocondrial. Deste modo, as vias metabólicas induzidas pelo Myc são paralelas àquelas que são utilizadas para manter a integridade das células não proliferativas, através de outros fatores de transcrição. Pode supor-se que a troca do estado não proliferativo para o estado proliferativo pode ser resultado da troca do conjunto de fatores de transcrição homeostáticos por Myc, que se prevê que colabore na regulação dos genes metabólicos nas células proliferativas. (6,10,11,22)

O Myc também estimula os genes envolvidos no metabolismo nucleotídico, interage especificamente com os fatores de transcrição que direcionam as células proliferativas para a fase S, estimula diretamente os genes reguladores do ciclo celular e aqueles diretamente envolvidos na replicação do DNA, e regula os genes envolvidos na fase G2 e na mitose, permitindo a duplicação celular. (6)

3.6. A importância da via das pentoses de fosfato

A maioria das vias de desregulação anteriormente descritas favorece a expressão do efeito de Warburg, que muitos dos investigadores sugerem ser o resultado do aumento da taxa de fermentação da glucose através da via de Embden-Meyerhof. No entanto, ainda existem alguns fenómenos difíceis de explicar. Em muitos cancros, a formação de piruvato e acetil-CoA encontra-se comprometida devido à inibição da PKM2 e da PDH. Concomitantemente, foi sugerido que a enzima ácido gordo sintase, que catalisa a lipogénese excessiva observada nas células cancerígenas, representa um oncogene metabólico, visto que a inibição desta enzima é seletivamente tóxica para as células cancerígenas. Além disso, a PKB ativada inibe a oxidação de ácidos gordos e contribui para a síntese destes. No entanto, não está esclarecido como se formam as grandes quantidades de acetil-CoA citosólico, que são necessárias à síntese *de novo* de ácidos gordos. A acetil-CoA citosólica pode formar-se através do citrato, que é exportado da mitocôndria e clivado pela ATP citrato liase, mas este mecanismo requer a atividade da PDH mitocondrial e um CAT incompleto. Existem numerosos mecanismos, incluindo a atividade da PI3K e do HIF-1, que preferencialmente reprimem a PDH em vez de a ativarem. Assim, muitos investigadores propõem um envolvimento substancial da via das PP no consumo de glucose pelas células cancerígenas, e que a aparente diferença entre a disponibilidade de acetil-CoA e a sua utilização pode ser esclarecida pela identificação e caracterização funcional da proteína análoga à transcetolase 1 (TKTL1), uma enzima que se supõe ter uma função chave na fermentação aeróbia da glucose pela via das PP. (13)

A importância da via das PP no cancro evidencia-se pela eficiência demonstrada por abordagens terapêuticas *in vivo* que visam suprimir essa via, e que conduzem à inibição da proliferação das células cancerígenas. A transcetolase representa a enzima limitante do ramo não oxidativo da via das PP, que constitui a principal fonte geradora de ribose para a síntese nucleica nas células cancerígenas, o que converge com o efeito anti-tumorigénico da oxitiamina, um inibidor da transcetolase. (13,17)

Foi demonstrado que ROS elevadas durante a replicação podem conduzir à inibição da proliferação e senescência celular. Assim, a produção de energia independente da mitocôndria, através da fermentação da glucose pela via das PP, mediada pela TKTL1, iria minimizar a libertação de ROS. A produção de energia pelo processo fermentativo permite também a produção eficiente de NADPH pelo ramo oxidativo da via das PP. Como consequência, as células cancerígenas com mitocôndrias metabolicamente ativas são mais suscetíveis às terapias cancerígenas, enquanto as células com produção de energia por

fermentação são mais resistentes à maioria das quimioterapias. Outra função principal da TKTL1 pode ser a rápida eliminação de grandes quantidades de glucose, que pode prevenir a formação de aductos de glucose tóxicos, que são frequentemente observados nas lesões diabéticas e em doenças neurodegenerativas. Assim, a TKTL1 parece exercer tanto efeitos protetores como prejudiciais ao organismo. No entanto, a capacidade protetora da TKTL1 aparenta não ser suficiente para competir com a sobrecarga glicêmica crônica, que favorece os distúrbios metabólicos e predispõe as células cancerígenas a trocar o metabolismo oxidativo pelo fermentativo, tanto na ausência como na presença de oxigênio, o que favorece o fenótipo agressivo. (13)

4. As alterações do metabolismo celular e o cancro

Apesar da observação do efeito de Warburg, as alterações nos genes, com relação direta com o metabolismo cancerígeno alterado, só se tornaram conhecidas depois da identificação de enzimas mutantes do CAT e outras relacionadas, que estão associadas a cânceros familiares. (6,23)

Estão descritos defeitos dominantes, associados à oncogénese, nas isoformas citoplasmática e mitocondrial das enzimas SDH, FH e IDH. Foram identificadas mutações do *FH* em famílias com leiomiomatose hereditária e carcinoma das células renais, do *SDH* em doentes com feocromocitoma e paragangliomas hereditários, e do *IDH* em gliomas e na leucemia mielóide aguda (LMA). (23)

A constatação de que muitos tumores resultantes de mutações nos genes *SDH* e *FH* se caracterizam por hipóxia e que são significativamente mais vascularizados, sugere que o HIF-1 α pode desempenhar uma função de apoio no processo tumorigénico induzido pelas disfunções do CAT. A relação causal entre as disfunções do CAT e a ativação do HIF-1 α baseia-se na acumulação de succinato nas células por diminuição da atividade da SDH, que causa a inibição das prolil-4-hidroxilases (PHDs) que, por sua vez, estão envolvidas na modulação epigenética e são reguladores negativos da estabilidade do HIF-1 α . Na presença de oxigénio e α -KG, as PHDs conduzem à degradação do HIF-1 α , produzindo dióxido de carbono e succinato. Por essa razão, a acumulação de succinato nas células, com SDH deficiente ou inativa, prejudica a atividade das PHDs, conduzindo à estabilização do HIF-1 α em condições de oxigenação normais, condição designada por “pseudo-hipóxia”. Da mesma forma, também o fumarato, que se acumula em tumores onde existe perda de função da FH, tem demonstrado ser um potente inibidor das PHDs. (15,23,24)

A IDH existe sob três isoformas: IDH1, IDH2 e IDH3. Apesar das três isoformas possuírem a capacidade de descarboxilar o isocitrato, a IDH3 é principal forma funcional no CAT sob condições fisiológicas, enquanto a IDH1 e a IDH2 estão principalmente envolvidas no metabolismo redutor da glutamina sob condições de hipóxia e alterações da cadeia transportadora de eletrões. Apesar de desempenhar um papel central na produção de energia, até à data não existem evidências que associem mutações da IDH3 ao desenvolvimento de cancro. A maioria das mutações identificadas na IDH ocorre nos resíduos de aminoácidos R132 na IDH1 e R172 ou R140 na IDH2. Como resultado destas alterações, a IDH mutada é incapaz de catalisar com eficiência a descarboxilação oxidativa do isocitrato, adquirindo atividade catalítica neomórfica, o que resulta na conversão do α -KG a 2-hidroxi-glutarato, que

inibe as PHDs. Um estudo sobre as mutações da IDH na LMA indica a associação dessa enzima mutada a um subgrupo de LMA que apresenta um epigenoma distinto. Do mesmo modo, glioblastomas agrupados de acordo com o grau de metilação, correlacionam-se com o estado da IDH. De acordo com estes dados, a enzima mutante parece conduzir a tumorigênese através de alterações epigenéticas. (6,10,15,23)

As PHDs catalisam a hidroxilação de uma grande variedade de substratos além do HIF-1 α . Assim, a hidroxilação reduzida dos alvos das PHDs pode contribuir para a tumorigênese, independentemente da atividade do HIF-1 α e da aquisição das características associadas à hipóxia. Com base na capacidade das alterações epigenéticas afetarem a diferenciação celular específica de linhagem e resultarem na ativação de oncogenes ou no silenciamento de supressores tumorais, a inibição competitiva de histona desmetilases, induzida por defeitos do fluxo de metabólitos do CAT, pode também conduzir ao processo tumorigênico, independentemente do HIF-1 α , por promover a transformação celular e a proliferação descontrolada. Como tal, os intermediários do CAT parecem contribuir para a tumorigênese de forma multifacetada. (15)

A fosfoglicerato desidrogenase está envolvida na canalização dos intermediários glicolíticos para o metabolismo envolvido na biossíntese de nucleótidos e apresenta-se aumentada nos câncros da mama com RE negativo, o que sugere que é uma enzima oncogénica quando sobre-expressa. (6)

A glicina descarboxilase foi recentemente implicada como sendo uma enzima oncogénica, uma vez que a sua expressão aumentada foi encontrada no cancro do pulmão e foi capaz de promover, experimentalmente, a tumorigênese. (6)

Uma grande variedade de câncros sólidos apresenta sobre-expressão da TKTL1, que se correlaciona significativamente com a agressividade dos diferentes carcinomas. Através de estudos funcionais, utilizando RNA de interferência, foi demonstrado que a inibição da TKTL1 medeia o aumento da apoptose e a paragem do ciclo celular na fase G1. É concebível que a TKTL1 contribua significativamente para a elevada fermentação da glucose observada em tumores, pois uma das reações catalisada pela TKTL1 é a clivagem da xilulose-5-fosfato em gliceraldeído-3-fosfato e num produto de 2 carbonos de natureza ainda desconhecida, uma atividade supostamente irreversível que altera a concentração da xilulose-5-fosfato e, conseqüentemente, o equilíbrio dos açúcares no citoplasma. (13)

Para além das mutações oncogénicas em genes codificadores de enzimas, as mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) também podem contribuir para a tumorigênese.

A heteroplasmia do mtDNA ocorre durante o desenvolvimento, sem necessariamente desencadear o desenvolvimento de cancro. No entanto, quando comparado com tecidos normais, o tecido cancerígeno apresenta um aumento de mutações *missense* do mtDNA, o que sugere uma vantagem seletiva na aquisição dessas mutações. (6)

Em células com maior potencial tumorigeno o consumo de oxigénio é maior mas a síntese de ATP dependente de oxigénio é menor, o que é compatível com a ocorrência de desacoplamento mitocondrial nas células tumorais. (1,25)

A energia obtida através do CAT, utilizando a glutamina como substrato, pode dar a falsa impressão de que a OXPHOS decorre normalmente, uma vez que o consumo de oxigénio e a produção de dióxido de carbono podem resultar da glutaminólise e da OXPHOS desacoplada. Assim, as evidências que sugerem que a função mitocondrial é normal nas células cancerígenas devem ser interpretadas com prudência. (1,16)

A capacidade bioenergética da mitocôndria depende muito do conteúdo e composição em lípidos mitocondriais. As células cancerígenas apresentam anomalias no conteúdo ou composição da cardiolipina, que estão associadas a deficiências no transporte de eletrões e à inibição da captação de ADP através do transportador da adenina, alterando assim a eficiência da OXPHOS. Estas anomalias também previnem a oxidação da Coenzima Q, produzindo ROS durante a progressão do tumor. A produção aumentada de ROS pode enfraquecer a estabilidade do genoma, as funções dos genes supressores de tumores e os mecanismos de controlo da proliferação celular. Assim, as anomalias na cardiolipina podem alterar a respiração celular de várias formas, podendo surgir a partir de várias influências não específicas, como agentes mutagénicos e carcinogénicos, radiação, hipóxia ligeira, inflamação, ROS, ou a partir de mutações hereditárias que afetam a homeostase energética. (1)

Estão descritas numerosas anomalias genéticas na maioria dos cancros em humanos, sem, no entanto, nenhuma mutação específica ser confiável para utilização no diagnóstico de qualquer tipo específico de tumor. Por outro lado, poucos tumores, ou talvez nenhum, expressam uma respiração celular normal. Apesar do comprometimento da função mitocondrial e da OXPHOS nas células tumorais, o mecanismo pelo qual essas anomalias se relacionam com a carcinogénese e com o elevado número de mutações somáticas e anomalias cromossómicas encontradas nos tumores, ainda não se encontra totalmente esclarecido. A maioria dos erros inatos do metabolismo não compromete especificamente a função mitocondrial, nem está sempre associada ao desenvolvimento de cancro. Existem, no entanto,

algumas exceções, como é o caso das mutações a nível dos genes que codificam as enzimas do CAT, que podem elevar o risco de desenvolvimento de alguns cancros. (1)

Uma resposta retrógrada (RR) persistente pode estar subjacente à instabilidade genómica e mutabilidade nas células tumorais. A RR é o termo geral para a sinalização mitocondrial e envolve as respostas celulares às alterações do estado funcional das mitocôndrias. A expressão dos múltiplos genes nucleares que controlam o metabolismo energético fica profundamente alterada após o comprometimento da homeostasia da energia mitocondrial. A disfunção mitocondrial pode surgir a partir de anomalias do mtDNA, do CAT, da cadeia transportadora de eletrões ou do gradiente de prótons na membrana interna da mitocôndria. Qualquer deficiência na produção mitocondrial de energia pode desencadear uma RR. (1,26)

A RR encontra-se desativada nas células saudáveis com função mitocondrial normal e é ativada no seguimento de uma disfunção na produção metabólica de energia. A função principal da RR é coordenar a síntese de ATP, através da glicólise isolada ou através da combinação da glicólise com a glutaminólise, quando a função respiratória se encontra comprometida. No entanto, uma RR prolongada pode conduzir à vulnerabilidade do genoma nuclear. A disfunção mitocondrial também eleva os níveis de cálcio citoplasmático, a multirresistência a fármacos, a produção de ROS e as anomalias nos grupos ferro-enxofre que podem, em conjunto, acelerar a sinalização pela RR e a mutabilidade genómica. A inflamação crónica pode, depois, danificar a própria mitocôndria, o que acelera estes processos. No seu conjunto, estas observações indicam que a integridade do genoma nuclear depende extensamente da funcionalidade e da produção de energia na mitocôndria. (1,26)

A instabilidade cromossómica, a expressão de genes mutados e o fenótipo tumoral encontram-se significativamente aumentados nas células humanas com depleção do mtDNA, em comparação com células com mtDNA normal. A disfunção mitocondrial pode também regular negativamente a expressão da endonuclease apurínica-apirimidínica, que regula a transcrição e reparação do DNA, o que resulta no aumento da mutabilidade genómica. Uma vez que a expressão génica varia com o tipo de tecido, é expectável que alterações do metabolismo energético produzam diferentes tipos de mutação em tipos diferentes de cancro. (1)

Assim, a função mitocondrial alterada pode induzir anomalias nos genes supressores de tumores e nos oncogenes.

Uma vez que a função do p53 está ligada à respiração celular, danos prolongados da respiração vão, gradualmente, reduzir a função do p53, inativando assim o controle negativo do p53 e de outros genes supressores tumorais. (1)

A deficiência persistente da função respiratória vai desencadear a RR, que regula positivamente a glicólise e a glutaminólise de modo a manter a viabilidade celular. A RR ativa o MYC, Ras, HIF-1 α , PKB e mTOR, que regulam positivamente a fosforilação ao nível do substrato. Além de facilitar a absorção e metabolismo de substratos energéticos alternativos para fosforilação a nível do substrato, o MYC e o Ras vão estimular ainda mais a proliferação celular. Parte deste mecanismo inclui a inativação da proteína do retinoblastoma (pRB), cuja função, que integra o controle do ciclo celular, é dependente da atividade mitocondrial e do estado redox da célula. Assim, os vários defeitos genéticos, encontrados nos vários tipos de cancro, podem surgir, secundariamente, como uma consequência da disfunção mitocondrial. (1,26)

A disfunção mitocondrial pode ocorrer na sequência de lesão prolongada ou irritação dos tecidos. O processo tumoral pode ser iniciado nas células de qualquer tecido capaz de produzir *stress* mitocondrial, seguido de longos períodos de danos respiratórios subletais repetitivos. A acumulação de danos mitocondriais ao longo do tempo é o processo que, em última instância, conduz à formação do tumor maligno. As anomalias adquiridas na função mitocondrial podem produzir uma espécie de ciclo vicioso, onde a produção comprometida de energia na mitocôndria inicia a instabilidade genómica e a mutabilidade, que acelera a disfunção mitocondrial e o comprometimento da produção de energia, continuando este ciclo de forma cumulativa. A dependência da fosforilação ao nível do substrato aumenta a cada ciclo de dano metabólico e genético, iniciando assim o crescimento descontrolado e a eventual formação de uma neoplasia maligna. (1)

Numerosos estudos indicam que os genes e vias de sinalização requeridos para a regulação positiva e sustentação da fosforilação ao nível do substrato são, eles próprios anti-apoptóticos. A regulação positiva destes genes e vias de sinalização juntamente com a inativação de genes supressores tumorais, vai desativar a cascata de sinalização da apoptose, prevenindo assim a morte celular programada. (1,26)

Os mecanismos moleculares revistos até aqui suportam a hipótese de que o cancro é primariamente uma doença do metabolismo energético, podendo as suas características principais ser associadas à função mitocondrial comprometida. (1)

5. As alterações sistêmicas do metabolismo e o cancro

5.1. Síndrome metabólica

A SM é definida pela obesidade central em adição a dois dos seguintes fatores de risco: glucose elevada, resistência à insulina, triacilgliceróis (TAG) elevados, lipoproteínas de alta densidade (cHDL) reduzidas e hipertensão. (27,28)

A SM envolve um estado pró-inflamatório e pró-trombótico, que também está associado a um risco aumentado de desenvolver doença cardiovascular, DM tipo 2 e, possivelmente, cancro. (8,29)

Existem diversos estudos publicados que demonstram a associação entre o risco de cancro e os diferentes componentes individuais da SM mas, publicações acerca da ligação entre SM, no seu todo, e o risco de cancro são relativamente mais escassas. Dois grandes estudos epidemiológicos indicam que o conjunto dos componentes da SM está associado a um risco de cancro mais elevado que aquele que está associado a esses componentes individuais, existindo a possibilidade desses componentes poderem promover o cancro através de diferentes mecanismos que atuam de forma aditiva ou sinérgica. (8)

Os componentes da SM, através da produção de ROS, da produção ou biodisponibilidade aumentada de hormonas, como o estrogénio, IGF-1, insulina e adipocinas, e do fornecimento de um meio rico em energia, podem promover a transformação celular, a migração e a proliferação celular, a angiogénese e a inibição da apoptose. Estes mecanismos têm sido relacionados com a obesidade, resistência à insulina, hiperglicemia e hipertrigliceridemia (Figura 5). No entanto, os potenciais mecanismos moleculares que relacionam os níveis de cHDL e a hipertensão com o desenvolvimento do cancro permanecem incertos. (8)

Algumas publicações indicam que o conjunto dos componentes da SM eleva o risco de mortalidade por cancro colo-rectal, da bexiga em homens e do endométrio e pâncreas em mulheres, quando comparado com o risco associado aos componentes individuais em separado. (8,27,30)

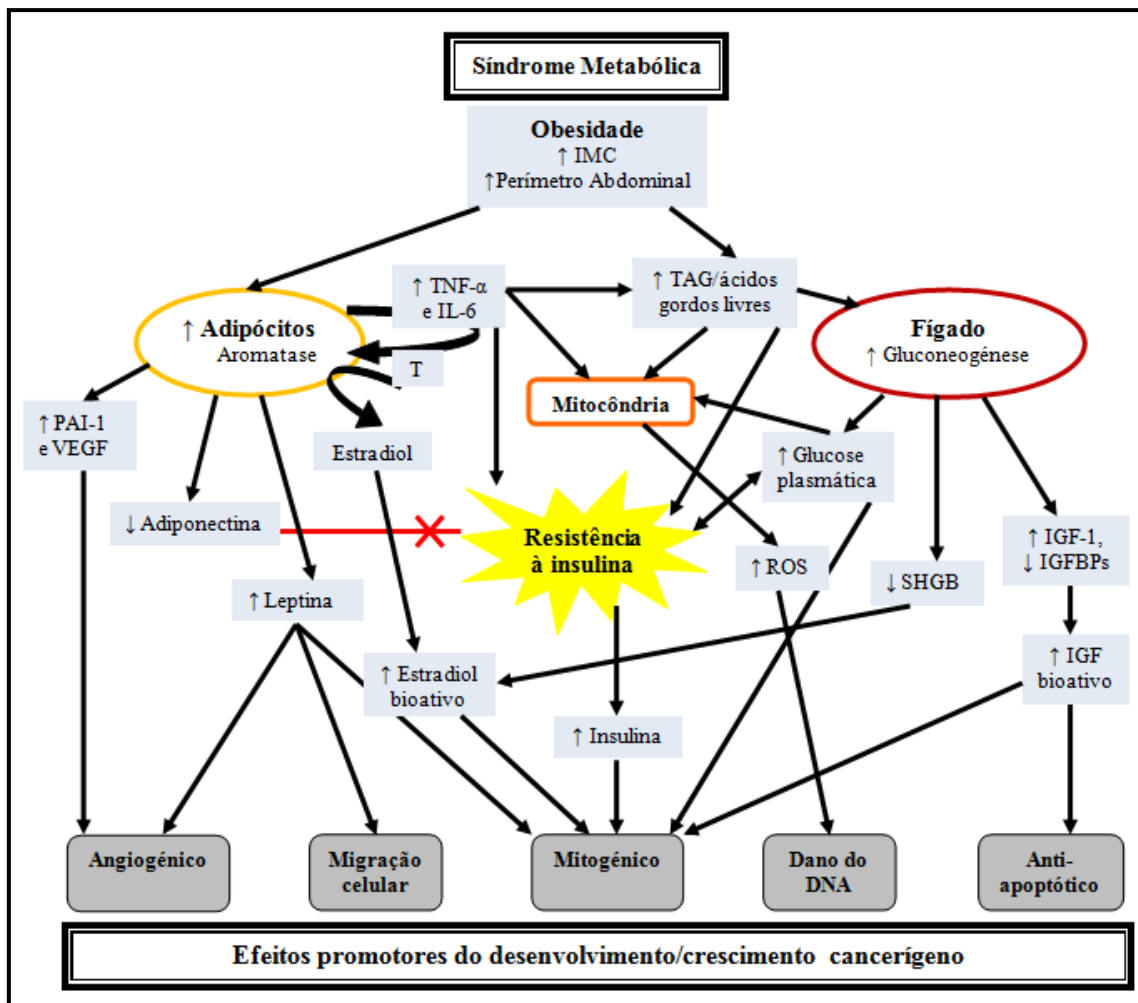


Figura 5. Diagrama representativo da relação entre a síndrome metabólica e o desenvolvimento de cancro. A glucose plasmática, o Índice de Massa Corporal (IMC)/perímetro abdominal e os TAG/ácidos gordos livres afetam diferentes processos complementares que, em conjunto, promovem o desenvolvimento do cancro. PAI-1: inibidor do ativador do plasminogénio 1; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; TNF- α : fator de necrose tumoral α ; T: androgénios. (8) [Adaptado]

5.2. Obesidade

A Organização Mundial de Saúde define obesidade como sendo a acumulação excessiva de tecido adiposo que compromete a qualidade da saúde. (30)

Em todo o mundo existem cerca de 1,1 mil milhões de pessoas obesas com um IMC entre 25 kg/m² e 30 kg/m² e 312 milhões com um IMC superior a 30 kg/m². Ao longo dos anos, tem-se verificado que os doentes obesos manifestam mais tumores localizados, recidivam mais cedo e apresentam uma sobrevida global diminuída. (7)

A localização do excesso de tecido adiposo é importante, uma vez que a obesidade central apresenta maior associação ao desenvolvimento de resistência à insulina, SM e doença

cardiovascular, que o aumento do IMC isolado. Do mesmo modo, a obesidade central parece ter maior relevância no desenvolvimento do cancro. (30)

A associação entre obesidade, DM tipo 2 e determinados tipos de cancro foi posta em evidência por um grande estudo epidemiológico. Tanto em homens como em mulheres, o IMC apresentava-se significativamente associado a elevadas taxas de mortalidade devido a cancro do esófago, colo-rectal, fígado, vesícula biliar, pâncreas, rins, linfoma não Hodgkin e mieloma múltiplo. Foi observada uma tendência aumentada de risco de morte por cancro do estômago e da próstata nos homens e cancro da mama, do útero, cervical e ovárico nas mulheres, associada a valores de IMC elevados. O perímetro abdominal, e não o IMC, é um poderoso fator preditivo do cancro colo-rectal. Em mulheres obesas, diabéticas e na pós-menopausa existe um risco especialmente aumentado para desenvolver cancro da mama com RE positivo. Foi observado que as mulheres obesas exibem níveis de estrogénio muito superiores aos exibidos por mulheres que apresentam um peso normal. Mulheres com um IMC superior a 40 kg/m^2 apresentam, em comparação com mulheres magras, o dobro do risco de desenvolver cancro da mama. Comparadas com mulheres não diabéticas com IMC normal, o risco das mulheres obesas e com DM tipo 2 desenvolverem cancro do endométrio cresce entre 2 a 6 vezes. (7,8,27)

A percentagem aumentada de tecido adiposo fornece uma quantidade superior de aromatase, que converte os androgénios em estradiol, o que pode explicar as observações que associam a obesidade à produção aumentada de estrogénios, que está associada a um risco aumentado de cancro do endométrio e da mama em mulheres na pós-menopausa. O controlo dos níveis séricos de estrogénios nas mulheres em pós-menopausa reduz significativamente a associação entre o IMC e o risco de desenvolver cancro da mama, o que indica que os estrogénios circulantes são um mecanismo patogénico importante na relação entre obesidade e o risco de desenvolver cancro da mama na pós-menopausa. Assim, em mulheres na pós-menopausa e nos homens, a concentração dos estrogénios em circulação é indicativa da conversão de androgénios a estrogénios no tecido adiposo e noutros locais extra-gónadas. (7,8)

A obesidade, tal como a hiperinsulinémia e a elevação do IGF-1, provoca a redução da produção das globulinas de ligação às hormonas sexuais (SHBG), o que conduz ao aumento da biodisponibilidade dos estrogénios. As vias dos IGF-1R e dos RE atuam sinergicamente na ativação da MAPK, tendo sido demonstrado que os estrogénios induzem a expressão dos IGF-1R, assim como dos substratos do recetor da insulina. (7,9)

Em mulheres na pré-menopausa o IMC elevado pode ter um efeito protetor no desenvolvimento de cancro da mama. Este efeito protetor pode, presumivelmente, ser atribuído ao maior número de ciclos menstruais anovulatórios que ocorrem em mulheres obesas na pré-menopausa, o que resulta na diminuição das hormonas esteróides em circulação. (8)

Apesar da obesidade desempenhar um papel importante no aumento da concentração de estradiol em circulação, em alguns doentes são produzidos estrogénios pelos adipócitos do tecido mamário em concentração suficiente para exercer efeitos proliferativos nas células mamárias. Os adipócitos secretam interleucina 6 (IL-6) e TNF- α , que atuam, juntamente com as prostaglandinas, como indutores da atividade da aromatase. Também a leptina e a insulina são indutoras da aromatase, estimulando a síntese de estrogénios. Assim, um aumento do tecido adiposo eleva a produção de citocinas, que podem estimular a atividade da aromatase e a produção de estradiol. (7,8)

Os adipócitos secretam hormonas, citocinas e outras proteínas de sinalização coletivamente denominadas de adipocinas. As adipocinas desempenham funções em processos como o apetite e balanço energético, inflamação, resistência ou sensibilidade à insulina, angiogénese, metabolismo lipídico, proliferação celular, apoptose e aterosclerose. Muitas destas funções relacionam-se tanto com a SM como com o cancro, e a disfunção do tecido adiposo, que resulta em níveis alterados de adipocinas, pode servir de ligação entre essas duas patologias. (8,9)

A leptina funciona como um sinal metabólico para o cérebro que resulta na inibição de apetite e aumento do metabolismo basal para promover a utilização da energia armazenada. A ausência de leptina ou a disfunção dos seus recetores resulta no consumo descontrolado de alimentos e obesidade. No entanto, as pessoas obesas desenvolvem resistência à leptina, tornando-se hiperleptinémicas e mais suscetíveis aos vários componentes da SM. (9)

Para além da associação à obesidade e à resistência à insulina, os níveis elevados de leptina no plasma estão associados ao cancro da próstata, cólon, mama e endométrio. A leptina estimula a via de sinalização da proliferação MAPK, nas células do cancro da próstata e nas células MCF-7 do cancro da mama. Foi demonstrado, num estudo sobre o cancro da mama, que a leptina regula positivamente o VEGF, e que requer ativação pelo HIF-1 α e pelo fator nuclear κ B (NF- κ B) para exercer essa regulação, contribuindo para a metastização e invasão pelas células cancerígenas. A inibição da MAPK e do PI3K inibe os efeitos da leptina, o que indica que são estas as vias subjacentes aos seus efeitos promotores do

crescimento. Assim, a leptina exerce efeitos de estimulação nas células cancerígenas e pode servir de ligação entre a obesidade e o risco de desenvolver cancro. (7-9)

A adiponectina regula a homeostase energética e o metabolismo da glucose e dos lípidos. Ao contrário da maioria das hormonas secretadas pelos adipócitos, a concentração plasmática de adiponectina encontra-se reduzida nos indivíduos obesos de forma significativa. Alguns estudos sugerem que a produção diminuída de adiponectina é secundária à hipóxia do tecido adiposo. A adiponectina exerce um efeito de sensibilização à insulina e pode melhorar a resistência à insulina e a DM, onde os seus níveis são reduzidos. O mecanismo primário para aumentar a sensibilidade à insulina é a ativação da AMPK, nos músculos ou no fígado, suprimindo indiretamente a mTOR, o que inibe o crescimento celular. Através da utilização da via AMPK, a adiponectina afeta a regulação da utilização da glucose e a oxidação de ácidos gordos. Independentemente da ativação da AMPK, a adiponectina reduz a produção de ROS, que pode resultar na redução da ativação da MAPK, inibindo assim a proliferação celular. Considera-se que a adiponectina possui efeitos anticancerígenos devido ao seu carácter anti-inflamatório e ao facto de ser um regulador negativo da angiogénese. Foi demonstrado, em estudos *in vitro*, que a adiponectina inibe o crescimento de várias linhagens de células do cancro da mama, induz a apoptose de células da linhagem mielomonocítica e inibe a angiogénese tumoral. Os níveis de adiponectina correlacionam-se inversamente com os cancros da mama, do endométrio e gástrico, e inibem a inflamação e a resistência à insulina, que estão envolvidas na progressão do cancro. (7-9,27)

A angiogénese é um processo crítico na formação de tumores e metástases. Um dos fatores pró-angiogénicos mais importantes secretado pelos adipócitos é o VEGF. O VEGF e os seus recetores, VEGFR-1 e VEGFR-2, modulam a proliferação e migração das células endoteliais, assim como a sobrevivência, a permeabilidade vascular e a tubulogénese. Os níveis séricos de VEGF foram positivamente associados à acumulação de gordura visceral mas não à acumulação de gordura subcutânea. A secreção de VEGF pelo tecido adiposo e por outros tecidos é estimulada pela hipóxia, assim como pela insulina, IGF-1, estrogénio, leptina e TNF- α , que se encontram elevados na obesidade. (8)

A obesidade, a hiperinsulinémia e a hipóxia estão relacionadas com a inflamação e com o desenvolvimento de cancro, sendo as citocinas um dos elos de ligação. Os adipócitos secretam uma série de citocinas, tais como TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10, a proteína inflamatória do macrófago 1 e a proteína quimioatrativa do monócito 1. Não é ainda muito claro o motivo pelo qual os adipócitos produzem tantos fatores pró-inflamatórios em pessoas obesas, mas alguns estudos sugerem que os agregados de adipócitos entram em hipóxia e secretam

citocinas de modo a estimular a angiogénese no tecido adiposo. Estas citocinas secretadas pelos adipócitos promovem a resistência à insulina e elevam os TAG em circulação. (8,27)

A inflamação está relacionada com muitos tipos de cancro, como o gástrico, pancreático, esofágico, hepático, colo-rectal e da bexiga, pois tem influência no crescimento, apoptose e proliferação das células tumorais e estromais. (8)

A IL-6 relaciona-se com vários processos patológicos, incluindo doenças inflamatórias crónicas e cancro. A IL-6 é um fator chave para o crescimento e sobrevivência das células do mieloma múltiplo, e foi encontrada em níveis elevados em doentes com cancro da mama e em doentes resistentes à insulina. (7,9,27)

A IL-8 pode ter atividade angiogénica em vários cancros, incluindo o do pulmão de não-pequenas células, e pode funcionar como um fator de crescimento autócrino positivo. (27)

O TNF- α está, também, envolvido na carcinogénese e progressão cancerígena. O TNF- α ativa o NF- κ B, que aumenta a produção de óxido nítrico, um substrato para a formação de ROS, e estimula outras citocinas inflamatórias. As ROS e as citocinas inflamatórias conduzem à resistência à insulina e intolerância à glucose, podendo promover um ciclo vicioso, uma vez que os ácidos gordos livres, a glucose e a insulina podem estimular a ativação do NF- κ B. O NF- κ B ativa a expressão de genes que promovem a proliferação celular e inibem a apoptose, promovendo a sobrevivência celular, sendo natural que vários tipos de tumor diferentes apresentem uma função desregulada do NF- κ B. A via do NF- κ B interage com a via do HIF-1 α , cuja ativação conduz ao aumento da vascularização nos tumores, relacionando a inflamação e a hipóxia. Assim, é provável que os níveis aumentados de citocinas circulantes, provenientes de adipócitos, promovam a progressão do cancro, ao contribuir para a inflamação e formação de ROS. (7-9,27)

O aumento do *stress* oxidativo nas células do tecido adiposo é um mecanismo patogénico importante na SM. Foi demonstrado, num estudo que utilizou um modelo animal obeso, que a produção de ROS pela NADPH oxidase encontra-se especificamente aumentada no tecido adiposo, e que a inibição da NADPH oxidase melhora os níveis sanguíneos de glucose, insulina e TAG nesse modelo. Estes dados sugerem que as ROS produzidas pelos adipócitos podem ser a causa da SM e um possível alvo terapêutico para a obesidade associada à SM. (8)

A sobre-expressão da cicloxigenase 2, produzida por muitos tipos celulares em resposta a múltiplos estímulos, tem sido observada em vários tipos de cancro, como o do cólon, mama, próstata e pâncreas e parece controlar muitos processos celulares. O contributo

da cicloxigenase 2 para a carcinogénese e para o fenótipo maligno das células tumorais pode estar relacionado com a sua capacidade para aumentar a produção de prostaglandinas, converter pró-carcinogéneos em carcinogéneos, inibir a apoptose, promover a angiogénese, modular a inflamação e a função imunitária e aumentar a capacidade de invasão das células tumorais. (7,27)

As citocinas, as ROS e os mediadores da via inflamatória, como por exemplo o NF-κB e a cicloxigenase 2, aceleram os ciclos celulares, causam a perda da função de supressão tumoral e estimulam a expressão de oncogenes, conduzindo ao desenvolvimento de cancro. Uma vez que a obesidade e a resistência à insulina estão diretamente relacionadas com a SM e com o desenvolvimento de cancro, as adipocinas podem desempenhar um papel crucial na ligação destas duas doenças. (7,27)

Apesar dos mecanismos moleculares e fisiopatológicos responsáveis pela associação entre a obesidade e o risco de cancro não serem completamente compreendidos, o mecanismo mais provável pode ser o desenvolvimento de resistência à insulina associada a uma disponibilidade aumentada do IGF-1. Outro mecanismo possível pode ser o aumento do *stress* oxidativo associado à obesidade. (27)

5.3. Hipertensão

A hipertensão foi associada ao risco de mortalidade por cancro e mais especificamente com o cancro renal. A hipertensão foi também associada ao risco aumentado de desenvolver cancro colo-rectal e do endométrio. No entanto, de momento, não existem evidências suficientes de que a hipertensão por si só eleve o risco de cancro, sendo necessários estudos que permitam avaliar se constitui um fator de risco independente. (8)

5.4. Dislipidemia

A dieta alimentar desempenha um papel importante na regulação da iniciação, desenvolvimento e agressividade do cancro. O colesterol da dieta tem um papel importante na regulação do metabolismo do colesterol plasmático e, apesar do seu papel no desenvolvimento da doença cardiovascular estar bem documentado, a sua importância no desenvolvimento do cancro ainda não foi suficientemente investigada e os estudos existentes

apresentam resultados contraditórios. É geralmente aceite que níveis particularmente baixos de colesterol plasmático podem ser um marcador do cancro. No entanto, o papel do colesterol na iniciação e progressão da formação do tumor apresenta-se envolto em alguma controvérsia. (31)

Os níveis baixos de cHDL foram associados à incidência de cancro do pulmão e de linfoma não Hodgkin, e foram sugeridos como marcador do risco aumentado de cancro da mama, uma vez que podem refletir um perfil hormonal desfavorável com níveis particularmente elevados de estrogénios, especialmente em mulheres obesas. Um extenso estudo prospetivo demonstrou que mulheres pós-menopáusicas com níveis elevados de cHDL apresentam um risco significativamente reduzido de desenvolver cancro da mama, quando comparadas com aquelas que possuem níveis reduzidos de cHDL. Além disto, níveis elevados de colesterol total e TAG aumentam o risco de cancro da próstata e da mama em mulheres pós-menopáusicas. Contudo, apesar de existir evidência epidemiológica que suporta a associação dos níveis reduzidos de cHDL ao desenvolvimento de certos tipos de cancro, a associação dos níveis elevados de TAG com incidência de cancro parece ser fraca, sendo necessários mais estudos que clarifiquem essa associação. Contraditoriamente, níveis séricos muito baixos de lipoproteína de baixa densidade (cLDL) foram relacionados a um risco elevado de desenvolver cancros hematológicos. (7,8,27)

É possível que a acumulação excessiva de TAG no citosol de tecidos que não o adiposo, como o fígado e músculo, eleve a produção de ROS produzidas na respiração mitocondrial, por inibir os translocadores da adenosina diminuindo, assim, os níveis de ADP. A redução de ADP provoca a diminuição do fluxo de eletrões ao longo da cadeia de transferência, aumentando a probabilidade de produção do ião superóxido. (8)

As ROS também podem reagir com os lípidos. Os ácidos gordos são particularmente propensos à oxidação, formando-se produtos da sua peroxidação, que são extremamente reativos e que se decompõem em aldeídos reativos bifuncionais capazes de causar mutações genéticas. (8)

5.5. Resistência à insulina, hiperglicémia e diabetes

Comparados com indivíduos com peso normal, os indivíduos obesos produzem quantidades aumentadas de ácidos gordos livres, TAG, leptina e citocinas inflamatórias. Estas alterações metabólicas, associadas à reduzida prática de exercício físico, conduzem à

hiperinsulinémia e resistência à insulina, condição que é comum nos indivíduos pré-diabéticos. (7,8,27)

A resistência à insulina pode deter o potencial de explicar muitos, se não todos, os fatores associados à SM. A hiperinsulinémia crónica é, possivelmente, um fator favorecedor da iniciação e /ou progressão do cancro em doentes diabéticos devido ao efeito mitogénico da insulina, que pode exercer o seu efeito através de múltiplos mecanismos. (8,30,32)

Existem estudos que sugerem que a insulina promove o cancro do cólon e que os RIs estão sobre-expressos nos tumores do cólon e da mama, tornando-os mais suscetíveis aos efeitos estimuladores do crescimento da insulina, particularmente durante o estado de hiperinsulinemia. Nas células malignas predomina o RI-A, e a sua ativação, ao contrário do RI-B, provoca mais efeitos mitogénicos que metabólicos. A insulina, ao ligar-se ao RI-A sobre-expresso, pode favorecer a proliferação e facilitar o crescimento de tumores que, de outra forma, poderiam permanecer clinicamente irrelevantes por tempo indeterminado. (8,32,33)

Os efeitos da insulina na proliferação de células cancerígenas *in vivo* podem dever-se a um mecanismo indireto, como a estimulação pelo IGF-1, que também desempenha uma função importante na proliferação celular em resposta à disponibilidade dos nutrientes. Além de estimular a produção, a hiperinsulinémia também aumenta a biodisponibilidade do IGF-1, por diminuir a secreção hepática de IGFBP-1 e IGFBP-2, de modo que existe mais IGF-1 livre para se ligar aos seus recetores nas células normais e cancerígenas. O IGF-1R encontra-se sobre-expresso nos cancros da mama e do cólon, e a ativação desses recetores estimula as vias de sinalização Ras/MAPK e PI3K/PKB/mTOR. Os efeitos proliferativos e anti-apoptóticos da IGF-1 são importantes na tumorigénese, porque, como foi verificado em ratos mutantes tratados com um carcinogénio, a sobre-expressão de IGF-1 estimula, e a sua supressão reduz, o desenvolvimento de tumores mamários. A angiogénese é também estimulada pelo IGF-1, que induz o HIF-1 α , que, por sua vez, está envolvido na produção do VEGF, como se observa no cancro do cólon, endométrio, mama e próstata. (7,8,19,27)

Foi também sugerido que a hiperinsulinémia e a IGF-1 inibem a síntese de SHBG, promovendo os cancros dependentes de hormonas sexuais como o da mama, endométrio e próstata, por elevarem a biodisponibilidade das hormonas sexuais. (8,27,33)

Além dos efeitos promotores do crescimento da insulina e do IGF-1, a sobre-expressão do IGF-2 encontra-se também associada ao desenvolvimento tumoral. (19)

As proteínas de transporte da glucose, especialmente a GLUT1, estão aumentadas em muitos tumores. A GLUT3 foi detetada em cancros do pulmão, ovário e estômago mas não

nos correspondentes tecidos não cancerígenos. A GLUT12 foi encontrada no cancro da próstata e da mama, mas não na próstata com hiperplasia benigna e encontrava-se reduzida ou ausente no tecido mamário não cancerígeno. Além disso, o metabolismo cancerígeno acelerado está associado ao aumento da necessidade de energia e produção de ATP. Alguns estudos demonstram que as enzimas envolvidas na glicólise apresentam atividade e/ou expressão aumentada nas células cancerígenas, e indicam que diferentes tipos de tumor apresentam aumento da captação e acumulação de glucose, que se relaciona com um grau elevado do tumor, potencial metastático aumentado, resposta reduzida à terapêutica e sobrevida inferior. Assim, se o excesso de energia favorece o desenvolvimento de tumores, então a restrição energética deverá impedir o desenvolvimento do cancro, o que de facto acontece, como é sugerido por alguns estudos. (8,34)

O excesso de glucose também promove a formação de ROS, que podem promover o desenvolvimento do cancro. (8)

Na DM tipo 2, a resistência à insulina a longo termo conduz à diminuição da produção de insulina pelo pâncreas, resultando em hipoinsulinémia e hiperglicémia. A DM tipo 2 correlaciona-se com a incidência e mortalidade por cancro hepático, do endométrio, pancreático, cervical e da mama. Além disso, níveis elevados de glucose plasmática em jejum, em indivíduos não diabéticos, estão significativamente associados ao desenvolvimento de cancro colo-rectal, da mama, do endométrio e da próstata e à contribuição para a mortalidade por outros tipos de cancro. (8)

A DM é um grave e crescente problema de saúde pública a nível mundial e se estiver associada nem que seja a um pequeno risco de desenvolvimento de cancro, as consequências a nível da população mundial podem ser imensas. (32)

A associação entre DM e cancro tem sido extensamente investigada e a maioria dos estudos, mas não todos, indica que a DM está associada a um risco aumentado de vários tipos de cancro. No entanto, a maioria dos dados publicados requer uma interpretação cuidadosa e, talvez, uma reinterpretação, uma vez que DM não é uma doença única, mas sim um conjunto de alterações metabólicas que se caracteriza pela hiperglicémia. Assim, cada tipo de diabetes apresenta anomalias metabólicas e hormonais que afetam de modo diferente os doentes diabéticos, não sendo apropriado considerar estes doentes como um grupo homogêneo. Além disso, existem uma série de fatores de confundimento, diretamente relacionados com a doença, como por exemplo a obesidade, que podem influenciar a associação entre diabetes e cancro. (32,33)

Os dois subtipos de DM mais frequentes diferem em características metabólicas e hormonais mas, apesar disso, a maioria dos estudos efetuados acerca da associação entre diabetes e cancro foi realizada sem fazer essa distinção. Pelo facto da DM tipo 2 constituir cerca de 90% dos casos de diabetes, é muito provável que a maioria dos estudos realizados tenha sido efetuado em doentes deste tipo. Uma vez que estes doentes, ao contrário daqueles com DM tipo 1, apresentam hiperinsulinémia endógena e resistência à insulina, é questionável a extensão automática dos dados obtidos por esses estudos à DM tipo 1. Assim, considerando a frequência destes dois tipos de DM e que o cancro é maioritariamente uma doença da população mais velha, em que a DM tipo 1 é menos frequente, parece razoável assumir que a grande maioria dos tumores observados em doentes diabéticos ocorre na DM tipo 2. Se a associação do cancro com a DM tipo 1 possuir características específicas, estas têm, provavelmente, sido ocultadas pela grande maioria de cancros diagnosticados nos diabéticos do tipo 2. (32)

São vários os estudos que indicam uma forte associação entre a DM e o risco aumentado de cancro do pâncreas e do fígado. (32)

Uma vez que a insulina é produzida pelas células β pancreáticas e depois transportada através da veia porta para o fígado, as células hepáticas e pancreáticas estão expostas a concentrações mais elevadas de insulina endógena que os restantes tecidos, condição essa que se encontra exacerbada nos indivíduos com DM tipo 2, mas não em indivíduos com DM tipo 1 tratados com insulina exógena. É, por isso, improvável que a ação mitogénica da insulina esteja especificamente envolvida na elevada incidência de cancro hepático e pancreático observada em diabéticos, uma vez que também as células saudáveis nesses tecidos estão fisiologicamente expostas a quantidades de insulina superiores às de outros tecidos. Além disso, em diabéticos tratados com insulina exógena, o fígado e o pâncreas são expostos às mesmas quantidades de insulina que os outros órgãos. Uma vez que os estudos epidemiológicos indicam um aumento da incidência desse tipo de cancros em doentes diabéticos, devem existir outras condições, específicas desses órgãos, que favorecem a carcinogénese em doentes diabéticos. Com efeito, a cirrose e a esteatose, ambas fatores de risco para o carcinoma hepatocelular, são mais frequentes em doentes diabéticos. Outros fatores que podem favorecer o hepatocarcinoma em doentes diabéticos são as infeções pelos vírus da hepatite B e C, que também são mais frequentes em diabéticos que em não diabéticos. Em relação ao cancro pancreático, é ainda objeto de especulação se a diabetes é uma consequência deste ou vice-versa. No entanto, foi estabelecida uma associação positiva

entre a diabetes e o risco de cancro pancreático nas situações em que a diabetes precede o diagnóstico de cancro pancreático em pelo menos 5 anos. (7,32,33)

Indivíduos com DM demonstram um aumento modesto do risco para o cancro da bexiga e da incidência e mortalidade por cancro renal. Para além dos fatores gerais como hiperinsulinémia e obesidade, é provável que fatores específicos como hipertensão e doenças renais, que frequentemente ocorrem em doentes diabéticos, estejam envolvidos no processo cancerígeno. (32)

Tanto o cancro da mama como o do endométrio apresentam um risco aumentado em mulheres diabéticas, independente da obesidade. Apesar de um risco aumentado de desenvolvimento de cancro da mama com RE positivos ser observado em mulheres obesas e diabéticas na pós-menopausa, a diabetes não foi associada a um aumento de risco para o mesmo cancro em mulheres na pré-menopausa. (7,32)

Tem sido observado que doentes diabéticos apresentam uma resposta débil à terapêutica oncológica. A expressão do RI-A mitogénico pode, através de uma variedade de mecanismos, favorecer a resistência das células cancerígenas à terapêutica. A resistência a fármacos quimioterápicos, como o trastuzumab e o tamoxifeno, em linhagens celulares do cancro da mama foi associada à ativação da mTOR. Já a metformina, demonstrou a capacidade de ativar a AMPK e diminuir os níveis de PKB e insulina em ratos, o que resulta na diminuição da sinalização do crescimento celular. Isto pode explicar a associação de um risco menor de desenvolver cancro e de uma melhor resposta à quimioterapia em doentes com cancro da mama a fazer terapêutica com metformina. (7,19)

A DM tipo 2 tem sido associada ao risco aumentado de adenomas e carcinomas colo-rectais. Para além da hiperinsulinémia, o trânsito intestinal lento e as elevadas concentrações de ácidos biliares nas fezes, frequentemente observadas em indivíduos diabéticos, são também possíveis mecanismos de associação entre a DM e o risco de cancro. (32)

A DM foi também associada a um aumento moderado de linfoma não Hodgkin, uma possível consequência da disfunção imune observada na diabetes. (32)

A DM, independentemente da obesidade, atua como um elemento preditivo de mortalidade por cancro colo-rectal e do pâncreas em ambos os sexos, da mama e endométrio na mulher, e do fígado e bexiga no homem. (7,32)

Em relação à incidência e mortalidade por cancro da próstata, muitos estudos sugerem uma associação inversa entre este e a DM tipo 2. A redução do risco de desenvolver cancro prostático pode ser motivada pela diminuição dos níveis de testosterona em doentes diabéticos. No entanto, outros fatores metabólicos e hormonais, como as concentrações

alteradas de insulina e leptina, a utilização de medicamentos como estatinas e metformina, e alterações na dieta e estilo de vida, foram também propostos como potenciais contribuintes para essa associação inversa. (26,33,35)

Existem várias possibilidades que podem ser apontadas como explicação para o risco aumentado de morte por cancro em doentes diabéticos. Não é ainda claro se a diabetes, através de vários mecanismos, torna o cancro mais agressivo ou se o organismo hospedeiro é menos resistente à progressão cancerígena. Também é possível que os doentes diabéticos recebam terapêutica oncológica diferente, isto é, os oncologistas podem considerar a administração de doses menores de quimioterapia em doentes diabéticos em função da saúde geral do doente e das suas funções cardíaca, hepática e renal. É também possível que os doentes diabéticos apresentem uma resposta mais fraca à terapêutica que os não diabéticos. (32)

6. Conclusão

A presente monografia teve como objetivo sumarizar e clarificar as questões que envolvem a hipótese do cancro ser primariamente uma doença do metabolismo energético e qual o contributo das doenças metabólicas para esse processo.

A revisão efetuada permitiu demonstrar que as características principais do cancro podem ser associadas a uma função mitocondrial comprometida. As células tumorais, de modo a manter a sua viabilidade, transitam gradualmente para a fosforilação ao nível do substrato, utilizando glucose e glutamina como substratos energéticos. Apesar da heterogeneidade dos tumores, que dita uma abordagem terapêutica individual, praticamente todos os tumores apresentam um aumento da captação e utilização da glucose com produção de lactato. A troca para a glicólise aeróbia nas células cancerígenas é um processo ativo dirigido por oncogenes e supressores tumorais, que confere vantagens seletivas às células em rápida proliferação. Assim, as dietas restritivas combinadas com fármacos dirigidos à glucose e à glutamina podem constituir uma estratégia legítima de prevenção e manutenção a longo prazo para a maioria dos cancros.

As vias que conduzem ao aumento da glicólise também podem causar a supressão da atividade mitocondrial. O HIF-1, por exemplo, estimula não apenas a captação e utilização de glucose pelas células tumorais como também estabiliza a mitocôndria por diversas vias, reduzindo a produção de ROS. Além disso é um fator chave para a regulação da angiogénese e da supressão da apoptose. A hipóxia, para além de contribuir para a estabilização do HIF-1, também ativa a AMPK e a p53, cuja perda de atividade contribui para o fenótipo glicolítico.

As ROS podem funcionar como moléculas sinalizadoras promotoras da proliferação ou como mediadores da morte celular induzida pela quimioterapia ou isquémia.

Nas células cancerígenas, a via das PP, além de estar envolvida na produção de NADPH e de precursores da síntese de ácidos nucleicos, apresenta-se como uma alternativa para a produção de energia independente da mitocôndria. A fermentação da glucose pela via das PP mediada pela TKTL1 permite minimizar a produção de ROS e protege a célula cancerígena dos seus efeitos.

A tumorigénese é um processo complexo que envolve a ativação de oncogenes, inativação de genes supressores tumorais e a desregulação dos programas de morte celular. A observação de que os genes pró-apoptóticos podem atuar como supressores tumorais e que os genes anti-apoptóticos podem atuar como oncogenes sugere que o equilíbrio entre genes pró-apoptóticos e anti-apoptóticos modula o crescimento tumoral.

O RI e o IGF-1R encontram-se sobre-expressos nas células cancerígenas e medeiam efeitos mitogénicos, através da via de sinalização da MAPK, e efeitos metabólicos e anti-apoptóticos, através da via de sinalização da PI3K. A ativação da sinalização por estas vias conduz à desregulação da síntese de proteínas, progressão do ciclo celular, crescimento celular e prevenção da apoptose.

Em tumores associados a defeitos das enzimas do CAT, o mecanismo subjacente à tumorigénese envolve a acumulação dos metabolitos que transmitem sinais oncogénicos. O facto da SDH e da FH funcionarem como supressores tumorais sugere que a desregulação metabólica pode ser um evento iniciador do cancro. Além disso, algumas enzimas, como a TKTL1, podem ser consideradas oncogénicas, devido à sua sobre-expressão em alguns cancros, o que destaca o facto de o metabolismo alterado a nível genético contribuir diretamente para o processo cancerígeno.

Enquanto os cancros causados por mutações da linha germinativa são raros, a abundância de anomalias genómicas somáticas encontradas na maioria dos cancros pode ser uma consequência secundária da disfunção mitocondrial. A disfunção mitocondrial pode desencadear uma RR que, quando prolongada, pode ter graves consequências a nível da estabilidade e função do genoma nuclear, podendo introduzir anomalias nos oncogenes e genes supressores de tumores. Gera-se, assim, um ciclo vicioso, em que a produção comprometida de energia pela mitocôndria inicia a instabilidade genómica e a mutabilidade que, por sua vez, aceleram a disfunção mitocondrial e o comprometimento da produção de energia. Para as células afetadas, esta alteração pode ser facilitada pelo microambiente do organismo.

A resistência à insulina pode ser a responsável por muitos dos fatores que associam a SM ao risco de cancro. No entanto, o mecanismo que realmente promove o seu desenvolvimento em doentes com SM necessita de investigação adicional. São necessários mais estudos que avaliem o risco de cancro em doentes diagnosticados com SM, de modo a determinar se os componentes individuais da SM atuam sinergicamente de modo a elevar o risco de cancro, quando comparado com o risco associado aos componentes individuais. Se for o caso, então o controlo de um ou dois desses componentes pode contribuir significativamente para uma maior sobrevida com maior qualidade. Do ponto de vista clínico, esta hipótese coloca maior ênfase na terapêutica através de alterações do estilo de vida acompanhada pela terapêutica farmacológica para controlo da hipertensão, hiperglicémia ou dislipidemia.

Muitos estudos sugerem a associação da obesidade ao risco de desenvolvimento de vários tipos de cancro. A obesidade induz um estado de inflamação crónica que altera a função imunitária, as hormonas sexuais e as adipocinas, assim como provoca alterações na sensibilidade à insulina e no eixo de sinalização IGF. Estes sistemas interagem no sentido de promover o desenvolvimento e progressão do cancro.

A DM tem sido constantemente associada ao risco aumentado de desenvolver vários tipos de cancro, mas permanece ainda por esclarecer se essa associação é direta, devido à hiperglicémia por exemplo, se a DM é apenas uma manifestação dos processos biológicos subjacentes que alteram o risco de cancro, como é o caso da hiperinsulinémia e resistência à insulina, ou se essa associação é indireta e devida a fatores de risco comuns às duas doenças, como é o caso da obesidade. A maioria dos estudos epidemiológicos realizados não considerou vários fatores de confundimento e os doentes diabéticos não foram caracterizados pelo tipo de diabetes, duração da doença, fármacos administrados, qualidade do controlo metabólico ou presença de comorbilidades. Devido à crescente frequência de diabetes e cancro, esta relação deve ser devidamente avaliada, de modo a permitir a criação de abordagens mais efetivas para a prevenção e tratamento do cancro em doentes diabéticos.

São também necessários estudos epidemiológicos adicionais que analisem a potencial associação da hipertensão, do cHDL e dos TAG como fatores de risco independentes para o cancro.

Apesar de uma longa história de investigação ainda há muito a apreender sobre como o metabolismo das células em proliferação é regulado, sendo importante lembrar a possível existência de mecanismos adicionais que ainda não foram descritos. Compreender as vias que regulam o metabolismo das células cancerígenas pode conduzir a um melhor entendimento do desenvolvimento e progressão do cancro, e detém o potencial de abrir novos horizontes acerca do tratamento do cancro utilizando terapia metabólica, assim como de poder promover novas estratégias de diagnóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Seyfried TN, Shelton LM. Cancer as a metabolic disease. *Nutr Metab (Lond)* [Internet]. 2010; 7:7 [citado em 16 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.nutritionandmetabolism.com/content/7/1/7>
2. Kankova K., Hrstka R. Cancer as a metabolic disease and diabetes as a cancer risk? *Klin Onkol* [Internet]. 2012; 25 Suppl 2:2S26-31 [citado em 16 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/174/4121.pdf>
3. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* [Internet]. 2000; 100(1):57-70 [citado em 23 de Agosto de 2013]. Disponível em: http://www.weizmann.ac.il/home/fedomany/Bioinfo05/lecture6_Hanahan.pdf
4. Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? *Trends Cell Bio* [Internet]. 2008; 18(4):165-73 [citado em 23 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://images.cell.com/images/EdImages/devcell/april/zhivotovsky.pdf>
5. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2004; 4(11):891-9 [citado em 23 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p222/cancerglycolysis.pdf>
6. Dang CV. Links between metabolism and cancer. *Genes Dev* [Internet]. 2012; 26(9):877-90 [citado em 19 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22549953>
7. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D. The link between metabolic syndrome and cancer. *Int J Bio Sci* [Internet]. 2011; 7(7):1003-15 [citado em 21 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3164150/>
8. Cowey S, Hardy RW. The metabolic syndrome: A high-risk state for cancer? *Am J Pathol* [Internet]. 2006; 169(5):1505-22 [citado em 22 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1780220/>
9. van Kruijsdijk RC, van der Wall E, Visseren FL. Obesity and cancer: the role of dysfunctional adipose tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2009; 18(10):2569-78 [citado em 23 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://cebp.aacrjournals.org/content/18/10/2569.long>
10. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* [Internet]. 2009;

- 324(5930):1029-33 [citado em 29 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2849637/>
11. Muñoz-Pinedo C, El Mjiyad N, Ricci JE. Cancer metabolism: current perspectives and future directions. *Cell Death Dis* [Internet]. 2012; 3:e248 [citado em 8 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3270265/>
 12. Macintyre AN, Rathmell JC. Activated lymphocytes as a metabolic model for carcinogenesis. *Cancer Metab* [Internet]. 2013; 1(1):5 [citado em 14 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3834493/>
 13. Witting R, Coy JF. The role of glucose metabolism and glucose-associated signaling in cancer. *Perspect Medicin Chem* [Internet]. 2008; 1:64-82 [citado em 28 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2754915/>
 14. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica*. 5ª ed. (trad.) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
 15. Cardaci S, Ciriolo MR. TCA cycle defects and cancer: when metabolism tunes redox state. *Int J Cell Biol* [Internet]. 2012; 2012:161837 [citado em 29 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3408673/>
 16. DeBerardinis RJ, Cheng T. Q's next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. *Oncogene* [Internet]. 2010; 29(3): 313-24 [citado em 29 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2809806/>
 17. Jones RG, Thompson CB. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev* [Internet]. 2009; 23(5):537-48 [citado em 29 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2763495/>
 18. Ros S, Schulza A. Balancing glycolytic flux: the role of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose 2,6-bisphosphatases in cancer metabolism. *Cancer Metab* [Internet]. 2013; 1(1):8 [citado em 14 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.cancerandmetabolism.com/content/1/1/8>
 19. Gallagher EJ, LeRoith D. The proliferating role of insulin and insulin-like growth factors in cancer. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 2010; 21(10):610-8 [citado em 26 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2949481/>
 20. Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2000;92(18): 1472-89 [citado em 30 de

- Outubro de 2013]. Disponível em:
<http://jncli.oxfordjournals.org/content/92/18/1472.long>
21. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2011; 12(1):21-35 [citado em 12 de Outubro de 2013]. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3390257/>
 22. Dang CV, Le A, Gao P. MYC-induced cancer cell energy metabolism and therapeutic opportunities. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2009; 15(21):6479-83 [citado em 2 de Novembro de 2013]. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2783410/>
 23. Frezza C, Pollard PJ, Gottlieb E. Inborn and acquired metabolic defects in cancer. *J Mol Med* [Internet]. 2011; 89(3): 213-20 [citado em 30 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3043233/>
 24. King A, Selak MA, Gottlieb E. Succinate dehydrogenase and fumarate hidratase: linking mitochondrial dysfunction and cancer. *Oncogene* [Internet]. 2006; 25(34): 4675-82 [citado em 17 de Setembro de 2013]. Disponível em:
<http://www.nature.com/onc/journal/v25/n34/full/1209594a.html>
 25. Samudio I, Fiegl M, Andreeff M. Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. *Cancer Res* [Internet]. 2009; 69(6):2163-6 [citado em 20 de Agosto de 2013]. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3822436/>
 26. Butow RA, Avadhani NG. Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol Cell* [Internet]. 2004; 14(1):1-15 [citado em 3 de Setembro de 2013]. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1097276504001790>
 27. Pothiwala P, Jain SK, Yaturu S. Metabolic syndrome and cancer. *Metab Syndr Relat Disord* [Internet]. 2009; 7(4): 279-88 [citado em 24 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3191378/>
 28. Champ CE, Volek JS, Siglin J, Jin L, Simone NL. Weight gain, metabolic syndrome, and breast cancer recurrence: are dietary recommendations supported by the data? *Int J Breast Cancer* [Internet]. 2012; 2012:506868 [citado em 24 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3462378/>
 29. Fujihara S, Mori H, Kobara H, Nishiyama N, Kobayashi M, Oryu M, Masaki T. Metabolic syndrome, obesity, and gastrointestinal cancer. *Gastroenterol Res Pract*

- [Internet]. 2012; 2012:483623 [citado em 25 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3530232/>
30. Donohoe CL, Doyle SL, Reynolds JV. Visceral adiposity, insulin resistance and cancer risk. *Diabetol Metab Syndr* [Internet]. 2011; 3:12 [citado em 26 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3145556/>
 31. Llaverias G, Danilo C, Mercier I, Daumer K, Capozza F, Williams TM, Sotgia F, Lisanti MP, Frank PG. Role of cholesterol in the development and progression of breast cancer. *Am J Pathol* [Internet]. 2011; 178(1): 402-12 [citado em 27 de Agosto de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3069824/>
 32. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R. Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer* [Internet]. 2009; 16(4):1103-23 [citado em 2 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://erc.endocrinology-journals.org/content/16/4/1103.long>
 33. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergental RM, Gapstur SM, Habel LA, Pollak M, Regensteiner JG, Yee D. Diabetes and cancer: a consensus report. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2010; 60(4):207-21 [citado em 4 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.20078/full>
 34. Hursting SD, Dunlap SM, Ford NA, Hursting MJ, Lashinger LM. Calorie restriction and cancer prevention: a mechanistic perspective. *Cancer Metab* [Internet]. 2013; 1(1):10 [citado em 4 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.cancerandmetabolism.com/content/1/1/10>
 35. Frayling TM, Colhoun H, Florez JC. A genetic link between type 2 diabetes and prostate cancer. *Diabetologia* [Internet]. 2008; 51(10): 1757-60 [citado em 4 de Setembro de 2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18696045>