

ALINE CASTALDI SAMPAIO

OBESIDADE E CÂNCER DE TIRÓIDE: EM BUSCA DE UMA LIGAÇÃO

CAMPINAS

2011

ALINE CASTALDI SAMPAIO

OBESIDADE E CÂNCER DE TIRÓIDE: EM BUSCA DE UMA LIGAÇÃO

Tese de Doutorado apresentado ao curso de Pós Graduação em Clínica Médica, na Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Clínica Médica na área de concentração Ciências Básicas.

Orientador : Laura Sterian Ward

CAMPINAS

UNICAMP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP

Bibliotecária: Rosana Evangelista Poderoso – CRB-8ª / 6652

Sa47o Sampaio, Aline Castaldi
Obesidade e câncer de tiróide: em busca de uma ligação. / Aline Castaldi Sampaio. -- Campinas, SP : [s.n.], 2011.

Orientador : Laura Sterian Ward
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Obesidade. 2. Gene. 3. Câncer. 4. Tiróide. I. Ward, Laura Sterian. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em Inglês: Obesity and cancer thyroid: in search of a connection

Keywords: • Obesity
• Gene
• Cancer
• Thyroid

Titulação: Doutor em Clínica Médica

Área de Concentração: Ciências Básicas

Banca examinadora:

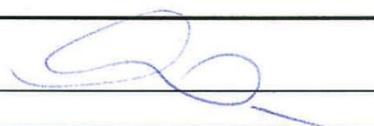
Prof. Dr. Laura Sterian Ward
Prof. Dr. Elba Cristina Sá de Camargo Etchebehere
Prof. Dr. José Barreto Campello Carvalheira
Prof. Dr. Gláucia Maria Ferreira da Silva Mazeto
Prof. Dr. Fabiana Granja

Data da defesa: 24.02.2011

Banca examinadora da tese de Doutorado

Aline Castaldi Sampaio

Orientador: Prof^a. Dr^a. Laura Sterian Ward



Membros:

1. Prof^a. Dr^a. Gláucia Maria Ferreira da Silva Mazeto

2. Prof^a. Dr^a. Fabiana Granja

3. Prof^a. Dr^a. Elba Cristina Sá de Camargo Etchebehere

4. Prof. Dr. Jose Barreto Campello Carvalheira

5. Prof^a. Dr^a. Laura Sterian Ward

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 24/02/2011

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais **Maida e Marciel,***

*a minhas irmãs **Alice e Ellen***

*e ao meu marido **Rodrigo.***

AGRADECIMENTOS

Á minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Laura Sterian Ward, pela dedicação, pelos ensinamentos, apoio, paciência e grande incentivo nas horas difíceis.

Aos colegas do Laboratório de Genética Molecular do Câncer.

SUMÁRIO

	PÁG
I - LISTA DE ABREVIATURAS	8
II - LISTA DE TABELAS	9
III- LISTA DE FIGURAS	11
IV- LISTA DE GRÁFICOS	12
ABSTRACT	13
RESUMO.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. Câncer de tiróide - um diagnóstico cada vez mais freqüente.....	17
1.1.1Agentes Carcinógenos.....	19
2. Obesidade - Uma epidemia mundial.....	21
3. Relação entre obesidade e câncer.....	24
4. Obesidade e perfil de consumo alimentar no Brasil.....	25
5. Padrão alimentar como fator de risco para câncer.....	27
6. Fatores genéticos envolvidos na obesidade e resistência insulínica.....	28
6.1 <i>IRS – 1</i>	28
6.2 <i>PPARγ2</i>	30
2. OBJETIVOS.....	34

2.1 Objetivo Geral.....	34
2.2. Objetivos Específicos.....	34
3. Material e Métodos.....	35
3.1 Casuística	35
3.2 Medidas Antropométricas.....	37
3.3 Estudo Genético.....	39
3.3.1 <i>PPAR</i> γ 2	40
3.3.2 <i>IRS-1</i>	40
3.4 Metodologia Estatística.....	45
4. RESULTADOS.....	47
5.DISCUSSÃO.....	65
6.CONCLUSÃO.....	74
7.REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

GEMOCA	Laboratório de Genética Molecular do Câncer
IMC	Índice de Massa Corpórea
<i>IRS-1</i>	Receptor de insulina tipo 1
<i>PPARγ2</i>	Receptor Gama Ativado Proliferador de Peroxisomo
PNDS	Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde
PNSN	Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição
ENDEF	Estudo Nacional de Despesa Familiar
OMS	Organização Mundial da Saúde
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ID	Índice Dietético
QFCA	Questionário de Frequência de Consumo Alimentar
C-HDL	Colesterol de Lipoproteínas de Alta Densidade
PPREs	Elementos Responsivos do Proliferador do Peroxisomo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Casuística do estudo.....	36
Tabela 2. Características clínicas dos casos.....	37
Tabela 3. Características clínicas dos controles.....	37
Tabela 4. Reagentes usados na reação de PCR para <i>PPARγ2</i> e <i>IRS-1</i>	41
Tabela 5. Primers - <i>PPARγ2</i> e <i>IRS-1</i>	41
Tabela 6. Condições para amplificação da reação de PCR para <i>PPARγ2</i> e <i>IRS-1</i>	42
Tabela 7. Características antropométricas de acordo com os sexos para controles.....	47
Tabela 8. Características antropométricas de acordo com os sexos para casos.....	48
Tabela 9. Faixas de adequação percentual de distribuição calórica dos macronutrientes da dieta ingerida pelos pacientes com CDT, segundo sexo.....	49
Tabela 10. Distribuição dos pacientes com CDT segundo percentual calórico da dieta ingerida em relação às necessidades individuais e sexo.....	50
Tabela 11. Distribuição dos pacientes com CDT segundo classificação da obesidade e sexo.....	51
Tabela 12. Porcentagens da classificação do IMC da população estudada.....	53
Tabela 13. Distribuição total dos casos e controles segundo percentual calórico da dieta ingerida em relação às necessidades individuais.....	58

Tabela 14 . Faixas de adequação percentual de distribuição calórica dos macronutrientes da dieta ingerida pelos casos e controles.....	59
Tabela 15. Comparação quantidade de fibras ingeridas da população estudada.	60
Tabela 16. Análise do Perfil Alimentar dos diferentes grupos na população estudada.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gel de agarose a 0,8% de amostras de DNA extraídas de sangue periférico.....	39
Figura 2. Gel de agarose a 2% para amplificação do gene <i>PPAR</i> γ 2.....	42
Figura 3 . PCR após digestão enzimática para verificação da presença ou não do polimorfismo para o gene <i>PPAR</i> γ 2.....	43
Figura 4. Amplificação do gene <i>IRS-1</i> – Gel de agarose 2%.....	44
Figura 5 .Gel de agarose 3% com o resultado da restrição enzimática <i>IRS-1</i>	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 . Distribuição entre casos e controles para tabagismo e etilismo.....	52
Gráfico 2 . Distribuição da classificação do IMC para casos e controles.....	53
Gráfico 3. Comparação entre os grupos eutróficos e obesos nos casos com CDT.....	54
Gráfico 4. Distribuição dos grupos caso – controle de acordo com sexo.....	55
Gráfico 5. Correlação da população eutrófica e com sobrepeso.....	56
Gráfico 6.Comparação entre indivíduos obesos , eutróficos e magros.....	57
Gráfico 7. Comparação entre os grupos em relação a prática de atividade física.....	58
Gráfico 8. Apresentação da genotipagem do polimorfismo do gene <i>IRS-1</i>	61
Gráfico 9. Apresentação da genotipagem do polimorfismo do gene <i>PPARy2</i>	62
Gráfico 10.Apresentação da genotipagem do gene <i>IRS-1</i> em relação ao IMC.....	63
Gráfico 11.Apresentação da genotipagem do gene <i>PPARy2</i> em relação ao IMC.....	64

ABSTRACT

Obesity is a complex, multifactorial disease that develops from the interaction between genotype and environment. It may be defined as a syndrome characterized by an increase in body fat storage and its prevalence has increased dramatically in industrialized and developing nations. There are several reasons for medical concern regarding overweight and obesity. It increases the risk for several diseases, especially cardiovascular diseases, type 2 Diabetes Mellitus and hypertension.

Collect weight, height and blood of 141 patients with DTC (126 women and 15 men) with 126 carefully matched control subjects (89 women and 37 men) for age, other morbid conditions, smoking, alcohol consumption, physical activity, among others.

All 267 subjects underwent a medical history questionnaire that included food and collection of peripheral blood for genotyping by PCR-RFLP.

The evaluation of food showed that both patients and controls, had a diet rich in fats and sugars, with insufficient fiber content, fruits and vegetables and insufficient physical activity performed. Overweight was more frequent among patients with DTC (60.28%) than in the control group (40.06%) increased risk of developing cancer in obese subjects (OR= 3.787 ;IC95% 2.115;6.814; p= <.0001) Excess weight increases the risk of CDT among women almost two times (OR = 1.925, IC95% 1.110 a 3.338; p = 0.0259). However, among men, being overweight did not represent risk for the development of CDT (OR = 2.110, IC95% 0.6237 a 7.137;p=0.3498). There was no correlation between the genetic profile of IRS-1 gene in the population studied, and for genotyping the gene mutation *PPAR γ 2* appears more prevalent in cases

increased the risk for developing thyroid cancer(OR= 3.738 ; IC = 1.151;12.139; p= 0.0282).

A multiple logistic regression analysis showed that obesity (p= <.0001) and the inheritance of the polymorphism of *PPAR γ* in heterozygous (p = 0.0282) were factors associated with risk of thyroid cancer.

In conclusion, our data indicate that excess weight contributes to an increased risk for DTC, which may contribute to the relatively larger increase observed in females and suggest that the implementation of prevention policies in public health, particularly for people at risk, could also decrease the prevalence of CDT in the Brazilian population.

A obesidade é um distúrbio do metabolismo energético caracterizado pelo armazenamento excessivo de energia, sob a forma de gordura, no tecido adiposo. É uma doença poligênica e multifatorial à qual um número crescente de mutações e polimorfismos gênicos vem sendo relacionado. Evidências epidemiológica e clínicas vêm estabelecendo de forma inequívoca a correlação entre obesidade e várias condições, algumas por mecanismos óbvios, outras de forma ainda pouco claras, incluindo a hiperinsulinemia, o diabetes mellitus e uma crescente lista de neoplasias. O câncer diferenciado da tiróide (CDT) se inclui entre tais neoplasias. Trata-se de uma das neoplasias mais freqüentes entre as mulheres brasileiras, cuja incidência vem aumentando em nosso país, assim como em todo o mundo ocidental, de forma paralela à da obesidade. Existem evidências de que portadores de CDT possuem resistência à insulina sugerindo a existência de vias de expressão gênica comuns.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o papel de dois importantes genes relacionados à resistência insulínica, os genes *IRS-1* e *PPAR γ* , no câncer da tiróide.

Coletamos dados antropométricos de 141 pacientes com CDT (126 mulheres e 15 homens) criteriosamente pareados com 126 indivíduos-controle (89 mulheres e 37 homens) para idade, outras condições mórbidas, tabagismo, etilismo, atividade física, exposição a fatores ambientais de risco. Todos os 267 indivíduos foram submetidos a um extenso questionário que incluía anamnese alimentar, e à coleta de sangue periférico para genotipagem por PCR-RFLP. A avaliação do perfil alimentar mostrou que ambos,

pacientes e controles, possuíam alimentação similar, rica em gorduras e açúcares, com conteúdo insuficiente de fibras, frutas e vegetais, e realizavam insuficiente atividade física. No entanto, o excesso de peso foi mais freqüente entre os pacientes com CDT (60.28%) do que no grupo controle (40.06%), aumentando o risco de desenvolvimento de câncer de tiróide em indivíduos obesos (OR= 3.787 ;IC95% 2.115 a 6.814; p= <.0001). O aumento de risco de CDT associado ao excesso de peso se deve às mulheres (OR = 1.925, IC95% 1.110 a 3.338; p = 0.0259), desaparecendo entre os homens (p = 0.3498). Não houve correlação entre o perfil genético do gene *IRS-1* e o risco de CDT na população estudada. No entanto, as variantes do gene *PPAR γ 2* foram mais prevalentes nos casos de CDT do que na população controle. Uma análise de regressão logística múltipla mostrou que obesidade (p=<.0001) e a herança do polimorfismo de *PPAR γ 2* em heterozigose (p= 0.0282) eram fatores de risco associados ao risco de câncer de tiróide.

Em conclusão, nossos dados sugerem que o excesso de peso colabora para o aumento de risco para CDT no sexo feminino e que a herança de variantes de *PPAR γ 2* pode estar correlacionada com tal efeito. Sugerimos que a implementação de políticas de prevenção em saúde pública, particularmente dirigidas para as mulheres e portadores de variantes de *PPAR γ 2*, também poderia diminuir a prevalência de CDT na população Brasileira.

1. CÂNCER DE TIRÓIDE - UM DIAGNÓSTICO CADA VEZ MAIS FREQUENTE

Nódulos de tiróide são extremamente comuns. Estima-se que 10% da população venha a desenvolver um nódulo palpável durante a vida e vários dados indicam que este número deve ser ainda maior em nosso país, onde, até poucas décadas atrás, ainda havia extensas áreas carentes de aporte adequado de iodo na alimentação (WELKER & ORLOV, 2003; KNOBEL & MEDEIROS-NETO, 2004; TOMIMORI et al, 1995; FURLANETTO et al, 2000). Dois grandes estudos populacionais, nos Estados Unidos, descrevem nódulos solitários palpáveis em 5,3% das mulheres e 0,8% dos homens, e 6,4% das mulheres e 1,6% dos homens, respectivamente (TUNBRIDGE et al, 1977; VANDER, et al, 1954). No entanto, se utilizarmos um instrumento muito mais sensível do que as nossas mãos, como a ultra-sonografia, ou a tomografia computadorizada, a ressonância magnética e outros métodos de imagem, a prevalência do nódulo da tiróide atinge cerca de metade da população (TAN GH, 1997), podendo chegar a mais de 80% dos idosos (BEAHRSON, 1988).

A maioria dos nódulos tiroidianos é causada por doenças benignas, como nódulos colóides, cistos e neoplasias foliculares benignas, de modo que menos de 5% dos pacientes são portadores de câncer de tiróide (TAN & GHARIB, 1977; HEGEDUS, et al, 2003). A neoplasia da tiróide não responde por mais do que 1% de todas as neoplasias malignas, correspondendo a cerca de 0,5% das neoplasias descritas em homens e 1,5% daquelas que

aparecem em mulheres (NATIONAL CANCER DATA www.cdc.gov/cancer/cancerburden/; AMERICAM CANCER SOCIETY www.cancer.org/, 2003; JEMAL et al, 2004). Por outro lado, a incidência de câncer de tiróide vem aumentando no mundo todo, de acordo com estatísticas recentes (NATIONAL CANCER DATA www.cdc.gov/cancer/cancerburden/). Além disso, a prevalência do câncer de tiróide apresenta grande variação geográfica. No Japão atinge 1.4/100.000 habitantes e no Kuwait relata-se que acomete 10,5% das mulheres (BURGUERA & GHARIB, 2000; SCHULUMBERGER, et al, 2000), chegando a 31.7% das mulheres na região vulcânica da Sicília (PELLEGRITI et al., 2009)

Dados brasileiros também mostram esta grande variedade na incidência em diversos estados do país (COELI, et al, 2005). Sem dúvida, parte destes dados deve estar relacionada ao melhor acesso ao Sistema Único de Saúde e a melhores meios de diagnóstico, como no estado de São Paulo. No entanto, a grande variedade também em outros estados de similar nível sócio-econômico-cultural e similar qualidade de serviços de atendimento em saúde, indicam que outros fatores também devem contribuir para tal divergência na incidência.

Por outro lado, o câncer diferenciado da tiróide (CDT) é o tumor cuja incidência cresceu entre os anos de 1992 e 2002 nos EUA, ocupando atualmente a 5ª posição entre as neoplasias mais freqüentes na mulher (SEER: www.seer.cancer.gov/). Este aumento atingiu níveis de 6,3% ao ano entre 1997 e 2003 (SEER: www.seer.cancer.gov/). Registros nacionais de câncer e publicações brasileiras confirmam o aumento na incidência do CDT, particularmente entre as mulheres, embora a mortalidade pelo CDT esteja diminuindo (INCA: www.inca.gov.br/, COELI et al 2005). Não há como negar que estamos diagnosticando mais casos e tratando melhor deles, mas outros fatores também podem estar contribuindo para este aumento de incidência. (SPRAGUE et al, 2008).

Dentre os clássicos fatores de risco para câncer de tiróide temos a radiação ionizante, a predisposição familiar, a ingestão de iodo, fatores hormonais e reprodutivos, fatores étnicos e geográficos, dieta e drogas. Nosso laboratório tem demonstrado que o perfil genético para uma série de enzimas de detoxificação também é fator de predisposição ao CDT (MORARI, et al, 2002; GRANJA, et al, 2004; GRANJA, et al, 2005). Mais recentemente, a obesidade e a resistência insulínica tem se somado à lista dos fatores de risco para câncer de tiróide. A obesidade, fator já bem determinado como predisponente a vários tipos de câncer no ser humano, também tem aumentado de incidência em quase todo o mundo e tem sido relacionado com a alimentação (BOOLING, et al, 2006).

1.1 Agentes Carcinógenos

Câncer é um processo evolutivo causado pela interação gene - meio ambiente (VINEIS , et al, 2003). Somos constantemente expostos a uma crescente lista de compostos químicos carcinogênicos, vírus transformadores de células, radiação UV e radiação ionizante, entre outros agentes tóxicos encontrados no meio ambiente (SCHOTTENFELD & BEEBE – DIMMER, et al , 2005). Além disso, compostos eletrofilicos, radicais livres e uma série de produtos do nosso próprio metabolismo podem causar danos a nossas células quando inapropriadamente metabolizados, inadequadamente eliminados ou produzidos em excesso (VINEIS, et al, 2004 ; CARBONE et al, 2004). Estima-se que as influências ambientais contribuam com mais de 80% dos fatores envolvidos no surgimento do câncer esporádico (PALLI et al, 2000). Podem ser incluídos nas influências ambientais comportamentos sociais como tabagismo, consumo de alimentos e bebidas, poluição, agentes químicos industriais, entre outros (PALLI et al, 2000). O

contato com esses agentes carcinogênicos é provavelmente responsável por uma elevada frequência de mutações (NIELSEN, et al, 1996; BODIWALA et al, 2003; GOLDMAN & SHIELDS, 2003 ; THILLY, et al, 2003). Cânceres como de pulmão, mama, próstata e colo têm se tornado mais freqüente em países onde existem fatores de risco como fumo, hábitos alimentares pouco saudáveis, exposição a produtos químicos, agentes físicos carcinogênicos e no próprio meio ambiente (TAN, et al, 2002). Hábitos alimentares modernos, particularmente a elevada ingestão de gordura saturada e a baixa ingestão de fibras têm sido fortemente relacionada com o câncer de cólon (AUTRUP, et al, 2000). A obesidade aumenta o risco de câncer de endométrio e, por razões ainda pouco claras, do câncer de cólon, rim e vesícula (AUTRUP, et al, 2000). O consumo de álcool predispõe ao câncer do trato digestivo, respiratório e a cirrose alcoólica podendo levar ao câncer de fígado (TRICHOPOULOS et al, 2003). Várias formas de irradiação também têm sido implicadas na gênese de diversos tipos de câncer. Existem evidências de que a radiação ionizante produz câncer de tiróide (HEGEDUS, et al, 2003) e de que a radiação ultravioleta predispõe ao câncer de pele e se relaciona de forma clara com o melanoma maligno (AUTRUP, et al, 2000). Além dos agentes físicos e químicos, agentes biológicos têm sido reconhecidos como importantes desencadeadores do processo de tumorigênese. Vários agentes químicos altamente suspeitos ou comprovadamente carcinogênicos para o homem incluem produtos naturais e subprodutos industriais, aflatoxina B1, que é um contaminante comum de cereais e amendoim, micotoxina produzida pelo *Aspergillus flavus*, cloreto de vinila, um produto da indústria e benzopireno, um poluente ambiental (DRINKWATER & SUGDEN, 1991).

A probabilidade do desenvolvimento do câncer depende da resposta natural de cada organismo as diferentes exposições a agentes agressores diversos. Os seres humanos

possuem diferente susceptibilidade aos diversos agressores ambientais que está relacionada a polimorfismos genéticos herdados (AUTRUP, et al, 2000). A própria longevidade deve estar relacionada com características multifatoriais fortemente dependentes da interação entre fatores genéticos e fatores ambientais. Isto está bem exemplificado pelo fato de indivíduos com maior idade geralmente serem os de menor propensão a uma série de doenças, incluindo o câncer (GERDES LU, et al, 2000). Nosso grupo vem demonstrando que a herança de determinado perfil de genes relacionados à detoxificação de xenobióticos e ao reparo celular é importante fator de suscetibilidade ao câncer diferenciado da tiróide (WARD LS, 2007).

2. OBESIDADE- UMA EPIDEMIA MUNDIAL

A obesidade é um distúrbio do metabolismo energético caracterizado pelo armazenamento excessivo de energia, sob a forma de gordura, no tecido adiposo.

O indicador mais utilizado para avaliação do estado nutricional dos indivíduos adultos e Índice de Massa Corporal (IMC), desenvolvido no século XIX por Quetelet, e calculado pela divisão do peso (em kg) pelo quadrado da altura (em metros). Embora o IMC seja considerado um indicador pouco preciso da gordura corporal, por não levar em conta a composição corpórea (massa gorda e massa livre de gordura), a facilidade do seu cálculo e sua comprovada associação com diferentes causas de mortalidade tem justificado sua utilização como indicador de estado nutricional de adultos em estudos epidemiológicos (ANJOS, 1992). Os mecanismos fisiopatológicos que levam ao aumento de peso e ao estoque excessivo de tecido adiposo estão apenas parcialmente delineados. Sabe-se que a obesidade resulta do desequilíbrio crônico entre a ingestão alimentar e o gasto energético,

conduzindo ao balanço energético positivo representado pelo estoque de gordura como reserva energética. Alguns fatores genéticos e ambientais estão implicados neste fenômeno (FROGUEL, 2000), acreditando-se que tais fatores genéticos teriam ação permissiva para os fatores ambientais (susceptibilidade genética) e em alguns casos poderiam, isoladamente, ser determinantes da obesidade constitucional (ARNER, 2000), também é possível que fatores psicológicos tenham relevância em determinados pacientes (HALPERN et al, 1998). As variáveis nutricionais, metabólicas e psicossociais interagem entre si e com os fatores genéticos, facilitando o desenvolvimento do fenótipo da obesidade (HALPERN et al, 1998), um distúrbio poligênico e multifatorial (MÜNZBERG et al, 1998).

A obesidade está sendo considerada uma epidemia mundial, presente tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, atingindo indivíduos de todas as idades e grupos sócio-econômicos (POPKIN & DOAK, 1998; RACETTE, 1995; 2003; WHO; 2004). O aumento de sua incidência está distribuído em quase todos os sexos e raças, afetando principalmente a população de 25 a 44 anos (BLUMENKRANTZ, 1997). O excesso de peso atinge cerca de 1/3 da população adulta e apresenta uma tendência cada vez mais crescente nas últimas décadas (MONTEIRO et al., 1995) A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que haja no mundo mais de 1 bilhão de adultos com sobrepeso [índice de massa corporal – IMC (Kg/m^2)>27], e destes, aproximadamente, 300 milhões são obesos [IMC > 29,9] (WHO, 2003; NAHAS, 2007).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), nos Estados Unidos, 60% da população estão acima do peso e desse percentual, 35% dos americanos são considerados obesos. Na Europa, alguns países possuem 25% de obesos. Na América

Latina, o total de obesos supera o de desnutridos. No Brasil, o número de pessoas acima do peso dobrou nas últimas três décadas e já afeta 70 milhões de habitantes. Desses, 18 milhões estão até 45 quilos acima do peso ideal – são os considerados obesos mórbidos. O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em conjunto com o Ministério da Saúde estimaram em 38,6 milhões de pessoas, aproximadamente 40% da população adulta, a população de obesos em 2005 (WHO, 2008).

Dentre as principais conseqüências da obesidade para a saúde temos:

- As doenças cardiovasculares (principalmente a doença cardíaca e acidente vascular cerebral) - causa número um de mortes no mundo , matando 17 milhões de pessoas a cada ano (WHO, 2008)
- Diabetes - o que rapidamente se tornou uma epidemia global. A OMS estima que as mortes por diabetes aumentará em mais de 50% no mundo nos próximos 10 anos (WHO, 2008)
- Distúrbios Osteomusculares - especialmente a osteoartrite.
- Alguns tipos de câncer (endométrio, mama e cólon).

Existem poucas evidências de que algumas populações são mais suscetíveis à obesidade por motivos genéticos, o que reforça serem os fatores alimentares – em especial a dieta e a atividade física – responsáveis pela diferença na prevalência da obesidade em diferentes grupos populacionais (WORLD, 1997). Dentre os fatores alimentares, pode-se destacar o excesso de energia e, principalmente, de lipídeos, favorecendo o aumento da adiposidade (WORLD, 1997; ROLLS & SHIDE, 1992). Recentes estudos com mulheres obesas brasileiras têm apontado a alta ingestão de lipídeos, muito freqüente nessa população, apesar da amostra considerada ser pequena para predizer níveis populacionais (PEREIRA,

et al., 1999). Outro aspecto alimentar ressaltado por Jebb , 1997 é quanto à frequência alimentar, já que os indivíduos que consomem maior número de pequenas refeições ao longo do dia apresentam peso relativamente menor do que aqueles que consomem número menor de grandes refeições. Quanto à prática de exercícios físicos, já é consenso que à medida que a sociedade se torna mais desenvolvida e mecanizada, a demanda por atividade física diminui, diminuindo o gasto energético diário (WORLD, 1990; GRUNDY, 1998). Embora o ambiente possa contribuir para a resistência à insulina, é provável que o fator mais importante seja um perfil genético herdado (CLAUSEN et al, 1995). Variações na distribuição étnica e evidência de transmissão familiar sugerem que a ação insulínica é também determinada geneticamente (CLAUSEN et al, 1995). Existe uma considerável variação na sensibilidade insulínica na população em geral, possivelmente relacionada a mutações sutis e/ou polimorfismos em alguns componentes genéticos. Um número crescente dessas mutações e desses polimorfismos populacionais vem sendo identificados, tornando necessário entender como eles interagem com os fatores de risco ambientais levando a um aumento na predisposição para aterosclerose, Diabetes Mellitus tipo 2 e outros estados patológicos conhecidos que estão associados à resistência à insulina (PEDERSEN, 1999).

3. RELAÇÃO ENTRE OBESIDADE E CANCER

Acredita-se que a obesidade atualmente seja a causa de 15–20% de todos os cânceres nos Estados Unidos, constituindo-se, dessa maneira, no principal fator de risco para o desenvolvimento de câncer em indivíduos não fumantes (NIEDHAMMER, 2000).

Investigação de mecanismos fisiopatológicos e intervenções aplicadas ao processo de excesso de peso e carcinogênese são linhas interessantes para pesquisa de campo. Algumas hipóteses explicam observações epidemiológicas, especialmente os efeitos metabólicos e endócrinos da obesidade e as alterações que induzem a produção de peptídeos, hormônios e inflamação.

Nesse contexto, destacam-se a hiperinsulinemia crônica, alteração da secreção de hormônios esteróides sexuais e esteatoepatite não alcoólica. A hiperinsulinemia crônica está associada com a patogênese do câncer de cólon e com os cânceres de mama, pâncreas e endométrio (NIEDHAMMER, 2000). Esses efeitos podem ser mediados diretamente pela presença de receptores de insulina nas células, estimulando o seu crescimento, ou ter a sua gênese mediada por mecanismos comuns que ocasionam a resistência à insulina como, por exemplo, a inflamação crônica subclínica com o aumento do TNF α , que agiria como agente promotor do crescimento tumoral (NIEDHAMMER, 2000).

4. OBESIDADE E PERFIL DE CONSUMO ALIMENTAR NO BRASIL

A ocorrência de mudanças, ao longo do tempo, em padrões nutricionais de uma determinada população tem sido denominada de transição nutricional (MONTEIRO et al., 1995). Embora em épocas e ritmos diferentes, países de todo o mundo passaram ou estão passando por essa transição, caracterizada basicamente pelo declínio das enfermidades carências, tais como a desnutrição, e um crescimento acentuado da prevalência de obesidade (COUTINHO, 1991). Na década de 70, observou-se um grande aumento da obesidade apenas em países desenvolvidos, como os Estados Unidos e a maioria dos países da Europa Ocidental. No entanto, nos últimos 20 anos, os países em desenvolvimento têm

acompanhado essa tendência, observando-se que as mudanças no perfil nutricional dessas populações vêm ocorrendo em um ritmo acelerado (GUTIERREZ-FISAC et al., 2003). Na América Latina, são observados diferentes estágios de transição nutricional. Em países em desenvolvimento, como Brasil, Chile e México verificam-se uma alta prevalência de obesidade, especialmente entre as mulheres e em níveis socioeconômicos mais baixos. Já nos países subdesenvolvidos, tais como Haiti, Guatemala e Peru, a obesidade é mais prevalente entre os indivíduos de melhor nível socioeconômico, sendo comum a coexistência de obesidade e desnutrição (KAIN et al., 2003).

No Brasil, o acompanhamento da situação nutricional tem sido baseado nos inquéritos de

base populacional realizados ao longo das últimas décadas: Estudo Nacional de Despesa Familiar – ENDEF (1974/75), Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição – PNSN (1989), Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde – PNDS (1996) e Pesquisa de Padrões de Vida – PPV (1996/97).

A avaliação de consumo de alimentos visa medir as condições nutricionais de uma população, suas condições e tendências (VASCONCELLOS & ANJOS 2001; BRUSSAARD, et al, 2002) identificando grupos com risco nutricional (HAVEMAN-NIES, et al, 2001; DIXON, et al, 2004). Foi desenvolvido em 1994 por Kant, com o objetivo de criar um instrumento de medida da qualidade global da dieta, que refletisse um gradiente de risco para muitas doenças crônicas relacionadas com a alimentação (COX DR, et al, 1997; PATTERSON RE, et al, 1994). Tem sido um aspecto cada vez mais referido quando se trata de estimar a associação entre os fatores da dieta e o câncer, uma vez que se acredita que o período de indução dessa enfermidade pode ocorrer muitos anos antes de sua manifestação clínica (NAVES, 2006). Para uma avaliação global, o Índice Dietético (ID)

surge como uma alternativa, apresentando variáveis comuns, como consumo de gorduras, frutas, verduras, legumes e cereais (KANT, et al, 1996), sendo considerado uma ferramenta que proporciona melhor avaliação da dieta e maior aplicabilidade em estudos epidemiológicos (DREWNOWSKI, et al, 1996; KANT, et al, 1996). No entanto, devido à relação entre a dieta e prevenção de doenças, tornou-se importante à avaliação também da qualidade da dieta. (DREWNOWSKI, et al, 1996).

Muitas investigações sobre o papel da dieta no desenvolvimento de doenças crônicas, especialmente no caso de alguns tipos de câncer, utilizam o desenho de estudo em que a dieta é geralmente avaliada a partir das informações referentes ao consumo alimentar. O QFCA (Questionário de Frequência de Consumo Alimentar), que pode ser quantitativo, semi-quantitativo ou apenas qualitativo, consiste numa lista definida de itens alimentares para os quais os respondentes devem indicar a frequência do consumo num período de tempo determinado. A frequência do consumo costuma ser relatada, por exemplo, através de categorias que objetivam caracterizar um gradiente de ingestão, como por exemplo: mais de três vezes ao dia, 2-3 vezes ao dia, 1 vez por dia, 5-6 vezes por semana; 2-4 vezes por semana; 1 vez por semana; 1-3 vezes por mês; raramente ou nunca (KOIFMAN, et al, 1999) .

5. PADRÃO ALIMENTAR COMO FATOR DE RISCO PARA CÂNCER

Desde 1970, pesquisadores de todo mundo vêm mostrando que pessoas que tem uma dieta alimentar que inclui muitas frutas e vegetais apresentam menor probabilidade de adquirir alguns tipos de câncer (TIJHUIS MJ & VISKER MH , et al, 2006). Substâncias tóxicas podem ocorrer naturalmente nos alimentos ou serem introduzidas durante o

processamento para o consumo, como aminas aromáticas heterocíclicas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos que se formam durante a preparação dos alimentos e que induzem danos ao DNA (WATERS, et al, 1996). Essas substâncias são formadas durante o cozimento e fritura de carnes e podem induzir experimentalmente tumores de próstata, pulmão, coloretal e ovário (CROSS AJ, et al, 2005). Ao contrário, antioxidantes contidos na dieta aumentam a proteção do DNA e aumentam a eliminação de radicais livres por várias reações metabólicas (POOL-ZOBEL, et al, 1997 WALADKHANI AR & CLEMENS MR, 1998; EICHHOLOZER, et al, 2000). Vários alimentos, principalmente as frutas, verduras e legumes, contêm agentes antioxidantes tais como as vitaminas C, E e A, a clorofilina, os flavonóides, carotenóides, curcumina e outros que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres (STAVRIC, 1994; FOTSIS, et al., 1997; POOL-ZOBEL, et al, 1997).

6. GENES ENVOLVIDOS NA OBESIDADE E RESISTÊNCIA INSULÍNICA

6.1 IRS – I

A insulina é um hormônio protéico produzido e secretado pelas células β da ilhota pancreática que tem como principal função o estímulo à captação de glicose por tecidos alvos. Além de seus efeitos no controle da homeostase da glicose, a insulina participa na modulação da expressão de diversos genes através da regulação da transcrição do DNA, dos efeitos estimulatórios ou inibitórios sobre o ritmo de tradução, do controle da síntese de DNA e mesmo regulando o transporte de íons e aminoácidos em praticamente todas as células (CHEATHAM & KAHN,1995).

A insulina inicia seus efeitos metabólicos e promotores de crescimento através da ligação a um receptor específico na membrana plasmática. O receptor de insulina existe em praticamente todos os tecidos de mamíferos. (FREYCHET et al, 1971; CUATRECASAS, 1972; KAHN, 1985; VIRKAMÄKI, 1999). A associação da insulina com seu receptor, isto é, a formação do complexo hormônio-receptor, representa a interação inicial do hormônio com a célula alvo (FREYCHET, 1971).

O receptor de insulina é uma glicoproteína heterotetramérica constituída por 2 subunidades α e duas subunidades β ligadas entre si por pontes dissulfeto, formando uma estrutura β - α - α - β (CZECH, 1985). A subunidade β do receptor de insulina é uma proteína com atividade quinase capaz de catalisar, após o estímulo insulínico, a transferência de grupos fosfato do ATP para tirosinas de outras proteínas intracelulares ou para si próprio, fenômeno este chamado de autofosforilação (KASUGA et al, 1982). A atividade tirosina quinase do receptor é inicialmente estimulada pela ligação da insulina e depois grandemente aumentada pela autofosforilação e aparentemente é inibida pela subunidade alfa desocupada (WHITE & KHAN, 1994). Existem consideráveis evidências de que a atividade tirosina quinase é essencial para a sinalização insulínica, e qualquer diminuição da mesma é acompanhada por perda na capacidade do receptor em sinalizar os efeitos metabólicos e de crescimento (EBINA et al, 1987).

O *IRS-1* (substrato do receptor da insulina) se expressa em todos os tecidos e apresenta vários sítios de fosforilação, para assim sinalizar os transportadores de glicose (SESTI *et al.*, 2001). O gene *IRS-1* foi o primeiro substrato do receptor identificado que representa um protótipo da família das proteínas IRS. Nos humanos este gene está localizado no braço longo do cromossomo 2, compreendendo a região 36-37 (2q36-37), apresenta 21 sítios de

fosforilação para a tirosina, sendo que vários estão localizados em seqüências de aminoácidos que se ligam ao domínio de proteínas SH-2 (SESTI *et al.*, 2001). Um polimorfismo no gene do *IRS-1*, com substituição de glicina (GGG) por arginina (AGG) no códon 972 tem sido demonstrado mais freqüentemente em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 do que em pacientes controle e talvez contribua para resistência à insulina (KREMPLE, 1998). Tal polimorfismo ocorre perto de um resíduo de fosforilação da tirosina (o códon 987) que, após estimulação da insulina, se liga na unidade regulatória do PI-3. Assim, a alteração conformacional e de carga produzida pelo polimorfismo em 972 serviria como potencial fator de anormalidade no transporte da glicose e, segundo sugerem experimentos em adipócitos de rato, também na atividade antilipolítica da insulina (WHITE, 1994; OKADA, 1994). Portadores do polimorfismo G972R apresentam características similares daqueles que apresentam resistência insulínica, que são aumento dos níveis de triglicérides, de ácidos graxos livres, da relação de colesterol total com o C-HDL (Colesterol de Lipoproteínas de Alta Densidade), de pressão sanguínea sistólica, um aumento na sensibilidade à insulina, e um aumento de transporte da glicose pelo GLUT4, resultando em um nível baixíssimo de insulina circulante no plasma (CRUZ *et al.*, 2005)..

6.2 *PPAR* γ

A família do *PPAR* (peroxisome proliferator activated receptors) é composta pelos Receptores Ativados do Proliferador do Peroxisomo. Foi caracterizada por em 1994 como pertencente à superfamília dos receptores nucleares hormonais do tipo esteróide (WAHLI *et al.*, 1991; FÈVE *et al.*, 1998). Os *PPARs* formam heterodímeros com receptores retinóides (receptor X retinóide ou RXR) que modulam a expressão dos genes que contém os

elementos de resposta do PPAR, denominados PPREs (Elementos Responsivos do Proliferador do Peroxisomo). Estes PPREs são identificados em vários genes específicos da diferenciação adipocitária. O receptor do retinóide (RXR) e o PPAR possuem sítios de ligação que podem ser ocupados por diferentes ligantes (ZHANG, 1996; HU et al, 1996).

Os peroxissomas são organelas caracterizadas pela presença de enzimas oxidativas que transferem átomos de hidrogênio de diversos substratos para o oxigênio e também por conter a maior parte de catalase celular, enzima que converte peróxido de hidrogênio em H₂O e O₂. A atividade da catalase é importante, pois o peróxido de hidrogênio que se forma nos peroxissomas é um oxidante energético e prejudicaria a célula se não fosse eliminado rapidamente. Os peroxissomas também possuem enzimas envolvidas na beta-oxidação dos ácidos graxos e do ácido glicólico. Calcula-se que 30% dos ácidos graxos sejam oxidados em acetil-CoA nos peroxissomas. Participam ainda da metabolização do ácido úrico.

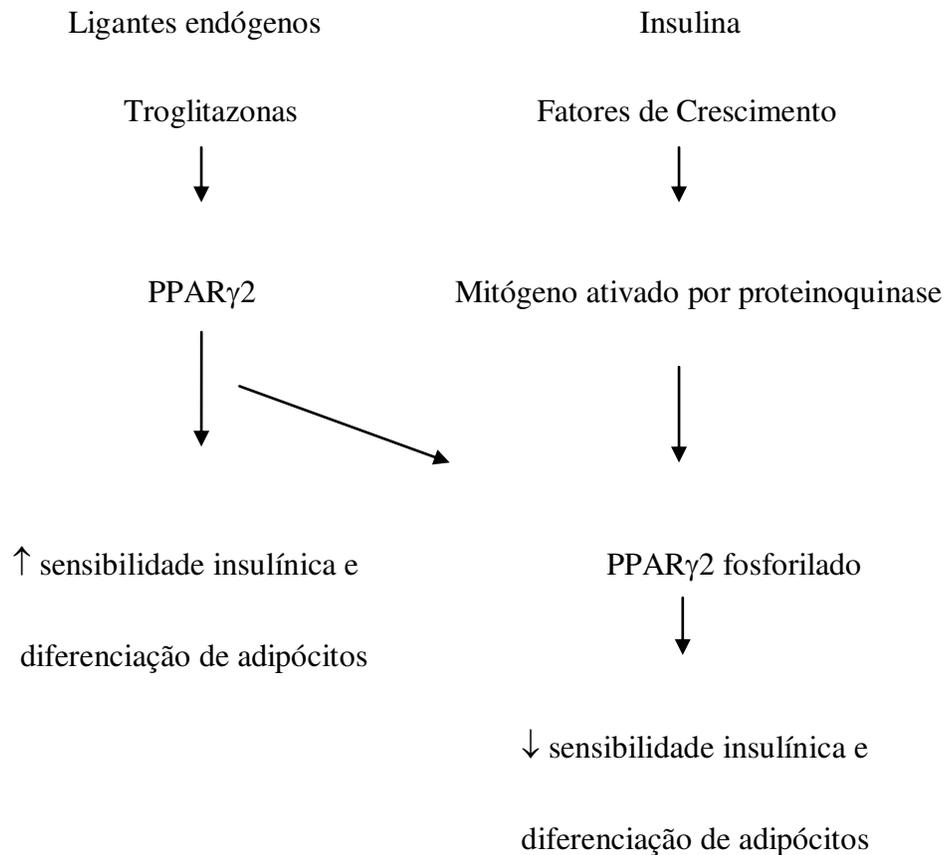
Por causa de seu papel no metabolismo de lipídeos e da glicose, o *PPAR γ* é claramente um gene candidato para regulação do metabolismo do tecido adiposo em humanos (MEIRHAEGHE, 1998).

Possui 3 isoformas: *PPAR γ 1*, *PPAR γ 2* e *PPAR γ 3*, as quais são codificadas por promotores alternativos e junções diferenciais do mesmo gene (VALVE, 1999; HOTTA et al, 1998). Comparado ao *PPAR γ 1*, o *PPAR γ 2* humano tem 28 aminoácidos adicionais. O *PPAR γ 1* é expresso em diversos tecidos incluindo tecido adiposo, cardíaco, hepático e músculo esquelético, enquanto que o *PPAR γ 2* é expresso quase exclusivamente em tecido adiposo (YEN, 1997) e influenciado pela obesidade e por fatores nutricionais (VALVE, 1999). As 2 isoformas *PPAR γ 1* e *PPAR γ 2* são produzidas por ação de 2 promotores

diferentes (BEAMER et al, 1997). A isoforma $\gamma 2$ é muito mais potente do que a isoforma $\gamma 1$ e pode estar implicada na obesidade, resistência à insulina e diabetes (BEAMER, 1998). Já a isoforma *PPAR* $\gamma 3$ parece estar expressa no cólon e no tecido adiposo (VALVE, 1999).

Tem-se demonstrado que o nível de RNAm do *PPAR* γ não é diferente em tecido adiposo subcutâneo abdominal de pacientes magros e pacientes obesos com ou sem Diabetes Mellitus tipo 2. Em contraste, observou-se correlação significativa entre o IMC desses indivíduos e a medida dos níveis de RNAm do *PPAR* $\gamma 1$ e $\gamma 2$, sugerindo que a obesidade pode estar associada a uma expressão aumentada do *PPAR* $\gamma 2$ no tecido adiposo subcutâneo. Entretanto, alguns estudos indicam que a expressão *PPAR* γ pode estar aumentada no músculo esquelético durante a obesidade, de forma que, até o momento, a relação entre a obesidade humana e possíveis alterações na expressão do *PPAR* γ não está claramente estabelecida (RIEUSSET, 1999).

O *PPAR* γ é também uma molécula alvo para as troglitazonas, uma classe de drogas antidiabéticas que aumentam a sensibilidade insulínica in vivo em humanos e em vários modelos de animais com resistência à insulina (RIEUSSET, 1999). As troglitazonas possuem alta afinidade para o *PPAR* γ e supostamente sua ação na sensibilidade insulínica e suas ações lipogênicas ocorrem através deste receptor (BEAMER, 1997). O esquema a seguir demonstra essa ação:



A estimulação do *PPARγ* pelo seu provável ligante endógeno, resulta em ativação da área reguladora do gene específico do adipócito (BEAMER, 1997). O *PPARγ2*, é um regulador da diferenciação do adipócito e estoque energético, sendo um fator de transcrição que direciona a diferenciação dos pré-adipócitos para adipócitos. O *PPARγ2* não-fosforilado tem uma habilidade reduzida para promover o processo de diferenciação de adipócitos e acumulação lipídica. Tem se sugerido que esse polimorfismo ao redor ou dentro deste sítio de fosforilação possa estar associado com a obesidade (RISTOW et al, 1998).

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a relação entre fatores nutricionais e polimorfismos em genes relacionados à resistência insulínica na susceptibilidade ao câncer de tiróide.

2.2. Objetivos Específicos

- Comparar as características antropométricas e dietéticas de indivíduos com magreza, eutróficos, sobrepeso e obesos da nossa população de ambos os sexos, em indivíduos controle e indivíduos com câncer de tiróide.
- Verificar a prevalência do polimorfismo G972R do gene *IRS-1* na população controle e com câncer de tiróide.
- Verificar a prevalência do polimorfismo Pro12Ala do gene *PPAR γ 2* em nossa população controle e com câncer de tiróide.

3. Material e Métodos

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Genética Molecular do Câncer coordenado pela Prof^a. Dra Laura Sterian Ward. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da FCM-Unicamp e todos os indivíduos incluídos assinaram Termo de Consentimento Informado.

3.1 Casuística

Foram estudados 126 indivíduos controle entre 16 e 74 anos de idade. (37 homens e 89 mulheres) e 141 casos (entre 14 e 74 anos de idade, 15 homens e 126 mulheres) com câncer de tiróide selecionados nos Ambulatórios de Câncer de Tiróide da Endocrinologia, sob coordenação da Profa. Dra Lígia Vera Montalli de Assumpção, e da Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sob coordenação da Profa Dra Laura Sterian Ward. Todos foram classificados utilizando a recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS, 1997) para a classificação do estado nutricional. A tabela 1 resume a casuística utilizada no estudo.

Tabela 1. Pacientes incluídos no estudo classificados de acordo com o IMC

	CASOS	CONTOLES
	N= 141	N=126
Magreza III	0	4
Magreza II	0	0
Magreza I	0	0
Eutróficos	56	69
Sobrepeso	39	18
Obesidade grau I	30	6
Obesidade grau II	14	4
Obesidade grau III	2	25

Crítérios de inclusão e exclusão

Os indivíduos controle foram recrutados entre os acompanhantes de pacientes. Todos possuíam moradia fixa na região de Campinas e não apresentavam qualquer história sugestiva de câncer familiar. Para que os pacientes fossem incluídos no estudo era necessário que apresentassem diagnóstico estabelecido de câncer de tiróide confirmado por patologista da FCM-UNICAMP. Foram excluídos pacientes com dados incompletos ou duvidosos.

A tabela 2 e 3 resumem as características demográficas destes indivíduos controle e dos pacientes, respectivamente.

Tabela 2. Características clínicas dos 141 casos

SEXO		ETNIA		TABAGISMO	
M	F	B	NB	S	N
9,41 %	90,54 %	94,3%	5,7 %	41,8 %	58,2%

Tabela 3. Características clínicas dos 126 controles

SEXO		ETNIA		FUMO	
M	F	B	NB	S	N
29,36 %	70,64 %	96,03%	4%	35,7%	64,3 %

3.2 Medidas Antropométricas e Questionário Alimentar

A descrição da padronização de medidas antropométricas compreendeu os seguintes passos:

Mensuração de peso: foi realizada através de uma balança marca Welmy com divisão de 100g, com os indivíduos vestindo roupas leves e sem sapatos.

Altura: foi medida utilizando estadiômetro conectado à balança com divisão de 1 mm. O indivíduo estava sem sapatos, de costas para o estadiômetro.

IMC: foi calculado pela divisão do peso, em quilos, pela altura, em metros, ao quadrado. A classificação do estado nutricional foi realizada de acordo com os parâmetros da recomendação da Organização Mundial da Saúde.

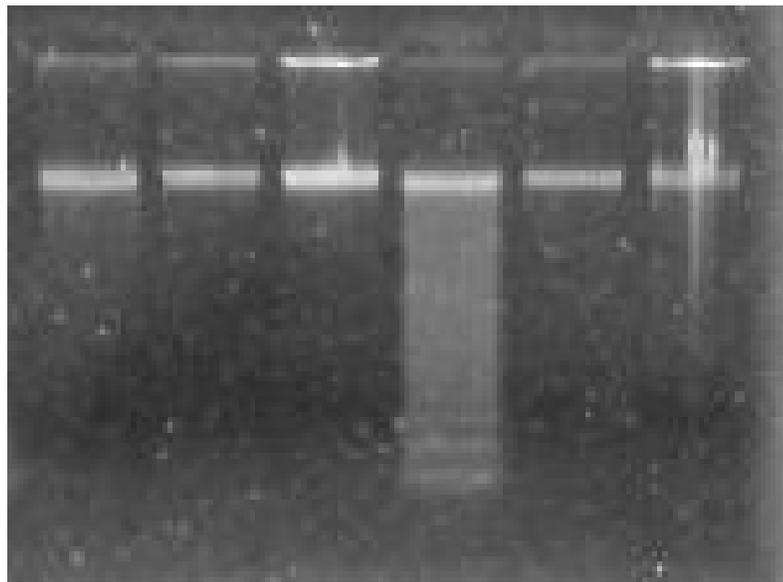
As entrevistas foram realizadas uma única vez utilizando uma anamnese alimentar. A dieta foi então avaliada confrontando a ingestão de calorias e macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) com as necessidades dos indivíduos entrevistados e/ou com as diretrizes para uma dieta saudável. A fim de estabelecer a ingestão energética em confronto com as necessidades dos indivíduos entrevistados, tais necessidades foram determinadas através de equações para previsão da taxa metabólica basal, sendo levado em consideração o peso ajustado $[(\text{peso real} - \text{peso ideal}) \times 0,25]$ sugerido por Johnson, 2002 altura e idade, assim como foram empregados fatores de atividades ocupacionais que variavam entre leve, moderadas e pesadas, de acordo com os critérios da OMS para determinação do gasto energético total de cada indivíduo. A interpretação da ingestão calórica seguiu os critérios estabelecidos pela OMS : < 90% das necessidades – insuficiente; 90 - 110% - adequada; > 110% - excessiva. Quanto aos macronutrientes, foi avaliada sua faixa percentual de contribuição energética e confrontada também com as preconizações da OMS: carboidratos < 55% - insuficiente; 55 -75% - adequada; 75% - excessiva; proteínas <10% - insuficiente; 10 - 15% - adequada; > 15% - excessiva; lipídios < 15% - insuficiente; 15 - 30% - adequada e > 30% - excessiva. As fibras foram avaliadas usando como padrão de referência a ingestão de 20 a 30g de fibras/dia.

A partir do consumo alimentar foi determinada a ingestão de nutrientes pelos indivíduos através do Programa de Apoio a Nutrição Diet Win, complementado pela tabela TACO (NEPA, UNICAMP)

3.3 Estudo Genético

Todos os pacientes e indivíduos controle foram submetidos à coleta de sangue periférico. As amostras coletadas foram armazenadas em geladeira, no Laboratório de Genética Molecular do Câncer, até a realização da extração de DNA genômico de leucócitos periféricos com o Kit DNA Isolation Kit for Mammalian Blood, seguindo as determinações do fabricante. A figura 1 exemplifica o resultado de uma extração de DNA. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria, para verificação de sua concentração e da sua pureza. O DNA assim obtido foi amplificado pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para a região dos genes estudados. O produto desta PCR foi submetido a uma eletroforese em gel de agarose 2%, para a visualização do gel, corado em brometo de etídio, e visualizado com auxílio da luz ultravioleta. A visualização do produto da restrição enzimática foi feita em eletroforese com gel de agarose 3%, corado com brometo de etídio e visualizado com o auxílio da luz UV.

Figura 1. Gel de agarose a 0,8% de amostras de DNA extraídas de sangue periférico.



3.3.1 *PPAR γ 2*

O DNA obtido foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para a região que flanqueia a seqüência contendo o sítio de fosforilação da alanina do *PPAR γ 2*. Usando um primer sense em que se acrescentam 3 bases de pares (RISTOW, 1998). Os reagentes utilizados na reação estão descritos na tabela 4. Os primers utilizados nesta PCR estão descritos na tabela 5 e suas condições estão resumidas na tabela 6. O produto de PCR foi submetido a uma enzima de restrição Hinc II como exemplifica a figura 3.

3.3.2 *IRS-1*

O gene *IRS-1* foi amplificado por PCR. Os reagentes utilizados na reação estão descritos na tabela 4. Os primers utilizados nesta PCR estão descritos na tabela 5 e suas condições estão resumidas na tabela 6. O produto desta PCR foi submetido a uma enzima de restrição mValI, a qual reconhece a seqüência correspondente para a substituição GGG (glicina) por AGG (arginina) no códon 972. A figura 5 exemplifica as PCR-RFLP obtidas.

Tabela 4. Reagentes usados na reação de PCR para *PPAR γ 2* e *IRS-1*.

Reagentes	Concentração <i>PPARγ2</i>	Concentração <i>IRS-1</i>
10 X PCR Buffer	KCl (25 mM)	KCl (25 mM)
	Tris HCl (10 mM) PH 8,4	Tris HCl (10 mM) PH 8,4
MgCl ₂	1,5 Mm	1,5 mM
dAtp, dCtp, dGtp, dTtp	0,1 mM	0,1 mM
Primer sense	10 μ M	10 μ M
Primer anti sense	10 μ M	10 μ M
Taq DNA Polymerase	3U	5U
DNA genômico	2-3 ng	2-3 ng

Tabela 5. Primers - *PPAR γ 2* e *IRS-1*.

Primer	Seqüência
<i>PPARγ2</i>	s 5' TGC AAT CAA AGT GGA GCC TGC ATG TC 3'
	as 5' CAG AAG CTT TAT CTC CAC AGA C 3'
<i>IRS-1</i>	s 5' CTT CTG TCA GGT GTC CAT CC 3'
	as 5' TGG CGA GGT GTC CAC GTA GC 3'

s – fita sense as – fita antisense

Tabela 6. Condições utilizadas para amplificação da reação de PCR para *PPAR γ 2* e *IRS-1*.

Temperatura	Tempo	Número de Ciclos
94 ⁰ C	5 minutos (<i>IRS-1</i>)	1
	3 minutos (<i>PPARγ2</i>)	
94 ⁰ C	1 minuto (<i>IRS-1</i>)	1
	3 minutos (<i>PPARγ2</i>)	
60,5 ⁰ C (<i>IRS-1</i>)	45 segundos (<i>IRS-1</i>)	35
61 ⁰ C (<i>PPARγ2</i>)	45 segundos (<i>PPARγ2</i>)	
72 ⁰ C	1 minuto	1
72 ⁰ C	7 minutos (<i>IRS-1</i>)	1
	10 minutos (<i>PPARγ2</i>)	

Figura 2. Gel de agarose a 2% para amplificação do gene *PPAR γ 2*.

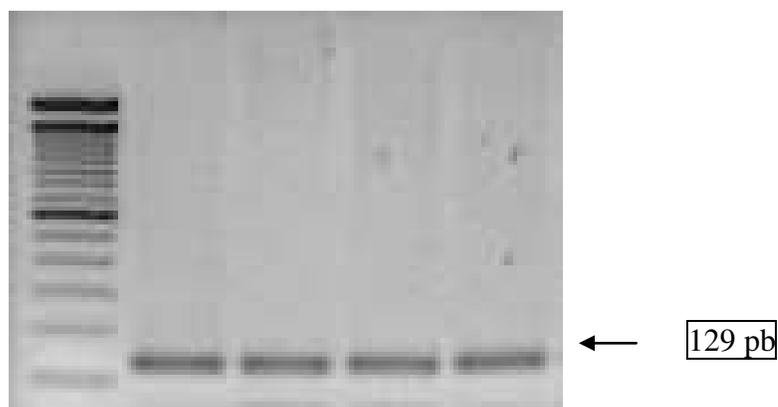
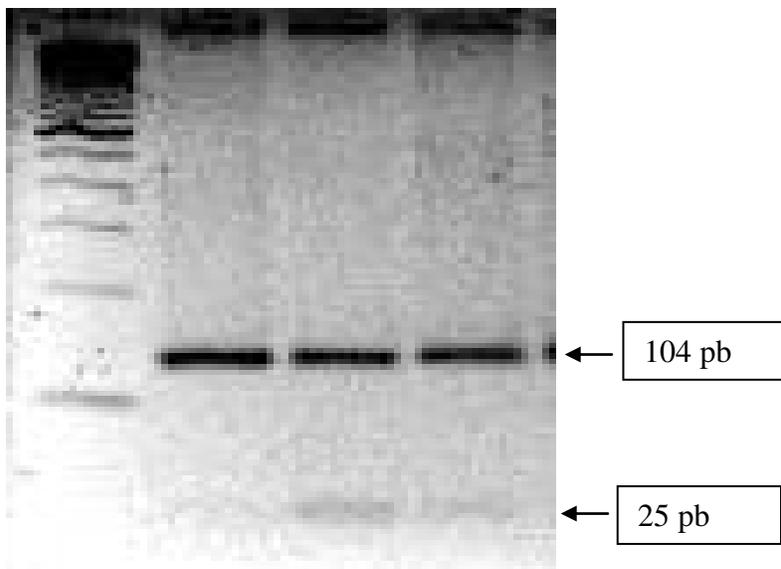


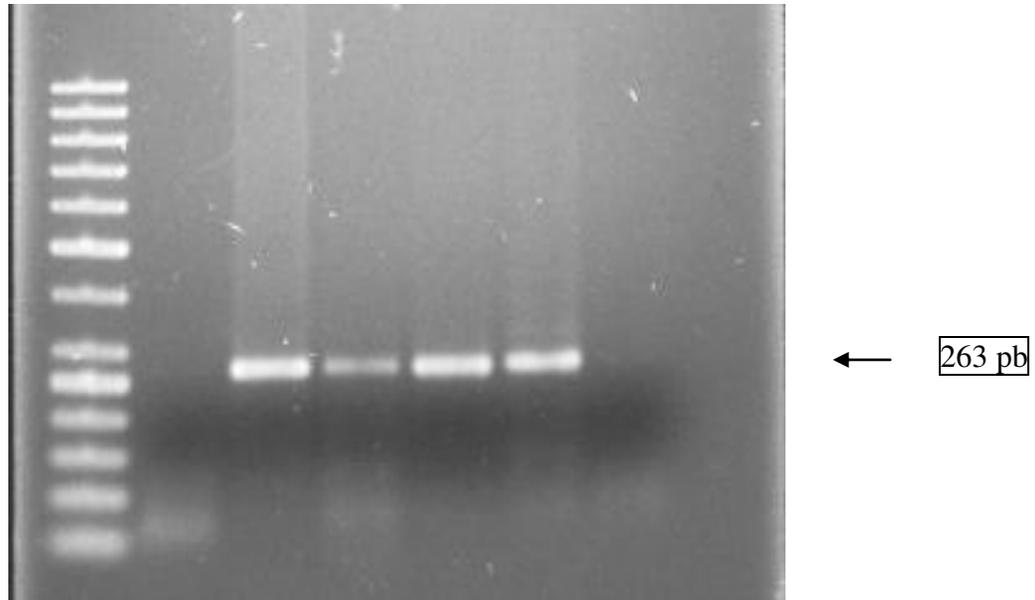
Figura 3. PCR após digestão enzimática para verificação da presença ou não do polimorfismo para o gene *PPAR γ 2*.



Na figura 2, coluna 1 temos um marcador de peso molecular de 100 pares de bases (bp) usado para a calibração da reação. Nas demais colunas, há a amplificação do gene *PPAR γ 2* (129 bp) para a região que flanqueia a seqüência contendo o sítio de fosforilação da alanina do *PPAR γ 2*.

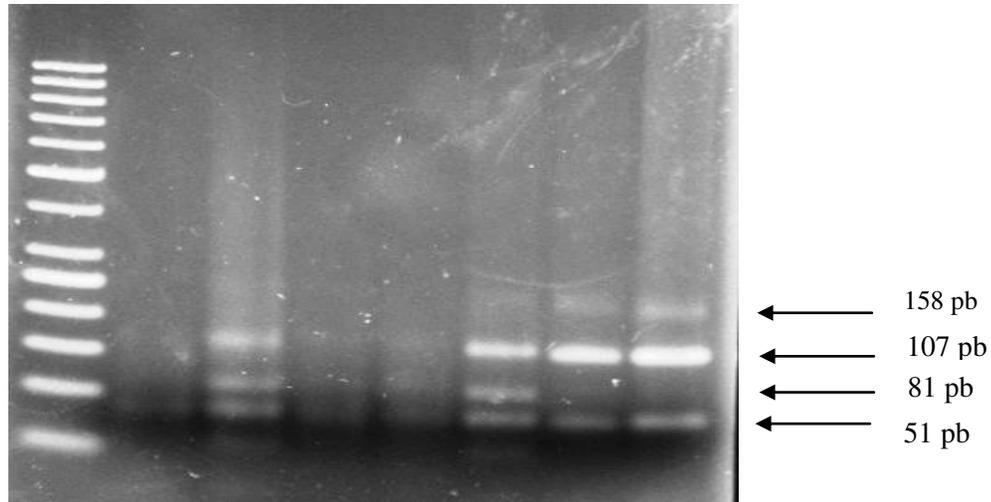
A figura 3 demonstra o resultado da amplificação de PCR após digestão enzimática para verificação da presença ou não do polimorfismo para o gene *PPAR γ 2*. Os fragmentos digeridos pela enzima foram de 129 bp para indivíduos não portadores; 104 bp e 25 bp para portadores do polimorfismo em homozigose

Figura 4. Amplificação do gene *IRS-1* – Gel de agarose 2%.



A figura 4 mostra uma reação de PCR exemplificando os resultados obtidos na amplificação do gene do *IRS-1*. Estes produtos de PCR foram submetidos à restrição enzimática, como exemplificamos através da figura 5.

Figura 5. Gel de agarose 3% com o resultado da restrição enzimática IRS-1



Os fragmentos digeridos pela enzima foram 23, 51, 81, 107 e 158 bp para portadores do polimorfismo em heterozigose como descrito por HITMAN et al, 1995.

3.4 Metodologia Estatística

Todas as informações obtidas e os resultados foram digitados em banco de dados utilizando-se o programa Excel. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Statistical Analysis System (SAS) for Windows, versão 8.2. SAS Institute Inc, 1999-2001, Cary, NC, USA.

A comparação dos resultados entre os sexos masculino e feminino foi feita através do teste não paramétrico de Mann-Whitney. A comparação entre os grupos de magros e obesos foi feita pela análise Anova-Fatorial. Para verificar a diferença de distribuição de frequência das variáveis categóricas entre grupos foram feitas tabelas de contingência e

utilizados os testes de associação do Qui-quadrado (X^2) ou teste de Fisher quando indicado. Um valor de p inferior ou igual a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo para todos os cálculos.

4. Resultados

A tabelas 7 e 8 descrevem as características antropométricos dos casos e controles estudados. Nota-se que a amostra possui na sua maioria indivíduos do sexo feminino controles e casos, respectivamente (n= 89 /126), o que corresponde à característica dos pacientes com CDT e que freqüentam os Ambulatórios de Medicina Interna no Hospital das Clínicas da UNICAMP. A idade da população variou de 14 a 74 anos, sendo que a média de idade foi de aproximadamente 29,2 para o sexo masculino e de 32,9 anos para o feminino.

Tabela 7 . Características antropométricas de acordo com os sexos para controles.

Variáveis	Sexo Masculino (n = 37)	Sexo Feminino (n=89)
Idade (anos)	34,5 ± 1,7	44,5 ± 1,2
Peso (kg)	125,5 ± 5,8	130,5 ± 3,4
Altura (cm)	1,7 ± 1,0	1,63 ± 0,7
IMC (kg/m ²)	42,70 ± 1,97	46,15 ± 1,27

Tabela 8 . Características antropométricas de acordo com os sexos para casos.

Variáveis	Sexo Masculino (n =15)	Sexo Feminino (n= 126)
Idade (anos)	36,5 ± 1,7	45,1 ± 1,2
Peso (kg)	86,5 ± 5,8	77,1 ± 3,4
Altura (cm)	1,65 ± 1,0	1,64 ± 0,7
IMC (kg/m ²)	30,65 ± 1,97	31,35 ± 1,27

A tabela 9 mostra as faixas de adequação percentual de distribuição calórica dos micronutrientes da dieta ingerida pelos pacientes com CDT segundo sexo mostrando um consumo excessivo de lipídeos e carboidratos, 57% e 58% respectivamente. Na tabela 10 o valor calórico excessivo aparece em aproximadamente 62%, confirmando o excesso de peso da população estudada.

Tabela 9. Faixas de adequação percentual de distribuição calórica dos macronutrientes da dieta ingerida pelos pacientes com CDT, segundo sexo. A ingestão foi classificada em Insuficiente (I); Adequada (A) ou Excessiva (E).

Faixas de Distribuição * (%)	SEXO				TOTAL	
	F		M		N	%
	N	%	N	%		
PROTEÍNAS						
< 10 (I)	13	10,3	-	-	13	9,21
10 – 15 (A)	83	65,8	13	86,6	96	68,0
> 15 (E)	30	23,8	2	13,3	32	22,6
Total	126	100	15	100	141	100
LIPÍDIOS						
<15(I)	15	11,9	0	-	15	10,6
15 – 30 (A)	39	30,9	6	40,0	45	31,9
> 30 (E)	72	57,1	9	60,0	81	57,4
Total	126	100	15	100	141	100
CARBOIDRATOS						
< 55 (I)	13	10,3	0	-	13	9,2
55- 75 (A)	44	34,9	2	13,3	46	32,6
>75 (E)	69	54,7	13	86,6	82	58,15
Total	126	100	15	100	141	100

*I = insuficiente; A = adequada; E = excessiva²⁶.

Tabela 10. Distribuição dos pacientes com CDT segundo percentual calórico da dieta ingerida em relação às necessidades individuais e sexo.

Percentual calórico	SEXO				TOTAL	
	F		M		N	%
	N	%	N	%		
< 90 (I)	12	9,5	0	-	12	8,5
90 - 110 (A)	39	30,9	3	20	42	29,7
>110 (E)	75	59,2	12	80	87	61,7
Total	126	100	15	100	141	100

A tabela 11 classifica a população estudada de acordo com o IMC, segundo sexo. A tabela 12 apresenta a população em percentil.

Tabela 11 . Distribuição dos pacientes com CDT, segundo classificação da obesidade* e sexo.

Classificação da obesidade	SEXO				TOTAL	
	F		M		N	%
	N	%	N	%		
Magreza	-	-	-	-		
Eutróficos	49	38,7	7	46,6	56	39,7
Sobrepeso	37	29,3	4	26,6	41	29,0
Obesidade grau I	27	21,4	2	13,3	29	20,5
Obesidade Grau II	8	6,3	2	13,3	10	7,0
Obesidade Grau III	5	3,9	-	-	5	3,5
Total	126	100	15	100	141	100

* Classificação da obesidade adotada pela OMS

O gráfico 1 mostra a distribuição entre casos e controles para tabagismo e etilismo. O hábito de fumar e o etilismo foram similares nos casos (40%) e controles (37%; $p= 0.5359$).

O gráfico 2 apresenta a classificação do IMC para casos e controles.

Gráfico 1 . Distribuição entre casos e controles para tabagismo e etilismo.

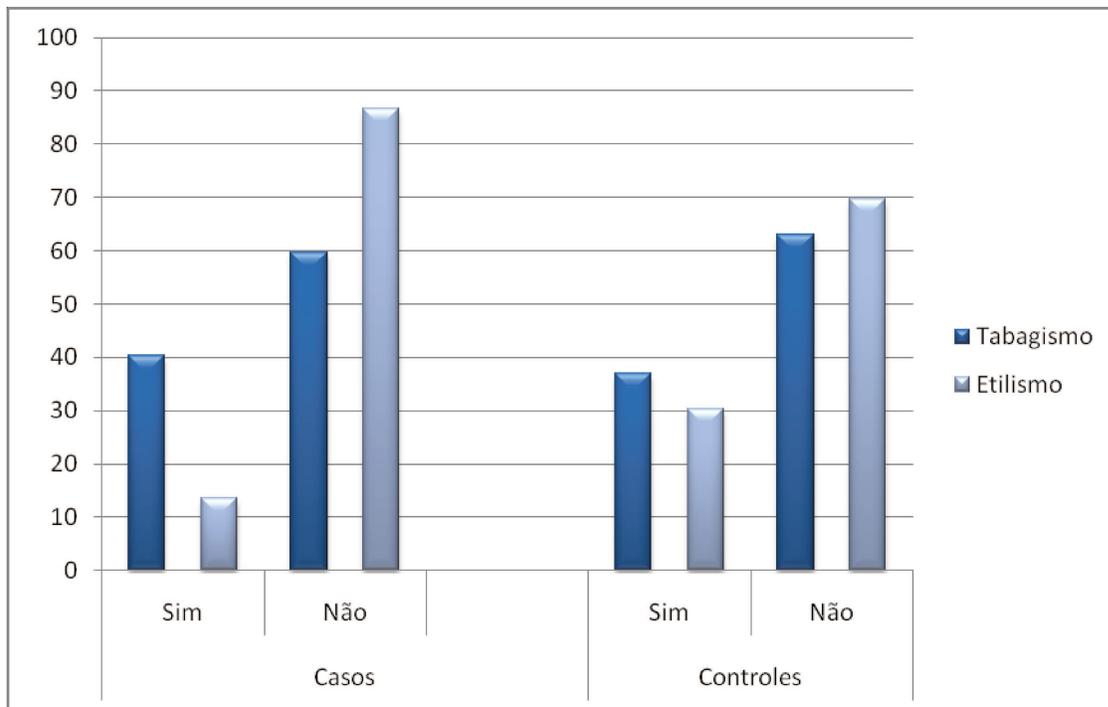


Gráfico 2 . Distribuição da classificação do IMC para casos e controles.

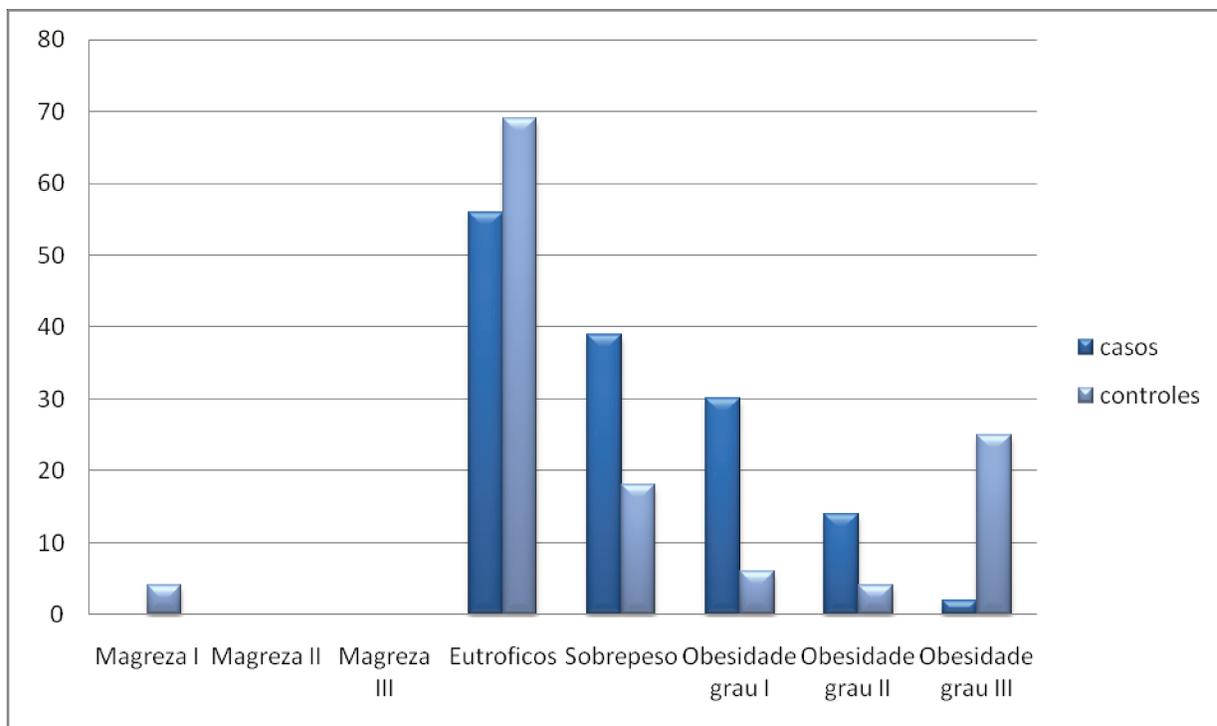


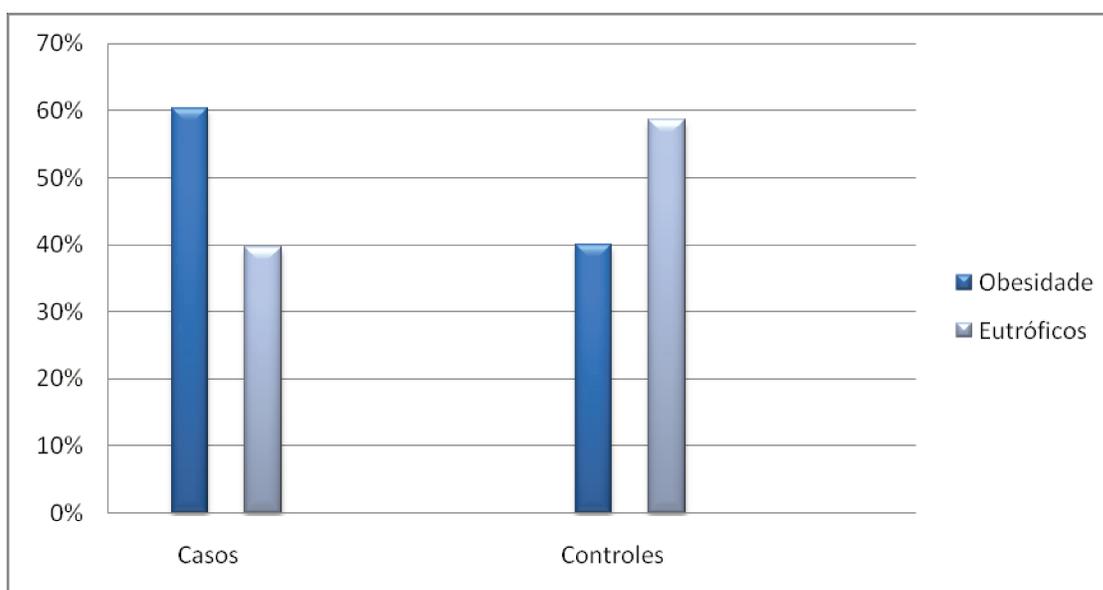
Tabela 12. Porcentagens da classificação do IMC da população estudada.

CLASSIFICAÇÃO	CASOS = 141	CONTROLES = 126
Magreza I	-	3,17%
Magreza II	-	-
Magreza III	-	-
Eutróficos	39,7%	54,7%
Sobrepeso	27,6%	14,2%
Obesidade grau I	21,2%	4,7%
Obesidade grau II	9,9%	3,1%
Obesidade grau III	1,4%	19,8%

O excesso de peso foi mais freqüente entre os pacientes com CDT (60,1%) do que no grupo controle (40,8%) conforme demonstrado no gráfico 3, aumentando o risco de desenvolvimento de câncer (OR = 3.787 ; IC95%= 2.105;6.814 ; p= <.0001)

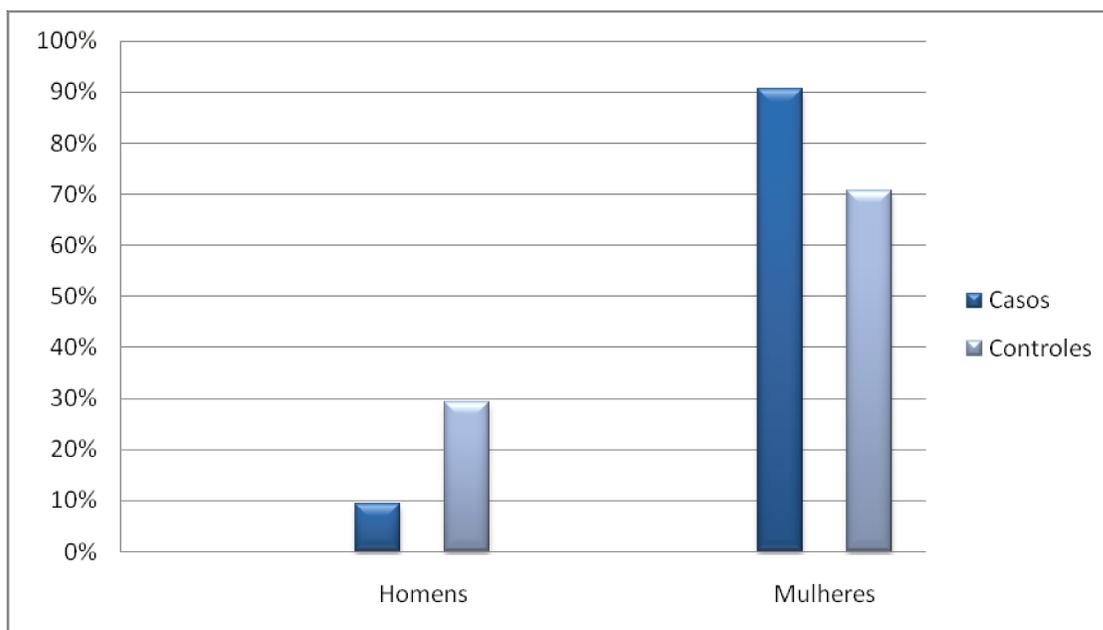
Entre os portadores de CDT, havia mais mulheres (n = 85/90, 54 %) com sobrepeso e obesidade do que homens (n = 8 / 9,41 %) com excesso de peso, conforme demonstrado no gráfico 4. O excesso de peso aumentou o risco de CDT entre as mulheres quase 2 vezes (OR = 1.925, IC95% 1,110 a 3,338; p = 0.0259).

Gráfico 3. Comparação entre os grupos eutróficos e obesos nos casos com CDT.



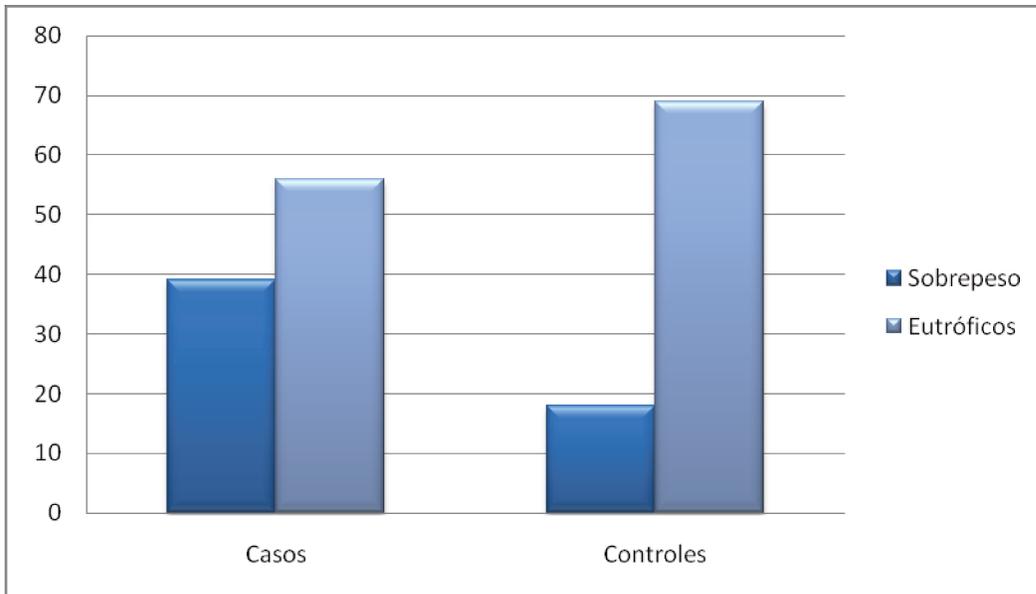
O gráfico 4 apresenta a distribuição dos grupos estudados de acordo com sexo (OR=2.581 ; IC95% 0.715;2.581; p= 0.3497).

Gráfico 4. Distribuição dos grupos caso – controle de acordo com sexo.



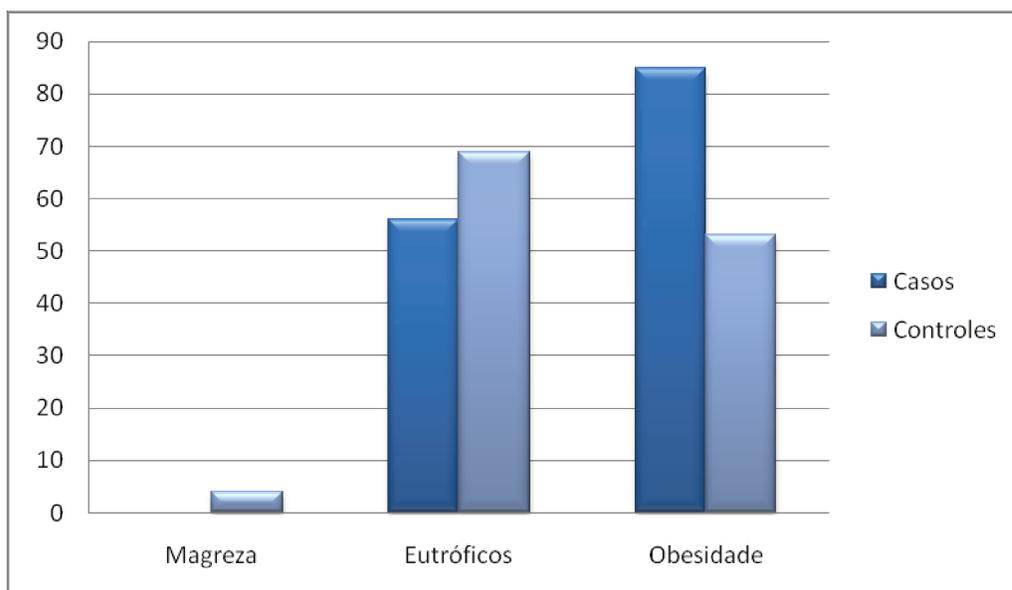
O gráfico 5 apresenta a população estudada agrupada em eutróficos e sobrepeso. Encontramos 57% dos pacientes com CDT com sobrepeso e apenas 23 % dos controles (OR= 2.547; IC95%= 1.278;5.080; p= 0.0079).

Gráfico 5 . Correlação da população eutrófica e com sobrepeso.



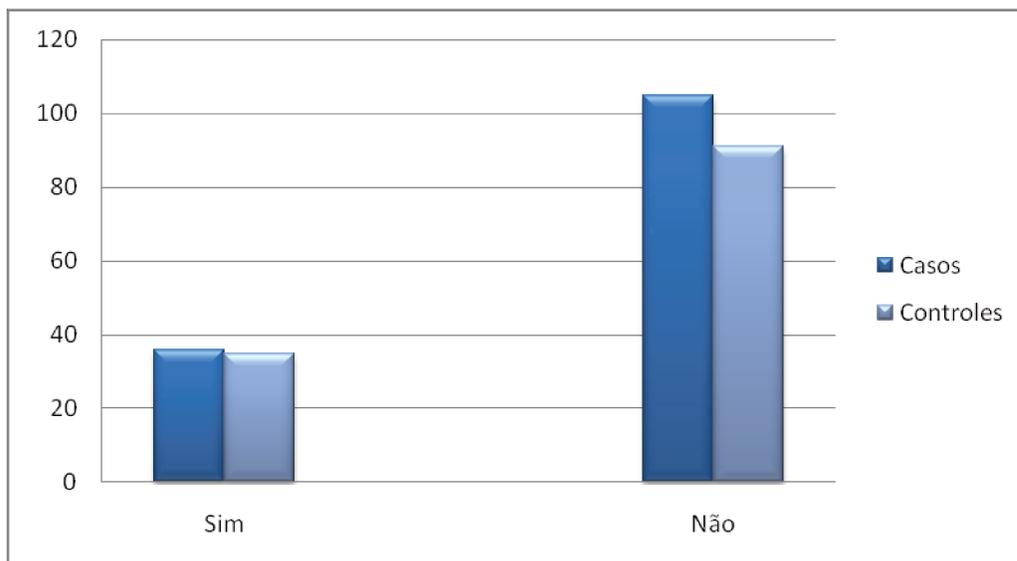
Na comparação entre obesos (grau I, II e III), eutróficos e indivíduos com magreza no gráfico 6 observamos $n = 85$ (32,5%) casos com obesidade e $n = 53$ (9,6%) nos controles $p=0.0025$

Gráfico 6. Comparação entre indivíduos obesos, eutróficos e magros.



O gráfico 7 mostra a relação entre a prática de atividade física entre casos e controles. Observamos que 74% dos pacientes com CDT não faziam atividade física, enquanto que no grupo controle a falta de atividade física foi de aproximadamente 72% (OR= 2.276 ; IC95% 0.772; 2.676; p=0.2531).

Gráfico 7. Comparação entre os grupos em relação à prática de atividade física.



A tabela 13 mostra a distribuição total dos casos e controles segundo percentual calórico da dieta ingerida em relação às necessidades individuais e demonstra um consumo excessivo nos casos (61,7%) em relação aos controles (35,7%; OR = 5.890; IC95% 3.124;11.103; p= 0.0001).

Tabela 13. Distribuição total dos casos e controles segundo percentual calórico da dieta ingerida em relação às necessidades individuais.

Percentual calórico	Casos		Controles		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
	< 90 (I)	12	8,5	17	13,4	29
90 - 110 (A)	42	29,7	64	50,7	106	39,7
>110 (E)	87	61,7	45	35,7	132	49,4
Total	141	100	126	100	267	100

A tabela 14 apresenta os resultados da distribuição dos macronutrientes para casos e controles, que mostra que o consumo excessivo de lipídeos e carboidratos aumenta o risco para câncer de tireóide (OR=3.885/ IC95% 1.158;13.028; p=0.0280) e (OR = 4.905 / IC95% 2.593; 9.278; p= 0.0001).

Tabela 14 . Faixas de adequação percentual de distribuição calórica dos macronutrientes da dieta ingerida pelos casos e controles

Faixas de Distribuição * (%)	Casos		Controles		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
	PROTEÍNAS					
< 10 (I)	13	9,21	11	8,7	24	8,9
10 – 15 (A)	96	68,0	55	43,6	151	56,5
> 15 (E)	32	22,6	60	47,6	92	34,4
Total	141	100	126	100	267	100
LIPÍDIOS						
<15(I)	15	10,6	13	10,3	28	4,10
15 – 30 (A)	45	31,9	44	34,9	89	33,3
> 30 (E)	81	57,4	69	54,7	150	56,1
Total	141	100	126	100	267	100
CARBOIDRATOS						
< 55 (I)	13	9,2	24	19	37	13,8
55- 75 (A)	46	32,6	50	39,6	96	35,9
>75 (E)	82	58,1	52	41,2	134	50,1
Total	141	100	126	100	267	100

*I = insuficiente; A = adequada; E = excessiva²⁶.

A tabela 15 mostra que o consumo de fibras baseado na indicação para uma dieta saudável (20 a 30 g de fibras /dia de acordo com as recomendações da OMS) é inadequado em 62% dos casos e em 73% dos controles (OR= 2.028 ; IC95% 0.667;2.028; p= 0.5932).

Tabela 15. Comparação entre os casos para quantidade de fibras ingeridas.

Fibras 20 a 30g /dia	Casos		Controles		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
< 20 (I)	87	61,7	93	73,8	180	67,4
20 - 30 (A)	54	38,2	33	26,1	87	32,5
>30 (E)	-	-	-	-	-	-
Total	141	100	126	100	267	100

Na tabela 16 apresentamos a análise do perfil alimentar entre os casos da população estudada, que tem freqüente consumo diário de óleos e gorduras e carboidratos refinados como: arroz, pães, tubérculos e baixo consumo de frutas, verduras e legumes.

Tabela 16 . Análise do Perfil Alimentar entre os casos.

Grupo alimentar	D (%)	E (%)	N (%)
Verduras e legumes	28.33	23.33	48.33
Frutas	20	26.66	53.33
Óleos e gorduras	58.33	24.16	17.5
Cereias integrais	18.33	6.66	75
Carnes, legum. e ovos	68.33	21.66	10
Leite e derivados	56.66	26.66	16.6
Arroz, pães e tubérculos	88.33	6.66	5

Os gráficos 8 e 9 apresentam a genotipagem dos genes estudados. O polimorfismo do gene *IRS-1* apareceu em número similar de casos e controles (OR = 0.986; IC95% 0.400; 2.430; p= 0.9748). No entanto, o polimorfismo do gene *PPAR γ 2*, ocorreu em 12% da população com câncer de tiróide e 3,2% nos controles (OR= 3.738 ; IC95% 1.151; 12.139;p= 0.0282) aumentando portanto o risco para desenvolvimento de câncer de tiróide em 3 vezes.

Gráfico 8 . Apresentação da genotipagem do polimorfismo do gene *IRS-1*.

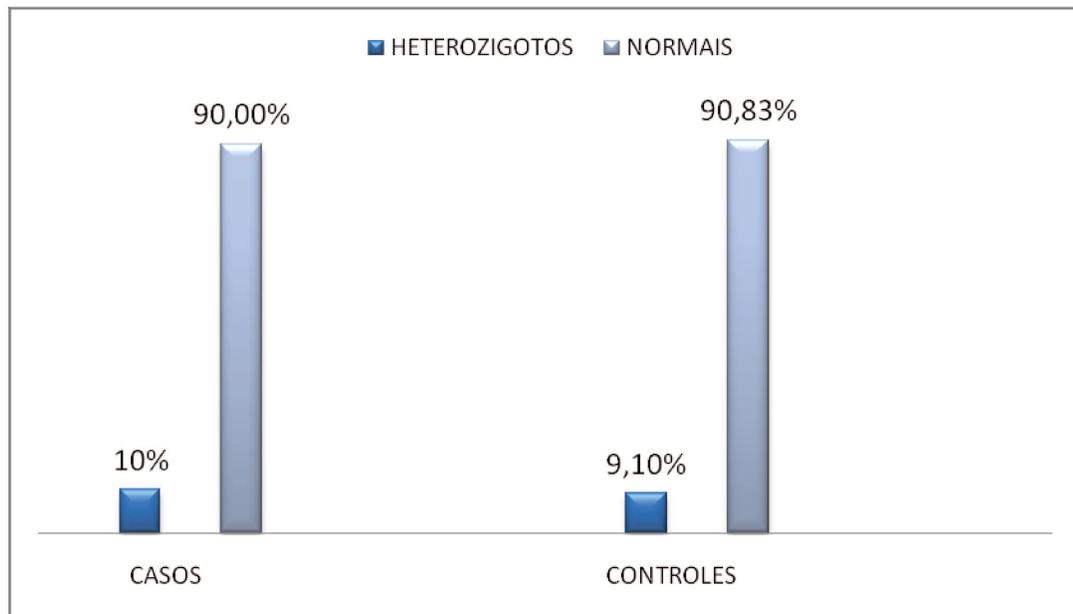
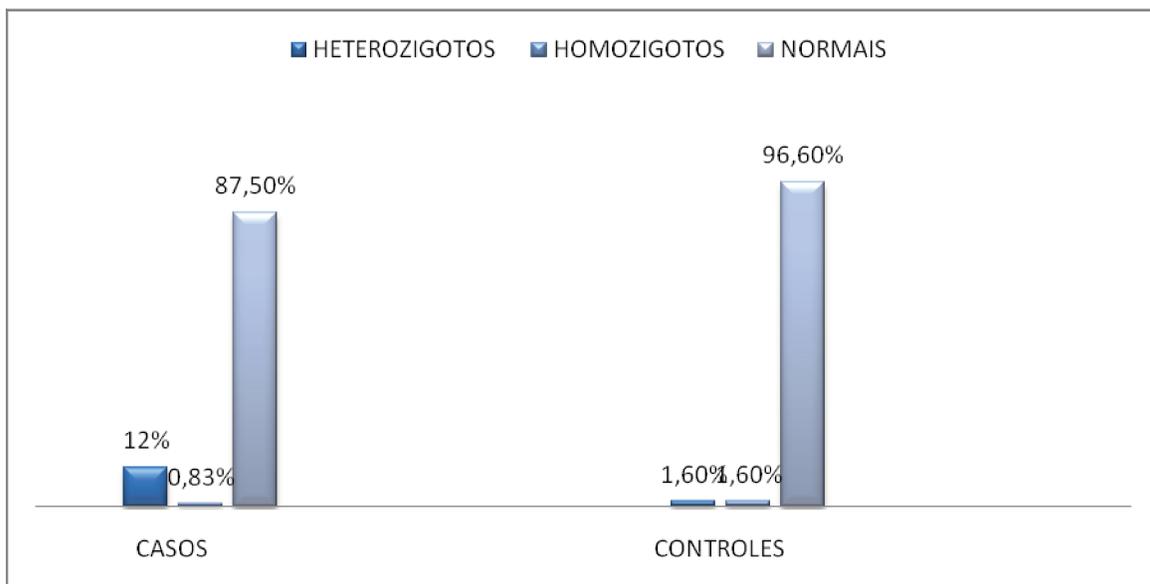


Gráfico 9. Apresentação da genotipagem do polimorfismo do gene *PPAR- Y*.



Os gráficos 10 e 11 apresentam a relação entre o gene *IRS-1* e *PPARy* com o IMC ($p = 0.3930$) e ($p=0.3334$), nos resultados obtidos na regressão logística múltipla para o diagnóstico nutricional e *PPARy*, não encontramos relação significativa para o estudo, esses resultados já tinham sido demonstrados em um outro estudo feito com obesos mórbidos em nosso laboratório.

Gráfico 10. Apresentação da genotipagem do polimorfismo do gene *IRS-1* em relação ao IMC.

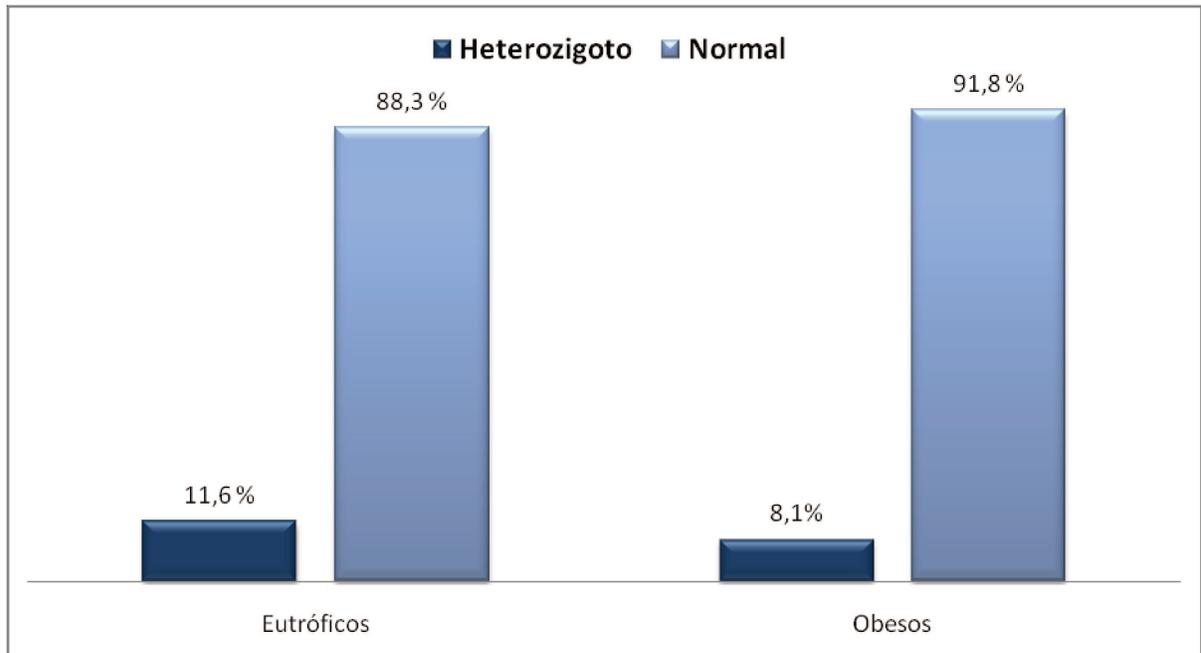
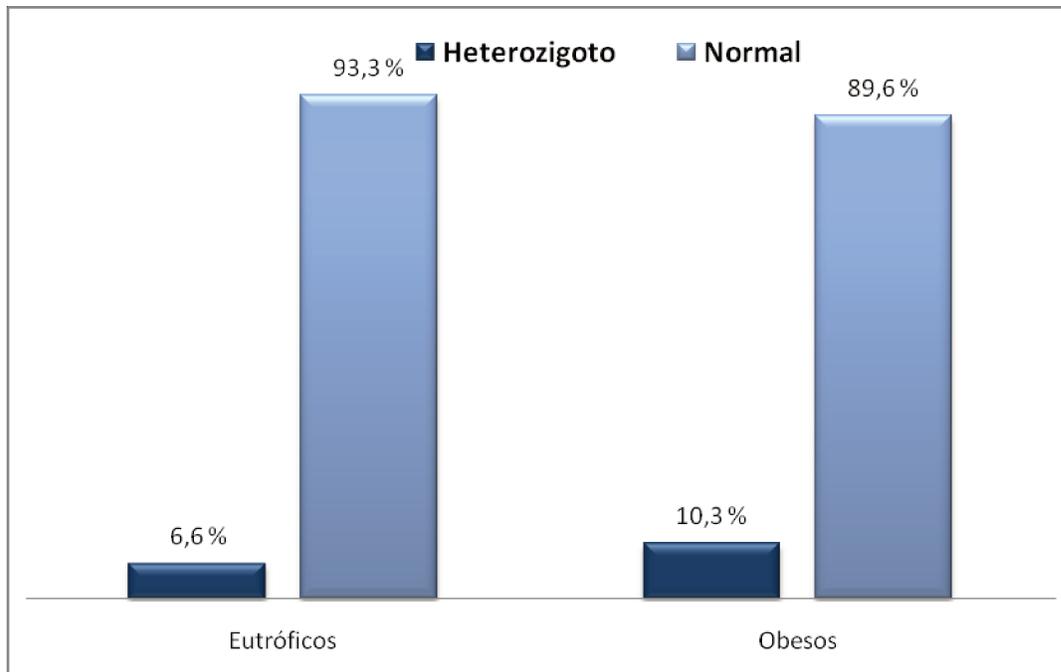


Gráfico 11. Apresentação da genotipagem do polimorfismo do gene *PPAR γ* em relação ao IMC.



Portanto, em uma análise de regressão logística múltipla mostrou que obesidade ($p < .0001$) e a herança do polimorfismo de *PPAR γ 2* em heterozigose ($p = 0.0282$) são fatores associados ao risco de câncer de tiróide.

Obesidade e câncer da tireóide

A obesidade não é uma desordem singular, mas sim um grupo heterogêneo de condições com múltiplas causas. Analisando a prevalência da obesidade no Brasil a partir dos dados do ENDEF, da PNSN e da PPV, Monteiro e colaboradores (2003) observaram que, ha cerca de 30 anos (1974/75), a prevalência de obesidade era de 4,7% (2,4% entre os homens e 6,9% entre as mulheres). Em 1989, a proporção de adultos obesos havia quase dobrado, passando para 8,3% (4,8% entre os homens e 11,7% entre as mulheres), e em 1996/97 essa proporção aumentou para 9,7% (6,9% entre os homens e 12,5% entre as mulheres).

Embora o ENDEF, a PNSN e a PPV tenham sido realizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, com estratégias de amostragem similares, houve diferenças na sua cobertura populacional. Enquanto o ENDEF e a PNSN cobriram todas as cinco regiões do país, a PPV restringiu-se as regiões Nordeste e Sudeste. Para possibilitar comparações das duas primeiras pesquisas com o PPV, Monteiro e Conde (2000) realizaram um estudo onde foram analisados apenas os dados relativos a essas regiões.

Entre 1975 e 1989, nas duas regiões, pode-se verificar um aumento expressivo na prevalência de adultos obesos, sendo de cerca de 70% para mulheres e 90% para os homens. Entre 1989 e 1997, os padrões de evolução da obesidade mostram um comportamento diferente entre homens e mulheres, nas duas regiões analisadas. Na

população masculina, a prevalência de obesidade continuou aumentando nas duas regiões, sendo o incremento relativamente maior na região Nordeste.

Na população feminina, a prevalência de obesidade mostrou um aumento expressivo na região Nordeste e um discreto declínio na região Sudeste, particularmente entre as mulheres de melhor nível socioeconômico.

Bergstrom e colaboradores (2001) realizaram um estudo na Europa, analisando a relação entre excesso de peso e desenvolvimento de câncer em seis localizações (mama, colon, próstata, endométrio, rim e vesícula biliar), por meio de uma meta-análise. Comparando indivíduos de peso normal (IMC 20-25kg/m²) com indivíduos com sobrepeso (IMC 25-30kg/m²) e obesidade (IMC > 30kg/m²), foi observado um aumento do risco de desenvolver câncer em todas as localizações estudadas. Considerando apenas os indivíduos obesos, verificou-se um risco 25% maior para câncer de mama após a menopausa, 33% para câncer de colon, 152% para câncer de endométrio, 12% para câncer de próstata, 84% para câncer de rim e 78% para câncer de vesícula biliar.

O excesso de peso mostrou-se responsável por 5% dos casos dos tumores estudados, o que equivaleria a 70.540 novos casos por ano naquele continente (BERGSTROM, 2001). Dados de um grande estudo americano de coorte publicado por Calle e cols., mostrou que, além de fator de risco, a obesidade pode ser um fator de prognóstico desfavorável em pacientes com diagnóstico de câncer. Várias metanálises recentes confirmam a relação epidemiológica entre obesidade e cancer da tiróide (RENEHAN AG, 2010 ; MIJOVIC T,2011). A relação ocorre não apenas entre o índice de massa corporal e o risco de câncer, mas também, como mostrou Clero E, 2010 em um estudo com 554 casos com câncer de tiróide (65 homens e 489 mulheres) e 776 indivíduos controles, com maior área de superfície corporal (CLERO, 2010).

Analisando a obesidade como fator de risco para câncer de tiróide em uma recente metanálise que abrangeu 3.303.073 indivíduos de múltiplas etnias, incluindo 2375 mulheres e 1212 homens com CDT, mostrou-se que a obesidade aumentava o risco relativo para CDT em 1.33 vezes (IC95%=1.04–1.70; p=0.02) (CLERO, 2010).

A etiopatogenia da relação entre obesidade e o câncer, de modo geral, é relativamente complexa. Existem fortes evidências de que a insulina poderia ser fator determinante nesta relação. (REZZÓNICO,2009). Também existem evidências de que a resistência insulínica, importante componente da síndrome metabólica, se associa especificamente ao risco de desenvolvimento de câncer da tiróide (REZZÓNICO,2009).

Genes relacionados à insulina e câncer da tiróide

Assim, o estudo de polimorfismos relacionados à ação da insulina poderia trazer importantes informações no esclarecimento da relação entre câncer da tiróide e obesidade. Nossos dados mostraram que 12,43% dos nossos pacientes com CDT possuíam o polimorfismo Pro12Ala no gene PPAR γ 2, enquanto que no grupo controle aparece em 3,32% (p=0.0282).

Ristow e col (1998) estudaram 358 indivíduos alemães, incluindo 121 indivíduos obesos (com IMC > 29 Kg/m²) e 237 indivíduos eutróficos, de peso normal. Encontraram quatro indivíduos obesos carreadores do polimorfismo, representando, portanto, uma prevalência de 1.12% da sua população. No entanto, este polimorfismo não foi evidenciado por Ristow em nenhum dos 237 indivíduos normais. Todos os indivíduos com o polimorfismo eram significativamente obesos, com um IMC variando de 37,9 a 47,3 Kg/m², comparando com uma média de 33,6 Kg/m² dos outros indivíduos obesos. Ristow sugeriu que a conversão

da prolina pela alanina no gene *PPAR γ 2* aceleraria a diferenciação de adipócitos, o que poderia causar a obesidade.

Mais recentemente, Clement e col, 2000, estudaram a possível associação desse polimorfismo com vários fenótipos clínicos e metabólicos em três grandes populações independentes de indivíduos não obesos e não diabéticos; diabéticos tipo 2 e obesos caucasianos franceses severamente obesos. O estudo não encontrou nenhum polimorfismo num total de 1069 indivíduos, incluindo 626 obesos. Terrett e col, 2000, também verificaram a prevalência do polimorfismo em 1786 indivíduos caucasianos diabéticos de tipo 2 incluindo um grupo de 61 obesos e em 618 indivíduos controle normais. Este estudo também não detectou nenhum polimorfismo no gene *PPAR γ 2*. Um terceiro estudo em 752 indivíduos com IMC de $\geq 31 \text{ Kg/m}^2$ e 869 indivíduos não obesos controles tampouco encontrou a variante Pro12Ala (EK et al, 1999). Witchel e col (2001) procuraram verificar se a variante Pro12Ala do gene *PPAR γ 2* afetaria a diferenciação de adipócitos e a sensibilidade à insulina estudando 63 crianças que apresentavam puberdade precoce e hiperandrogenismo. Nenhuma das crianças apresentou o polimorfismo pesquisado.

Em um estudo anterior feito em nosso laboratório, também não encontramos relação entre obesidade e os genes estudados *PPAR γ* e *IRS-1* (DIAS, M.R.M, 2003).

Quanto ao polimorfismo do gene *IRS-1*, a prevalência encontrada em nosso estudo foi de 5,8 %, em indivíduos magros e 2,49% obesos. Não encontramos correlação entre a presença do polimorfismo e qualquer das características relacionadas à obesidade que pesquisamos, nem qualquer correlação com câncer da tiróide. Sigal e col (1996) encontraram o polimorfismo G972R do gene *IRS-1* em 5,7% de 192 indivíduos diabéticos e em 6,9% de 104 controles, números muito parecidos com os que nós encontramos.

Embora Almind e col (1993) sugerissem que o polimorfismo está relacionada ao Diabetes Mellitus, nenhum estudo conseguiu demonstrar maior prevalência na população de diabéticos do que entre indivíduos normais (HAGER, 1993; HITMAN, 1993; IMAI, 1994; LAAKSO, 1994).

YANG Y, 2007 fez um estudo com 488 mulheres analisando o gene *PPAR γ* e concluiu que esse polimorfismo aumentou o risco de câncer de mama entre as mulheres pós-menopausa.

LIN WY, 2011 fez um estudo com pacientes fumantes e não fumantes analisando o gene *PPAR γ* , correlacionando com indivíduos controles e demonstrou em seu estudo que o efeito das condições inflamatórias sobre câncer de pulmão em não-fumantes é modulada pela susceptibilidade genética de alguns genes, entre eles o *PPAR γ* .

Padrão alimentar e câncer da tireóide

Sem dúvida, a mudança dos hábitos nutricionais decorrente da urbanização e industrialização é determinante para o aumento da incidência da obesidade. O consumo de uma dieta rica em gorduras, chamada de ocidentalizada, com um maior consumo de carnes, leite e derivados, e redução do consumo de frutas, cereais, verduras e legumes, aliada à diminuição progressiva da atividade física, resulta no aumento do número de casos de obesidade em todo o mundo e de todas as doenças que a ela se associam, incluindo o câncer (FRANCISCHI et al., 2000). Nossos dados mostram que tanto pacientes portadores de CDT como controles da região de Campinas possuem uma dieta rica em gorduras e carboidratos.

No que se refere a análise do perfil de consumo alimentar, o país conta com os dados do ENDEF e com três Pesquisas de Orçamento Familiar (POFs) realizadas nas décadas de 60

(1962/63), 80 (1987/88) e 90 (1995/96). A comparação entre os dados da POF 1962/63, do ENDEF e da POF 1987/88 demonstrou mudanças importantes no padrão de alimentação da população urbana brasileira, dentre as quais destacam-se: o aumento do consumo de produtos de origem animal (em especial leite e derivados, mas também carnes e ovos), principalmente na região Sudeste; a redução do consumo de cereais, feijão, raízes e tubérculos, principalmente nas regiões Nordeste e Centro-Oeste; a substituição de gorduras animais (banha, toucinho e manteiga) por óleos vegetais e margarina e o consumo elevado de açúcar em todas as regiões (MONTEIRO, 1995). Recentemente, com base nos dados das POFs realizadas em 1987/88 e 1995/96, foi publicada uma atualização das tendências temporais do consumo alimentar nas regiões metropolitanas do Brasil, revelando, como principais características: o aumento do consumo relativo de carnes e leite e derivados (exceto manteiga) em todas as áreas metropolitanas; o declínio do consumo de ovos, sobretudo no Centro-Sul; a redução do consumo de leguminosas, raízes e tubérculos; a estabilização do consumo de cereais e derivados no Centro-Sul e um discreto aumento no Norte-Nordeste; a redução do consumo de frutas, verduras e legumes; a ascensão do consumo de açúcar refinado e refrigerante; a estabilização do consumo de óleos e gorduras no Norte-Nordeste e uma intensa redução no Centro-Sul (MONTEIRO et al., 2000).

Nossos dados mostram que a alimentação da população estudada tem consumo insuficiente de fibras, consumo elevado de óleos, gorduras, açúcares e carboidratos e um consumo insuficiente de verduras, legumes e frutas.

Relação entre câncer e alimentação

As frutas e as hortaliças têm assumido posição de destaque nos estudos que envolvem a prevenção do câncer. Van Duyn & Pivonka, 2000 destacaram as evidências epidemiológicas de

que o consumo de frutas e hortaliças tem um efeito protetor contra diversas formas de câncer. O referido estudo foi baseado em uma extensa análise de pesquisas epidemiológicas mundiais, realizadas de forma independente por comitês de especialistas do *World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research* e do *Chief Medical Officer's Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy*. Verificaram-se evidências do efeito protetor do consumo de hortaliças e frutas sobre diversos tipos de câncer. Fazendo uma projeção na estimativa de prevenção, pode-se supor que o aumento no consumo de frutas e hortaliças promove uma redução na incidência global de câncer, que varia de 7% a 31%. GALLUS S, 2001 fez um estudo com câncer de esôfago e pulmão e foi demonstrado que mesmo o aumento moderado na ingestão de frutas e hortaliças apresenta proteção significativa, particularmente em indivíduos com consumo inferior a duas porções por dia. Porém, ainda não está claro qual é o determinante anticarcinogênico das frutas e hortaliças, uma vez que são fontes de vitaminas, minerais, fibras, fitoquímicos e de outros componentes.

World Cancer Research Fund, após desenvolver metanálise, envolvendo 129 estudos e analisar outros 13 de caso-controle, considerou convincente a associação das fibras alimentares com a redução do risco de câncer de cólon e reto.

Embora plausível que haja um efeito protetor contra o câncer em alguns tipos de fibras, ainda é necessário maior número de investigações que visem identificar as fontes reais do efeito anticarcinogênico, presentes nas frutas, hortaliças e grãos (BOSTICK RM, 2000). Os resultados das pesquisas que envolvem os fitoquímicos, representam um grande avanço na elucidação do papel preventivo do alimento, no combate ao câncer. Inúmeros fitoquímicos, como isoflavonas (genisteína, daidzeína), lignanas (matairesinol, secoisolariciresinol), terpenos e carotenóides entre outros, presentes em diversos alimentos, são identificados como tendo papel preventivo

contra várias formas de câncer, atuando também em sua progressão. (MASON J , 2000; GREENWALD P, 2001; VAN DUYN MA, 2001; MUCCI LA,2001). Os fitoquímicos podem interferir direta ou indiretamente na prevenção do câncer, uma vez que participam em diversas etapas do metabolismo; por exemplo, atuando como antioxidantes ou na redução da proliferação de células cancerígenas (GREENWALD P, 2001; VAN DUYN MA, 2001; BOSTICK RM, 2000). O papel do lipídio na carcinogênese pode variar de acordo com a origem e composição (GREENWALD P, 2001). A associação positiva entre câncer de mama e ingestão de gorduras é apontada em estudos experimentais demonstrando correlações entre o maior consumo de energia e gorduras dietéticas totais com o aumento do risco de câncer de mama. (COOPER GM, 1993; GREENWALD P,1997; GREENWALD P,1999). Acredita-se que a elevada ingestão de gordura promove aumento na produção de ácidos biliares, que são mutagênicos e citotóxicos (GREENWALD P, 2001). Os compostos N-nitrosos e o nitrato induzem à formação tumoral por meio da sua transformação em nitrito, um óxido desestabilizado, levando ao aumento na produção de radicais livres e lesão celular. O nitrito, que pode ser formado endogenamente, também provém das carnes curadas (conservadas com nitrito de sódio), embutidos e alguns vegetais (espinafre, batata, beterraba, alface, tomate, cenoura, nabo, couve-flor, repolho, rabanete, *etc.*) que contêm nitrato, o qual é transformado em nitrito pela ação da saliva (BUNIN GR ,1998). Métodos de preservação e preparo de carnes, que acarretam a formação de aminas heterocíclicas, além dos nitritos, também foram associados ao maior risco de cânceres do trato gastrointestinal (LANG NP,1994 ROBERTS-THOMSON,1996). Carnes com temperaturas elevadas, produzindo um suco queimado, ou expor a carne diretamente ao fogo, como durante o preparo do churrasco, tem sido desaconselhado pela *World Cancer Research Fund*, por produzir componentes carcinogênicos na superfície do alimento e aumentar o risco de câncer do estômago. A presença de elevada quantidade de benzo [a] pirenos - hidrocarboneto cíclico

aromático nos alimentos, considerado um potente carcinogênico. (ROBERTS-THOMSON,1996).

TAKEZAKI *et al.*2001,observaram em seu estudo um aumento no risco de câncer de pulmão com o consumo de outros alimentos em conserva, conservado em salmoura e a produção de certos tipos de fungos que produzem a aflatoxina, uma substância altamente carcinogênica, sendo apontada como um dos fatores de risco para o desenvolvimento de tumores hepáticos (COOPER GM, 1993).

CHATENOUD L, fez um estudo caso - controle observando a relação entre a frequência de consumo de cereais refinados (pão, massas ou arroz) e do risco de várias neoplasias, entre elas de tiróide. Foram estudados 343 pacientes com câncer da cavidade oral e faringe, 94 com câncer do esôfago, 146 com câncer de laringe, 745 com câncer do estômago, 955 com câncer do cólon, 625 com câncer do reto, e 428 com câncer da tiróide e 3.526 controles. As tendências de risco foram significativas para todas as neoplasias consideradas, aumentando o risco em 2 vezes para câncer de tiróide. MARKAKI I, 2003 analisou o papel da dieta no desenvolvimento de câncer de tiróide, em um estudo caso-controle de 113 casos e 138 controles, pareados por idade e sexo. O consumo de frutas, vegetais e legumes, levou a uma redução do risco do câncer de tiróide. Dados que são equivalentes aos encontrados em nosso estudo.

CONCLUSÃO

Nossos dados favorecem a hipótese de uma influência do gene *PPAR γ 2* na fisiopatogênica do câncer de tiróide. Nossos resultados ainda reforçam que hábitos alimentares, consumo excessivo de gorduras e carboidratos refinados estão diretamente relacionados a obesidade mas a forma como tais hábitos podem influenciar o surgimento do câncer ainda não estão bem esclarecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMIND, K. Aminoacid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Lancet*; 342(2): 828-832,1993.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutation Research, Amsterdam*, v.350, n.1, p.103-108, 1996.

ANJOS, L. A.,Índice de massa corporal (massa corporal.estatura-2) como indicador do estado nutricional de adultos: Uma revisão da literatura. *Revista de Saúde Pública*, 6:431-436, 1992

ARAKI, E. Impact of Natural IRS-1 Mutations on Insulin Signals – Mutations of IRS-1 in the PTB Domain and Near SH2 Protein Binding Sites Result in Impaired Function at Different Steps of IRS-1 Signaling. *Diabetes*; 46: 929-936, 1997.

ARNER, P. Obesity: a genetic disease of adipose tissue? *Br J Nutr*; 83 Suppl 1:S9-16, 2000.

AUTRUP H. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutat Res*. 464: 65 - 76, 2000

BARONI , M.G.; ARCA, M.; SENTINELLI, F.; BUZZETTI, R.; CAPICI, F. LOVARI, S.; VITALE, M.; ROMEO, S.; DI MARIO, U. The G972R variant of the Insulin Receptor Substrate – 1(IRS-1) gene, body fat distribution and insulin – resistance. *Diabetologia*; 44 : 367 – 372, 2001.

BARONI, M.G.; D´ANDREA, M.P.; MONTALLI, A et al A common mutation in the insulin receptor substrate – 1 gene is a genetic marker for the insulin resistance syndrome in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 19: 2975- 2980 , 1999.

BATISTA FILHO, M. & RISSIN, A.. A transição nutricional no Brasil: tendencias regionais e temporais. *Cad. Saúde Pública*, 19(Supl.1): S181-S191., 2003

BEAMER, B. A. Chromosomal Localization and Partial Genomic Structure of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma (hPPAR γ) Gene. *Biochem Biophys Res Commun*; 233(3): 756-59, 1997.

BENGTSSON, C.; LAPRDUS, L.; STHENDAHL, C. et al Hyperuricemia and risk of cardiovascular disease and overall death: a 12 year follow-up of participants in the population study of women in Gothenbourg, Sweden. *Acta Med Scand*; 224: 549 – 55, 2001.

BODIWALA D LUCOMBE CJ, FRENCH ME, LIU S, SAX BY MF, JONES PW, RAMACHANDRANS, FR YER , STRANGE RC. Susceptibility to prostate cancer: studies on interactions between UVR exposure and skin., 2003

BOOLING Hi. Intake of fruits e vegetais? Cancer Causes Control, 2006

BOSTICK RM. Nutrition and colon cancer prevention. *In*: Mason JB, Nitenberg G. Cancer & nutrition: Prevention and treatment. New York: Karger; 2000.

BRUSSAARD JH, LOWIK MR, STEINGRIMSDOTTIR L, MOLLER A, KEARNEY J, DE HENAUW S, BECKER W; EFCOSUM GROUP. A European food consumption survey method--conclusions and recommendations. *Eur J Clin Nutr.* May;56 Suppl 2:S89-94., 2002

BURGUERA B, GHARIB H. Thyroid incidentalomas. Prevalence, diagnosis, significance, and management. *Endocrinol Metab Clin North Am.* Mar;29(1):187-203., 2003

BUNIN GR. Maternal diet during pregnancy and risk of brain tumors in children. *Int J Cancer Suppl* 11:23-1998.

BLUMENKRANTZ, M. Obesity: the world's metabolic disorder[online]. Beverly Hills, 1997.

CALLE, E.E.; THUN, M.J.; PETRELLI, J.M.et al Body mass index and mortality in a prospective cohort of US adults. *N Engl J Med*; 341: 1097 – 105, 2003.

CARBONE M, PASS HI Multistep and multifactorial carcinogenesis: when does a contributing factor become a carcinogen? *Semin Câncer Biol.* 14 (6): 399 - 405, 2004

CHEATHAM.B. & KAHN, C.R. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocrine Reviews*; 16(2) : 117 – 142, 1995

COMMITTEE ON MEDICAL ASPECTS OF FOOD AND NUTRITION POLICY (COMA). *Epidemiology of diet in relation to specific cancers.* London: H.M. Stationery Office; p.80-153. Report on Health and Social Subjects, n.48,1998.

CLAUSEN, J.O. Insulin resistance: interactions between obesity and a common variant of insulin receptor substrate-1. *Lancet*; 346: 397-402,1995.

CLEMENT, K. The Pro12Ala and Pro12Ala PPAR γ gene mutations in type 2 diabetes. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 24(3): 391-3, 2000.

CLERO E, LEUX C, BRINDEL P, TRUONG A.A. Pooled Analysis of Two Case–Control Studies in New Caledonia and French Polynesia of Body Mass Index and Differentiated Thyroid Cancer: The Importance of Body Surface Area *Epidemiology thyroid* , Volume 20, Number 11, 2010

COELI CM, BRITO AS, BARBOSA FS, RIBEIRO MG, SIEIRO AP, VAISMAN M. Incidence and mortality from thyroid câncer in Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol*; 49:503-9., 2005

COUTINHO, D. C.; LEAO, M. M.; RECINE, E.; SICHIERI, R. Condições Nutricionais da população brasileira: adultos e idosos. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição, Brasília, 1991.

COX DR, SKINNER JD, CARRUTH BR, MORAN III J., HOUCK KS. A food variety index for toddlers (VIT): development and application. J Am Diet Assoc; 97(12):1382-88, 1997.

CROSS AJ, PETERS U, KIRSH VA, ANDRIOLE GL, REDING D, HAYES RB, SINHA R. A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. Câncer Res. Dec 15;65(24):11779-84., 2005

COOPER GM. The cancer book. Boston: Jones & Bartlett; 1993.

CRUZ, M. et al. Genes Candidatos como Posibles Marcadores de Susceptibilidad a Diabetes Tipo 2. REB, v.24, n.3,4, p.81-86, 2005.

CUATRECASAS, P. Affinity chromatography and purification of the insulin receptor of liver cell membrane. Proc Natl Acad Sci USA; 69 : 1277 – 1281, 1972.

CZECH, M.P. The nature and regulation of the insulin receptor: Structure and function. Annu. Rev. Physiol., 47:357 – 381,1985.

DIXON H, MULLINS R, WAKEFIELD M, HILL D. Encouraging the consumption of fruit and vegetables by older Australians: an experiential study. *J Nutr Educ Behav*. Sep-Oct;36(5):245-9, 2004

DREWNOWSKI A, HENDERSON SA, SHORE AB, FISCHLER C, PREZIOSI P, HERCBERG S. Diet quality and dietary diversity in France: implications for the French paradox. *J Am Diet Assoc*. Jul;96(7):663-9., 1996

DRINKWATER, NR; SUGDEN, B. SHERMAN, C.D.; LOVE, R.R;BOSCH, F.X. Mecanismos da carcinogênese. EM Hossfeld, D.K.; *Manual de Oncologia Clínica* 5ª ed, p 7-21. Fundação Oncocentro de São Paulo, 1991

EBINA, Y. Replacement of lysine residue 1030 in the putative ATP-binding region of the insulin receptor abolishes insulin-and antibody-stimulated glucose uptake and receptor kinase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 794-808, 1987.

EICHHOLOZER M. Nutrition and câncer *Ther Umsch*. Mar;57(3):146-51., 2000

ENDEF - Estudo Nacional de Despesa Familiar - Ministério da Saúde – WWW.saude.gov.br. Acesso em novembro 2010

FÈVE, B La différenciation adipocytaire: tout un programme. *Médecine / Sciences*; 14: 848 - 57, 1998.

FOTSIS, T. Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis. *Câncer Research*, Baltimore, v.57, n.14, p.2916-2921, 1997.

FRANCISCHI, R.P., KLOPFER, M., PEREIRA, L.O., CAMPOS, P.L., SAWADA, L.A., SANTOS, R., VIEIRA, P., LANCHETA JR, A.H. Efeito da intensidade da atividade física e da dieta hipocalórica sobre consumo alimentar, a composição corporal e a colesterolemia em mulheres obesas. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, Porto Alegre, v.14, n.1, p.1-8, 2000

FREYCHET, P. Insulin receptor in the liver: Specific binding of [¹²⁵I] insulin to the plasma membrane and its relation to insulin bioactivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 68:1833-1837,1971

FROGUEL, P. Genetics of obesity: towards the understanding of a complex. *Presse Med*; 29(10): 564-71,2000.

FURLANETTO TW, PECCIN S, DE O SCHNEIDER MA, DOS S ZIMMER A, DOS REIS PS, GENRO SK, FERREIRA EV, BITTELBRUM F, MULLER AS, SILVA RW, SIQUEIRA II, DA SILVEIRA MF. Prevalence of thyroid nodules in 40 years-old or old women] *Rev Assoc Med Bras*. Oct-Dec;46(4):331-4. Portuguese., 2000

GALLUS S, BOSETTI C, FRANCESCHI S, LEVI F, SIMONATO L, NEGRI E. Oesophageal cancer in women: Tobacco, alcohol, nutritional and hormonal factors. *Br J Cancer*; 85(3):341-5, 2001

GERDES LU, JEUNE B, RANBERG KA, NYBO H, VAUPEL JW Estimation of apolipoprotein E genotype-specific relative mortality risks from the distribution of genotypes in centenarians and middle-aged men: apolipoprotein E gene is a "frailty gene," not a "longevity gene". *Genet Epidemiol.* Oct;19(3):202-10., 2000

GIGANTE, D.P.; BARROS, F.C.; POST, C.L.A. & OLINTO, M.T.A.,. Prevalencia de obesidade em adultos e seus fatores de risco. *Rev. Saúde Pública,* 31(3): 236-46., 1997

GOLDMAN R, SHIELDS PG. Food mutagens. *J. Nutr.* 3: 9655 - 9735, 2003

GRANJA F, MORARI EC, ASSUMPÇÃO LV, WARD LS. GSTO polymorphism analysis in thyroid nodules suggest that GSTO1 variants do not influence the risk for malignancy. *Eur J Cancer Prev.* Jun;14(3):277-80., 2005

GRANJA F, MORARI J, MORARI EC, CORREIA LA, ASSUMPÇÃO LV, WARD LS. GST profiling may be useful in screening for thyroid nodule malignance. *Câncer Lett.,* 209, 129-137,2004

GREENWALD P, SHERWOOD K, MCDONALD SS. Fat, caloric intake, and obesity: Lifestyle risk factors for breast cancer. *J Am Diet Assoc;* 97(7 Suppl): S24-S3, 1997

GREENWALD P, CLIFFORD CK, MILNER JA. Diet and cancer prevention. *Eur J Cancer;* 37(8): 948-65, 2001

GREENWALD P. Role of dietary fat in the causation of breast cancer: Point. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 8(1):3-7,1999.

GRUNDY, S.M. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.67, n.3, p.563S-572S, 1998.

HAGER, J.; ZOUALI, H.; VELHO, G.; FROGUEL P. Insulin receptor substrate (IRS 1) gene polymorphisms in French NIDDM families. *Lancet*; 342: 1430, 1993.

HALPERN, A.; MATOS, A . F. de G.; SUP LIC Y, H. C. ; MANCINI, M. C.; ZANELLA, M. T. *Obesidade*. São Paulo: Lemos Editorial, 1998.

HAVEMAN-NIES A, TUCKER KL, DE GROOT LC, WILSON PW, VAN STAVEREN WA. Evaluation of dietary quality in relationship to nutritional and lifestyle factors in elderly people of the US Framingham Heart Study and the European SENECA study. *Eur J Clin Nutr*. Oct;55(10):870-80.,2001

HAYCOCK GB, SCHWARTZ GJ, WISOTSKY DH. Geometric method for measuring body surface area: A height-weight formula validated in infants, children and adults *J Pediatr*;93:62-66, 1978

HEGEDUS L, BONNEMA SJ, BENNEDBAEK FN. Management of simple nodular goiter: current status and future perspectives. *Endocr Rev*. Feb;24(1):102-32. Review. 2003

HILL, J.O., DROUGAS, H., PETERS, J.C. Obesity treatment: can diet composition play a role? *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, v.119, n.7 (Pt 2), p.694-697, 1993.

HITMAN, G.; HAWRAMI, K.; McCARTHY, M. Insulin receptor substrate – 1 gene mutations in NIDDM; implications for the study of polygenic disease. *Diabetologia*; 38: 481 – 486,1995.

HOTTA, K. Relationships of PPAR γ 2 mRNA levels of obesity, diabetes and hyperinsulinemia in rhesus monkeys. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 22(10): 1000-10,1998.

HU X, JI X, SRIVASRAVA SK, XIA H, AWASTHI S, NANDURI B, AWASTHI YC, ZIMNIAK P, SINGH SV. Mechanism of differential catalytic efficiency of two polymorphic forms of human glutathione S- transferase P1-1 in the glutathione conjugation of carcinogenic diol epoxide of chrysene. *Arch Biochem. Biophys.* 345:32-38, 1997

HU X, O'DONNELL R, SRIVASTAVA SK, XIA H, ZIMNIAK P, NANDURI B, BLEICHER RJ, AWASTHI S, AWASTHI YC, JI X, SINGH SV. Active site architecture of polymorphic forms of human glutathione S-transferase P1-1 accounts for their enantioselectivity and disparate activity in the glutathione conjugation of 7 β ,8 α -dihydroxy-9 α ,10 α -ox y-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene. *Biochem Biophys Res Commun.* Jun 18;235(2):424-8., 1997

IMAI,Y.; FUSCO, A .; SUZUKI, Y. Variant sequences of insulin receptor substrate 1 in patients with noninsulin dependent Diabetes Mellitus. J Clin Endocrinol Metab; 79: 1655 – 1658,1994

INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em:

http://www.inca.gov.br/conteudo_view.aspx?id=2187> Acesso em: 15 de outubro de 2010.

JEBB, S.A. Aetiology of obesity. British Medical Bulletin, London, v.53, n.2, p.264-285, 1997.

JEMAL A, MURRAY T, SAMUELS A, GHAFOR A, WARD E, THUN MJ. Cancer statistics, 2003. CA Cancer J Clin. Jan-Feb;53(1):5-26., 2003

JOHNSON RK. Energia. In: Mahan KL, Escott-Stump S, organizadores. Krause: Alimentos, nutrição & dietoterapia. 10a ed. São Paulo: Roca;. p 18-29. ,2002

KAHN, C.R. Current concepts of the molecular mechanism of insulin action. Annu Ver Med; 36 : 429 – 451, 1985.

KAHN, H.S.; WILLIANSO, D.F.; Abdominal obesity and mortality risk among men in nineteenth – century North America. Int J Obesity; 18: 686 – 91, 1994.

KANT AK. Indexes of overall diet quality: a review. J Am Diet Assoc. Aug;96(8):785-91.Review. ,1996

KAIN, J.; VIO, F. & ALBALA, C. Obesity trends and determinant factors in Latin America. *Cad. Saúde Pública*, 19(supl.1):S77-S86., 2003

KASUGA, M. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-dalton subunit of its own receptor. *Science*, 215:185:187,1982.

KNOBEL M, MEDEIROS-NETO G. Disorders associated to chronic iodine deficiency] *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004 Feb;48(1):53-61. Epub Jun 1. Review. Portuguese,2004

KOCH, C.A.; ANDERSON, D.; MORAN, M.F.; ELLIS, C.; PAWSON, T. SH₂ and SH₃ domains: elements that control interactions of cytoplasmic signalling proteins. *Science*; 252 : 668 – 74, 1991

KREMPLER, F. Plasma Leptin Levels Interaction of Obesity with a Common Variant of Insulin Receptor Substrate-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 18:1686-1690, 1998.

KUSHI LH, BYERS T, DOYLE C, BANDERA EV, MCCULLOUGH M, GANSLER T, ANDREWS KS, THUN MJ; American Cancer Society 2006 Nutrition and Physical Activity Guidelines Advisory Committee. American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin*. Sep-Oct;56(5):254-81; quiz 313-4. Summary for patients in: *CA Cancer J Clin*. Sep-Oct;56(5):310-2., 2006

LAAKSO, M.; MALKKI, M. KEKÄLÄINEN, P.; KUUSISTO, J.; DEEB, S. Insulin receptor substrate-1 variants non insulin dependent diabetes. J Clin Invest; 94: 1141 – 1146,1994.

LANG NP, BUTLER MA, MASSENGILL J, LAWSON M, STOTTS RC, HAUER-JENSEN M, *et al.* Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 3(8):675-82,1994.

LIU S, Semenciw R, Ugnat AM, Mao Y . Increasing thyroid cancer incidence in Canada, 1970–1996: time trends and ageperiod- cohort effects. Br J Cancer 85:1335–1339. doi:10.1054 bjoc.,2001

MASON J, NITENBERG G. Cancer & nutrition: Prevention and treatment. New York: Karger; Nestlé Nutrition Workshop Series and Clinical & Performance Program; n.4,2000..

McGLADE, J.A.; CHENG, G.; PELICCI, P.; PELICCI, G.; PAWSON, T. Shc proteins are phosphorylated and regulated by the v-Src and v-Fps protein-tyrosine Kinases. Proc Natl Acad Sci USA; 89 : 8869 – 73, 1992.

MEIRHAEGHE, A. A genetic polymorphism of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ gene influences plasma leptin levels in obese humans. *Human Molecular Genetics*; 7(3): 435-40,1998.

MIJOVIC T, HOW J, PAYNE RJ. Obesity and thyroid cancer *Front Biosci (Schol Ed)*. Jan 1;3:555-64 ,2011

MONTEIRO CA, MONDINI L, SOUZA ALM, POPKIN BM. Da desnutrição para obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: Monteiro CA. *Velhos e novos males da saúde no Brasil*. 2a ed. São Paulo: Editora Hucitec; p. 247-255, 2000

MONTEIRO, C.A. *Velhos e novos males da saúde no Brasil - A evolução do país e suas doenças*. 1ª ed. HUCITEC - NUPENS/USP, São Paulo, 1995.

MONTEIRO, C. A.; D'AQUINO BENICIO, M. H.; IUNES, R.; GOUVEIA, N. C.; TADDEI, J. A. A. C. & CARDOSO, M. A. A. ENDEF and PNSN: Trends in Physical Growth of Brazilian Children . *Cad. Saúde Públ., Rio de Janeiro*, 9 (supplement 1): 85-95, 1993.

MORARI EC, LEITE JLP, GRANJA F, ASSUMPÇÃO LVM, WARD LS. The null genotype of glutathione S- transferase M1 and T1 locus increases the risk for thyroid câncer. *Câncer Epidemiol Biomarkers prev.*, 11, 1485-1488, 2002

MOSTELLER RD. Simplified calculation of body-surface area. N Engl J Med, 1987

MUCCI LA, TAMIMI R, LAGIOU P, TRICHOPOULOU A, BENETOU V, SPANOS E.
Are dietary influences on the risk of prostate cancer mediated through the insulin-like growth factor system? BJU Int; 87(9):814-20, 2001

MÜNZBERG, H. TAFEL, J.; BÜSING, B. Screening for variability in the gliary neurotrophic factor (CNTF) gene: No evidence for association with human obesity. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes; 106(2): 108-112,1998.

NATIONAL CANCER DATA www.cdc.gov/cancer/cancerburden/; AMERICAN
CANCER SOCIETY www.cancer.org/, National Cancer data, CDC – Centers for Disease
Control and Prevention : [http:// www.cdc.gov/cancer/natlancerdata.htm](http://www.cdc.gov/cancer/natlancerdata.htm). Acesso em
11/2010

NAVARRO SA, MILLER AB, ROHAN TE. Risk factors for thyroid cancer: a prospective cohort study. Int J Cancer 116:433–438. doi:10.1002/ijc.21079, 2005

NAVES MM. Dieta e Prevenção de Câncer. Nutrição em Pauta. Dez, 2006

NIELSEN PS, DE PATERN, OKKELS H, AUTRUP H. Environmental an pollution an DNA adducts in Copenhagen bus drivers - effect of GSTM1 and NAT2 genotypes on adduct levels. Carcinogenesis, 17: 1021 - 1027,1996

NIEDHAMMER I, BUGEL I, BONENFANT S, GOLDBERG M, LECLERC. A Validity of self-reported weight and height in the French Int J Obes Relat Metab Disord 24:1111–1118, 2000

O'NEILL JO. DNA damage repair cell proliferation na DNA replication: how do gene mutations results? Proceeding of the National Academy of Science USA 97:111137-9, 2000

OKADA,T. Essential role of phosphatidylinositol 3'-Kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. J. Biol. Chem., 5: 3568-73,1994.

PANICO S, TAIOLI E, TUMINO R, GARTE S, PELUSO M. Diet, metabolic polymorphisms and dna adducts: the EPIC-Italy cross-sectional study. Int J Cancer. Aug1;87(3):444-51,2000.

PATTERSON RE, HAINES PS, POPKIN BM. Diet quality index: capturing a multidimensional behavior. J Am Diet Assoc; 94(1):57-64., 1994

PEDERSEN, O .Homozygosity of Pro12Ala variant of the perxisome proliferation-activated receptor- γ 2 (PPAR γ 2): divergent modulating effects on body mass index in obese and lean Caucasian men. Diabetologia; 42: 892 – 895, 1999.

PEREIRA,L.O.; FRANCISCHI, R.P.; KLOPFER, M.; SAWADA, L.A; SANTOS, R.; VIEIRA, P.; CAMPOS, P.L.; LANCHI, A H. Obesidade e suas implicações – ação da atividade física e controle nutricional. *Rer Bras Nutr Clin*, 14:9 – 17, 1999.

POF - Pesquisas de Orçamento Familiar - Ministério da Saúde – WWW. saude.gov.br.
Acesso em novembro 2010

PNSN – Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição – Ministério da Saúde – WWW. saude.gov.br. Acesso em novembro 2010

POOL-ZOBEL B, VEERIAH S, BOHMER FD. Modulation of xenobiotic enzymes b anticarcinogens – focus on glutathione S- transferase and their role targets of dietary chemoprevention in colorectal carcinogenesis. *Mutat Res*. 2005 Dec 11;591(1-2):74-92.
Epub 2005

POPKIN, B. M. & DOAK, C. M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutrition Reviews*, Washington DC, v 56, n 4 (Pt 1), p 106-114, 1998.

PPV - Pesquisa de Padrão de Vida- Ministério da Saúde – WWW. saude.gov.br. Acesso em novembro, 2010.

RACETTE, S.B., SCHOELLER, D.A., KUSHNER, R.F., NEIL, K.M., HERLING-IAFFALDANO, K. Effects of aerobic exercise and dietary carbohydrate on energy

expenditure and body composition during weight reduction in obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.61, n.3, p.486-494, 1995.

RENEHAN AG, SOERJOMATARAM I, TYSON M, EGGER M, ZWAHLEN M, COEBERGH JW, BUCHAN I. Incident cancer burden attributable to excess body mass index in 30 European countries *Int J Cancer*. Feb 1;126(3):692-702; 2010

REZZÓNICO, PISAREV MA . Interrelationships between the pancreas and the thyroid *Metab Syndr Relat Disord. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. Oct;17(5):437-9, 2010

RIEUSSET, J. Insulin Acutely Regulates the Expression of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ in Human Adipocytes. *Diabetes*; 48(4): 699-705,1999.

RISTOW, M.; MÜLLER-WIELAND, D.; PFEIFFER, A.;KRONE, W.; KAHN, R. Obesity associated with a mutation in a genetic regulator of adipocyte differentiation. *New Engl Med*; 339(14): 953-959,1998

ROLLS, B.J., SHIDE, D.J. The influence of dietary fat on food intake and body weight. *Nutrition Reviews*, Washington DC, v.50, n.10, p.283-290, 1992.

ROBERTS-THOMSON IC, RYAN P, KHOO KK, HART WJ, MCMICHAEL AJ, BUTLER RN. Diet, acetylator phenotype, and risk of colorectal neoplasia. *Lancet*; 347(9012):1372-4.,1996

SCHLUMBERGER MJ. Diagnostic follow-up of well- differentiated thyroid carcinoma: historical prespective and current status. J Endocrinol Inves 22(11 suppl): 3-7, 1999

SCHOTTENFELDD, BEEBE - DIMMER J.L. Advances in câncer epidemiology: understanding casual mechanisms and the evidence for implementing interventions. Anneral Reviews Public Health 26:37-60,2005

SESTI, G. Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders, The FASEB Journal, v.15, p.2099-2111, 2001.

SIGAL, R.J. Codon 972 Polymorphism in the Insulin Receptor Substrate-1 Gene, Obesity, and Risk of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism; 81(4): 1657-1659,1996.

SIGAL, R.J. Codon 972 Polymorphism in the Insulin Receptor Substrate-1 Gene, Obesity, and Risk of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism; 81(4): 1657-1659,1996.

STAVRIC, B. Antimutagens and anticarcinogens in foods. Food Chemical Toxicology, Oxford, v.32, n.1, p.79-90, 1994.

STEWART AW, JACKSON RT, FORD MA, BEAGLEHOLE R Underestimation of relative weight by use of self-reported height and weight. Am J Epidemiol 125:122–126, 1987

TADDEI, J.A.A.C. Desvios nutricionais em menores de cinco anos: evidências dos inquéritos antropométricos nacionais. Tese apresentada para Concurso de Livre Docência., 2000

TALLINI G. Molecular pathobiology of thyroid neoplasms. *Endocr Pathol.* 13(4): 271-88, 2002

TAN GH, GHARIB H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable modules discovered incidentally on thyroid imaging. *Ann Intern Med.* 1: 126 (3): 226-31, 1977

TAN GH, GHARIB H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable modules discovered incidentally on thyroid imaging. *Ann Intern Med.* 1: 126 (3): 226-31, 1977

THICHOPOULOS D, LI FP, HUNTER DJ. What causes cancer? *Sci Am* ; 275:80-7, 1996

THILLY WG. Have environmental caused oncomutations in people? *Nat Genet.* 34(3): 255 - 9, 2003

TIJHUIS MJ, VISKER MH. Glutathione S-transferase phenotypes in relation to genetic variation and fruit and vegetable consumption in an endoscopy-based population. *Carcinogenesis.* 2006

TOMIMORI E, PEDRINOLA F, CAVALIERE H, KNOBEL M, MEDEIROS-NETO G.
Prevalence of incidental thyroid disease in a relatively low iodine intake area. *Thyroid*.
1995

TUNBRIDGE WM, EVERED DC, HALL R, APPLETON D, BREWIS M, CLARK F,
EVANS JG, YOUNG E, BIRD T, SMITH PA. Lipid profiles and cardiovascular disease in
the Whickham area with particular reference to thyroid failure. *Clin Endocrinol (Oxf)*.
Dec;7(6):495-508.Noabstractavailable., 1977

VALVE, R. Two Polymorphisms in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ
Gene are associated with severe overweight among obese women. *J Clin Endocrinol
Metabolism*; 84(10): 3708-12, 1999.

VAN DUYN MA, PIVONKA E. Overview of the health benefits of fruit and vegetable
consumption for the dietetics professional: Selected literature. *J Am Diet Assoc*;
100(12):1511-21,2000

VANDER JB, GASTON EA, DAWBER TR. Significance of solitary nontoxic thyroid
nodules;preliminaryreport. *N Engl J Med*. 1954 Dec 9;251(24):970-3. No abstract
available.

VASCONCELLOS MT, ANJOS LA. Energy adequacy ratio (intake/requirements) as an indicator of household nutritional assessment: a critical analysis of methods applied to food consumption surveys *Cad Saude Publica*. May-Jun;17(3):581-93, 2001

VERKOOIJEN HN, FIORETTA G, PACHE JC. Diagnostic changes as a reason for the increase in papillary thyroid cancer incidence in Geneva, Switzerland. *Cancer Causes Control* 14:13–17. 2003

VIDAL-PUIG, A. Regulation of PPARgamma Gene Expression by Nutrition and Obesity in Rodents. *J Clin Invest*; 97(11): 2553-2561,1997.

VINEIS P. Câncer as evolutionary process at the cell level: an epidemiological perspective. *Carcinogenesis* 24: 1-6, 2003

VINEIS P. Diet, genetic susceptibility and carcinogenesis. *Public Health Nutr.*: 485 - 91, 2001

VINEIS P. Individual susceptibility to carcinogens. *Oncogene*. 2 (38): 6477 - 83, 2004

VIRKAMÄKI, A.; UEKI,K.; KAHN,C.R. Protein – protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*; 103 : 931 – 43, 1999.

WAHLI, W. Superfamily of steroid nuclear receptors: positive and negative regulators of gene expression. *FASEB J* : 5: 2243 - 49, 1991.

WALADKHANI AR, CLEMENS MR Effect of dietary phytochemicals on cancer development (review) Int J Mol Med. Apr;1(4):747-53,1998

WARD, L.S. Entendendo o Processo Molecular da Tumorigênese, Arq Bras Endocrinol Metab;46/4:351-360, 2002

WATERS, M.D., STACK, H.F., JACKSON, M.A., BROCKMAN, H.E., DE FLORA, S. Activity profiles of antimutagens: in vitro and in vivo data. Mutation Research, Amsterdam, v.350, n.1, p.109-129, 1996.

WCR/AICR- World Cancer Research Foundation/ American Institute for Cancer Research Food nutrition and the prevention of cancer: a global prespective. Washington DC. USA, 1997

WHO - Action Plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases, 2008-2013

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO – Technical Report Series 797). Geneva: WHO; 1990.

WELKER MJ, ORLOV D. Thyroid nodules. Am Fam Physician. Feb 1;67(3):559-66. Review. 2003

WHITE, F.; PERIERA, L.& GARNER, J.B. Associations of body mass index and waist – hip – ratio with hypertension. Canadian Medical Association Journal; 135 : 313 : 320, 1986

WHO Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. (WHO Technical Report, Series, 797) Geneva, 1990.

WHO Measuring obesity: classification and distribution of anthropometric data. Copenhagen: WHO,. (Nutr UD, EUR/ICP/NUT 125), 1989

WHO Obesity - Preventing and managing the global epidemic Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, 3-5 June. P.7-13., 1997

WITCHEL, S.F.; WHITE, C.; SIEGEL, M.E.; ASTON, C.E. Inconsistent effects of the proline12alanine variant of the peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 gene on body mass index in children and adolescents girls. Fertility and Sterility; 76 (4): 741 – 747, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. Geneva; (WHO Technical report Series, 2003

WORLD CANCER RESEARCH FUND. Food, nutrition and prevention of cancer: A global perspective. Washington: American Institute for Cancer Research; p.35-71, 508-40, 1997.

YEN, C-J.;BEAMER,B.A.;NEGRI,C.;SILVER,K. Molecular Scanning of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ (hPPAR γ) Gene in Diabetic Caucasians: Identification of a Pro12Ala PPAR γ 2 Missense Mutation. *Biochem Biophys Res Commun*; 241(2): 270-4,1997.

ZHANG, B. et al Negative regulation of peroxisome proliferator – activated receptor - γ gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor – alfa. *Molecular Endocrinology*; 10 : 1457 – 66, 1996.