EVELINE APARECIDA ISQUIERDO FONSECA

**INFLUÊNCIA DA OBESIDADE E DA RESISTÊNCIA À
INSULINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO TUMORAL:
EFEITO DA METFORMINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

São Paulo

2010

EVELINE APARECIDA ISQUIERDO FONSECA

**INFLUÊNCIA DA OBESIDADE E DA RESISTÊNCIA À
INSULINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO TUMORAL:
EFEITO DA METFORMINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Farmacologia
Orientadora: Prof. Dra. Zuleica Bruno Fortes

São Paulo

2010

RESUMO

FONSECA, E.A.I. **Influência da obesidade e da resistência à insulina sobre o desenvolvimento tumoral: efeito da metformina** 2010. 94 f. Dissertação (Mestrado) – São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2010.

Estudos epidemiológicos têm associado obesidade com uma grande variedade de cânceres. A resistência à insulina e a hiperinsulinemia compensatória podem ser os mecanismos pelos quais a obesidade induz ou promove a carcinogênese. Metformina, uma droga anti-diabética, pode exercer um efeito antitumoral importante com a melhora da sensibilidade à insulina ou atuando diretamente sobre uma célula tumoral. Assim, o objetivo desse estudo foi analisar a influência da obesidade e da resistência à insulina sobre o desenvolvimento tumoral e, o efeito da metformina sobre essa condição de obesidade e câncer, bem como avaliar a incidência de caquexia nesses ratos e verificar se a metformina teria algum efeito protetor na síndrome da anorexia-caquexia. Para indução da obesidade, ratos Wistar neonatos receberam glutamato monossódico (MSG 4 g/kg) nos dias 2,3,4,5 e 6 após o nascimento. Ratos controle receberam o veículo do MSG. Após 16 semanas, 5×10^5 células provenientes do tumor de Walker-256 foram injetadas subcutâneamente no flanco direito desses ratos e iniciou-se o tratamento com metformina (300mg/kg, via gavagem por 15 dias). Os ratos foram então divididos em 4 grupos: Controle tumor (CT), Controle tumor tratado com metformina (CTM), Obeso tumor (OT) e Obeso tumor tratado com metformina (OTM). Na 18ª semana caracterizou-se a obesidade calculando-se o índice de Lee (peso corporal^{1/3} (g)/comprimento naso-anal (cm)x100), o peso relativo das gorduras periepididimal e retroperitônea e analisando-se o perfil lipídico. A sensibilidade à insulina foi avaliada pelo Kitt (%/min) e a peroxidação lipídica pela técnica de TBARS. O desenvolvimento tumoral foi avaliado com dados do valor do peso relativo do tumor e do volume relativo do tumor. Tanto a pega do tumor como a incidência de caquexia foram avaliadas em porcentagem. O tecido tumoral foi analisado por técnica histológica por meio da coloração com hematoxilina e eosina (H&E). A porcentagem de pega e o peso relativo do tumor foram

significativamente maiores no grupo OT quando comparados ao grupo CT. Ambos os parâmetros foram reduzidos pela metformina. A incidência de caquexia foi maior no grupo OT quando comparado aos outros grupos e a metformina não corrigiu esse parâmetro. A metformina não corrigiu a resistência à insulina no grupo OT, entretanto ela corrigiu a dislipidemia, reduziu o acúmulo de gorduras periepídimal e retroperitoneal e diminuiu a taxa de peroxidação lipídica. Os tecidos tumorais dos quatro grupos analisados foram qualitativamente semelhantes. Como esperado foram observados adipócitos apenas no tecido tumoral dos ratos dos grupos OT e OTM. Observou-se ainda que a área de necrose em relação à área proliferativa aparentemente foi maior nos tecidos tumorais dos grupos tratados com metformina quando comparado com os demais grupos. Assim, pode-se concluir que a metformina foi eficaz em reduzir a porcentagem de pega e o desenvolvimento tumoral, mas não a caquexia presente no grupo obeso. O efeito parece ocorrer independentemente da correção da resistência à insulina, uma vez que a sensibilidade à insulina não foi melhorada pelo tratamento com metformina.

Palavras – Chave: Câncer; Obesidade; Resistência à Insulina; Metformina.

ABSTRACT

FONSECA, E.A.I. **Obesity and insulin resistance influences in the tumor development: metformin effects.** 2010. 94 f. Master thesis (Pharmacology) – São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2010.

Epidemiological studies have associated obesity with a wide variety of cancer. The insulin resistance and the hyperinsulinaemia can be the mechanisms by which obesity induces or promotes tumorigenesis. Metformin, an antidiabetic drug, can exert an antitumoral effect with the improvement of insulin sensitivity. Therefore, the objective of this study was to analyze the influence of obesity and insulin resistance on the tumor development, the incidence of cachexia and the effect of metformin on these parameters. Obesity was induced in rats by monosodium glutamate (MSG). Newborn male Wistar rats were subcutaneously injected with 4g/kg MSG (obese) or saline (control) at 2,3,4,5 and 6 days of age. After 16 weeks, 5×10^5 Walker-256 tumor cells were subcutaneously injected in the right flank of those rats and concomitantly the treatment with metformin 300mg/kg, *via gavage* started. After that the rats were divided into 4 groups: Control tumor (CT), Control tumor metformin (CTM), Obese tumor (OT) and Obese tumor metformin (OTM). On the 18th week, the obesity was characterized by Lee index (body weight ^{1/3} (g)/naso-anal length (cm)x100), periepididimal and retroperitoneal adipose tissues weight and lipid profile. The insulin sensitivity was evaluated by plasma glucose disposal rate (Kitt; %/min) and the lipid peroxidation rate by TBARS assay. The percentage of tumor incidence, tumor relative weight and the percentage of cachexia incidence were also analyzed. The tumor tissue was evaluated for histologic analysis by means of hematoxylin and eosin staining. The tumor incidence and the tumor relative weight were significantly higher in the OT. Both parameters were reduced by metformin treatment. The cachexia incidence was higher in the OT group than in the other groups and the metformin did not correct this parameter. Metformin did not correct the insulin resistance in OT, however it did correct the dyslipidemia, reduced the periepididimal and retroperitoneal adipose tissues and reduced lipid peroxidation rate. The tumor tissues were qualitatively similar in all groups, as expected adipocytes were only found in OT and OTM groups. It

seems that the necrosis area is greater in the groups treated with metformin than in the other groups. Therefore, metformin was able to reduce the incidence and Walker-256 tumor development but not cachexia in MSG obese rats. The reduction occurred independently of the correction of insulin resistance, since insulin sensitivity was not improved by metformin treatment.

Key words: Cancer; Obesity; Insulin resistance; Metformin.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER

O câncer hoje é uma das doenças que mais matam em todo o mundo. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer, órgão do Ministério da Saúde, as neoplasias malignas atualmente são a 2ª causa de morte por doenças no Brasil, depois das doenças cardiovasculares. No Brasil, as estimativas para o ano de 2008, válidas também para o ano de 2009, apontam que ocorrerão 466.730 novos casos de câncer (INCA, 2008). Estatísticas americanas estimam que 9 milhões de pacientes recebem o diagnóstico de câncer no mundo, a cada ano.

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento descontrolado (maligno) de células que invadem outros tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo causando metástases (INCA).

A palavra câncer é de origem latina e significa “caranguejo”, referência à sua capacidade de crescimento infiltrante, comparado às pernas do crustáceo, que as introduz na areia ou lama para se fixar e dificultar sua remoção (KUMAR et al., 2008).

O câncer é gerado a partir de uma célula normal que sofreu um acúmulo progressivo de mutações no seu material genético. É uma doença multifatorial, onde envolve uma predisposição genética e influências externas, como fatores ambientais, ação de agentes carcinogênicos – químicos, físicos e biológicos (CURI et al., 2002; KUMAR et al., 2008).

Durante o processo de formação tumoral, carcinogênese, uma célula normal passa por várias etapas, a iniciação, promoção, progressão e manifestação do tumor (Figura 1).

A iniciação é o primeiro estágio da carcinogênese que corresponde à transformação celular induzida pelos cancerígenos causando modificações genéticas nas células e alterando suas respostas ao microambiente. Ocorre um acúmulo progressivo de alterações, mutações, que contribuem para o desenvolvimento tumoral. Essas alterações tornam a célula propensa a desenvolver

um tumor, porém a iniciação somente, não é suficiente para a formação do mesmo (BRASILEIRO FILHO, 2006).

A promoção é a segunda etapa da carcinogênese, e consiste na proliferação ou expansão das células “iniciadas” através da ação de agentes denominados promotores (SHILS et al., 2003). Estes agentes “são substâncias que têm em comum a propriedade de irritar os tecidos e de provocar reações inflamatória e proliferativa”, estimulam a proliferação celular (COUSSENS, WERB, 2002; KEMPEN, VISSER, COUSSENS, 2006; KUMAR et al., 2008; WEISS, 2002).

Com a permanência dos promotores, ocorre o terceiro estágio da carcinogênese, a progressão, onde ocorrem as alterações fenotípicas, ou seja, as células geneticamente mutadas, passam a multiplicar-se desordenadamente, adquirindo autonomia, transformando-se em células agressivas e invasivas (BRASILEIRO FILHO, 2006; HANAHAN, WEINBERG, 2000; KUMAR et al., 2008).

A manifestação dos sinais do tumor é o último estágio da carcinogênese podendo levar anos até décadas para surgir os primeiros sintomas da doença (SHILS et al., 2003). Os sintomas dependem da localização do tumor e da atividade funcional do órgão acometido, variando desde sangramentos, úlceras, emagrecimento, caquexia, anorexia dentre outros (BARACAT et al., 2000).

A síndrome da anorexia-caquexia é uma complicação freqüente no paciente com câncer em estágio avançado. Ela é caracterizada por um intenso consumo dos tecidos muscular e adiposo, com conseqüente perda involuntária de peso, além de anemia, astenia, balanço nitrogenado negativo, devido a alterações fisiológicas, metabólicas e imunológicas (FEARON, MOSES, 2002; TISDALE, 2001). Este quadro é intensificado pelas alterações no metabolismo dos nutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios), alterações hormonais (leptina, neuropeptídio Y- NPY, melanocortina- MC, grelina), além do aumento das citocinas circulantes, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e interferon gama (IFN- γ) (SILVA, 2006). A síndrome da anorexia-caquexia é uma condição clínica de difícil tratamento, não sendo corrigível pela simples terapia nutricional. Muitas vezes leva o paciente a óbito.

O câncer em si apresenta várias características, sendo algumas fundamentais para a determinação do fenótipo tumoral como: auto-suficiência aos sinais de crescimento, insensibilidade aos sinais inibidores do crescimento, resistência à apoptose, potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada e capacidade de

invadir tecidos normais e causar metástase (HANAHAN, WEINBERG, 2000). Assim, para uma célula normal se transformar numa célula maligna e dar origem a um câncer com todas ou algumas dessas características, vários fatores precisam atuar sinergicamente. Como citado anteriormente, vários fatores de risco estão associados com o desenvolvimento tumoral, dentre eles a luz ultravioleta, radiações ionizantes, vírus, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, o cigarro e o álcool. Outros dois fatores de risco que estão sendo bem estudados atualmente, e são objetivos do nosso estudo, são a obesidade e a resistência à insulina (CURI et al., 2002; CALLE, 2003).

Figura 1: Etapas da carcinogênese – iniciação, promoção, progressão e metástase.

1.2.1 TUMOR DE WALKER-256

A indução de câncer em animais é uma abordagem importante para se investigar a dinâmica tumoral, as alterações causadas no organismo portador de tumor e possíveis estratégias de tratamento. Um dos modelos animais utilizados em ratos Wistar é o Tumor de Walker-256, caracterizado como carcinossarcoma mamário, identificado pela primeira vez em 1928 (BLACK et al., 1994), por George

Walker, na mama de uma rata prenhe (EARLE, 1935). Agostino e Cliffton em 1967 descreveram a passagem do tumor da forma sólida para a ascítica. Assim, as células tumorais na forma ascítica poderiam, novamente, ser injetadas intraperitonealmente em outros animais que sempre desenvolviam o tumor ascítico, mantendo dessa forma a viabilidade das células. Estas mesmas células poderiam, ainda, ser injetadas em diferentes órgãos e tecidos, sempre com o desenvolvimento de tumor sólido (CALDAROLA et al., 1968). Portanto, o tumor é capaz de se desenvolver tanto na forma sólida como na forma ascítica e possui capacidade de disseminação, tanto por via linfática como hematogênica, dependendo da via de inoculação.

Desde sua descoberta em 1928, essa linhagem tumoral tem sido amplamente utilizada em estudos de antineoplásicos e de caquexia induzida pelo tumor, por ser específica para ratos e facilmente transplantada (FERNANDES et al., 1990; FERNANDES et al., 1995). Além disso, causa importantes mudanças metabólicas e eletrolíticas no animal (SEELAENDER et al., 1996). A inoculação do Tumor de Walker-256 em ratos é eficiente, apresenta alta porcentagem de pega e reprodutibilidade, o que é muito importante para os estudos experimentais envolvendo processos neoplásicos (EARLE, 1935; FERNANDES et al., 1995; FOLADOR et al., 2009; GUAITANI et al., 1982; PAVLAKI et al., 2009).

1.3 OBESIDADE E RESISTÊNCIA À INSULINA

A obesidade é uma doença de alta prevalência e representa um dos principais problemas de saúde associados com morbidade e mortalidade (KOPELMAN, 2000). A hipertensão, dislipidemia, doença cardiovascular aterosclerótica, diabetes mellitus, apnéia do sono, problemas psico-sociais e diversos tipos de câncer são complicações freqüentes no indivíduo obeso (LI et al., 2005; POWERS et al., 2007; ZIMMET et al., 2001).

A obesidade é uma doença endócrino-metabólica crônica de origem multifatorial e de repercussão negativa sobre a qualidade de vida. É caracterizada por um excesso da massa de tecido adiposo em relação à massa magra, que pode ocorrer de modo regional ou generalizado (VEJA, 2002).

Na obesidade observa-se um desbalanço energético, onde o ganho energético é maior que o gasto energético. Isso está associado ao estilo de vida

baseado num consumo excessivo de alimentos ricos em energia e gordura, e baixa atividade física, e também influencias biológicas e genéticas próprias do indivíduo que contribuem para o acúmulo de tecido adiposo (CALLE, 2004; HILL, 2006).

O tecido adiposo é o principal reservatório energético do organismo. É dividido em tecido adiposo marrom (especializado na produção de calor – termogênese - onde participa ativamente do controle da temperatura corporal) e tecido adiposo branco (conhecido hoje como um órgão endócrino além da sua capacidade de armazenar energia na forma de triacilglicerol) (FONSECA-ALANIS et al., 2006).

Existem dois principais tipos de tecido adiposo branco: subcutâneo e visceral. O subcutâneo está localizado entre a pele e o músculo e a gordura visceral está localizada dentro das cavidades do corpo, primariamente na cavidade abdominal. Os adipócitos viscerais são mais metabolicamente ativos que o subcutâneo, possuem alta atividade lipolítica provocando liberação de grande quantidade de ácidos graxos livres e são os principais responsáveis pelos problemas associados com a obesidade. Assim, com evidências aumentadas dos riscos à saúde associados com o acúmulo de gordura abdominal (visceral), duas medidas da adiposidade central, a razão cintura-quadril (WHR) e, mais recentemente, a medida da circunferência da cintura, têm sido comumente usada em estudos epidemiológicos (CALLE, 2004). O valor do índice de massa corporal (IMC) também é muito utilizado.

O índice de massa corporal (IMC) é um critério aceito mundialmente para classificar sobrepeso ou obeso. A classificação do IMC dado pela organização mundial de saúde (OMS) é mostrado na tabela 1. Essa classificação é baseada em muitos estudos epidemiológicos e observacionais, no entanto é importante notar que alguns indivíduos mesmo se apresentando dentro da classificação como peso saudável (ideal) podem apresentar variação na adiposidade total e visceral, e conseqüentemente ser um indivíduo potencialmente obeso ou sobrepeso (MONTEIRO, 1998).

Como citado anteriormente, o tecido adiposo constitui um órgão endócrino e metabólico que pode alterar a fisiologia de outros tecidos (RAJALA, 2003). Ele libera diversas proteínas conhecidas como adipocinas, que exercem diferentes funções no controle fisiológico do organismo. Há liberação de peptídeos hormonais como leptina, adiponectina e resistina, citocinas inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e fator transformador de crescimento β

(TGF- β), além de outras proteínas como o inibidor do ativador de plasminogênio 1 – PAI-1 e o fator de crescimento endotelial vascular – VEGF (BODEN, 1997; FORMIGUEIRA, CANTON, 2004; KAWANAMI et al., 2003; SCHERER, 2006; TILG, H. 2006).

Aumento da liberação de ácidos graxos livres, resistina, IL-6 e TNF- α pelo tecido adiposo e redução da liberação de adiponectina dão origem à resistência à insulina contribuindo assim para o surgimento da resistência à insulina na obesidade (CALLE, 2004) (Figura 2).

Tabela 1. Classificação da organização mundial da saúde (OMS) segundo o índice de massa corporal (IMC) para sobrepeso e obesidade.

IMC (kg/m²)	OMS	Descrição Popular
<18,5	Abaixo do peso	Fino
18,5-24,9	Peso Normal	Peso “saudável”, “normal” ou “aceitável”
25,0-29,9	Sobrepeso grau 1	Sobrepeso
30,0-34,9	Sobrepeso grau 2	Obeso
≥ 40,0	Sobrepeso grau 3	Obesidade Mórbida

A resistência à insulina associada à obesidade é uma desordem complexa. Vias endócrinas, inflamatórias e neurais estão prejudicadas e podem modular a sinalização celular em diversos tecidos (GREENFIELD, CAMPBELL, 2004; QATANANI, LAZAR, 2007).

A resistência à insulina é definida como uma resposta metabólica diminuída dos tecidos (músculo, fígado e tecido adiposo) à insulina e um estado de hiperinsulinemia compensatória (AVOGARO, KREUTZENBERG, 2005; REAVEN, 1988; WAJCHENBERG, 2000).

Nesta condição, a captação de glicose estimulada pela insulina encontra-se diminuída no músculo esquelético, no fígado e no tecido adiposo (FORMIGUEIRA, CANTON, 2004; GREENFIELD, CAMPBELL, 2004). Em consequência da menor captação de glicose pelos tecidos, o pâncreas passa a produzir e liberar mais insulina para a manutenção dos níveis glicêmicos normais, aumentando-se desta forma os níveis de insulina circulante. Assim, hiperinsulinemia compensatória é um

sinal evidente de perda da homeostase glicêmica na resistência à insulina (SALTIEL, KAHN, 2001).

A insulina é o hormônio anabólico mais potente que se conhece, possuindo vários efeitos sintéticos e de estimulação do crescimento. Sua principal função metabólica é aumentar o transporte de glicose para determinadas células do corpo, principalmente células do tecido adiposo e músculo esquelético, através de um transportador, denominado GLUT4, e promover a sua utilização pelos tecidos.

A insulina age sobre o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, tem efeitos na síntese de DNA e RNA, sobre o transporte de íons e aminoácidos, sobre a proliferação e ciclo celulares, diferenciação celular e a apoptose bem como sobre a síntese de óxido nítrico (SALTIEL, KAHN, 2001).

É bem documentado que a resistência à insulina contribui para a mortalidade e incidência da síndrome metabólica que inclui obesidade, dislipidemia, hiperglicemia e hipertensão. Além disso, estudos atuais mostram que a obesidade e a resistência à insulina são fatores de risco para o câncer. Vários estudos já têm considerado a possível associação da obesidade e da resistência à insulina com o desenvolvimento tumoral (CALLE, 2003; JEE et al., 2005).

As intervenções para o controle da resistência à insulina e desordens metabólicas relacionadas incluem inicialmente mudanças no estilo de vida, com redução da ingestão calórica e atividades físicas, a fim de diminuir os níveis de glicose, melhorar o perfil lipídico e induzir a perda de peso (FONSECA, 2003). Outra intervenção importante é dada através dos hipoglicemiantes orais que contribuem melhorando a sensibilidade à insulina e as conseqüências dessa síndrome.

1.4 OBESIDADE E CÂNCER

Estudos epidemiológicos mostram que a obesidade aumenta o risco de desenvolver diversos tipos de câncer. O excesso de peso é responsável por cerca de 14% de todas as mortes por câncer em indivíduos do sexo masculino e até 20% em indivíduos do sexo feminino (JEE et al., 2005; YAKAR et al., 2006). Tem sido estimado que 15 a 20% das mortes por câncer nos Estados Unidos é devido ao sobrepeso ou obesidade (CALLE, 2003).

Várias evidências sugerem que aumento da adiposidade aumenta o risco de uma grande variedade de cânceres, como câncer de cólon, reto, esôfago, rins,

pâncreas, vesícula biliar, mama, endométrio, ovário, cérvix, fígado, próstata e certos cânceres hematopoiéticos (GIOVANNUCCI, 1995; GIOVANNUCCI, 2003; GIOVANNUCCI, 2007; LEW, GARFINKEL, 1979).

Atualmente, resultados experimentais sugerem que a associação entre obesidade e câncer envolve as alterações metabólicas e endócrinas, e conseqüentemente as alterações na produção de peptídeos e hormônios esteroidais (IARC, 2002).

Há várias hipóteses que podem explicar o mecanismo de carcinogênese em obesidade entre elas a inflamação, o estresse oxidativo e a resistência à insulina. Há sugestões de que estes mecanismos incluem aumento da proliferação celular devido à hiperinsulinemia e crescimento celular pelos hormônios de crescimento e redução da apoptose. É conhecido que hiperinsulinemia crônica está associada com vários tipos de câncer, como câncer de cólon retal (GIOVANNUCCI, 1995; MCKEOWN-EYSEN, 1994), câncer pancreático, câncer endometrial e câncer de mama (GIOVANNUCCI, 1995; KAKS, 1996; KAKS et al., 2002).

A insulina pode contribuir para o desenvolvimento tumoral por dois mecanismos: 1) atuando diretamente sobre seus receptores presentes nas células (pré)neoplásicas (POLLAK, 2008) (Figura 2) e 2) indiretamente por mudanças no metabolismo de hormônios endógenos (GIOVANNUCCI, 1995).

A insulina promove a produção e a atividade do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) (CALLE, 2004). Este pode estimular a proliferação celular em estados de hipernutrição como a obesidade (GIOVANNUCCI, MICHAUD, 2007; MACAULAY, 1992). Em estudo experimental in vivo, o crescimento tumoral foi reduzido quando o receptor de IGF-1 foi removido ou quando a concentração de IGF-1 foi diminuída (CHAPMAN, 1998). Isso mostra que o IGF-1 livre possa estar envolvido com o crescimento tumoral. Apenas 20% do IGF-1 são encontrados livres, 80% do IGF-1 encontram-se combinados com uma proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBP), que pode interferir com o crescimento do tumor, uma vez que se liga ao IGF-I e impede sua ação mitogênica. Assim, vários estudos têm relatado que indivíduos com altos níveis de IGF-1 e baixos níveis de IGFBPs têm risco aumentado de câncer de cólon, mama, próstata e pulmão (CALLE, 2004; FREIER et al., 1999; MISHRA et al., 1998).

O IGF-I também aumenta a síntese de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) que aumenta a permeabilidade vascular e angiogênese tumorais (IBRAHIM, 2004; HOEBEN, 2004), contribuindo assim para a progressão e metástase (Figura 2).

Figura 2. Relação entre obesidade, resistência à insulina e seus efeitos sobre o desenvolvimento tumoral (Adaptado de CALLE, 2004).

Hiperinsulinemia também pode afetar a produção de hormônios sexuais como andrógenos e estrógenos que podem interferir com o crescimento tumoral (JEE et al., 2005). Os hormônios sexuais esteróides são mitogênicos, podem estimular a proliferação celular, inibir a apoptose e aumentar potencialmente o risco de ocorrer mutações (KAAKS et al., 2002). O papel da hiperinsulinemia no aumento da produção de hormônios sexuais e sua relação com o desenvolvimento de câncer fica demonstrado na síndrome do ovário policístico. Nessa síndrome, observamos acentuada resistência à insulina e aumento na produção de androgênios pelas células do tecido ovariano e pela glândula adrenal (DUNAIF, 1997). Esses dois fatores estão possivelmente relacionados ao aumento do câncer endometrial (KAAKS et al., 2002).

A adiposidade também pode influenciar a síntese e atividade dos hormônios sexuais esteróides - estrógeno, progesterona e andrógenos (CALLE, 1995). O tecido adiposo expressa várias enzimas metabolizadoras de hormônios sexuais que

promovem a formação de estrógeno a partir de precursores androgênicos, que são secretados pelas gônadas e glândulas adrenais. Nos homens e nas mulheres na pós-menopausa, o tecido adiposo é o principal local de síntese de estrógeno, e o IMC está diretamente relacionado com os níveis de estrógeno e estradiol circulante (KEY et al., 2001; KEY et al., 2003; TCHERNOF, DESPRES, 2000) (Figura 3).

Na obesidade há aumentados níveis circulantes de insulina e da atividade de IGF-I, isto resulta em redução da síntese hepática e da concentração sanguínea de globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG), aumentando dessa forma a quantidade de hormônios sexuais livres circulantes.

Figura 3. Obesidade, hormônios sexuais e câncer endometrial (Adaptado de CALLE, 2004).

O tecido adiposo, conhecido pela sua função de armazenamento energético, é recentemente identificado como um importante órgão endócrino reagindo frente a diferentes sinais e secretando adipocinas. Alguns estudos já sugerem que a correlação positiva entre obesidade e câncer seja devida ao excesso de secreção das adipocinas pelo tecido adiposo. Porém, alguns estudos com ratos “fatless A-Zip/F1”, mostraram resultados contrários, uma vez que mesmo com níveis indetectáveis de adipocinas, houve formação tumoral acelerada. Isso sugere que as

adipocinas não são as únicas moléculas envolvidas no desenvolvimento tumoral e ainda há muito a ser estudado (HURSTING et al, 2007) (Figura 4). Mais estudos são necessários para comprovar a influência desses fatores e identificar o real mecanismo de ação destes no desenvolvimento tumoral, incluindo fatores de crescimento, IGF-1 livre, IGFBPs, hormônios sexuais e adipocinas.

Figura 4. Relação resistência à insulina, obesidade e câncer.

Além do mais, como citado anteriormente, a carcinogênese, é dividida em várias etapas, a iniciação, promoção, progressão e manifestação do tumor. E em cada uma dessas etapas a obesidade pode atuar facilitando o desenvolvimento tumoral.

A geração de espécies reativas de oxigênio desencadeada pela hiperglicemia ou hipertrigliceridemia, presentes na obesidade, pode contribuir para todas etapas da carcinogênese. Essas espécies reativas podem lesar as bases do DNA causando uma mutação (iniciação) (CEJAS et al., 2004; VALKO et al., 2004) e podem contribuir para a proliferação celular e angiogênese, presentes nas fases de promoção e progressão tumoral.

Na promoção todos os fatores de crescimento presentes em grande quantidade na obesidade, como a insulina e o IGF-I, podem contribuir para a proliferação celular.

Na obesidade há um aumento dos níveis de leptina, adipocina sintetizada pelos adipócitos, e muitos estudos sugerem que ela pode estimular a angiogênese in vitro e in vivo e aumentar a expressão das metaloproteinases da matriz-2 e 9 (SOMASUNDAR et al., 2004), contribuindo para a progressão tumoral.

Baseado nisso, vários estudos já estão sendo desenvolvidos com o objetivo de esclarecer quais são os fatores envolvidos na carcinogênese em indivíduos obesos e encontrar estratégias e soluções para diminuir essa incidência de câncer. A metformina tem sido um dos objetos de estudo nessa área e também foi nosso objetivo nesse estudo.

1.5 OBESIDADE INDUZIDA PELO GLUTAMATO MONOSSÓDICO (MSG)

Devido às limitações éticas e financeiras para estudar a obesidade em humanos e devido à maior facilidade de estudos com animais proporcionando grande quantidade de pesquisas e resultados, muitos modelos de obesidade experimental têm sido utilizados com o objetivo de estabelecer as causas, conseqüências e tratamento dessa doença.

Vários modelos de obesidade têm sido propostos, dentre eles, modelos genéticos, modelos de alterações endócrinas, modelos realizados através de lesão neuronal e alterações alimentares.

Um modelo de indução da obesidade é realizado através da administração de glutamato monossódico (MSG) no período neonatal em ratos. Os animais recém-nascidos são mais sensíveis à ação neurotóxica do MSG, uma vez que a barreira hematoencefálica não está ainda totalmente formada (KIZER et al., 1977).

O glutamato monossódico é um aminoácido neurotóxico quando administrado em doses suprafisiológicas. Ele provoca lesões no sistema nervoso central (SNC), especificamente nos neurônios dopaminérgicos da área pré-óptica e do núcleo arqueado do hipotálamo e nos neurônios colinérgicos do núcleo arqueado do hipotálamo (HOLZWARTH-MCBRIDE et al., 1976).

O maior local de lesão neuronal induzida pelo MSG é o núcleo arqueado do hipotálamo. Essa região é um potente local de ação da leptina. Ela atravessa a barreira hemato-encefálica e inibe a ação dos peptídeos orexígenos e estimula a ação dos peptídeos que inibem o apetite (FAN et al., 1997; LU, 2001). Uma vez que essa região está lesada há um descontrole da ingestão alimentar e da saciedade.

Assim, as lesões hipotalâmicas podem produzir a denominada obesidade hipotalâmica, através de diversas alterações metabólicas como hiperfagia, hiperinsulinemia, prejuízo da termogênese, além de distúrbios funcionais no sistema nervoso autônomo (PEREIRA et al., 2003). Sabe-se também que, quando adultos, os animais apresentam, além de obesidade, significativa diminuição nos níveis do hormônio do crescimento (GH), hipogonadismo, esterilidade e hipercorticonemia (OLNEY, 1969).

Nenhum modelo experimental é completamente adequado para estudar a obesidade humana com exatidão. Cada método apresenta uma variedade de características que os assemelham à obesidade humana, mas nenhum método apresenta total semelhança.

No modelo de obesidade induzida pelo glutamato monossódico observa-se um estado de resistência à insulina (HIRATA et al., 1997), dislipidemia e aumento da gordura visceral, semelhante às características encontradas na obesidade humana. Sendo assim, pode ser considerado um modelo adequado para o estudo da obesidade experimental.

1.6 METFORMINA E RESISTÊNCIA À INSULINA

A metformina é um dos agentes anti-diabéticos mais comumente utilizados para o tratamento da resistência à insulina em pacientes com diabetes tipo 2.

A metformina é um derivado da guanidina, o composto ativo hipoglicemiante da *Galega officinalis*. Essa erva medieval, também conhecida como Lilac francês, foi usada por séculos na Europa como tratamento do diabetes desde a época medieval (BAILEY, 1989). Seu mecanismo de ação ainda não está completamente esclarecido.

Sabe-se que a metformina atua diminuindo a síntese de glicose hepática através da ativação da proteína quinase ativada pelo monofosfato de adenosina (AMPK) (ZHOU et al., 2001), dessa forma leva à diminuição da concentração de

glicose no sangue, à melhora da sensibilidade à insulina nos tecidos muscular e adiposo, e conseqüentemente à redução da hiperinsulinemia (SEUFERT et al., 2004). A metformina pode exercer efeito direto sobre o tecido muscular, ativando a AMPK e aumentando a captação de glicose independentemente da insulina, bem como aumentar a oxidação de ácidos graxos (KAHN et al., 2005).

Estudos populacionais mostram que metformina também pode ter efeito anti-neoplásico ou quimiopreventivo pela ativação da AMPK na célula tumoral ou diminuição dos níveis circulantes de insulina (ALGIRE et al., 2008; EVANS et al., 2004; ROPELLE et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2001; ZAKIKHANI et al., 2006).

A AMPK é uma enzima que controla a carga energética celular, mantendo a homeostase energética da célula, regulando muitas moléculas e vias de sinalizações no músculo esquelético, coração, tecido adiposo, fígado, células β pâncreáticas e cérebro e controla a captação, estoque e utilização de glicose e lipídios (HARDIE, 2003). Ela é ativada quando os níveis de ATP são diminuídos e os níveis de AMP são elevados, como no exercício físico, na contração muscular, na hipóxia, no estresse oxidativo, no choque osmótico, no choque térmico, no envenenamento metabólico, na isquemia, na diminuição do pH, na inibição da glicólise e desacoplamento da fosforilação oxidativa (HARDIE, 2003).

AMPK é uma proteína heterotrimérica composta por uma subunidade catalítica α e duas subunidades regulatórias β e γ . Em mamíferos, o AMP ativa a AMPK por estimular a fosforilação do resíduo de treonina 172, localizado na subunidade α , por ação de quinase regulatória, a AMPK quinase (AMPKK). Dentre as AMPKK há a LKB1 uma proteína supressora tumoral e a proteína quinase quinase dependente de Ca^{+2} /calmodulina (CaMKK). Ativada, a AMPK inativa as enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA redutase (HMG-CoA redutase), acetil CoA carboxilase (ACC) e *mammalian target of rapamycin* (mTOR), exercendo efeitos sobre o metabolismo da glicose e dos lipídios, sobre a expressão gênica e sobre a síntese protéica (HADAD et al., 2008; KAHN, et al., 2005; SANTOMAURO JÚN. et al., 2008).

Além de atuar via ativação da AMPK a metformina parece alterar o metabolismo lipídico, diminuindo os triglicérides plasmáticos e os ácidos graxos livres em virtude de uma inibição da lipólise (MARCHETTI et al., 1988). Muitos estudos mostraram também redução na taxa de colesterol e LDL e discreto aumento na taxa de HDL (RAINS et al., 1989).

Estudos recentes sugerem que a metformina pode reduzir o risco de câncer. O estudo epidemiológico realizado por Evans et al. (2005), com pacientes diabéticos tipo 2, mostrou que o risco de câncer era menor no grupo tratado com metformina quando comparado com outros grupos de pacientes tratados com outras drogas anti-diabéticas. Segundo esses autores, o efeito benéfico da metformina seria devido ao LKB1, cuja atividade supressora de tumor é bem estabelecida (HAWLEY et al., 2003; LIZCANO et al., 2004).

Em estudo realizado em camundongos alimentados com dieta rica em energia, Algire et al. (2008) mostraram que o tratamento com metformina iniciado 15 dias antes da inoculação do tumor, diminuiu o crescimento tumoral, pela melhora da sensibilidade à insulina, diminuição dos níveis séricos desse hormônio e ativação da AMPK.

Por outro lado, Zakikhani et al. (2006) mostraram em cultura de células do câncer de mama que a metformina inibe o crescimento celular por via dependente da AMPK. A ativação dessa via levou à inibição da via da mTOR e conseqüente redução da proliferação e crescimento celular.

Ainda, Sahra et al. (2008) mostraram que a metformina exerce efeito anti-proliferativo sobre células do câncer de próstata humano tanto in vitro (cultura de células - DU145, PC-3 e LNCaP) como in vivo (tumor de próstata – LNCaP inoculado em camundongos) por mecanismo independente da ativação da AMPK. A droga bloqueia o ciclo celular em G0/G1. Este bloqueio foi acompanhado pela diminuição dos níveis de ciclina D1, fosforilação da proteína Rb e aumento na expressão da proteína supressora do tumor p27. Neste estudo, a inibição da AMPK por silenciamento de RNA (siRNA) manteve o efeito antiproliferativo da metformina.

A metformina também preveniu o desenvolvimento de câncer pancreático induzido em hamsters submetidos à dieta rica em gorduras. Nesse modelo ela melhorou a sensibilidade à insulina e reduziu a hiperinsulinemia (SCHNEIDER et al., 2001).

Portanto, esses dados em conjunto indicam que a metformina pode ter efeito preventivo ou pode reduzir a proliferação do tumor, entretanto o mecanismo de ação não está ainda completamente eluciado e pode atuar de forma dependente e independente da insulina.

Assim, considerando que a obesidade aumenta o risco de desenvolvimento de vários tipos de câncer, como o de cólon, reto, mama, pâncreas, próstata e

endométrio e que o mecanismo pelo qual isso ocorre ainda não está completamente elucidado foi objetivo do presente estudo avaliar a influência da obesidade sobre o crescimento tumoral em ratos obesos-MSG e os fatores presentes nesses ratos que poderiam contribuir para o crescimento tumoral.

Considerando que a metformina pode interferir com o crescimento tumoral outro objetivo do presente estudo foi avaliar se o tratamento com metformina, iniciado no mesmo dia da inoculação do tumor seria eficaz em reduzir o crescimento tumoral. Ainda se esse efeito seria dependente ou independente da melhora da sensibilidade à insulina, mimetizando dessa forma o tratamento de um paciente obeso que foi diagnosticado com câncer em estágio inicial.

Considerando que síndrome da anorexia-caquexia é freqüente no paciente com câncer, outro objetivo do presente estudo foi avaliar a incidência de caquexia nos ratos obesos-MSG com tumor e o possível efeito protetor da metformina sobre ela.

2. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem-nos concluir que:

- O tratamento com glutamato monossódico foi eficaz em induzir obesidade em ratos com tumor, uma vez que os ratos tratados com MSG apresentaram uma diminuição do peso corporal, aumento do índice de Lee, aumento do acúmulo de gordura periepididimal e retroperitônio e alteração do perfil lipídico com níveis aumentados de triglicérides e VLDL-colesterol, semelhantemente ao observado em ratos sem tumor;
- A obesidade presente nos ratos MSG aumentou a porcentagem de pega e desenvolvimento tumorais, e a incidência de caquexia, sendo um fator de risco importante para o câncer;
- A metformina foi eficaz em corrigir o perfil lipídico, reduzir o acúmulo de gorduras periepididimal e retroperitônio, e diminuir a taxa de peroxidação lipídica sérica nos ratos obesos-MSG com tumor, bem como, foi eficaz em reduzir tanto a porcentagem de pega quanto o desenvolvimento tumorais, sem diminuir a incidência de caquexia nos ratos;
- O efeito antineoplásico da metformina parece não depender da melhora da sensibilidade à insulina nos ratos obesos-MSG com tumor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALGIRE, C.; ZAKIKHANI, M.; BLOUIN, M.; SHUAI, J. H.; POLLAK, M. Metformin attenuates the stimulatory effect of a high-energy diet on in vivo LLC1 carcinoma growth. **Endocr. Relat. Cancer**, v. 15, p. 833-839, 2008.

AGOSTINO, D.; CLIFFTON, E. E. The growth of the carcinosarcoma of Walker 256 in the ascitic form. **Experientia**, v. 24, p. 166-167, 1968.

AVOGARO, A.; KREUTZENBERG, S. V. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. **Clin. Chim. Acta**, v. 360, p. 9-26, 2005.

BAILEY, C. J.; Day, C. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. **Diabetes Care**, v. 12, p. 553-564, 1989.

BAKKE, J. L.; LAWRENCE, N.; BENNETT, J.; ROBINSON, S.; BOWERS, C. Y. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. **Neuroendocrinology**, v. 26, p. 220-228, 1978.

BARACAT, F. F., FERNANDES, Junior, H. J.; SILVA, M. J. **Câncerologia atual: um enfoque multidisciplinar**. São Paulo: Roca, 2000, 548p.

BELLIN, C.; WIZA, D. H.; WIERNSPERGER, N. F.; RÖSEN, P. Generation of reactive oxygen species by endothelial and smooth muscle cells: influence of hyperglycemia and metformin. **Horm. Metab. Res.**, v. 38, p. 732-739, 2006.

BLACK, J. M.; NESHEIM, M. C.; KINSELLA, J. E. Dietary level of maize oil affects growth and lipid composition of Walker 256 carcinosarcoma. **Brit. J. Nutr.**, v.1, p. 283-294, 1994.

BODEN, G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. **Diabetes**, v. 46, n. 1, p. 3-10, 1997.

BONORA, E.; MOGHETTI, P.; ZANCANARO, C.; CIGOLINI, M.; QUERENA, M.; CACCIATORI, V.; CORGNATI, A.; MUGGEO, M. Estimates of *in vivo* insulin action in man: Comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **J. Clin. Endocr. Met.**, v. 68, n. 2, p. 374-378, 1989.

BRASILEIRO FILHO, G.; PEREIRA, F. E. L.; GUIMARÃES, R.C. Distúrbios do crescimento e da diferenciação celular. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo: patologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, cap. 8, p. 188-236.

BUNYAN, J.; MURRELL, E. A.; SHAH, P. P. The induction of obesity in rodents by means of monosodium glutamate. **Br. J. Nutr.**, v. 35, p. 25-39, 1976.

BURKHARD, G. Implications of blood glucose, insulin resistance and β -cell function in impaired glucose tolerance. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, v. 40, n. 1, p. 15-20, 1998.

CALDAROLA, L.; DEI POLI, G.; DEI POLI, M.; BIGLIANI, S. Notes on the transplantability and dissemination of experimental Walker's sarcomas. **Oncology**, v.10, p. 246-249, 1968.

CALLE, E. E.; MIRACLE-MCMAHILL, H. L.; THUN, M. J.; HEATH, JR, C. W. Estrogen replacement therapy and risk of fatal colon cancer in a prospective cohort of postmenopausal women. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 517–523, 1995.

CALLE, E. E.; RODRIGUEZ, C.; WALKER-THURMOND, K.; THUN, M. J. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U. S. adults. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, p. 1625–1638, 2003.

CALLE, E. E.; KAAKS, R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. **Nat. Rev. Cancer**, v. 4, p. 579-591, 2004.

CALLE, E. E.; THUN, M. J. Obesity and cancer. **Oncogene**, v. 23, p. 6365-6378, 2004.

CAMPOS, A. C. L.; MATIAS, J. E. F. Etiologia da desnutrição no câncer. In: WAITZBERG, D. L. **Dieta, nutrição e câncer**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 357-361.

CEJAS, P.; CASADO, E.; BELDA-INIESTA, C.; De CASTRO, J.; ESPINOSA, E.; REDONDO, A.; SERENO, M.; GARCIA-CABEZAS, M. A.; DOMINGUEZ-CACERES, A.; PERONA, R.; GONZALEZ-BARON, M. Implications of oxidative stress and cell membrane lipid peroxidation in human câncer (Spain). **Cancer Causes Control.**, v. 15, p. 707-719, 2004.

CHAPMAN, I. M.; HARTMAN, M. L.; PIEPER, K. S.; SKILES, E. H.; PEZZOLI, S. S.; HINTZ, R. L. Recovery of growth hormone release from suppression by exogenous insulin-like growth factor-1 (IGF-1): evidence for a suppressive action of free rather than bound IGF-1. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 83, p. 2836-2842, 1998.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, p. 860-867, 2002.

CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCÓPIO, J. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. São Paulo: Manole, 2002. 580p.

COWEY, S.; HARDY, R. W. The metabolic syndrome a high-risk state for cancer? **Am. J. Pathol.**, v. 169, p. 1505-1522, 2006.

DeFRONZO, R. A.; TOBIN, J. D.; ANDRES, R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **Am. J. Physiol.**, v. 237, p. E214-E223, 1979.

DINIZ, Y. S.; BURNEIKO, R. M.; SEIVA, F. R. F.; ALMEIDA, F. Q. A.; GALHARDI, C. M.; NOVELLI FILHO, J. L. V.; MANI, F.; NOVELLI, E. L. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. **Int. J. Cardiol.**, v. 124, p. 92–99, 2008.

DULLOO, A. G.; YOUNG, J. B. Effects of monosodium glutamate and gold thioglucose on dietary regulation of sympathetic nervous system activity in rodents. **Metabolism**, v. 40, n. 2, p. 113-121, 1991.

DUNAIF, A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. **Endocr. Rev.**, v. 18, p. 774-800, 1997.

EARLE, W. R. A study of the Walker rat mammary carcinoma 256: in vivo and in vitro. **Am. J. Cancer**, v. 24, p. 566-612, 1935.

EVANS, J. M. M.; DONNELLY, L. A.; EMSLLE-SMITH, A. M.; ALESSI, D. R.; MORRIS, A. D. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. **Brit. Med. J.**, v. 330, p. 1304-1305, 2007.

FAN, W.; BOSTON, B. A.; KESTERSON, R. A.; HRUBY, V. J.; CONE, R. D. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. **Nature**, v. 385, p. 165-168, 1997.

FEARON, K. C.; MOSES, E. A. G. Cancer cachexia. **Int. J. Cardiol.**, v.85, n.1, p.73-81, 2002.

FERNANDES, L. C.; NOGUEIRA C. R.; MACHADO, U. F; CARPINELLI, A. R.; CURI, R. Insulin secretion in Walker 256 tumor cachexia. **Am. J. Physiol.**, v.258, p. E1033-E1036, 1990.

FERNANDES, L. C. **Alterações metabólicas causadas pelo tumor de Walker 256 no músculo esquelético, linfócitos e macrófagos de ratos:** possíveis mecanismos envolvidos na reversão da caquexia pela administração de insulina. 97f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

FOLADOR, A.; DE LIMA-SALGADO, T. M.; HIRABARA, S. M.; AIKAWA, J.; YAMAZAKI, R. K.; MARTINS, E. F.; DE OLIVEIRA, H. H.; PIZATTO, N.;

KANUNFRE, C. C.; PERES, C. M.; FERNANDES, L. C.; CURI, R. Effect of fish oil supplementation for two generations on changes of lymphocyte function induced by walker 256 cancer cachexia in rats. **Nutr Cancer**, v. 61, n. 5, p. 670-679, 2009.

FONSECA, V. A. Management of diabetes mellitus and insulin resistance in patients with cardiovascular disease. **Am. J. Cardiol.**, v. 92, n. 4, p. 50-60, 2003.

FONSECA-ALANIS, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, p. 216-229, 2006.

FORMIGUEIRA, X.; CANTÓN, A. Obesity: epidemiology and clinical aspects. **Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 18, p. 1125–1146, 2004.

FRANKMANN, C. B. Nutrioterapia médica em enfermidades neoplásicas. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. (eds) **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998, p. 823-845.

FREIER, S.; WEISS, O.; ERAN, M.; FLYVBJERG, A.; DAHAN, R.; NEPHESH, I.; SAFRA, T.; SHILONI, E.; RAZ, I. Expression of the insulin-like growth factors and their receptors in adenocarcinoma of the colon. **Gut**, v. 44, p. 704–708, 1999.

GINSBERG, H. N.; ZHANG, Y. L.; HERNANDEZ-ONO, A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. **Arch. Med. Res.**, v. 36, n. 3, p. 232-240, 2005.

GIOVANNUCCI, E.; ASCHERIO, A.; RIMM, E. B.; COLDITZ, G. A.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C. Physical activity, obesity and risk for colon cancer and adenoma in men. **Ann. Intern. Med.**, v. 122, p. 327-334, 1995.

GIOVANNUCCI, E. Insulin and colon câncer. **Cancer Causes Control**, v. 6, p. 164-179, 1995.

GIOVANNUCCI, E. Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. **J. Nutr.**, v. 131, p. S3109-S3120, 2001.

GIOVANNUCCI, E. Diet, body weight, and colorectal cancer: a summary of the epidemiologic evidence. **J. Womens Health (Larchmt)**, v. 12, n. 2, p. 173-182, 2003.

GIOVANNUCCI, E.; MICHAUD, D. The role of obesity and related metabolic disturbances in cancers of the colon, prostate, and pancreas. **Gastroenterology**, v. 132, p. 2208-2225, 2007.

GONZALEZ, M. C.; AYUSO, M. S.; PARRILLA, R. Control of hepatic gluconeogenesis: role of fatty acid oxidation. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 271, p. 1-9, 1989.

GREENFIELD, J.; CAMPBELL, L. Insulin resistance and obesity. **Clin. Dermatology**, v. 22, n. 4, p. 289-295, 2004.

GUAITANI, A.; RECHIA, M.; CARLI, M.; ROCCHETI, M.; BARTO, S.; GARANTI, S. Walker carcinoma 256: a model for studies on tumor-induced anorexia and cachexia. **Oncology**, v. 39, p. 173-178, 1982.

HADAD, S. M.; FLEMING, S.; THOMPSON, A. M. Targeting AMPK: a new therapeutic opportunity in breast cancer. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.**, v. 67, p. 1-7, 2008.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, p. 57-70, 2000.

HARDIE, D. G. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of energy status. **Endocrinology**, v. 144, p. 5179-5183, 2003.

HAUPT, E.; KNICK, B.; KOSCHINSKY, T. Oral antidiabetic combination therapy with sulphonylureas and metformin. **Diabetes Metab.**, v. 17, p. 224-231, 1991.

HAWLEY, S. A.; BOUDEAU, J.; REID, J. L.; MUSTARD, K. J.; UDD, L.; MAKELA, T. P.; ALESSI, D. R.; HARDIE, D. G. Complexes between the LKB1 tumor suppressor. STRAD alpha/beta and MO 25 alpha/beta upstream kinase in the AMP-activated protein kinase cascade. **J. Biol.**, v. 2, n.4, p. 28, 2003.

HILL, J. O. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. **Endocr. Rev.**, v. 27, n. 7, p. 750-761, 2006.

HIRATA, A. E.; ANDRADE, I. S.; VASKEVICIUS, P.; DOLNIKOFF, M. S. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 671–674, 1997.

HOEBEN, A.; LANDUYT, B.; HIGHLEY, M. S.; WILDIERS, H.; VAN OOSTEROM, A. T.; DE BRUIJN, E. A. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. **Pharmacol. Rev.**, v. 56, p. 549-580, 2004.

HOLZWARTH-MCBRIDE, M. A.; SLADEK, K. M.; KNIGGE, J. R. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. II. Fluorescence histochemistry of catecholamines. **Anat. Rec.**, v. 186, p. 197-206, 1976.

HURSTING, S. D.; NUNEZ, N. P.; VARTICOVSKI, L.; VINSON, C. The obesity-cancer link: lessons learned from a fatless mouse. **Cancer Res.**, v. 67, n. 6, p. 2391-2393, 2007.

IBRAHIM, Y. H.; YEE, D. Insulin-like growth factor-I and cancer risk. **Growth Horm. IGF Res.**, v. 14, p. 261-269, 2004.

Instituto Nacional do Câncer (INCA). <http://www.inca.gov.br/estimativa/2008>. Acesso em: 10 de outubro de 2009.

International Agency for Research on Cancer. IARC **Handbooks of Cancer Prevention. Weight Control and Physical Activity**. Lyon, 2002, 327p.
<http://www.iarc.fr>

INUI, A. Cancer anorexia-cachexia syndrome: current issues in research and management. **CA. Cancer J. Clin.**, v. 52, p. 72-91, 2002.

JEE, S. H.; KIM, H. I.; LEE, J. Obesity, insulin resistance and cancer risk. **Yonsei Med. J.**, v. 46, n. 4, p. 449-455, 2005.

KAAKS, R. Nutrition, hormones, and breast cancer: is insulin the missing link? **Cancer Causes Control**, v. 7, p. 605-625, 1996.

KAAKS, R.; LUKANOVA, A. Effects of weight control and physical activity in cancer prevention: role of endogenous hormone metabolism. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 963, p. 268-281, 2002.

KAAKS, R.; LUKANOVA, A.; KURZER, M. S. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 11, p. 1531-1543, 2002.

KAHN, B. B.; ALQUIER, T.; CARLING, D.; HARDIE, D. G. AMP-activated protein kinase: Ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. **Cell Metabolism**, v. 1, p. 15-25, 2005.

KASHYAP, S. R.; DE FRONZO, R. A. The insulin resistance syndrome: physiological considerations. **Diab. Vasc. Dis. Res.**, v. 4, n. 1, p. 13-19, 2007.

KATO, T.; SATO, K.; KAKINUMA, H.; MATSUDA, Y. Enhanced suppression of tumor growth by combination of angiogenesis inhibitor O-(chloroacetyl-marbamoyl fumginal (TNP-4700) and cytotoxic agents in mice. **Cancer Res.**, p. 5143-4147, 1994.

KAWANAMI, D.; MAEMURA, K.; TAKEDA, N.; HARADA, T.; NOJIRI, T.; IMAI, Y.; MANABE, I.; UTSUNOMIYA, K.; NAGAI, R. Direct reciprocal effects of resistin and

adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 314, p. 415-419, 2003.

KEMP, B. E.; MITCHELL, K. I.; STAPLETON, D.; MITCHELL, B. J.; CHEN, Z. P.; WITTERS, L. A. Dealing with energy demand: the AMP-activated protein kinase. **Trends Biochem. Sci.**, v. 24, p. 22-25, 1999.

KEMPEN, L. C. L.; VISSER, K. E.; COUSSENS, L. M. Inflammation, proteases and cancer. **Eur. J. Cancer**, v. 42, p. 728-734, 2006.

KEY, T. J.; ALLEN, N. E.; VERKASALO, P. K.; BANKS, E. Energy balance and cancer: the role of sex hormones. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 60, p. 81-89, 2001.

KEY, T. J.; APPLEBY, P. N.; REEVES, G. K.; RODDAM, A.; DORGAN, J. F.; LONGCOPE, C.; STANCZYK, F. Z.; STEPHENSON, H. E.; FALK, R. T.; MILLER, R.; SCHATZKIN, A.; ALLEN, D. S.; FENTIMAN, I. S.; KEY, T. J.; WANG, D. Y.; DOWSETT, M.; THOMAS, H. V.; HANKINSON, S. E.; TONIOLO, P.; AKHMEDKHANOV, A.; KOENIG, K.; SHORE, R. E.; ZELENIUCH-JACQUOTTE, A.; BERRINO, F.; MUTI, P.; MICHELI, A.; KROGH, V.; SIERI, S.; PALA, V.; VENTURELLI, E.; SECRETO, G.; BARRETT-CONNOR, E.; LAUGHLIN, G. A.; KABUTO, M.; AKIBA, S.; STEVENS, R. G.; NERIISHI, K.; LAND, C. E.; CAULEY, J. A.; KULLER, L. H.; CUMMINGS, S. R.; HELZLSouer, K. J.; ALBERG, A. J.; BUSH, T. L.; COMSTOCK, G. W.; GORDON, G. B.; MILLER, S. R.; LONGCOPE, C. Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. **J. Natl Cancer Inst.**, v. 95, p. 1218-1226, 2003.

KISSEBAH, A. H.; VYDELLNGUM, N.; MURRAY, R. *et al.* Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 54, p. 254-260, 1982.

KIZER, J. S.; NEMEROFF, C. B.; YOUNGBLOOD, W. W. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. **Pharmacol. Rev.**, v. 24, p. 301-318, 1977.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, p. 635-643, 2000.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; MITCHELL, R. N. **Robbins patologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

LEW, E. A.; GARFINKEL, L. Variations in mortality by weight among 750,000 men and women. **J. Chronic. Dis.**, v. 32, p. 563-576, 1979.

LEWIS, G. F. Fatty acid regulation of very low density lipoprotein (VLDL) production. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 10, p. 475-477, 1999.

LI, Z.; BOWERMAN, S.; HEBER, D. Health ramifications of the obesity epidemic. **Surg. Clin. North America**, v. 85, n. 4, p. 681-701, 2005.

LIZCANO, J. M.; GORANSSON, O.; TOCH, R.; DEAK, M.; MORRICE, N. A.; BOUDEAU, J.; HAWLEY, S. A.; UDD, L.; MÄKELÄ, T. P.; HARDIE, D.G.; ALESSI, D. R. LKB1 is a master kinase that activates 13 kinases of the AMPK subfamily, including MARK/PAR-1. **EMBO J.**, v. 23, p. 833-843, 2004.

LU, X.Y. Role of central melanocortin signaling in eating disorders. **Psychopharmacol. Bull.**, v. 35, p. 45-65, 2001.

LUCINEI-BALBO, S.; GRAVENA, C.; BONFLEUR, M. L.; DE FREITAS, M. P. C. Insulin secretion and acetylcholinesterase activity in monosodium l-glutamate-induced obese mice. **Horm. Res.**, v. 54, n. 4, p. 186-191, 2000.

MACAULAY, V. M. Insulin-like growth factors and cancer. **Br. J. Cancer**, v. 65, n. 3, p. 311-320, 1992.

MACHADO, U. F.; SHIMIZU, Y.; SAITO, M. Decreased glucose transporter (GLUT4) content in insulin-sensitive tissues of obese aurothioglucose and monosodium glutamate-treated mice. **Horm. Metab. Res.**, v. 25, p. 462-465, 1993.

MACHO, L.; FICKOVÁ, D.; JEZOVÁ, S.; ZÓRAD. S. Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. **Physiol. Res.**, v. 49, p. 79-85, 2000.

MAITER, D.; UNDERWOOD, L. E.; MARTIN, J. B.; KOENIG, J. I. Neonatal treatment with monosodium glutamate: effects of prolonged growth hormone (GH)-releasing hormone deficiency on pulsatile GH secretion and growth in female rats. **Endocrinology**, v. 128, n. 2, p. 1100-1106, 1991.

MARCHETTI, P.; BENZI, L.; CERRI, M.; CECCHETTI, P.; GIANNARELLI, R.; GIANNECCHINI, M.; DI CIANNI, G.; CRISTOFANI, R.; MICCOLI, R.; BERTOLOTTO, A. Effect of plasma metformin concentrations on serum lipid levels in type II diabetic patients. **Acta. Diabetol. Lat.**, v. 25, p. 55-62, 1988.

MATTHEWS, D. E.; FAREWELL, V. Kaplan-Meier or “actual” survival curves. In: _____ **Using and understanding medical statistics**. 2. ed. Basel: Karger, 1988. cap. 6, p. 67-87.

MCKEOWN-EYSEN, G. Epidemiology of colorectal cancer revisited: are serum triglycerides and/or plasma glucose associated with risk? **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 3, p. 687–695, 1994.

MESSINA, M. M.; EVANS, S. A.; SWOAP, S. J.; OVERTON, J. M. Perinatal MSG treatment attenuates fasting-induced bradycardia and metabolic suppression. **Physiol. Behav.**, v. 86, n. 3, p. 324-330, 2005.

MISHRA, L.; BASS, B.; OOI, B. S.; SIDAWY, A.; KORMAN, L. Role of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) receptor, IGF-1, IGF binding protein-2 in human colorectal cancers. **Growth Horm. IGF Res.**, v. 8, p. 473–479, 1998.

MONTEIRO, J. C. Obesidade: diagnóstico, métodos e fundamentos. In: _____ **Obesidade**. São Paulo: Lemos, p.36-40, 1998.

MORRIS, M. J.; TORTELLI, C. F.; FILIPPIS, A.; PROIETTO, J. Reduced BAT function as a mechanism for obesity in the hypophagic, neuropeptide Y deficient monosodium glutamate-treated rat. **Regul. Pept.**, v. 25, n. 75, p. 441-447, 1998.

NEMEROFF, C. B.; GRANT, L. D.; BISSETTE, G.; ERVIN, G. N.; HARRELL, L. E.; PRANGE, A. J. Growth, endocrinological and behavioral deficits after monosodium L-glutamate in the neonatal rat: possible involvement of arcuate dopamine neuron damage. **Psychoneuroendocrinology**, v. 2, n. 2, p. 179-96, 1977.

OLNEY, J. W. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. **Science**, v. 164, p. 719-721, 1969.

PAPA, P. C.; SERAPHIM, P. M.; MACHADO, U. F. Loss of weight restores GLUT4 content in insulin-sensitive tissues of monosodium glutamate-treated obese mice. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 21, p. 1065-1070, 1997.

PARK, S. K.; JOO, J. S.; KIM, D. H.; KIM, Y. E.; KANG, D.; YOO, K. Y. Association of serum lipids and glucose with the risk of colorectal adenomatous polyp in men: a case-control study in Korea. **J. Korean Med. Sci.**, v. 15, p. 690-695, 2000.

PAVLAKI, M.; GIANNOPOULOU, E.; NIARAKIS, A.; RAVAZOULA, P.; ALETRAS, A. J. Walker 256 cancer cells secrete tissue inhibitor of metalloproteinase-free metalloproteinase-9. **Mol Cell Biochem.**, v. 328, p.189–199, 2009.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHI, Jr., A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 47, p. 111-127, 2003.

POLLAK, M. Insulin and insulin-like growth factor signaling in neoplasia. **Nat Cancer Rev.**, v. 8, p. 915-928, 2008.

POWERS, K.; REHRIG, S.; JONES, D. Financial impact of obesity and bariatric surgery. **Med. Clin. North America.**, v. 91, n. 3, p. 321-338, 2007.

QATANANI, M.; LAZAR, M. A. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes Dev.**, v. 21, n. 12, p. 1443-1455, 2007.

RAINS, S. G.; WILSON, G. A.; RICHMOND, W.; ELKELES, R. S. The reduction of low density lipoprotein cholesterol by metformin is maintained with long-term therapy. **J. R. Soc. Med.**, v. 82, p. 93-94, 1989.

RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. Minireview: the adipocyte — at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**, v.144, p. 3765–3773, 2003.

REAVEN, G. M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595–1607, 1988.

REDDING, T. W.; SCHALLY, A. V.; ARIMURA, A.; WAKABAYASHI, I. Effect of monosodium glutamate on some endocrine functions. **Neuroendocrinology**, v. 8, p. 245-255, 1971.

REMKE, H.; WILSDORF, A.; MULLER, F. Development of hypothalamic obesity in growing rats. **Exp. Pathol.**, v. 33, p. 223-232, 1988.

RODRIGUEZ-SIERRA, J. F.; SRIDARAN, R.; BLAKE, C. A. Monosodium glutamate disruption of behavioral and endocrine function in the female rat. **Neuroendocrinology**, v. 31, n. 3, p. 228-235, 1980.

ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; ZECCHIN, K. G.; UENO, M.; SOUZA, C. T.; MORARI, J.; FARIA, M. C.; VELLOSO, L.; SAAD, M. J. A.; CARVALHEIRA, J. B. C. A central role for neuronal adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase in cancer-induced anorexia. **Endocrinology**, v. 148, p. 5220–5229, 2007.

SAHRA, I. B.; LAURENT, K.; LOUBAT, A.; GIORGETTI-PERALDI, S. ; COLOSETTI, P.; AUBERGER, P.; TANTI, J. F.; LE MARCHAND-BRUSTEL, Y.; BOST, F. The antidiabetic drug metformin exerts an antitumoral effect *in vitro* and *in vivo* through a decrease of cyclin D1 level. **Oncogene**, v. 27, p. 3576-3586, 2008.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, p. 799–806, 2001.

SANTOMAURO JÚN., A. C.; UGOLINI, M. R.; SANTOMAURO, A. T.; SOUTO, R. P. Metformina e AMPK: um antigo fármaco e uma nova enzima no contexto da síndrome metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.52, p.120-125, 2008.

SCHERER, P. E. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. **Diabetes**, v. 55, n. 6, p. 1537-1545, 2006.

SCHNEIDER, M. B.; MATSUZAKI, H.; HAORAH, J.; ULRICH, A.; STANDOP, J.; DING, X.; ADRIAN, T. E.; POUR, P. M. Prevention of pancreatic cancer induction in hamsters by metformin. **Gastroenterology**, v. 120, p. 1263-1270, 2001.

SEELANDER, M. C.; AMBRICO, C.; RODRIGUES, M. C. P. S.; BOECKH-HAEBISCH, E.; CURI, R. Hormonal alterations in Walker 256 tumor-bearing rats: possible role of calcium for the maintenance of cachexia. **Cancer Res. Ther. Control**, v.5, p. 29-33, 1996.

SEUFERT, J.; LUBBEN, G.; DIETRICH, K.; BATES, P.C. A comparison of the effects of thiazolidinediones and metformin on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus. **Clin. Ther.**, v. 26, n. 6, p. 805-818, 2004.

SHILS, M.; OLSON, J.; SHIKE, M.; ROSS, A. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. [3132p.]

SHULMAN, G. I. Cellular mechanisms of insulin resistance. **J. Clin. Invest.**, v. 106, p. 171-176, 2000.

SILVA, M. P. N. Síndrome da anorexia-caquexia em portadores de câncer. **Rev. Bras. Cancerologia**, v. 52, p. 59-77, 2006.

SOMASUNDAR, P.; MCFADDEN, D. W.; HILEMAN, S. M.; VONA-DAVIS, L. Leptin is a growth factor in câncer. **J. Surg. Res.**, v. 116, p. 337-349, 2004.

TABUCHI, M.; KITAYAMA, J.; NAGAWA, H. Hypertriglyceridemia is positively correlated with the development of colorectal tubular adenoma in Japanese men. **World J. Gastroenterol**, v. 12, p. 1261-1264, 2006.

TCHERNOF, A.; DESPRES, J. P. Sex steroid hormones, sex hormone-binding globulin, and obesity in men and women. **Horm. Metab. Res.**, v. 32, p. 526–536, 2000.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 6, p. 772-783, 2006.

TISDALE, M. J. DSC, câncer anorexia and caquexia. **Nutrition**, v. 17, p. 438-442, 2001.

TOKAREV, D.; KRISTOVA, V.; KRISKA, M.; JEZOVA, D. Treatment of neonatal rats with monosodium glutamate attenuates the cardiovascular reactivity to phenylephrine and angiotensin II. **Physiol. Res.**, v. 46, n. 3, p. 165-171, 1997.

TOLEDO, D. P. **Estudo da resposta inflamatória aguda e crônica e reatividade microvascular em modelo de resistência à insulina (obesidade em ratos)**. 95f. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

VALKO, M.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M.; RHODES, C.J.; TELSER, J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 266, p. 37-56, 2004.

VEJA, G. L. Cardiovascular Outcomes for Obesity and Metabolic Syndrome. **Obes. Res**, v. 10, n. 1, p. S27-S32, 2002.

WAJCHENBERG, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocr. Rev.**, v. 21, p. 697–738, 2000.

WEISS, U. Inflammation. **Nature**, v. 420, p. 845, 2002.

YAKAR, S.; NUNEZ, N. P.; PENNISI, P.; BRODT, P.; SUN, H.; FALLAVOLLITA, L.; ZHAO, H.; SCAVO, L.; NOVOSYADLYY, R.; KURSHAN, N.; STANNARD, B.; EAST-PALMER, J.; SMITH, N. C.; PERKINS, S. N.; FUCHS-YOUNG, R.; BARRETT, J. C.; HURSTING, S. D.; LEROITH, D. Increased tumor growth in mice with diet-induced obesity: impact of ovarian hormones. **Endocrinology**, v. 147, p. 5826-5834, 2006.

YOUNES, R. N.; NOGUCHI, Y. Pathophysiology of cancer cachexia. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, v.55, p. 181-193, 2000.

ZAKIKHANI, M.; DOWLING, R.; FANTUS, G.; SONENBERG, N.; POLLAK, M. Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. **Cancer Res.**, v. 66, n. 21, p. 10269-10273, 2006.

ZANG, M.; ZUCCOLO, A.; HOU, X.; NAGATA, D.; WALSH, K.; HERSCOVITZ, H.; BRECHER, P.; RUDERMAN, N. B.; COHEN, R. A. AMP-activated protein kinase is required for the lipid-lowering effect of metformin in insulin-resistant human HepG2 cells. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 47898-47905, 2004.

ZHOU, G.; MYERS, R.; LI, Y.; CHEN, Y.; SHEN, X.; FENYK-MELODY, J.; WU, M.; VENTRE, J.; DOEBBER, T.; FUJII, N.; MUSI, N.; HIRSHMAN, M.F.; GOODYEAR, L.J.; MOLLER, D.E. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. **J. Clin. Invest.**, v. 108, p. 1167-1174, 2001.

ZHOU, Q.; LIU, L. Z.; FU, B.; HU, X.; SHI, X.; FANG, J.; JIANG, B. H. Reactive oxygen species regulate insulin-induced VEGF and HIF-1 α expression through the activation of p70S6K1 in human prostate cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 1, p. 28-37, 2007.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K. G.; SHAW, J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. **Nature**, v. 414, p. 782–787, 2001.

ZORAD, S.; MACHO, L.; JEZOVA, D.; FICKOVA, M. Partial characterization of insulin resistance in adipose tissue of monosodium glutamate-induced obese rats. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 827, p. 541-545, 1997.