Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Associação entre polimorfismos de nucleotídeo único relacionados aos genes da adiponectina, receptor do tipo Toll 4, IL-1β e IL-6 e ingestão de lipídios e seus efeitos sobre um padrão inflamatório sistêmico em um estudo de base populacional– ISA-Capital

Marina Maintinguer Norde

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Nutrição em Saúde para obtenção do título de Mestre em Ciência.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero

São Paulo, 2015

Associação entre polimorfismos de nucleotídeo único relacionados aos genes da adiponectina, receptor do tipo Toll 4, IL-1β e IL-6 e ingestão de lipídios e seus efeitos sobre um padrão inflamatório sistêmico em um estudo de base populacional– ISA-Capital

Marina Maintinguer Norde

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Nutrição em Saúde Pública para obtenção do título de Mestre em Ciência.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero

Versão corrigida

São Paulo, 2015

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Aos meus pais, que fizeram o possível e o inacreditável para me impulsionar na direção dos meus sonhos.

Agradecimento

Ao Marcelo Macedo Rogero pela orientação, preciosos ensinamentos, generosidade e pela amizade.

À Profa. Dirce Maria Lobo Marchioni e à Profa. Regina Mara Fisberg pela oportunidade e pelo acolhimento, além da confiança depositada em mim disponibilizando os dados que possibilitaram a execução deste trabalho.

Ao Prof. José Maria Pacheco por tornar mais fácil o que antes parecia impossível de ser aprendido (estatística) e por ensinar além da disciplina.

À Profa. Inar Alves de Castro pela colaboração nas análises estatísticas e pela recepção sempre acolhedora.

À Profa. Nágila Raquel Teixeira Damasceno e à Profa. Sílvia Maria Franciscato Cozzolino pelas contribuições no exame de qualificação.

À Geni Rodriguez, pelos ensinamentos, pela generosidade, pelo socorro e pela amizade.

À Josiane Steluti, à Jaqueline Pereira e os demais membros do GAC pela disponibilidade e prontidão em esclarecer minhas dúvidas sobre os dados do estudo.

Ao Antônio Augusto Carioca pela generosidade em compartilhar conhecimentos tão valiosos, pelo auxílio indispensável nas análises feitas no laboratório e pela amizade e confiança.

À Érica Oki por ter superado minhas expectativas para uma boa parceira, pela amizade tão especial, pelos ensinamentos e pela paciência.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Genômica Nutricional e Inflamação (GENUIN) pela partilha de conhecimentos e de bons momentos.

Aos meus pais, Sônia e Clodocir, pelo amor e pelo amparo de uma vida e por serem os melhores exemplos que uma filha poderia querer.

À minha irmã, Flávia, pelos ensinamentos a respeito da vida, que começaram antes de seu nascimento, e pelo amor, que é tão grande.

Ao meu lindo, Antoniel, pelo companheirismo, por me ajudar a fazer planos e por trilha-los comigo, me apoiando sempre e por ser o meu melhor lugar do mundo.

Aos amigos da Escola Comunitária de Campinas, principalmente à Julia, ao Renan e à Giovana por crescerem junto comigo (sonho adulto, alma criança), pela amizade desinteressada, pelos momentos de descontração e felicidade e por sempre torcerem por mim.

Às companheiras (e amigas) de república, Lays Braga, Laís Mamede, Marina Piloto, Andressa Manoela Mendes, Patrícia Milanello e Isabela Rocha pela companhia, pela amizade, pelo socorro e preocupação e também pelas risadas e descontrações, por me fazerem me sentir em casa mesmo longe dela.

Aos amigos Júlia Mercedes, Camila Pruper, Antônio Augusto Carioca, Flávia De Conti, Camila Rocha, Bianka e Vinícius Leatti por tornarem os almoços no bandejão mais agradáveis, pelas confraternizações sempre tão cheias de vida, pela amizade e pela companhia ao longo dessa trajetória.

Aos anjos da secretaria da pós-graduação, Alessandra Baya, Vânia Santos e Diego Muras, por compensarem toda minha falta de experiência e por fazerem o que está ao alcance para ajudar sempre.

A todos os funcionários da FSP-USP por tornarem a instituição, pela qual tenho tanto apreço, tão agradável.

À FAPESP pelo auxílio financeiro prestado para que esse trabalho fosse possível e pela concessão da minha bolsa de Mestrado (Processo nº: 2013/01740-8).

"O sentido da vida é encontrar o seu dom.

O propósito da vida é compartilhá-lo."

(Pablo Picasso)

Resumo

Norde MM. **Associação entre polimorfismos de nucleotídeo único relacionados aos genes da adiponectina, receptor do tipo Toll 4, IL-1β e IL-6 e ingestão de lipídios e seus efeitos sobre um padrão inflamatório sistêmico em estudo de base populacional – ISA-Capital**. [Defesa de Mestrado em Nutrição em Saúde Pública]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2015.

Introdução: Evidências experimentais, epidemiológicas e clínicas mostram o papel da inflamação na patogênese de desordens metabólicas, sendo a modulação da resposta inflamatória associada a quantidade e a qualidade dos ácidos graxos (AG) da dieta. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) podem influenciar a relação entre AG e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios. **Objetivo**: Verificar a associação de SNP relacionados aos genes da adiponectina, Receptor do tipo Toll (TLR)-4, interleucina (IL)-1β e IL-6 e ingestão de lipídios com um padrão inflamatório sistêmico, baseado na concentração plasmática de onze biomarcadores inflamatórios em estudo de base populacional – ISA-Capital. **Metodologia**: O presente estudo compreende adultos (20 a 59 anos) do estudo de base populacional, ISA-capital 2008-2010 (n=302). A coleta dos dados dietéticos foi realizada por meio de recordatório de 24 horas, aplicado em duplicata. A partir do plasma, foram determinadas as concentrações plasmáticas de adiponectina, proteína C reativa (PCR), IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, fator de necrose tumoral-alfa, IL-12p70, Quimiocina C-C motif ligante (CCL) 2, molécula de adesão intercelular solúvel (sICAM)-1 e molécula de adesão celular vascular solúvel (sVCAM)-1, por meio da técnica multiplex de imunoensaio, e o perfil de ácidos graxos (AG) do plasma por cromatografia gasosa. A partir do DNA genômico foi realizada a genotipagem dos SNP relacionados aos genes da adiponectina (rs266729, rs17300539, rs16861209, rs1501299 e rs2241766), TLR4 (rs4986790, rs4686791, rs5030728, rs11536889), IL-1β (rs1143623, rs16944, rs1143627, rs1143634 e rs1143643) e da IL-6 (rs1800795, rs1800796, rs1800797) pelo sistema Taqman Open Array. Uma análise multivariada de *Cluster* (k-means) foi realizada para separar os indivíduos legíveis entre grupo inflamado (INF), n=93, e grupo não inflamado (NINF),n=169, segundo a concentração plasmática dos onze

biomarcadores inflamatórios avaliados. **Resultados**: Todos os SNP estavam em equilíbrio de Hardy-Wienberg (n=301). O INF apresentou idade, circunferência da cintura, pressão arterial e concentrações de triacilgliceróis sanguíneo estatisticamente maiores que aqueles observados para o NINF. O INF apresentou concentração plasmática de AG palmítico (C16:0), razões AG saturados (AGS)/AG ômega-6 (n-6) e AGS/ AG poli-insaturados (AGPI) e atividade estimada da enzima estearoil CoA desaturase aumentadas e concentrações plasmática de AGPI, n-6 e AG araquidônico (AA) e atividade estimada da enzima delta-5-dessaturase (D5D) reduzidas em comparação com o NINF. Interações SNP-AG plasmáticos estatisticamente significantes para predisposição ao padrão inflamatório sistêmico foram detectadas entre o SNP +6054 G>A (rs1143643) do gene da IL-1β e os AG esteárico, AA e AGPI e atividade estimada da enzima delta-6-desaturase (D6D); entre o SNP +3725 G>C (rs11536889) do gene do TLR-4 e a razão AA/AG eicosapentaenoico (EPA); entre o SNP +45 T>G (rs2241766) do gene da adiponectina e o AG ômega-3 (n-3); entre o SNP -7734 C>A (rs16861209) do gene da adiponectina e AA; e entre o SNP -11391 G>A (rs17300539) do gene da adiponectina e AGS. Conclui-se que algumas frações dos AG do plasma podem modular a inflamação e que SNP localizados nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 podem interagir com as frações de AG do plasma influenciando a chance de desenvolver uma inflamação sistêmica.

Abstract

Norde MM. **Association between single nucleotide plymorphisms in the genes of adiponectin, Toll like receptor-4, IL-1β and IL-6 and dietary fatty acids and their effects to a systemic inflammatory pattern at a population-based study – ISA-Capital**. [final examination of Master degree in Public Health Nutrition]. São Paulo: School of Public Health of the University of São Paulo; 2015.

Introduction: Experimental, epidemiological and clinical evidences point to a pathogenic role of inflammation on metabolic disorders development, and to the relationship between this inflammatory response and the quantity and quality of dietary fatty acids. Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) can modulate the relationship between fatty acids and plasma inflammatory biomarkers levels. **Objective**: To verify the association between SNP in the genes of adiponectin, TLR-4, IL-1β and IL-6 and dietary fatty acids and their effects to a systemic inflammatory pattern at a population-based study – ISA-Capital. **Methods**: This study sample was composed by adults (20 to 59 years), participants of the population-based study ISA-capital 2008-2010 (n=302). Dietary data was collected using two 24 hours dietary recall. Plasma concentration of adiponectin, C reactive protein, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor-alfa, IL-12p70, Chemokine C-C motif ligand (CCL) 2, soluble intercellular adhesion molecule (sICAM)-1 and soluble vascular cell adhesion molecule (sVCAM)-1 was determined by multiplex immunoassay. Plasma FA profile was determined by gas chromatography. SNP from adiponectin (rs266729, rs17300539, rs16861209, rs1501299 e rs2241766), TLR4 (rs4986790, rs4686791, rs5030728, rs11536889), IL-1β (rs1143623, rs16944, rs1143627, rs1143634 e rs1143643) and IL-6 (rs1800795, rs1800796, rs1800797) gene were genotyped by Taqman Open Array system. A Cluster multivariate analysis (k-means) was conducted to separate individual into inflammatory group (INF), n=93, and non-inflammatory group (NINF), n=169, according to eleven inflammatory biomarkers plasma levels. **Results**: All the SNP were in Hardy-Weinberg equilibrium (n=301). INF had statistically higher age, waist circumference, blood pressure and plasma tryglicerides concentration than NINF. INF presented statistically higher plasma palmitic acid (C16:0) levels, saturated fatty acid (SFA)/omega-6 fatty acid (n-6) ratio and SFA/polyunsaturated fatty acid (PUFA) ratio and estimated stearoil CoA

desaturase activity, and statistically lower plasma PUFA, n-6 and arachidonic acid e (AA) and estimate delta-5-desaturase (D5D) activity in comparison to NINF. Statistically significant SNP-plasma fatty acid interactions were found between SNP +6054 G>A (rs1143643) of IL-1β gene and stearic acid, AA and PUFA and estimate delta-6-desaturase (D6D) activity; between SNP +3725 G>C (rs11536889) of TLR-4 gene and AA/eicosapentaenoic acid (EPA) ratio; between SNP +45 T>G (rs2241766) of adiponectin gene and omega-3 fatty acid (n-3); between SNP -7734 C>A (rs16861209) of adiponectin gene and AA; and between SNP -11391 G>A (rs17300539) of adiponectin gene and SFA. In conclusion, some plasma fatty acid subfractions can modulate inflammation and SNP of adiponectin, TLR-4, IL-1β and IL-6 genes can interact with plasma fatty acids to modulate the chance to develop systemic inflammation.

INDICE

1 INTRODUÇÃO 18
1.1 Transição nutricional e doenças crônicas não transmissíveis 18
1.2 Obesidade, inflamação e doenças crônicas não transmissíveis 19
1.3 Ácidos graxos e inflamação 22
1.4 Perfil de AG do plasma como biomarcador de ingestão 24
1.5 Polimorfismos de nucleotídeo único, inflamação e fatores dietéticos. 26
2 JUSTIFICATIVA 31
3 HIPÓTESE DO ESTUDO 32
4 OBJETIVOS 33
4.1 Objetivo geral 33
4.2 Objetivos específicos 33
5 MÉTODOS 34
5.1 Plano amostral 34
5.2 Avaliação antropométrica 35
5.3 Aferição da pressão arterial 36
5.4 Análise da dieta 36
5.5 Coleta e processamento das amostras de material biológico 36
5.5.1 Uso de Medicamentos 37
5.5.2 Análise de biomarcadores inflamatórios 37
5.5.3 Análise de lipoproteínas do plasma 38
5.5.4 Análise dos ácidos graxos do plasma 38
5.5.5 Genotipagem 40
5.6 Análise estatística 41
5.7 Aspectos éticos da pesquisa 43
6 RESULTADOS 44
6.1 Caracterização da população 44

6.2 Associação entre SNP e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios 48

6.3 Correspondência entre AG da dieta e perfil de AG do plasma 57

6.4 Perfil de AG do plasma e biomarcadores inflamatórios 58

6.5 Comparações entre os grupos.....60

6.6 Interação entre o perfil de AG plasmáticos e SNP sobre as chances para grupo inflamado 65

6.4.1 SNP do gene da IL-1β.....65

6.4.2 SNP do gene do TLR-4 68

6.4.3 SNP do gene da adiponectina.....69

6.4.4 SNP do gene da IL-6.....73

7 DISCUSSÃO 76

8 CONCLUSÃO.....85

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 86

ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização da população, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.....44

Tabela 2. Frequência genotípica e alélica dos SNP presentes nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 na população, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 45

Tabela 3. (Continua) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da Adiponectina, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 50

Tabela 4. (Continua) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene do TLR-4, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 52

Tabela 5. (Continua) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da IL-1β, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.....54

Tabela 6. Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da IL-6, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.....56

Tabela 7. Correlação entre a composição de AG do plasma e da dieta. ISA-capital 2008-2010, São Paulo, Brasil. 57

Tabela 8. Matriz de correlação entre concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e perfil de AG do plasma, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 59

Tabela 9. Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo padrão inflamatório. ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 60

Tabela 10. Comparação dos grupos segundo variáveis antropométricas, biomarcadores sanguíneos e variáveis sócio-demográficas, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.....62

Tabela 11. Comparação de concentrações plasmáticas de ácidos graxos segundo grupos, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 63

Tabela 12. Associação entre SNP do gene da IL-1β e padrão inflamatório, ISA-capital 2008 - 2010, São Paulo. 64

Tabela 13. Associação entre SNP do gene do TLR-4 e padrão inflamatório, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 64

Tabela 14. Associação entre SNP do gene da adiponectina e padrão inflamatório, ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 65

Tabela 15. Associação entre SNP do gene da IL-6 e padrão inflamatório, ISA-capital 2008-2010, São Paulo, Brasil. 65

Tabela 16. OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da IL-1β – ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 67

Tabela 17. OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene do TLR-4 – ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 69

Tabela 18. (Continua) OR (IC95%) para o grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da adiponectina – ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 71

Tabela 19. OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da IL-6 – ISA-capital 2008-2010, São Paulo. 74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene da IL-1β (n=301) e formação de blocos de haplótipos. 46

Figura 2. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene do TLR-4 (n=301) e formação de blocos de haplótipos. 47

Figura 3. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene da adiponectina (n=301) e formação de blocos de haplótipos.. 47

Figura 4. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene da IL-6 (n=301) e formação de blocos de haplótipos. 48

Figura 5. Comparação de médias da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios entre grupos. 61

LISTA DE ABREVIATURAS

IMC	Índice de massa corporal
AGS	Ácido graxo saturado
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
DM2	Diabetes *mellitus* do tipo 2
TNF	Fator de necrose tumoral
IL	Interleucina
CCL2	Quimiocina C-C *motif* ligante 2
PCR	Proteína C reativa
TLR	Receptor do tipo Toll (*Toll like receptor*)
RI	Resistência à ação da insulina
NFκB	Fator de transcrição nuclear κB
IKKβ	Quinase do Inibidor do κB
AP-1	Proteína ativadora-1
JNK	c-Jun-NH2-terminal quinase
SM	Síndrome metabólica
AGT	Ácidos graxos *trans*-insaturados
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
C18:1n-9	Ácido oleico
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
n-6	Ácidos graxos poli-insaturados ômega-6
n-3	Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3
AA	Ácido araquidônico (C20:4 n-6)
PGE_2	Prostaglandina E2
LTB4	Leucotrieno B4
COX	Enzimas ciclooxigenases
LOX	Enzimas lipooxigenases
EPA	Ácido eicosopentaenoico (C20:5 n-3)
DHA	Ácido docosaexaenoico (C22:6 n-3)
LTB5	Leucotrieno B5
R24h	Recordatório de 24 horas

SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único (*Single nucleotide polymorphism*)
Estudo GOLDN	estudo "*Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network"*
ETDA	Etilenodiaminotetracético
sICAM-1	Molécula de adesão intercelular solúvel-1
sVCAM-1	Molécula de adesão de células vasculares solúvel-1
HDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de alta densidade
LDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade
C14:0	Ácido mirístico
C16:0	Ácido palmítico
C16:1 n-7	Ácido palmitoleico
C18:0	Ácido esteárico
C18:2 n-6	Ácido linoleico
C18:3 n-3	Ácido linolênico
C20:3 n-6	Ácido dihomo-γ-linoleico
C22:5 n-3	Ácido docosapentaenoico
AGAI n-3	Ácidos graxos altamente insaturados ômega-3
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
DAC	Doença arterial coronariana
PPAR	Receptor ativado por proliferador de peroxissomos

1 INTRODUÇÃO

1.1 Transição nutricional e doenças crônicas não transmissíveis

Desde o final da década de 1990, tem sido constatado aumento do comportamento sedentário, do consumo de alimentos ricos em ácidos graxos saturados (AGS), açúcar e sódio, além de alterações do comportamento alimentar, que foram acompanhados por elevação do índice de massa corporal (IMC) tanto da população de países desenvolvidos quanto de países em desenvolvimento, gerando aumento significativo da prevalência de obesidade na população mundial (WHO, 2000; POPKIN, 2011 e POPKIN *et al.*, 2012).

No Brasil, um estudo realizado por Monteiro *et al.* (2011) analisou a aquisição de alimentos das famílias brasileiras dos períodos de 1987-1988, 1995-1996 e 2003-2004 e constatou declínio da ingestão de frutas, de hortaliças e de alimentos fontes de fibras alimentares e ascensão da ingestão de cereais e de alimentos com alta densidade energética e elevado teor de lipídios totais, ácidos graxos saturados, açúcares simples e sódio, além de valores reduzidos de proteína e fibra alimentar. Em um segundo estudo, realizado com dados de aquisição de alimentos por domicílio brasileiro entre 2008 e 2009, Canella *et al.* (2014) evidenciaram que os indivíduos que apresentavam um padrão similar àquele supracitado também apresentavam maior IMC médio e maior prevalência de sobrepeso. Pereira *et al.* (2012), utilizando dados da Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil, estimaram que, entre 2008 e 2009, 52% da energia ingerida pelos brasileiros era proveniente de alimentos ricos em ácidos graxos saturados e *trans* e açúcar. Aliado a isso, Simopoulos (2008) relatou aumento do consumo de ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 (n-6) na população mundial.

Acompanhando a tendência mundial, o Brasil registrou, segundo dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônica (VIGITEL) de 2014, prevalência de 52,5% de excesso de peso (IMC ≥ 25 kg/m^2) e 17,9% de obesidade (IMC ≥ 30 kg/m^2) entre a população adulta do país, sendo também possível observar aumento dessa prevalência entre a VIGITEL

realizada em 2013 e aquela realizada em 2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; PORTAL DA SAÚDE SUS, 2015).

Essa crescente prevalência de obesidade, juntamente com a elevada ingestão de determinados ácidos graxos (AG), podem contribuir para o aparecimento de um quadro de inflamação sistêmica, crônica e de baixa intensidade, que está envolvido no desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como doenças cardiovasculares (DCV), câncer, diabetes melito tipo 2 (DM2) e esteatose hepática não alcoólica (LOTTEMBERG *et al.*, 2012 e LUMENG e SALTIEL, 2011), sendo que as três primeiras estão entre as quatro DCNT com maior mortalidade no Brasil (WHO, 2014).

1.2 Obesidade, inflamação e doenças crônicas não transmissíveis

A inflamação é um mecanismo de defesa do organismo contra infecções e lesões teciduais, que envolve interação entre diferentes tipos celulares e síntese de diversos mediadores inflamatórios, como, por exemplo, citocinas e quimiocinas. As citocinas têm função no processo de quimiotaxia, na estimulação da proliferação celular e na ativação de vias inflamatórias intracelulares. Em situações de sobrecarga de nutrientes, a homeostase do sistema imunológico pode ser alterada devido à ativação crônica de diferentes vias de sinalização inflamatória em células do sistema imune, bem como no tecido adiposo, fígado, músculo esquelético, pâncreas e sistema nervoso central, aliada à insuficiente ativação de mecanismos regulatórios dessa resposta inflamatória (ABBAS *et al.*, 2007; GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011).

Indivíduos obesos apresentam concentrações plasmáticas elevadas de biomarcadores inflamatórios — fator de necrose tumoral (TNF)-α, interleucina (IL)-6, IL-8, quimiocina C-C *motif* ligante (CCL) 2 e proteína C reativa (PCR) — em comparação com indivíduos que apresentam IMC entre 18,5 a 25 kg/m^2 (HERDER *et al.*, 2006). Da mesma forma que o IMC, a circunferência da cintura também apresenta associação com a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios (ACKERMANN *et al.*, 2011). Nesse sentido, verifica-se diminuição da concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórios e aumento da concentração

plasmática de adiponectina — uma adipocina com potente ação anti-inflamatória — com a redução do peso corporal e, principalmente, da gordura corporal (GREGOR E HOTAMISLIGIL, 2011). Entre os processos envolvidos no estabelecimento dessa inflamação crônica e de baixa intensidade em indivíduos obesos, destacam-se a hipóxia do tecido adiposo (TRAYHURN, 2013), o estresse do reticulo endoplasmático (GREGOR E HOTAMISLIGIL, 2011), a endotoxemia metabólica (SHEN *et al.*, 2013) e a lipotoxicidade (CAROBBIO *et al.*, 2011).

O aumento da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios em indivíduos obesos está relacionado com elevada infiltração no tecido adiposo de células do sistema imune, como neutrófilos, monócitos, linfócitos T e, mais recentemente estudados, mastócitos e células *Natural Killers* (LEE e LEE, 2014). Essas células, quando estimuladas pelas ações autócrina e parácrina das citocinas pró-inflamatórias, passam a adquirir perfis mais pró-inflamatórios. Nesse sentido, apesar da existência de diversos fenótipos de macrófagos, para fins didáticos, esses fenótipos foram simplificados em um espectro que caminha de um perfil mais antiinflamatório (M2) para um perfil mais pró-inflamatório (M1). O tecido adiposo de indivíduos obesos apresenta maior número de macrófagos M1, ativados de forma clássica, que são caracterizados pela elevada expressão de citocinas pró-inflamatórias e de óxido nítrico quando comparados aos macrófagos M2, os quais são ativados de forma alternativa e caracterizados pela baixa expressão de mediadores pró-inflamatórios e elevada expressão de IL-10 (MATHIS, 2013 e MCNELIS *et al.*, 2014).

Apesar das células do sistema imune exercerem papel principal na inflamação do tecido adiposo, durante o desenvolvimento da obesidade, o excesso de nutrientes pode estimular os adipócitos e pré-adipócitos a induzir o recrutamento dessas células para o tecido, por meio da secreção de moléculas quimiotáticas como a CCL2, o leucotrieno B4 e, mais recentemente descoberta, a semaforina E3 (MCNELIS *et al.*, 2014). Em menor intensidade que as células do sistema imune, adipócitos e pré-adipócitos podem também contribuir para a alteração da concentração plasmática de biomarcadores pró-inflamatórios, uma vez que essas células são capazes de secretar adipocinas, dentre as quais se destacam a leptina, IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α e CCL2 (CALDER *et al.*, 2009). Por outro lado, o tecido

adiposo também secreta a adiponectina, que exerce potente ação anti-inflamatória, de sensibilização à ação da insulina e antiaterogênica (SHEHZAD *et al.*, 2012).

Uma vez na corrente sanguínea, os mediadores inflamatórios provenientes do tecido adiposo podem alcançar outros tecidos onde podem estimular a produção de citocinas e o recrutamento de células do sistema imune (ESSER *et al.*, 2014). Nesse sentido, já existe um número significativo de evidências a respeito da ocorrência da resposta inflamatória nos tecidos hepático e muscular e no pâncreas, bem como na camada íntima de artérias e em regiões do cérebro, como o hipotálamo (LUMENG E SALTIEL, 2011).

Ativadas por receptores de reconhecimento de antígenos, como o *Toll like receptor* (TLR) 2 e 4, por receptores de citocinas, como o receptor de TNF-α, por sinais celulares de estresse do retículo endoplasmático ou espécies reativas de oxigênio, as vias inflamatórias são capazes de inibir a sinalização da insulina, de forma que, em quadros inflamatórios crônicos, esse mecanismo pode gerar resistência à ação da insulina (RI) em tecidos metabólicos (TANTI *et al.*, 2013). Nesse sentido, destacam-se duas principais vias inflamatórias: A via de ativação do fator de transcrição nuclear κB (NF-κB), que ocorre por meio da ativação da proteína quinase do inibidor do κB (IKK-β) e a via de ativação do fator de transcrição proteína ativadora (AP)-1, mediada pela c-Jun-NH_2-terminal quinase (JNK). Tanto a proteína IKK-β como a proteína JNK são capazes de fosforilar a subunidade do receptor de insulina-1 em um resíduo de serina, o que faz com que a sinalização da via da insulina seja prejudicada (SHOELSON *et al.*, 2006).

A RI, juntamente com a inflamação crônica e de baixa intensidade em diferentes tecidos, gera disfunções metabólicas, como dislipidemias, hiperglicemia e hiperinsulinemia, que compõem o diagnóstico de síndrome metabólica (SM) e, mais tardiamente, doenças secundárias à SM, como DCV e DM2 (LUMENG E SALTIEL, 2011; ESSER *et al.*, 2014).

1.3 Ácidos graxos e inflamação

Os AG vêm conquistando papel de destaque em estudos envolvendo inflamação crônica e de baixa intensidade, uma vez que esses nutrientes modulam o metabolismo de eicosanoides, bem como vias de sinalização intracelulares envolvidas com a resposta inflamatória. A atuação de cada AG em diferentes vias metabólicas é dependente do tamanho da cadeia carbônica desses AG e das insaturações nela presentes (CALDER *et al.*, 2009; TVRZICKA *et al.,* 2011).

Os AGS têm cadeias carbônicas sem duplas ligações e, portanto, estruturas espaciais mais lineares quando comparadas com as estruturas das demais classificações de AG. Os AGS, com destaque para o AG láurico e o AG palmítico (C16:0), apresentam a capacidade de se ligarem aos receptores TLR 2 e 4, promovendo ativação das vias pró-inflamatórias IKKβ/NFκB e JNK/AP-1 (HUANG *et al.*, 2012; BIKMAN, 2012). Aliado a esses fatos, o acúmulo intracelular de ceramidas no citoplasma pode favorecer a ocorrência do estresse do retículo endoplasmático e a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) provenientes do estresse mitocondrial, que também provocam a ativação da via de sinalização do NF-κB, ativação do complexo inflamassoma (VANDANMAGSAR *et al.*, 2011), além de bloquear a fosforilação da proteína quinase B (AKT/PKB), a qual promove a translocação do transportador de glicose (GLUT)-4 quando há ativação da via de sinalização da insulina (CHAVEZ E SUMMERS, 2012).

Os ácidos graxos *trans*-insaturados (AGT), por sua vez, são compostos por cadeias carbônicas contendo uma ou mais insaturações, das quais, ao menos uma encontra-se na configuração *trans.* O consumo elevado de AGT está associado ao aumento das concentrações sanguíneas da PCR e da IL-6 (MOZAFFARIAN *et al.*, 2009). Esse efeito dos AGT sobre a inflamação também está relacionado com a ativação da via de sinalização do NF-κB, sendo esta ativação dependente da produção intracelular de ERO em células endoteliais (BRYK *et al.*, 2011) e diminuição de defesas antioxidantes celulares (DHIBI *et al.*, 2011).

Os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), por sua vez, apresentam cadeia carbônica com uma insaturação, sendo o mais abundante da dieta, o ácido oleico (C18:1 n-9), presente no azeite de oliva, em alguns óleos vegetais e oleaginosas.

Em estudos *in vitro* o C18:1 n-9 foi associado com diminuição da secreção de resistina e IL-6 e aumento da secreção de adiponectina a partir de adipócitos. Estudos *in vivo* observaram redução da adiposidade de ratos que receberam dieta hiperlipídica rica em ácido oleico e menor recrutamento de macrófagos e linfócitos para o tecido adiposo desses animais. Em humanos, a ação antiinflamatória observada parece estar relacionada com a substituição de AGS por AGMI e com a função que os AGMI parecem ter sobre a lipólise, por aumentar a fosforilação da lipase hormônio sensível e diminuir a ativação do fator de transcrição SREBP1c (SIRIWARDHANA *et al.*, 2013).

Existem duas principais subdivisões entre os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI): os n-6 e os ácidos graxos ômega-3 (n-3). A diferença entre eles é a localização da insaturação mais distante da carboxila — enquanto a insaturação dos n-6 se encontra entre o 6º e o 7º carbono, contados a partir do último grupo metil da cadeia, a insaturação dos n-3 encontra-se entre o 3º e 4º carbono. Além das diferenças conformacionais, também diferem em suas funções essenciais no organismo (SIMOPOULOS, 2011).

Os ácidos graxos n-6 são precursores do ácido araquidônico (AA), um dos principais constituintes dos fosfolipídios de membrana, a partir do qual ocorre a síntese de mediadores inflamatórios importantes, chamados eicosanoides, como a prostaglandina E2 (PGE2) e leucotrienos de série 4 (LTB4), por meio da ação das enzimas ciclooxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX), respectivamente (CALDER, 2015).

Por sua vez, os ácidos graxos n-3, principalmente aqueles provenientes de peixes que vivem em águas frias, ou seja, ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) apresentam ação anti-inflamatória. Ao serem incorporados aos fosfolipídios de membranas celulares, esses AG passam a ser substrato para as enzimas COX e LOX, promovendo a síntese de prostaglandina E3 (PGE_3), com menor potencial de ativação de vias celulares que a PGE_2 (WADA *et al.*, 2007); leucotrienos de série 5 (LTB5), que apresentam menor ação pró-inflamatória em comparação aos LTB4; e resolvinas, protectinas e maresinas, com ação anti-inflamatória. Além disso, ao se ligarem ao receptor ativado por proliferador de peroxissomos (PPAR)-γ no núcleo celular, ocorre a ativação deste receptor nuclear,

o qual aumenta a transcrição de genes que codificam proteínas com ação antiinflamatória, como a IL-10 e adiponectina, e promove o bloqueio da ligação do fator de transcrição NF-κB ao DNA. Os ácidos graxos EPA e DHA também são capazes de se ligarem ao receptor acoplado à proteína G designado GPR120, cujo fato provoca inibição da via de sinalização do fator de transcrição NF-κB, por meio da redução da atividade da quinase ativada pelo fator de transformação do crescimento β (TAK-1) (CALDER, 2015).

Os ácidos graxos n-6 são abundantes na alimentação contemporânea, estando presentes em sementes, gordura de animais, cuja base da alimentação é grãos, e em ovos. Apesar das enzimas elongases terem preferência por n-3, a grande concentração de n-6 proveniente da dieta faz com que haja uma competição desequilibrada pelo sítio ativo dessas enzimas, o que culmina no metabolismo predominante de n-6, resultando no aumento da produção de AA. Assim, a razão n-6/n-3 da dieta é investigada com o intuito de avaliar a associação dessa competição desse AG pelos mesmos sítios ativos enzimáticos com a inflamação (SIMOPOULOS, 2011).

Os estudos visando avaliar a relação entre AG da dieta e inflamação utilizam diferentes metodologias para quantificar o consumo alimentar desses nutrientes. Dessa forma, os resultados obtidos devem ser avaliados considerando as limitações existentes em cada um dos métodos de avaliação do consumo alimentar (HEDRICK *et al.*, 2012).

1.4 Perfil de AG do plasma como biomarcador de ingestão

Entre os inquéritos alimentares, o recordatório de 24 horas (R24H) se destaca por não restringir os alimentos a serem relatados pelo entrevistado, permitir a participação de indivíduos de diversos graus de alfabetização e por possibilitar a quantificação da ingestão de alguns nutrientes. Entretanto, por trabalhar com informações de natureza subjetiva, esse método possui limitações importantes (FISBERG *et al.*, 2005).

Essas limitações recaem sobre: 1) viés de memória do entrevistado, podendo, muitas vezes, apresentar uma margem grande de sub-relato de ingestão alimentar; 2) grande influência da variabilidade intraindividual do hábito alimentar diário dos indivíduos, sendo necessário que o instrumento seja aplicado um número considerável de vezes para se aproximar da ingestão habitual de alguns nutrientes (VERLY *et al.*, 2010); 3) erros de determinação das tabelas de composição de alimentos e dos softwares que são utilizados para a quantificação de nutrientes a partir das informações coletadas por meio do R24h (CUPPARI e ANÇÃO, 2005).

Visando melhorar o poder de correlação de componentes da dieta com doenças, diversos pesquisadores incentivam o uso de biomarcadores de ingestão. Segundo Hedrick *et al.* (2012), os biomarcadores de ingestão superam os erros de coleta, permitem uma estimativa de ingestão de um nutriente independente de tabelas de composição de alimentos e não são atingidos pela variabilidade intraindividual de ingestão.

Em uma importante revisão publicada em 2013, Tucker *et al.* abordam sobre a utilização de inquéritos alimentares em estudos de nutrigenética e concluem que se deve ter consciência das limitações dos inquéritos alimentares que existem e que a combinação de mais de um método de avaliação do consumo alimentar é interessante para nos aproximar dos dados de ingestão habitual. Nesse sentido, ressaltam a utilização de métodos estatísticos de ajuste pela variabilidade intraindividual e de biomarcadores de ingestão.

Entre os biomarcadores de ingestão de AG, a composição de AG do plasma é um biomarcador de curto a médio prazo (de uma a duas semanas), cujos coeficientes de correlação com a ingestão atingem valores satisfatórios, variando entre os estudos e entre as frações de AG (HODSON *et al.*, 2008).

Muitos estudos tem utilizado o perfil de AG do plasma para avaliar a relação desses AG com a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios (PETTERSON *et al.* 2008, KASKA *et al.* 2014 and PERREAULT *et al.* 2014), bem como com o risco para doenças metabólicas, como DCV (FEZEU *et al.* 2014, WARENSJÖ *et al.* 2008a), DM2 (LAAKSONEN *et al.* 2002) e SM (WARENSJÖ *et al.* 2005 and MAYNERIS-PERXACHS *et al.* 2014).

Como o perfil de AG do plasma é influenciado pelo padrão de AG da dieta e pela síntese endógena de AG, alguns autores também avaliam a associação da atividade estimada de algumas enzimas envolvidas na via de síntese desse nutriente, como a delta-5-dessaturade (D5D), a delta-6-dessaturase (D6D) e a delta-9-dessaturase, também conhecida como estearoil CoA dessaturase (SCD), com a inflamação ou doenças metabólicas (KUROTANI et al., 2012; MAYNERIS-PERXACHS *et al.* 2014; PETTERSON *et al.* 2008; WARENSJÖ *et al.* 2005; WARENSJÖ *et al.* 2008a). Essa estimativa é feita pela razão entre produto e substrato e tem correlação satisfatória com a atividade estimada por métodos laboratoriais (HODSON *et al.*, 2013).

Outro aspecto relevante no estudo da relação entre AG e inflamação é a presença de variações genéticas, as quais podem influenciar na resposta esperada à dieta sobre a concentração plasmática de diferentes biomarcadores inflamatórios. Por esse motivo, estudos têm sido conduzidos com o intuito de associar a presença de polimorfismos em genes que codificam proteínas envolvidas na resposta inflamatória, padrões dietéticos e DCNT (CORELLA e ORDOVAS, 2012).

1.5 Polimorfismos de nucleotídeo único, inflamação e fatores dietéticos.

Para prover melhor entendimento referente às diferentes respostas e resultados observados em estudos epidemiológicos e de intervenções clínicas, os quais se propõem a avaliar o impacto de diferentes fatores dietéticos na saúde, estudos da interação entre o genoma e a alimentação passaram a ser conduzidos. Três principais áreas de pesquisas foram delineadas: a nutrigenômica, que se propõe a estudar a modulação da expressão gênica por nutrientes e compostos bioativos presentes nos alimentos; a epigenômica nutricional, que estuda os mecanismos epigenéticos pelos quais a expressão gênica é regulada, sendo que estes mecanismos não acarretam em alterações na sequência dos nucleotídeos do DNA; e a nutrigenética, que identificar quais variações genéticas geram respostas metabólicas distintas a um determinado padrão alimentar em uma determinada população (FENECH *et al.*, 2011). Cabe destacar que a principal forma de variação genética em seres humanos é representada pelos polimorfismos de nucleotídeo

único (do inglês, *single nucleotide polymorphism* (SNP)), que consistem na troca de uma única base por outra no DNA (ORDOVAS, 2007).

Recentemente, alguns estudos envolvendo nutrigenética têm investigado a associação entre dieta, biomarcadores inflamatórios plasmáticos e SNP presentes em genes que codificam proteínas envolvidas na resposta inflamatória (CORELLA e ORDOVAS, 2012; PHILLIPIS, 2013). Nesse contexto, citam-se os SNP presentes no gene que codifica a IL-1β, a qual tem destacada importância na intensidade da resposta inflamatória, uma vez que essa citocina promove aumento da concentração plasmática de TNF-α, IL-6 e CCL2, aliada ao fato de estar associada ao aumento do risco cardiovascular (NETEA e DINARELLO, 2011; BERRAHMOUNE *et al.*, 2007).

SHEN *et al.* (2007) avaliaram a prevalência de SM e concentrações plasmáticas de alguns biomarcadores inflamatórios (TNF-α, IL-6, PCR e adiponectina) em uma população dos Estados Unidos da América, usuários de serviços de saúde de Mineápolis (Minessota) e Salt Lake (Utah), participantes do estudo de intervenção com fenofibrato "*Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network*" (estudo GOLDN), adulta (média de 49 anos), predominantemente caucasiana, segundo alguns SNP no gene da IL-1β (+6054 G>A; +3966 C>T; -1473 G>C ; -511 G>A e -31 T>C). Além disso, também foi avaliada a concentração de AGPI n-3 na membrana plasmática de eritrócitos desses indivíduos, cuja análise é proporcional à ingestão de AGPI n-3. Esse estudo demonstrou que indivíduos que apresentam os genótipos GA ou GG para o SNP +6054, CC para o SNP -1473 G>C e AA para o SNP -511 G>A tinham maior chance para SM, hipertensão arterial sistêmica e concentração plasmática elevada de PCR, bem como concentração plasmática reduzida de adiponectina. Além disso, evidenciou que a maior concentração de AG n-3 na membrana de eritrócitos parece estar associada à redução da ocorrência de SM nos indivíduos que tinham o alelo G (GG e GA) para o polimorfismo + 6054 G>A, propondo um benefício do n-3 para indivíduos com esses genótipos.

Outra citocina de interesse é a IL-6, a qual apresenta atividade anti-inflamatória quando se liga ao seu receptor (IL-6R) na membrana de células capazes de expressá-lo (hepatócitos e determinadas subpopulações de leucócitos), mas cuja função pró-inflamatória, de ativação da via Janus quinase/Transdutor de

sinal e ativador de transcrição 3 (Jas/STAT3), a qual é evidenciada em doenças inflamatórias crônicas, é decorrente da chamada "*trans*-sinalização", que consiste na ligação da IL-6 à versão solúvel de seu receptor no plasma e esse complexo IL-6-IL-6R, então, é capaz de ativar quase todos os tipos celulares, uma vez que a glicoproteína (GP) 130 de membrana, receptor envolvido na ativação da via Jas/STAT3, é expressa em todos eles (WOLF *et al.*, 2014) No tocante ao estudo de SNP presentes na região promotora do gene que codifica a IL-6, verifica-se que indivíduos portadores dos genótipos CC e CG para o SNP -174 G>C apresentam aumento da concentração plasmática de IL-6 e de outros biomarcadores inflamatórios, como a PCR (VAKILI *et al.*, 2011). RAZQUIN *et al.* (2010), avaliando a população participante do estudo "*Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet*" (PREDIMED), um estudo multicêntrico realizado na Espanha, de intervenção com dieta do mediterrâneo rica em azeite de oliva, que incluiu indivíduos em risco cardiovascular, mostraram que indivíduos homozigoto recessivos para o SNP -174 G>C apresentavam maior peso corporal no momento *baseline* e, após a intervenção, apresentaram perda de peso corporal significativamente maior quando comparados aos indivíduos portadores dos demais genótipos. Uma relação semelhante entre esse SNP e o IMC foi encontrada no estudo de Joffe *et al.* (2014), no qual uma amostra de conveniência de mulheres adultas (entre 18 e 45 anos) obesas residentes da África do Sul foi comparada a uma amostra de mulheres com IMC eutrófico, sendo que ambos os grupos tiveram o consumo alimentar avaliado por meio de questionário de frequência alimentar. Nesse estudo, as mulheres caucasianas portadoras do alelo C para o SNP -174 G>C apresentaram IMC positivamente associado à razão n-6/n-3 da dieta e negatimanete associado às quantidades de EPA e DHA.

Além do estudo de SNP em genes que codificam citocinas pró-inflamatórias, SNP presentes em genes que codificam receptores de reconhecimento de antígenos são alvos promissores de pesquisas na área da nutrigenética. Nesse sentido, destaca-se o SNP presente no gene do TLR4, que acarreta na troca entre os aminoácidos aspartato e glicina (Asp299Gly), cujo fato parece estar associado à menor ativação deste receptor e, consequentemente, à diminuição da resposta inflamatória nos indivíduos que apresentam esta variação (BELFORTE *et al.*, 2013). Vários estudos demonstram a relação entre essa e outras variações desse gene e a

predisposição à obesidade, à RI, ao desenvolvimento de DM2 e à esteatose hepática não alcoólica (WEYRICH, 2010, MANOLAKIS *et al.*, 2010; STEINHARDT *et al.*, 2010). Nesse sentido, o SNP rs5030728 localizado no Intron do gene do TLR4 foi estudado por Cuda *et al.* (2010), sobre a justificativa de ser prevalente na população e estar localizado próximo ao exon 3, podendo interferir na formação do RNA mensageiro e, consequentemente, na conformação e atividade da proteína final. Nesse estudo de delineamento transversal (CUDA *et al*., 2010), indivíduos adultos jovens, recrutados na Universidade de Toronto, com o genótipo GG apresentaram concentração de colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (HDL-c) inversamente proporcional ao consumo de AGS, enquanto os indivíduos heterozigotos apresentaram uma relação inversa, mostrando o efeito que esse SNP pode ter na relação entre a ingestão de AG da alimentação e a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios.

A adiponectina, por sua vez, é uma adipocina com relevante papel anti-inflamatório. Uma meta-analise avaliando estudos conduzidos em populações diversas, que compararam as frequências genotípicas para SNP presentes no gene da adiponectina entre indivíduos com e sem o diagnóstico de DM2, encontrou maior prevalência do genótipo GG e GC para o SNP -11377C>Gindicando assim, predisposição de indivíduos portadores desses genótipos para o desenvolvimento de DM2 (HAN *et al.*, 2011). Outro estudo caso-controle de DM2, realizado com adultos e idosos residentes da mesma região da Tunisia, verificou maior chance de DM2 entre os portadores do alelo G para o SNP -11377 C>G e do alelo A para o SNP -11391 G>A, num modelo aditivo(MITIRAOUI *et al.*, 2012), nesse mesmo estudo, blocos haplotípicos formados pelos SNP rs1681194/rs17300539/rs266729 (haplótipos 222 e 212) e pelos SNP rs2241766/rs1501299/rs2241767/rs3774261 (haplótipo 2221) presentes no gene da adiponectina foram associados à maior chance de desenvolver DM2.Warodomwichit *et al.* (2009), em um estudo transversal com 1083 adultos (com 49 anos de idade em média) participantes do estudo GOLDN, constataram que indivíduos AA+AG para o SNP -11391 G>A apresentaram maior concentração de adiponectina, menor circunferência da cintura e IMC e redução da prevalência de IR (medida pelo HOMA-IR). Quando avaliados sobre a interação SNP-dieta, apenas os indivíduos AA+AG apresentaram risco reduzido para obesidade no percentil mais elevado de ingestão de AGMI. Por sua vez, usando

dados provenientes do estudo de intervenção “MARINA” (Londres, Reino Unido), investigando a resposta de indivíduos de diferentes faixas etárias (entre 45 e 70 anos) e genótipos à suplementação de EPA e DHA (1,51:1), cujas doses diárias variavam entre 0,45g, 0,9g e 1,8g, segundo a concentração plasmática de adiponectina, Alsaleh *et al.* (2013), constataram que indivíduos homozigotos para o alelo T do SNP +45 T>G, com idade acima de 58 anos, suplementados com uma dose de 1,8 g/dia (durante 12 meses) de EPA + DHA (1,51:1) apresentaram aumento de 22% na concentração plasmática de adiponectina.

2 JUSTIFICATIVA

As mudanças no padrão alimentar da população mundial decorrente do fenômeno da transição nutricional acarretaram aumento da ingestão de AGS, AGT e n-6 e diminuição da ingestão de n-3. A ingestão elevada de AGS e AGT, somada a uma razão n-6/n-3 elevada, estão relacionados ao surgimento de inflamação sistêmica, crônica e de baixa intensidade, com aumento da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios, e consequente elevação do risco cardiovascular e outras doenças metabólicas associadas. Entretanto, sabe-se que variações genéticas, como os SNP, podem interferir na relação entre um determinado padrão alimentar e resposta inflamatória, provocando resultados inconclusivos em alguns estudos.

Assim, faz-se necessária a realização de estudos que associem fatores genéticos, dieta e biomarcadores inflamatórios, visando auxiliar a compreensão de variações na resposta individual a um determinado padrão dietético, para, futuramente, contribuir na determinação de recomendações de ingestão diária de macronutrientes e de micronutrientes de uma determinada população em função da sua constituição genética.

Soma-se a isto o fato de que este é um estudo de base populacional, com a realização de inquéritos domiciliares conduzidos periodicamente e com uma amostra representativa da população residente na área urbana do município de São Paulo. Desse modo, a realização do presente estudo é de grande relevância tendo em vista a ausência de estimativas nacionais baseadas em amostras da população geral, com representatividade, em relação à frequência de SNP presentes nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6. Além de avaliar a contribuição dos SNP dos genes de adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 para o desenvolvimento da inflamação crônica de baixa intensidade, a avaliação da ingestão alimentar, realizada por R24h, no estudo ISA-Capital, permitirá investigar, também, a influência da ingestão de lipídeos sobre a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios nos diferentes genótipos estudados.

3 HIPÓTESE DO ESTUDO

A presença dos SNP relacionados aos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 e a ingestão de lipídios influenciam a resposta inflamatória.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Verificar a associação de SNP relacionados aos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 e da ingestão de lipídios com o padrão inflamatório sistêmico, baseado na concentração plasmática de onze biomarcadores inflamatórios em estudo de base populacional – ISA-Capital.

4.2 Objetivos específicos

- Verificar a associação de SNP relacionados aos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 com o padrão inflamatório sistêmico (baseado na concentração plasmática de adiponectina, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL12p70, CCL2, PCR, TNF-α, molécula de adesão intercelular solúvel (sICAM-1) e molécula de adesão de células vasculares solúvel (sVCAM-1)).
- Verificar a associação da ingestão de lipídios, avaliada por meio do perfil de AG plasmáticos, com o padrão inflamatório sistêmico.
- Avaliar a interação entre o perfil de AG plasmáticos e SNP relacionados aos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 sobre as chances para desenvolver um padrão inflamatório sistêmico.

5 MÉTODOS

O presente estudo tem delineamento transversal, de base populacional, realizado por meio de inquérito domiciliar. Foram utilizadas amostras de DNA e de plasma e dados oriundos do projeto “Homocisteína, polimorfismos do gene MTHFR, fatores dietéticos e risco cardiovascular: estudo de base populacional – ISA-Capital”, o qual foi financiado pelo CNPq (processo no. 461176/2008-0) e pela FAPESP (processo no. 2009/15831-0).

5.1 Plano amostral

O estudo ISA-capital 2008/2010 tem amostragem estratificada, por conglomerados, em dois estágios: setores censitários e domicílio. No primeiro momento, 70 setores censitários foram sorteados aleatoriamente entre todos os setores censitários da cidade de São Paulo segundo a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD). Na segunda etapa do processo de amostragem, os domicílios foram selecionados, também aleatoriamente, de forma a compor uma amostra de 1102 indivíduos a cima de 19 anos, de ambos os sexos, que respondessem ao inquérito de saúde.

As informações sobre hábito de fumar, etilismo, prática de atividade física e raça (autorreferida), utilizadas no presente projeto, foram obtidas nos domicílios, por meio de questionários aplicados por entrevistadores previamente treinados, respondidos pelos moradores sorteados. O questionário abrangia questões sobre variáveis demográficas, socioeconômicas, de estilo de vida (atividade física, pelo Questionário Internacional de Atividade Física longo, tabagismo e etilismo), morbidade referida, história familiar de doenças, uso de suplementos e medicamentos.

Entre os indivíduos que responderam ao inquérito de saúde, 750 foram aleatoriamente selecionados para realizar a coleta de sangue, medidas antropométricas e de pressão arterial. Desses 750, aqueles com idade ≥19 anos e <60 anos (n=301) foram incluídos no presente estudo. O tamanho mínimo de 300

indivíduos possibilita estimar uma prevalência de 0,5 com erro de 0,07, níveis de confiança de 95% e um efeito de delineamento de 1,5.

Entre 2008 e 2009, todos os indivíduos incluídos nesse estudo participaram da coleta de dados dietéticos por meio de R24h, utilizando o método *Multiple Pass Method* (MOSHFEGH *et al.*, 2008). Para padronização da coleta de dados foi realizado o treinamento dos entrevistadores para a correta utilização do formulário padrão para aplicação do R24h. Entre o final de 2009 e 2010, o segundo R24h foi feito por telefone em 92% da amostra (n=276), baseando-se no *Automated Multiple-Pass Method*, por estudantes de graduação de nutrição ou nutricionistas, juntamente com o agendamento da coleta de sangue.

Como critério de exclusão para as análises do presente projeto, todos os indivíduos que relataram fazer uso de medicamentos anti-inflamatórios, antirretrovirais e inibidores da absorção de lipídeos no momento da coleta de sangue foram excluídos da amostra, sendo que a amostra final foi de 281 indivíduos.

5.2 Avaliação antropométrica

Para avaliação do peso corporal foi utilizada uma balança eletrônica do tipo plataforma, com capacidade para 150 kg, sensibilidade de 100 gramas, da marca TANITA® (Tanita, Tokyo, Japão). Os indivíduos foram pesados com roupas leves e descalços, posicionados em postura ereta, com os pés inteiramente compreendidos na plataforma da balança, de forma paralela, com braços ao longo do corpo e olhar no horizonte. Para a aferição da altura foi utilizado um estadiômetro com escala em milímetros, da marca Seca bodymeter 208® (SECA, Hambugo, Alemanha), o qual foi fixado na parede. As medidas de altura e peso foram utilizadas para o cálculo de IMC, segundo a seguinte fórmula: Peso (Kg)/altura(m)². A medida da circunferência da cintura foi realizada com a fita métrica posicionada sobre o ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca do indivíduo em pé, com a leitura feita no momento da expiração. Estes dados foram coletados por pesquisadores de campo previamente treinados.

5.3 Aferição da pressão arterial

A pressão arterial foi obtida por meio de aparelho automático (Omron model HEM-712C, Omron Health Care, Inc, USA). Três medidas de pressão arterial foram realizadas com adequação do manguito à circunferência braquial. Os valores finais de pressão sistólica e diastólica (em mmHg) foram considerados aqueles que representam a média aritmética das duas últimas medidas.

5.4 Análise da dieta

Os dados obtidos a partir dos R24h foram transformados em energia e nutrientes pelo programa *Nutrition Data System for Research* (NCC, Minessota, USA). Este software considera os valores dos nutrientes a partir da *USDA National Nutrient Database for Standard Reference* para o cálculo de ingestão alimentar.

Para permitir a estimativa do consumo dietético habitual utilizando o R24h, é necessário remover a variabilidade intrapessoal, que infla a distribuição, distorcendo as medidas percentilares obtidas e atenuando as medidas de efeito (BEATON, 1994). Este ajuste foi feito pelo método Multiple Sourse Method, o qual utiliza a metodologia proposta por Haubock *et al.*(2011).

Os indivíduos com ingestão de energia abaixo do percentil 1 e acima do percentil 99 da distribuição foram excluídos da análise, para eliminar a sub e superestimação do consumo alimentar. O ajuste pela energia foi realizado por porcentagem da Kcal total da dieta.

5.5 Coleta e processamento das amostras de material biológico

Os indivíduos foram instruídos a realizar jejum de 12 h. Anteriormente à coleta de sangue, foi preenchido um “controle da coleta domiciliar”, que entre outras questões, abrangia informações sobre uso de medicamento. A coleta de sangue foi realizada por profissionais especializados, com utilização de materiais descartáveis, no domicílio dos participantes, com agendamento prévio, de acordo com a

disponibilidade dos mesmos, condicionada à assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo participante ou responsável legal (ANEXO 1). Foram coletados 20 mL de sangue, em tubos secos e com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), por meio de punção venosa. Os tubos foram armazenados em isopor com gelo reciclável e transportados à Faculdade de Saúde Pública – USP. Posteriormente, 15 mL do sangue periférico foram centrifugados e processados em alíquotas de soro e de plasma e, em seguida, armazenados em freezer (-80 °C). Para o processo de extração do DNA, foi utilizado o sangue restante (5 mL) coletado em tubos contendo o anticoagulante EDTA.

5.5.1 Uso de Medicamentos

Os nomes dos medicamentos em uso no dia da coleta de sangue foram tabulados e, com base nas informações contidas nas bulas, categorizados por classe terapêutica. Aqueles indivíduos que estavam em uso de medicamentos com ação antiinflamatória (incluindo suplementação de óleo de peixe), antirretroviral ou inibidores da absorção de lipídios foram excluídos da amostra (n=20).

5.5.2 Análise de biomarcadores inflamatórios

As concentrações plasmáticas dos biomarcadores inflamatórios IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IL-12p70, adiponectina, CCL2, sICAM-1 e sVCAM-1 foram determinadas com o auxílio do *kit* Multiplex para imunoensaio (Milliplex, Merck Millipore, MA, USA). Essa tecnologia utiliza microesferas identificadas por graduação de cores (criada por proporções precisas de dois fluoróforos) e revestidas com anticorpos específicos para cada um dos biomarcadores inflamatórios, de forma que cada coloração de esfera é capaz de capturar um biomarcador. Após serem expostas às amostras de plasma, as esferas se ligam aos seus respectivos analitos e, em seguida, reagem com o anticorpo secundário, o qual é marcado com ficoeritina, emitindo fluorescência diretamente proporcional à quantidade de analito capturado. O aparelho que realiza a leitura dessa fluorescência é capaz de identificar a microesfera pela graduação de cor e quantificar essa fluorescência (baseando-se em uma curva padrão), emitindo, automaticamente, uma planilha com o nome dos biomarcadores inflamatórios e sua concentração para cada amostra.

Para a dosagem da PCR, foi utilizada a técnica de turbidimetria cinética, utilizando o kit IMMAGE® (Beckman Coulter, Brea, CA).

5.5.3 Análise de lipoproteínas do plasma

A concentração de triacilglicerol plasmático, colesterol total, colesterol associado à lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e o colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foram dosados pelo laboratório VITAE, por meio de um ensaio colorimétrico enzimático, usando o equipamento Roche Modular Auto Analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, EUA).

5.5.4 Análise dos ácidos graxos do plasma

A etapa de extração dos AG do plasma foi realizada pela adição de 1 mL de solução Metanol/Clorofórmio HPLC (proporção 2:1) à 200 µL de amostra, seguida de centrifugação a 20.000 rpm, por 20 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um tubo PYREX. Esse procedimento foi repetido mais três vezes, sendo os sobrenadantes obtidos em cada lavagem agregados e secos em concentrador de amostras (LABCONCO, Kansas City, USA).

Após passarem pelo procedimento de secagem, as amostras foram submetidas a etapa de esterificação dos AG. Essa etapa consiste na adição de 0,5 mL de hexano HPLC, e 125 uL de metóxido de sódio, seguida de sonicação por 20 min. Em seguida, adiciona-se 2,5 mL de solução de NaCl saturada, sendo a amostra mantida em repouso por 10 mim. Ao término do repouso, adiciona-se 1 mL de hexano PA seguido por agitação em vortex, durante 30 seg. O sobrenadante (fase hexânica) é transferido para um tubo PYREX. A adição de hexano e extração da fase hexânica foi realizada 4 vezes antes do total dos sobrenadantes agregados serem secos e concentrados (LABCONCO, Kansas City, USA).

Após completa secagem, as amostras, agora contendo AG esterificados, foram ressuspensas em 0,25 mL de hexano HPLC, sonicadas durante 5 min e filtradas (Milipore; 0,22µm) diretamente no vial, para serem posteriormente injetadas no cromatógrafo à gás para detecção de ionização de chama.

O cromatógrafo a gás utilizado foi um modelo Shimadzu, CG-2010, equipado com uma coluna capilar DB-FFAP (15 m x 0,100 mm x 0,10 um - J and W Scientific, Agilent Technologies). Como gás de arraste, foi utilizado hidrogênio com fluxo de 0,27 mL/min, com vazão de 35 cm/s e pressão de 187,8 kPa. As taxas de fluxo de ar sintético de 300 mL/min, N_2 e H_2 foram de 30 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 250 °C e 260 °C, respectivamente. A programação de temperaturas da coluna foi de 100 °C inicial, com retenção de 0,5 min, rampa de 25 °C/min a 195 °C, 3 °C/min a 205 °C, 8 °C/min a 230 °C, com retenção de 4 min, 50 °C/min a 245 °C, retendo por 0,5 min. A razão Split utilizada no injetor foi de 1:150. O volume de injeção foi de 2 uL, em injetor automático AOC 20i.

Para determinação do perfil de AG foi utilizado um padrão externo composto de uma mistura de 37 ésteres metil de AG (FAME 37, código 47885, Sigma Chemical Co). Os AG foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção do padrão externo com as amostras e sua quantificação foi realizada por meio de padrão interno *methyl tricosanoate* (C23:0, T9900, Sigma Chemical Co). Os AG analisados foram: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1 n-7), esteárico (C18:0), oleico (C18:1 n-9), linoleico (C18:2 n-6), α-linolênico (C18:3 n-3), dihomo-γ-linoleico (C20:3 n-6), AA (C20:4 n-6), EPA (C20:5 n-3), docosapentaenoico (DPA ou C22:5 n-3) e DHA (C22:6 n-3). Os resultados foram expressos como percentual total de AG presentes na amostra.

A partir dos AG do plasma analisados, foram agrupados em: AGS (C14:0+C16:0+C18:0), AGMI (C16:1 n-7 + C18:1 n-9), AGAI n-3 (EPA+DPA+DHA), n-6 (C18:2 n-6+AA), n-3 (C18:3 n-3+AGAI n-3) e AGPI (n-6+n-3). A partir das frações de AG do plasma, também foram analisadas as seguintes razões: n-6/n-3, AGS/n-6, AGS/n-3, AGS/AGPI, AA/EPA, C16:1/C16:0 (atividade estimada da enzima estearoil CoA Dessaturase (SCD), designada SCD-16), C18:1/C18:0 (atividade estimada da enzima SCD, designada SCD-18), C20:3 n-6/C18:2 n-6 (atividade estimada da enzima delta-6-dessaturase (D6D)), AA/C20:3 n-6 (atividade estimada da enzima delta-5-dessaturase (D5D)).

5.5.5 Genotipagem

5.5.5.1 Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído do sangue total utilizando-se o método de *salting out*, descrito por Miller *et al.* (1988). Após a extração, a integridade do DNA foi visualizada em gel de agarose 1% e sua concentração foi obtida por leitura em espectrofotômetro Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

5.5.5.2 Genotipagem

Foi realizada a genotipagem dos SNP descritos no **Quadro 1.** Todas as etapas do ensaio de genotipagem foram realizadas pela empresa Helixxa Importação, Exportação e Serviços Genômicos Ltda (Campinas, SP), a qual realizou a quantificação do DNA extraído de 302 amostras de sangue total humano, o qual foi coletado com o anticoagulante EDTA. Posteriormente, foi realizado o ensaio de genotipagem por meio do sistema Taqman Open Array (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA, USA), Cabe destacar que o ensaio em questão contou com 20% de repetições das análises dos SNP.

O sistema Taqman® Open Array® (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA, USA) fundamenta-se no método de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, utilizando sondas Taqman® de sequências específicas. As sondas são oligonucleotídeos específicos para uma dada sequência do DNA que será amplificado, no caso, para um SNP de interesse. Localizadas nas extremidades da sonda estão um fluoróforo (na região 5’ da sonda), sendo denominado como molécula repórter ou doadora, e uma molécula *quencher* (localizado na região 3’ da sonda). A molécula repórter doa energia na forma de luz que é captada pela molécula *quencher*, que neutraliza a fluorescência emitida. Durante o ensaio da PCR em tempo real, a sonda hibridiza a sequência complementar com o alelo do SNP de interesse na fita simples do DNA em amplificação. A enzima Taq DNA polimerase cliva essas sondas hibridizadas, degradando-as. Portanto, ocorre a separação da molécula *quencher* da molécula repórter, aumentando exponencialmente a fluorescência, que uma vez gerada é detectada pela plataforma instrumental, indicando a presença do alelo na amostra. Quando a sonda não possui uma ligação perfeita com a região de interesse do DNA amplificado não há clivagem pela enzima

Taq DNA polimerase e, dessa forma, não há emissão de fluorescência. O sistema Taqman® Open Array® apresenta automatização de vários processos descritos acima, possuindo uma baixa manipulação e diminuindo a chance de erros da análise. Além disso, utiliza tecnologia para realizar análises com um volume na ordem de nanolitros, o que reduz a quantidade de amostra necessária para a análise, bem como possibilita a realização de um ensaio com maior precisão e rapidez.

Quadro 1. Descrição dos SNP do projeto**.**

Gene	Símbolo	Polimorfismo	Localização	dbSNP
Adiponectina	*ADIPOQ*	–11377 C→G	Região regulatória	rs266729
Adiponectina	ADIPOQ	-11391 G→A	Região regulatória	rs17300539
Adiponectina	ADIPOQ	-7734 C→A	Região regulatória	rs16861209
Adiponectina	ADIPOQ	+276 G→T	Íntron	rs1501299
Adiponectina	ADIPOQ	+45 T→G	Exon	rs2241766
Interleucina-1β	IL1B	-1473 G→C	Região regulatória	rs1143623
Interleucina-1β	IL1B	-511 G→A	Região regulatória	rs16944
Interleucina-1β	IL1B	-31 T→C	Região regulatória	rs1143627
Interleucina-1β	IL1B	+3966 C→T	Exon	rs1143634
Interleucina-1β	IL1B	+6054 G→A	Íntron	rs1143643
Interleucina-6	IL-6	-596 A→G	Região regulatória	rs1800797
Interleucina-6	IL-6	-572 G→C	Região regulatória	rs1800796
Interleucina-6	IL-6	-174 G→C	Região regulatória	Rs1800795
Receptor do tipo Toll 4	TLR4	+896 A→G	Exon	rs4986790
Receptor do tipo Toll 4	TLR4	+1196 C→T	Exon	rs4986791
Receptor do tipo Toll 4	TLR4	Intronic G→A	Íntron	rs5030728
Receptor do tipo Toll 4	TLR4	+3725 G→C	Exon	rs11536889

5.6 Análise estatística

O teste do qui-quadrado com correção de continuidade foi realizado para determinar se a distribuição genotípica da população seguia o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Para determinação do desequilíbrio de ligação entre SNP de um mesmo

gene e estimativa de blocos haplotípicos foi utilizado o *software Haploview*, versão 4.2 (Broad Institute, Boston, EUA).

Os biomarcadores inflamatórios PCR, IL-1β, lL-6, IL-8, IL-12, adiponectina e os AG C14:0, C16:1 foram transformados por logaritmo na base neperiana (Log_n) para assumirem distribuição gaussiana.

Para analisar a associação entre SNP e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios foi realizada uma análise de regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, hábito de fumar, ingestão de álcool e prática de atividade física moderada, considerando a concentração dos biomarcadores inflamatórios como desfecho e a variável SNP como exposição principal. A variável SNP foi inserida na análise como dicotômica, seguindo modelo recessivo, quando a categoria homozigoto recessivo correspondia a menos de 10% da amostra total. A variável SNP foi inserida na análise com três categorias, seguindo modelo aditivo, quando a categoria homozigoto recessivo correspondia a mais de 10% da amostra total.

Para verificar a correspondência entre a ingestão de AG — medida por meio de R24h — e o perfil de AG do plasma foi realizado o teste de correlação parcial de Pearson, ajustado para sexo, fumo, lipídios totais da dieta e valor calórico total (VCT) da dieta, segundo Hodson *et al.* (2008).

A correlação entre o perfil de AG do plasma e a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios foi estimada pelo coeficiente de correlação parcial de Pearson, o qual foi ajustado por idade, IMC, sexo, hábito de fumar, ingestão de álcool e prática de atividade física moderada.

Aqueles indivíduos que apresentaram concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios acima do percentil 99 foram considerados valores *outliers* (n=19) e excluídos das análises subsequentes.

Com o auxílio de uma análise multivariada de *Cluster* (*K-means*) sobre os dados normalizados dos biomarcadores inflamatórios (k=11) foi possível agrupar os indivíduos (n=262) em dois grupos, de acordo com o padrão inflamatório sistêmico dos mesmos: “não inflamados” (n=169) e “inflamados” (n=93). Essa variável

dicotômica foi utilizada nas análises seguintes. Para a comparação entre os dois grupos foram utilizados o teste χ^2 para variáveis categóricas e o teste t de Student, para variáveis contínuas.

Para responder ao segundo objetivo específico, os indivíduos foram estratificados segundo genótipo (modelo recessivo) e foi empregada uma análise de regressão logística, considerando a variável “padrão inflamatório” como desfecho e o perfil de AG do plasma como exposição principal, ajustada por sexo, idade (categorizada por intervalos de 10 anos), IMC (categorizado pelo ponto de corte de 28,9 Kg/m², o qual delimita risco para desenvolvimento de RI segundo Stern *et al.* (2005)) e fumo. Para tanto, os níveis de cada fração de AG do plasma foram dicotomizados pela mediana. Para verificar a interação entre SNP e AG do plasma, foi adicionado um termo de interação (produto entre SNP e AG plasma dicotomizado) no modelo ajustado. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando o valor de p era menor que 0,05.

5.7 Aspectos éticos da pesquisa

O estudo que originou os dados para o presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública-USP, protocolo de pesquisa número 2001. O projeto citado foi elaborado respeitando os aspectos éticos e requisitos da resolução 196/96 e garantindo a confidencialidade dos dados. A participação foi voluntária, após consentimento esclarecido (**Anexo1**). O presente projeto não prevê coleta de dados adicionais, mas sim análises distintas das previstas no projeto original.

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização da população

Tabela 1. Caracterização da população, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

Variáveis	n total	
Idade	281	40 (20 – 59)
Sexo		
Masculino (%)	281	37,7
Feminino (%)	281	62,3
IMC (Kg/m²)	278	26,3 (5,5)
<18,5		3,2
≥18,5 e <25		43,9
≥25 e <30		31,7
≥30		21,2
Circunferência da cintura (cm)	256	91,9 (14,2)
PAS (mm/Hg)	281	119,9 (17,0)
PAD (mm/Hg)	281	75,6 (12,7)
HDL-c (mg/dL)	278	47,4 (12,0)
LDL-c (mg/dL)	279	111,1 (33,4)
Colesterol Total (mg/dL)	278	185,0 (39,8)
TG (mg/dL)	278	106 (23 – 554)
Fumantes (%)	281	24,6
Consumidores de álcool (%)	281	53,0
Praticantes de atividade física moderada (%)	281	11,7
Raça	281	
Branco (%)		59,4
Negro (%)		5,7
Pardo (%)		33,5
Outros (%)		1,4
Consumo alimentar		
Valor calórico total (Kcal)	280	1700 (609 – 4798)
Lipídeos (g)	280	60,2 (10,6 – 176,2)
AGS (g)	280	19,2 (3,2 – 65,4)
AGMI (g)	280	21,2 (2,4 – 75,1)
AGPI (g)	280	13,7 (3,0 – 57,7)
n-6 (g)	280	12,0 (2,5 – 52,11)
n-3 (g)	280	1,60 (0,36 – 6,02)
EPA (g)	280	0,01 (0,00 – 0,82)
DHA (g)	280	0,02 (0 – 1,56)
Carboidratos (g)	280	209 (37 – 658)
Proteína (g)	280	72,5 (18,1 – 237,4)
Fibras (g)	280	11,0 (1,6 – 46,0)
Sódio (mg)	280	2975 (955 – 9995)
Colesterol (mg)	280	210 (0 – 1098)

HDL-c – colesterol contido na lipoproteína de alta densidade; IMC – Índice de massa corporal; LDL-c – colesterol contido na lipoproteína de baixa densidade; PAD – Pressão arterial diastólica; PAS – Pressão arterial sistólica; TG - triacilglicerol. Valores expressos em média (DP) ou mediana (min-max) para variáveis contínuas e valores expressos em porcentagem para variáveis categóricas.

A tabela 1 apresenta medidas centrais e de dispersão para idade, IMC, circunferência da cintura, pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) da população adulta participante do estudo ISA-capital 2008-2010. Além disso, prevalências de sexo, raça, categorias de IMC, hábito de fumar, consumo de álcool e prática de atividade física moderada estão expressas em porcentagem.

A frequência alélica e genotípica da população considerou de 294 a 301 indivíduos, conforme o sucesso da genotipagem de cada SNP. As frequências, bem como o valor de χ^2 para determinação do equilíbrio de Hardy-Weinberg estão descritos na tabela 2. Cabe destacar que todos os SNP descritos na tabela 2 estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg

Tabela 2. Frequência genotípica e alélica dos SNP presentes nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 na população, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

SNP (n)	rs	Genótipo (%)	Alelo (%)	χ^2 (EHW)
TLR-4 (296)	4986791	CC(93,9); CT(6,1)	C(97,0); T(3,0)	2,19
TLR-4 (296)	4986790	AA(90,2); AG(9,8)	A(95,1); G(4,9)	2,10
TLR-4 (300)	5030728	AA(5,3); AG(44,3); GG(50,3)	A(27,5); G(72,5)	3,99
TLR-4 (300)	11536889	CC(1,7); CG(18,3); GG(80,0)	C(10,8); G(89,2)	0,48
ADIPOQ (295)	2241766	GG(1,7); GT(23,4); TT(74,9)	G(13,4); T(86,6)	0,12
ADIPOQ (298)	16861209	AA(2,0); AC(24,5); CC(73,5)	A(14,3); C(85,7)	0,06
ADIPOQ (298)	17300539	AA(0,7); AG(15,8); GG(86,5)	A(8,6); G(91,4)	0,22
ADIPOQ (299)	266729	CC(57,5); GC(33,1); GG(9,4)	C(74,1); G(25,9)	5,39
ADIPOQ (298)	1501299	TT(11,4); GT(43,0); GG(45,6)	T(32,9); G(67,1)	0,19
IL-1β (300)	1143627	CC(30,3); TC(49,0); TT(20,7)	C(54,8); T(45,2)	0,03
IL-1β (300)	1143643	AA(8,7); GA(43,3); GG(48,0)	A(30,3); G(69,7)	0,25
IL-1β (294)	1143634	CC(1,7); TC(34,7); TT(63,6)	C(19,1); T(80,9)	5,06
IL-1β (301)	1143623	CC(56,8); CG(35,9); GG(7,3)	C(74,7); G(25,3)	0,64
IL-1β(299)	16944	AA(19,1); GA(48,5); GG(32,4)	A(43,3); G(56,7)	0,04
IL-6 (299)	1800795	CC(64,9); CG(30,4); GG(4,7)	C(80,1); G(19,9)	0,49
IL-6 (298)	1800796	GG(79,9); GC(19,1); CC(1,0)	G(89,4); C(10,6)	0,21
IL-6 (300)	1800797	GG(65,7); GA(29,0); AA(5,3)	G(80,2); A(19,8)	2,06

ADIPOQ – gene da adiponectina; EHW – Equilíbrio de Hardy-Weinberg; IL- Interleucina; rs – Registro do SNP; TLR – Receptor do tipo Toll. Frequências genotípicas e alélicas representadas em porcentagem entre parênteses. Última coluna apresenta os valores de Qui-quadrado para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Considerando nível de significância 0,05 e 2 graus de liberdade. SNP que apresentarem χ^2 maior que 5,991 não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

As figuras de 1 a 4 foram obtidas por meio do uso do *software* Haploview, versão 4.2 (Broad Institute, Boston, EUA) e mostram o valor do desequilíbrio de

ligação (R^2), bem como a formação de blocos de haplótipos e suas frequências na população, entre os SNP de cada gene do presente projeto. Vale destacar que os SNP com desequilíbrio de ligação maior que 0,80 foram considerados “tag SNP” e, portanto, apenas um foi escolhido para participar das análises subsequentes. Neste sentido, o SNP rs16944 do gene da IL-1β foi considerado *tag SNP* do SNP rs1143627 e o SNP rs1800795 do gene da IL-6 foi considerado *tag SNP* do SNP rs1800797.

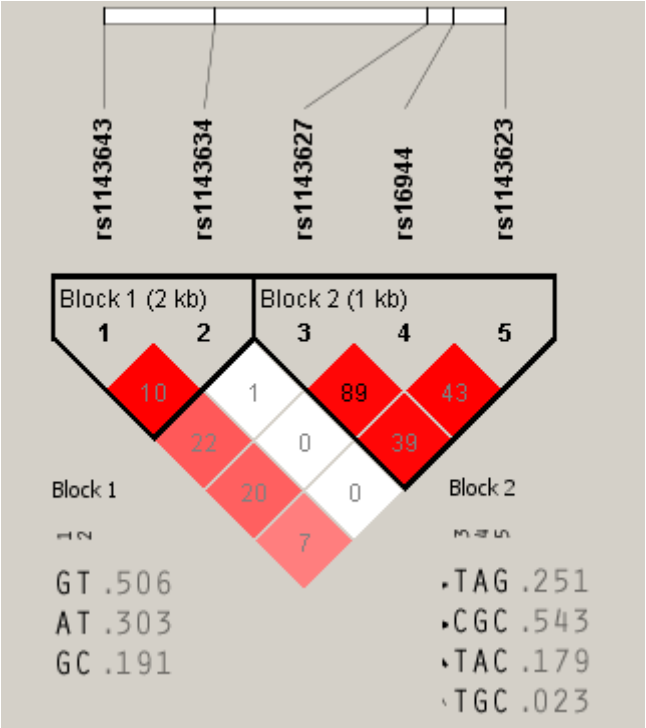

Figura 1. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene da IL-1β (n=301) e formação de blocos de haplótipos. Os valores dentro dos quadrados correspondem ao R^2. Contornos com linhas pretas delimitam os blocos haplotípicos e as frequências de cada bloco estão descritas em números cinza-claro, após a formação alélica dos blocos.

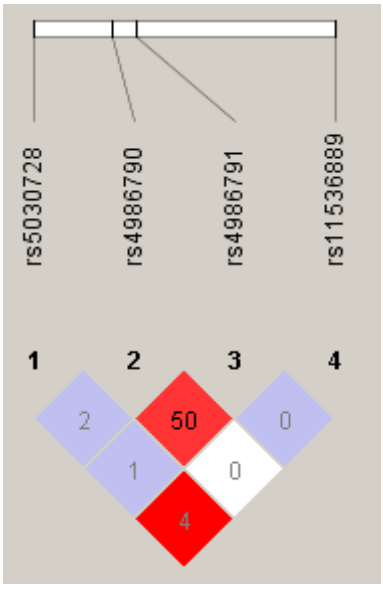

Figura 2. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene do TLR-4 (n=301) e formação de blocos de haplótipos. Os valores dentro dos quadrados correspondem ao R^2.

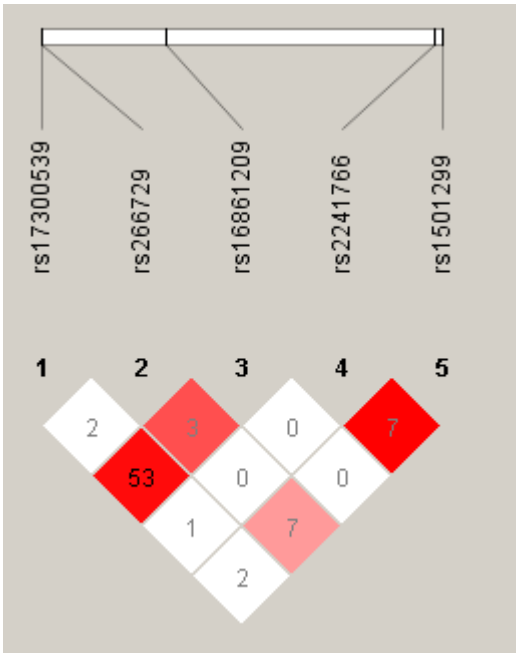

Figura 3. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene da adiponectina (n=301) e formação de blocos de haplótipos. Os valores dentro dos quadrados correspondem ao R^2.

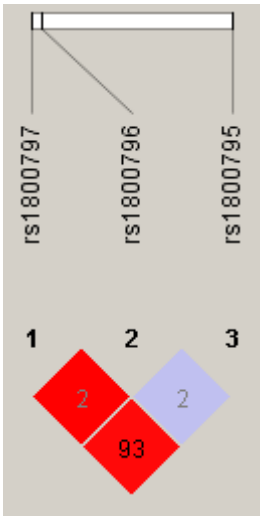

Figura 4. Desequilíbrio de ligação (R^2) entre os SNP do gene da IL-6 (n=301) e formação de blocos de haplótipos. Os valores dentro dos quadrados correspondem ao R^2.

6.2 Associação entre SNP e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios

Os SNP -7734 C>A (rs16861209) e -11391 G>A (rs17300539) do gene da adiponectina foram associados à concentração plasmática de IL-1β, sendo que em ambos os casos os portadores do alelo variante A apresentaram concentração plasmática dessa citocina estatisticamente maior que aquela observada para os indivíduos homozigoto dominantes (Tabela 3).

Com relação aos SNP localizados no gene do TLR-4 (Tabela 4) foi possível observar associação entre os SNP +896 A>G (rs4986790) e +1196 C>T (rs4986791) e a concentração plasmática de sICAM-1, sendo que, em ambos os casos, os indivíduos portadores dos alelos variantes G e T, respectivamente, apresentaram concentração plasmática aumentada desse biomarcador em comparação aos indivíduos homozigoto dominantes. Ainda sobre o gene do TLR-4, o SNP +3725 G>C (rs11536889) foi estatisticamente associado à concentração plasmática de IL-6, sendo que indivíduos GG apresentaram concentração plasmática média estatisticamente maior quando comparados aos indivíduos que carreavam o alelo C. A Tabela 5 mostra os resultados para associação entre SNP do gene da IL-1β e a concentração de biomarcadores inflamatórios. Nesse caso, os carreadores do genótipo GG para o SNP -1474 G>C (rs1143623) apresentaram concentração

aumentada de sVCAM-1 em relação aos portadores do alelo recessivo. Os indivíduos GG para o SNP -511 G>A (rs16944) apresentaram concentração elevada de CCL2 em comparação com indivíduos homozigotos recessivos.

Nenhum SNP localizado no gene da IL-6 apresentou associação estatisticamente significante com a concentração dos biomarcadores inflamatórios (Tabela 6).

Tabela 3. (Continua) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da Adiponectina, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	-11377 C>G (rs266729)			+45 T>G (rs2241766)			-7734 C>A (rs16861209)		
Biomarcadores inflamatórios	CC (n=163)	CG+GG (n=115)	p	TT (n=206)	TG+GG (n=69)	p	CC (n=204)	CA+AA (n=74)	p
PCR (mg/L)	2,0 (0,2 - 28,4)	2,2 (0,2 - 9,4)	0,831	2,2 (0,2 - 28,4)	2 (0,2 - 11,4)	0,800	2,0 (0,2 - 28,4)	2,4 (0,2 - 9,4)	0,850
TNF-α (pg/mL)	5,0 (1,9)	4,7 (1,9)	0,253	4,8 (1,9)	5,0 (1,8)	0,581	4,9 (1,9)	4,9 (2,0)	0,964
IL-8 (pg/mL)	2,5 (0,6 - 13,6)	2,3 (0,2 - 9,4)	0,247	2,5 (0,2 - 13,6)	2,4 (0,6 - 11,4)	0,435	2,5 (0,2 - 13,6)	2,5 (0,35 - 9,4)	0,631
IL-6 (pg/mL)	2,0 (0,2 - 23,9)	2,0 (0,1 - 28,5)	0,379	2,0 (0,1 - 26,0)	1,9 (0,1 - 28,5)	0,683	2,0 (0,1 - 28,5)	1,9 (0,2 - 26,0)	0,992
IL-1β (pg/mL)	0,41 (0,01 - 5,76)	0,34 (0,01 - 3,36)	0,098	0,37 (0,01 - 3,36)	0,41 (0,03 - 5,76)	0,124	0,37 (0,01 - 5,76)	0,50 (0,03 - 3,30)	**0,034**
IL-12 (pg/mL)	4,2 (0,1 - 33,7)	3,6 (0,2 - 74,1)	0,181	3,7 (0,1 - 74,1)	4,2 (0,2 – 19,0)	0,865	3,9 (0,2 - 74,1)	3,9 (0,1 - 63,1)	0,125
IL-10 (pg/mL)	17,9 (11,1)	17,4 (11,7)	0,532	17,1 (11,0)	19,2 (11,5)	0,154	17,5 (11,4)	18,2 (11,2)	0,445
CCL2 (pg/mL)	213 (94)	211 (83)	0,884	208 (88)	220 (92)	0,310	207 (88)	222 (91)	0,409
Adiponectina (µg/mL)	6,2 (1,6 – 3,0)	6,6 (1,6 – 2,8)	0,960	5,9 (1,6 – 29,5)	7,2 (1,6 – 23,7)	0,090	6,4 (1,6 – 29,5)	6,7 (2,0 – 28,1)	0,401
sVCAM-1 (ng/mL)	880 (247)	884 (213)	0,891	880 (247)	884 (213)	0,431	880 (247)	884 (213)	0,411
sICAM-1 (ng/mL)	154 (73)	139 (60)	0,109	154 (73)	139 (60)	0,642	154 (73)	139 (60)	0,672

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

Tabela 3. (Continuação) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da adiponectina, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	-11391 G>A (rs17300539)			+276 G>T (rs1501299)			
Biomarcadores inflamatórios	GG (n=229)	GA+AA (n=48)	p	GG (n=128)	GT (n=119)	TT (n=31)	p
PCR (mg/L)	2,1 (0,2 - 28,4)	1,9 (0,2 - 6,8)	0,502	2,2 (0,2 - 28,4)	1,9 (0,2 - 28,4)	2 (0,2 - 7,1)	0,546
TNF-α (pg/mL)	4,8 (1,8)	4,8 (2,0)	0,504	4,9 (2,0)	4,8 (1,9)	4,7 (1,7)	0,707
IL-8 (pg/mL)	2,5 (0,2 - 13,6)	2,6 (1,1 - 6,8)	0,921	2,5 (0,4 - 13,6)	2,4 (0,2 - 9,6)	2,2 (0,9 - 4,9)	0,083
IL-6 (pg/mL)	2,1 (0,1 - 28,5)	1,9 (0,4 - 26,0)	0,753	2,1 (0,1 - 28,5)	1,9 (0,1 - 26,0)	1,7 (0,4 - 14,7)	0,279
IL-1β (pg/mL)	0,38 (0,01 - 5,76)	0,39 (0,03 - 3,26)	**0,042**	0,41 (0,03 - 5,76)	0,38 (0,01 - 3,36)	0,37 (0,03 - 1,85)	0,314
IL-12 (pg/mL)	4,0 (0,1 - 74,1)	3,3 (0,2 - 63,1)	0,300	3,9 (0,2 - 74,1)	3,9 (0,1 - 63,1)	3,4 (0,8 - 20,7)	0,377
IL-10 (pg/mL)	17,7 (11,4)	17,5 (11,3)	0,744	18,4 (12,0)	17,3 (11,3)	15,5 (3,3)	0,258
CCL2 (pg/mL)	209 (87)	221 (101)	0,734	227 (93)	197 (88)	205 (75)	0,113
Adiponectina (µg/mL)	6,3 (1,6 – 29,5)	7,3 (2,0 – 28,1)	0,310	6,9 (1,6 – 29,5)	6,4 (1,9 – 2,8)	5,5 (2,3 – 15,6)	0,072
sVCAM-1 (ng/mL)	880 (247)	884 (213)	0,830	889 (230)	862 (234)	941 (230)	0,625
sICAM-1 (ng/mL)	154 (73)	139 (60)	0,421	149 (72)	147 (67)	148 (53)	0,733

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

Tabela 4. (Continua) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene do TLR-4, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	+896 A>G (rs4986790)			+1196 C>T (rs4986791)		
Biomarcadores inflamatórios	AA (n=250)	AG+GG (n=26)	p	CC (n=260)	CT+TT (n=16)	p
PCR (mg/L)	2,2 (0,2 - 28,4)	1,8 (0,2 - 13,7)	0,971	2,2 (0,2 - 28,4)	1,8 (0,3 - 9,5)	0,684
TNF-α (pg/mL)	4,9 (2,0)	4,4 (1,4)	0,233	4,9 (1,9)	4,3 (1,2)	0,192
IL-8 (pg/mL)	2,5 (0,2 - 13,6)	2,5 (1,1 - 4,9)	0,454	2,4 (0,2 - 13,6)	2,4 (1,1 - 3,7)	0,351
IL-6 (pg/mL)	2,0 (0,1 - 28,5)	1,8 (0,2 - 8,9)	0,361	2,0 (0,1 - 28,5)	1,7 (0,2 - 4,5)	0,302
IL-1β (pg/mL)	0,38 (0,01 - 5,76)	0,37 (0,03 - 3,3)	0,740	0,38 (0,01 - 5,76)	0,41 (0,12 - 3,3)	0,531
IL-12 (pg/mL)	3,9 (0,1 - 74,1)	3,3 (0,5 - 12,6)	0,522	3,9 (0,1 - 74,1)	3,2 (0,6 - 12,6)	0,634
IL-10 (pg/mL)	18,0 (11,4)	15,7 (10,4)	0,284	17,9 (11,2)	16,2 (12,4)	0,400
CCL2 (pg/mL)	211 (91)	214 (72)	0,949	212 (90)	200 (74)	0,648
Adiponectina (µg/mL)	6,6 (1,6 - 28,1)	5,6 (1,6 - 29,5)	0,872	6,4 (1,6 - 29,5)	6,1 (2,2 - 23,9)	0,817
sVCAM-1 (ng/mL)	882 (230)	886 (276)	0,700	880 (230)	890 (284)	0,987
sICAM-1 (ng/mL)	144 (66)	181 (79)	**0,008**	145 (66)	183 (85)	**0,013**

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

Tabela 4. (Continuação) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene do TLR-4, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	Intronic G>A (rs5030728)			+3725 G>C (rs11536889)		
Biomarcadores inflamatórios	GG (n=138)	GA+AA (n=142)	p	GG (n=224)	GC+CC (n=56)	p
PCR (mg/L)	2,3 (0,2 - 28,4)	2,0 (0,2 - 28,4)	0,971	2,2 (0,2 - 28,4)	1,7 (0,2 - 28,4)	0,700
TNF-α (pg/mL)	4,8 (1,8)	4,9 (2,0)	0,593	4,9 (1,9)	4,7 (1,8)	0,351
IL-8 (pg/mL)	2,4 (0,6 - 9,6)	2,5 (0,2 - 13,6)	0,394	2,5 (0,2 - 13,6)	2,2 (0,6 - 9,4)	0,172
IL-6 (pg/mL)	1,9 (0,1 - 28,5)	2,0 (0,1 - 23,9)	0,962	2,0 (0,1 - 28,5)	1,8 (0,1 - 20,7)	**0,048**
IL-1β (pg/mL)	0,4 (0,03 - 3,3)	0,35 (0,01 - 5,76)	0,540	0,38 (0,01 - 5,76)	0,38 (0,03 - 2,18)	0,133
IL-12 (pg/mL)	4,1 (0,1 - 74,1)	3,7 (0,2 - 52,8)	0,076	3,9 (0,1 - 63,1)	3,6 (0,2 - 74,1)	0,334
IL-10 (pg/mL)	17,7 (10,5)	17,6 (12,1)	0,871	18,0 (11,6)	16,1 (10,1)	0,185
CCL2 (pg/mL)	207 (86)	216 (92)	0,540	213 (94)	205 (67)	0,606
Adiponectina (µg/mL)	6,6 (1,6 - 29,5)	6,1 (1,6 - 28,1)	0,451	6,4 (1,6 - 28,1)	6,5 (2,1 - 29,5)	0,691
sVCAM-1 (ng/mL)	890 (236)	873 (230)	0,343	880 (225)	887 (262)	0,987
sICAM-1 (ng/mL)	149 (70)	147 (66)	0,492	152 (71)	131 (52)	0,054

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

Tabela 5. (Continua) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da IL-1β, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	-1474 G>C (rs1143623)			+3933 C>T (rs1143634)		
Biomarcadores inflamatórios	GG (n=158)	GC+CC (n=122)	p	CC (n=168)	CT+TT (n=106)	p
PCR (mg/L)	2 (0,2 - 28,4)	2,2 (0,2 - 27,8)	0,781	2,1 (0,2 - 27,8)	2 (0,2 - 28,4)	0,332
TNF-α (pg/mL)	4,7 (1,8)	5,0 (2,0)	0,202	4,8 (1,8)	5,0 (2,1)	0,570
IL-8 (pg/mL)	2,5 (0,4 - 13,6)	2,4 (0,2 - 9,4)	0,549	2,4 (0,2 - 11,4)	2,6 (0,6 - 13,6)	0,293
IL-6 (pg/mL)	1,9 (0,1 - 26)	2,1 (0,1 - 28,5)	0,327	1,9 (0,1 - 28,5)	2,1 (0,1 - 26)	0,950
IL-1β (pg/mL)	0,41 (0,01 - 3,36)	0,36 (0,03 - 5,76)	0,505	0,4 (0,01 - 3,3)	0,36 (0,03 - 5,76)	0,930
IL-12 (pg/mL)	3,4 (0,2 - 74,1)	4,3 (0,1 - 33,7)	0,233	3,8 (0,1 - 74,1)	4 (0,2 - 63,1)	0,585
IL-10 (pg/mL)	17,6 (11,4)	17,7 (11,3)	0,640	17,6 (11,4)	17,7 (11,4)	0,910
CCL2 (pg/mL)	209 (87)	215 (93)	0,731	214 (96)	210 (79)	0,916
Adiponectina (µg/mL)	6,2 (1,6 - 28,1)	7 (1,9 - 29,5)	0,130	6,7 (1,6 - 29,5)	5,8 (1,6 - 27,6)	0,534
sVCAM-1 (ng/mL)	906 (226)	849 (238)	**0,020**	889 (239)	867 (213)	0,260
sICAM-1 (ng/mL)	151 (73)	143 (61)	0,161	149 (70)	146 (64)	0,487

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

Tabela 5. (Continuação) Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da IL-1β, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	+6054 G>A (rs1143643)			-511 G>A (rs16944)			
Biomarcadores inflamatórios	GG (n=139)	GA+AA (n=141)	p	GG (n=92)	GA (n=135)	AA (n=51)	p
PCR (mg/L)	1,7 (0,2 - 19,9)	2,6 (0,2 - 28,4)	0,971	2 (0,2 - 28,4)	2,5 (0,2 - 28,4)	1,4 (0,2 - 27,8)	0,229
TNF-α (pg/mL)	4,9 (2,0)	4,9 (1,79)	0,593	4,9 (2,0)	4,9 (1,9)	4,6 (1,8)	0,622
IL-8 (pg/mL)	2,4 (0,6 - 13,6)	2,5 (0,2 - 11,4)	0,394	2,6 (0,4 - 9,5)	2,4 (0,2 - 13,6)	2,4 (0,7 - 7,1)	0,642
IL-6 (pg/mL)	1,8 (0,1 - 26)	2,1 (0,1 - 28,5)	0,962	2 (0,1 - 26)	2,1 (0,1 - 28,5)	1,7 (0,6 - 23,9)	0,947
IL-1β (pg/mL)	0,36 (0,01 - 5,76)	0,41 (0,01 - 3,16)	0,540	0,34 (0,01 - 3,36)	0,41 (0,03 - 5,76)	0,32 (0,03 - 1,73)	0,537
IL-12 (pg/mL)	4,2 (0,1 - 63,1)	3,7 (0,2 - 74,1)	0,076	3,1 (0,3 - 74,1)	4,3 (0,2 - 52,8)	4,2 (0,1 - 33,7)	0,551
IL-10 (pg/mL)	17,4 (11,3)	17,8 (11,4)	0,871	16,5 (10,6)	18,9 (12,0)	16,2 (10,6)	0,838
CCL2 (pg/mL)	201 (74)	222 (101)	0,540	220 (96) [a]	215 (88) [a,b]	189 (78) [b]	**0,026**
Adiponectina (µg/mL)	6,1 (1,6 - 27,6)	6,5 (1,8 - 29,5)	0,451	5,6 (1,8 - 28,1)	7,1 (1,6 - 29,5)	6,3 (1,9 - 27,6)	0,232
sVCAM-1 (ng/mL)	870 (211)	893 (252)	0,343	881 (218)	901 (250)	837 (205)	0,320
sICAM-1 (ng/mL)	150 (67)	146 (69)	0,492	146 (64)	151 (73)	146 (60)	0,900

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05). Letras sobre-escritas diferentes representam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

Tabela 6. Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo SNP presentes no gene da IL-6, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	-174 G>C (rs1800795)			-572 G>C (1800796)		
Biomarcadores inflamatórios	GG (n=178)	GC+CC (n=103)	p	GG (n=227)	GC+CC (n=52)	p
PCR (mg/L)	2,2 (0,2 - 28,4)	2,1 (0,2 - 24,3)	0,090	2 (0,2 - 28,4)	2,2 (0,2 - 25,5)	0,780
TNF-α (pg/mL)	4,8 (2,0)	4,9 (1,8)	0,710	4,80 (1,87)	5,05 (2,06)	0,640
IL-8 (pg/mL)	2,4 (0,2 - 11,4)	2,6 (0,7 - 13,6)	0,440	2,5 (0,6 - 13,6)	2,3 (0,2 - 11,4)	0,310
IL-6 (pg/mL)	1,8 (0,1 - 23,9)	2,1 (0,2 - 28,5)	0,750	2,0 (0,1 - 28,5)	1,8 (0,1 - 7,5)	0,190
IL-1β (pg/mL)	0,37 (0,01 - 5,76)	0,41 (0,01 - 3,26)	0,390	0,38 (0,01 - 5,76)	0,37 (0,01 - 2,56)	0,760
IL-12 (pg/mL)	3,8 (0,1 - 74,1)	3,9 (0,2 - 63,1)	0,550	4 (0,2 - 74,1)	3,7 (0,1 - 52,8)	0,360
IL-10 (pg/mL)	17,2 (11,2)	18,4 (11,5)	0,240	17,77 (11,37)	16,88 (11,05)	0,850
CCL2 (pg/mL)	203 (87)	227 (91)	0,220	210,79 (84,13)	216,06 (110,38)	0,830
Adiponectina (µg/mL)	6,5 (1,6 - 29,5)	6,2 (1,9 - 23,9)	0,450	0 (0 - 0)	5,5 (1,6 - 29,5)	0,270
sVCAM-1 (ng/mL)	876 (223)	896 (248)	0,970	886,09 (231,90)	877,20 (230,44)	0,700
sICAM-1 (ng/mL)	143 (66)	154 (69)	0,850	143,63 (62,81)	164,55 (81,45)	0,120

IL – interleucina; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral. Analise de Regressão linear múltipla, ajustada por idade, IMC, sexo, raça, ingestão de álcool, fumo e atividade física. Valores em negrito destacam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (p<0,05).

6.3 Correspondência entre AG da dieta e perfil de AG do plasma

Para analisar a correspondência entre os resultados de AG da dieta, coletados por meio de R24h, e o perfil de AG do plasma, foram utilizados 300 indivíduos. Com base nos resultados apresentados na Tabela 7, é possível concluir que houve baixa taxa de correspondência entre as variáveis analisadas, sendo que apenas C14:0, C18:3 n-3, DHA e AGS apresentaram correspondência estatisticamente significante, com valores de coeficiente abaixo de 0,22. Diante dessa correspondência insatisfatória, optou-se por usar apenas o perfil de AG do plasma para as análises subsequentes.

Tabela 7. Correlação entre a composição de AG do plasma e da dieta. ISA-capital 2008-2010, São Paulo, Brasil.

Ácidos Graxos	Coeficiente (r)	P
C14:0*	0,14	**0,019**
C16:0	0,11	0,066
C16:1 n-7*	-0,01	0,848
C18:0	0,00	0,968
C18:1 n-9	0,04	0,468
C18:2 n-6	0,10	0,079
C18:3 n-3	0,12	**0,040**
AA	-0,01	0,819
EPA*	0,07	0,248
DPA	-0,01	0,806
DHA*	0,22	**<0,001**
AGS	0,12	**0,047**
AGMI	0,07	0,217
AGPI	0,07	0,257
n-3	0,02	0,701
n-6	0,09	0,116

AA – ácido araquidônico; DHA – ácido docosaexaenoico; DPA – ácido docosapentaenóico; EPA – ácido eicosapentaenoico; AGAI – ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa; AGMI – ácidos graxos monoinsaturados; n-3 – ácidos graxos ômega-3; n-6 – ácidos graxos ômega-6; AGPI – ácidos graxos poli-insaturados; AGS– ácidos graxos saturados. n=300; O coeficiente de correlação parcial de Pearson foi ajustado por sexo, fumo, gordura total da dieta e valor calórico total da dieta (VCT), baseado em Hodson *et al.* (2008). [a] valores transformados por $\log_n$. Valores em negrito destacam correlação estatisticamente significante ($p<0,05$).

6.4 Perfil de AG do plasma e biomarcadores inflamatórios

A Tabela 8 apresenta uma matriz de correlação entre o perfil de AG do plasma e as concentrações plasmáticas dos biomarcadores inflamatórios. A PCR foi associada positivamente às concentrações de AGS e C16:0 e negativamente às concentrações de AGPI, com destaque para n-6 e C18:2 n-6. O TNF-α foi associado negativamente com os ácidos graxos n-3, destacando-se o DHA, e com AA (n-6). A IL-8 foi positivamente associada aos AGMI e suas subfrações, C16:1 n-7 e C18:1 n-9, e negativamente associada aos ácidos graxos n-3, com destaque para EPA e DHA, e ao AA (n-6). Tanto a IL-1β como a IL-12 foram associadas negativamente ao C16:1 n-7.

A IL-10 e a adiponectina — apresentam ação anti-inflamatória — tiveram associação positiva com o C18:0. Além disso, a IL-10 foi negativamente associada às concentrações de C14:0 e a adiponectina foi positivamente associada às concentrações de AA e negativamente associada às concentrações de C18:3 n-3.

As concentrações de n-3 apresentaram associação negativa com a concentração plasmática de sVCAM-1, enquanto as concentrações de AGMI, com destaque para C16:1 n-7, apresentaram correlação positiva com sICAM-1.

Tabela 8. Matriz de correlação entre concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e perfil de AG do plasma, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	AG do plasma (%)														
Biomarcadores inflamatórios	14:0	16:0	16:1n-7	18:0	18:1n-9	18:2n-6	18:3n-3	AA	EPA	DHA	AGS	AGMI	AGPI	n-6	n-3
PCR	0,05 (0,421)	**0,18 (0,001)**	0,04 (0,555)	-0,09 (0,147)	0,06 (0,306)	**-0,13 (0,032)**	-0,07 (0,259)	-0,09 (0,139)	0,04 (0,489)	-0,01 (0,902)	**0,14 (0,021)**	0,06 (0,315)	**-0,14 (0,019)**	**-0,15 (0,017)**	-0,03 (0,631)
TNF-α	0,03 (0,586)	0,10 (0,117)	-0,01 (0,891)	-0,07 (0,273)	0,05 (0,411)	0,05 (0,380)	0,01 (0,880)	**-0,15 (0,014)**	-0,11 (0,078)	**-0,13 (0,041)**	0,06 (0,358)	0,04 (0,495)	-0,07 (0,233)	-0,04 (0,537)	**-0,16 (0,011)**
IL-8	0,06 (0,360)	-0,01 (0,907)	**0,17 (0,006)**	-0,09 (0,163)	**0,13 (0,032)**	0,05 (0,444)	0,07 (0,243)	**-0,19 (0,002)**	**-0,13 (0,032)**	**-0,18 (0,002)**	-0,05 (0,435)	**0,15 (0,016)**	-0,11 (0,082)	-0,07 (0,262)	**-0,18 (0,004)**
IL-6	-0,09 (0,137)	-0,001 (0,935)	-0,01 (0,902)	0,05 (0,432)	0,02 (0,721)	0,02 (0,799)	-0,05 (0,448)	-0,05 (0,461)	-0,09 (0,139)	-0,07 (0,240)	0,01 (0,891)	0,02 (0,777)	-0,02 (0,731)	0,001 (0,979)	-0,09 (0,130)
IL-1β	-0,09 (0,135)	0,01 (0,927)	**-0,15 (0,014)**	0,01 (0,826)	-0,05 (0,409)	0,11 (0,064)	0,04 (0,542)	-0,04 (0,504)	-0,06 (0,346)	0,002 (0,998)	-0,002 (0,974)	-0,07 (0,226)	0,07 (0,255)	0,08 (0,200)	-0,01 (0,839)
IL-12	-0,10 (0,120)	0,01 (0,877)	**-0,13 (0,033)**	-0,01 (0,912)	-0,03 (0,596)	0,09 (0,139)	0,04 (0,537)	-0,01 (0,892)	-0,09 (0,141)	-0,04 (0,572)	-0,01 (0,858)	-0,06 (0,373)	0,06 (0,350)	0,08 (0,221)	-0,05 (0,410)
IL-10	**-0,19 (0,001)**	-0,01 (0,835)	-0,09 (0,128)	**0,13 (0,037)**	-0,02 (0,629)	0,06 (0,361)	-0,10 (0,103)	-0,05 (0,557)	-0,07 (0,237)	0,03 (0,597)	0,03 (0,617)	-0,05 (0,467)	0,02 (0,713)	0,03 (0,585)	-0,04 (0,569)
CCL2	0,10 (0,097)	0,11 (0,081)	0,06 (0,306)	-0,07 (0,229)	0,01 (0,837)	-0,02 (0,687)	0,03 (0,657)	-0,08 (0,221)	0,03 (0,585)	-0,07 (0,275)	0,07 (0,225)	0,02 (0,700)	-0,07 (0,273)	-0,06 (0,296)	-0,03 (0,607)
Adiponectina	-0,05 (0,385)	0,01 (0,891)	0,09 (0,167)	**0,14 (0,019)**	-0,08 (0,175)	-0,11 (0,062)	**-0,24 (<0,01)**	**0,17 (0,005)**	0,03 (0,590)	0,02 (0,704)	0,08 (0,174)	-0,05 (0,373)	-0,003 (0,996)	0,004 (0,943)	-0,02 (0,769)
sVCAM-1	-0,04 (0,521)	-0,07 (0,234)	0,10 (0,101)	0,02 (0,749)	0,06 (0,340)	0,001 (0,979)	-0,05 (0,380)	0,04 (0,555)	-0,11 (0,085)	-0,10 (0,107)	-0,06 (0,299)	0,07 (0,249)	-0,03 (0,662)	0,01 (0,942)	**-0,13 (0,037)**
sICAM-1	0,08 (0,181)	-0,06 (0,290)	**0,20 (0,001)**	-0,02 (0,749)	0,12 (0,056)	-0,03 (0,634)	0,07 (0,240)	-0,10 (0,094)	-0,06 (0,360)	0,01 (0,906)	-0,06 (0,338)	**0,14 (0,02)**	-0,10 (0,119)	-0,08 (0,180)	-0,08 (0,195)

Valores são coeficiente parcial de correlação de Pearson, ajustado por idade, IMC, sexo, hábito de fumar, consumo de álcool e prática de atividade física moderada (valor de p). Valores em negrito destacam correlações estatisticamente significantes (p<0,05).

6.5 Comparações entre os grupos

A Tabela 9 e a Figura 5 mostram as concentrações plasmáticas dos onze biomarcadores inflamatórios nos dois grupos avaliados. É possível constatar que o grupo inflamado apresentou concentrações plasmáticas de PCR, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, CCL2 e sICAM-1 estatisticamente maiores em comparação com o grupo não inflamado, sendo que apenas o biomarcador adiponectina apresentou concentração plasmática estatisticamente menor no grupo inflamado quando comparado com o grupo não inflamado.

Tabela 9. Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios segundo padrão inflamatório. ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

Biomarcadores inflamatórios	Não Inflamado (n=169)	Inflamado (n=93)	p
PCR (mg/L)	1,7 (0,2 – 28,4)	3,6 (0,2 – 28,4)	**<0,001**
TNF-α (pg/mL)	3,9 (1,2)	6,5 (1,7)	**<0,001**
IL-8 (pg/mL)	2, 0 (0,2 – 6,6)	3,5 (0,4 – 9,6)	**<0,001**
IL-6 (pg/mL)	1,5 (0,1 – 7,0)	3,0 (0,8 – 26,0)	**<0,001**
IL-1β (pg/mL)	0,30 (0,01 – 1,62)	0,81 (0,01 – 5,76)	**<0,001**
IL-12 (pg/mL)	3,1 (0,1 – 13,3)	5,9 (0,2 – 74,1)	**<0,001**
IL-10 (pg/mL)	13,6 (7,6)	24,5 (12,5)	**<0,001**
CCL2 (pg/mL)	189 (76)	253 (100)	**<0,001**
Adiponectina (ng/mL)	7123 (1591 - 28117)	4625 (1765 - 16068)	**<0,001**
sVCAM-1 (ng/mL)	851 (234)	908 (208)	0,054
sICAM-1 (ng/mL)	138 (56)	167 (78)	**<0,001**

IL – Interleucinas; CCL2 – Quimiocina C-C *motif* ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral; sVCAM – Molécula de adesão celular vascular solúvel. Valores apresentados em média (DP) ou mediana (min – max) no caso das variáveis transformadas por $\log_n$. Comparação de médias por teste T de *Student*. Valores de p em negrito representam diferenças estatisticamente significantes (p<0,05).

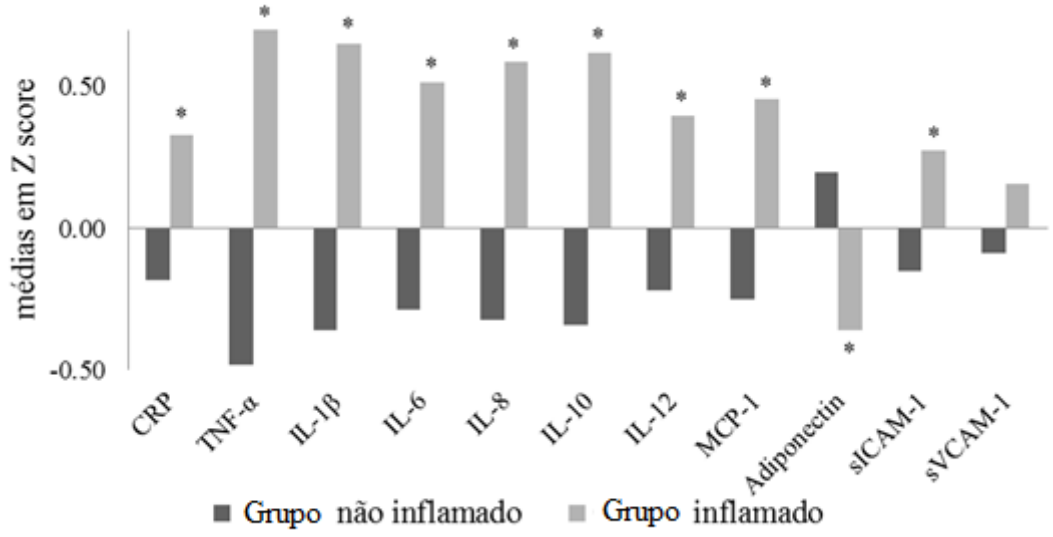

Figura 5. Comparação de médias da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios entre grupos. IL – Interleucinas; CCL2 – Quimiocina C-C motif ligante 2; PCR – Proteína C reativa; sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel; sVCAM-1 – Molecula de adesão de células vasculares solúvel; TNF – Fator de necrose tumoral; sVCAM – Molécula de adesão celular vascular solúvel. Comparação de médias por teste T de Student. *p<0,05.

Além da diferença na concentração plasmática dos biomarcadores inflamatórios, os indivíduos pertencentes ao grupo inflamado também apresentaram idade, circunferência da cintura, PAS, PAD e concentrações plasmáticas de triacilglicerois significativamente maiores quando comparados aos indivíduos do grupo não inflamado. Os indivíduos pertencentes ao grupo inflamado apresentaram maior proporção de fumantes (30,2%) em comparação ao grupo não inflamado (20,1%) e a essa diferença entre grupo inflamado e não inflamado foi estatisticamente significante (Tabela 10).

Tabela 10. Comparação dos grupos segundo variáveis antropométricas, biomarcadores sanguíneos e variáveis sócio-demográficas, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

Variáveis	Não inflamado (n=169)	Inflamado (n=93)	p
Idade (anos)	35 (20 – 59)	43 (20 – 59)	**<0,001**
Sexo			
Masculino (%)	36,1	41,9	0,352
Feminino (%)	63,9	58,1	
IMC (Kg/m²)	25,7 (4,6)	27,0 (6,4)	0,060
Circunferência da cintura (cm)	90,0 (12,8)	94,0 (15,8)	**0,030**
PAS (mm/Hg)	117,4 (13,8)	123,1 (20,1)	**0,007**
PAD (mm/Hg)	73,5 (11,3)	78,6 (14,2)	**0,002**
HDL-c (mg/dL)	48,1 (12,1)	45,9 (11,3)	0,150
LDL-c (mg/dL)	112,0 (33,9)	112,3 (33,4)	0,943
Colesterol total (mg/dL)	183,3 (41,6)	189,1 (37,9)	0,269
TG (mg/dL)	101 (23 – 427)	120 (49 – 554)	**0,002**
Fumantes (%)	20,1	30,1	**0,045**
Consumidores de álcool (%)	49,1	60,2	0,085
Praticantes de AF moderada (%)	14,2	8,6	0,185
Raça autodeclarada branca (%)	59,2	58,1	0,862
Consumo alimentar			
Valor calórico total (Kcal)*	1726 (609 – 4798)	1706 (686 – 4476)	0,926
Lipídeos (g)*	59,9 (10,6 – 169,3)	63,5 (15,9 – 176,2)	0,378
AGS (g)*	19,5 (3,2 – 65,4)	19,3 (4,8 – 60,2)	0,410
AGMI (g)*	21,1 (2,4 – 72,0)	22,2 (4,1 – 75,1)	0,460
AGPI (g)*	14,1 (3,4 – 51,4)	13,9 (3,0 – 57,7)	0,453
n-6 (g)*	12,1 (2,7 – 45,1)	12,2 (2,5 – 52,1)	0,489
n-3 (g)*	1,60 (0,36 – 6,02)	1,67 (0,49 – 5,53)	0,369
EPA (g)*	0,01 (0 – 0,74)	0,01 (0 – 0,81)	0,603
DHA (g)*	0,02 (0 – 0,86)	0,02 (0 – 1,56)	0,820
Carboidratos (g)*	214 (37 – 658)	204 (85 – 636)	0,441
Proteína (g)*	71,6 (23,6 – 207,1)	76,3 (18,1 – 237,4)	0,913
Fibras (g)*	11,2 (1,6 – 40,1)	10,7 (2,5 – 46,0)	0,355
Sódio (mg)*	3010 (1031 – 9995)	2891 (955 – 7608)	0,849
Colesterol (mg)*	206 (0 – 1098)	215 (24 – 747)	0,506

AF – atividade física; HDL-c – colesterol contido na lipoproteína de alta densidade; IMC – Índice de massa corporal; LDL-c – colesterol contido na lipoproteína de baixa densidade; PAD – Pressão arterial diastólica; PAS – Pressão arterial sistólica; TG - triacilglicerol. Valores expressos em média (DP) ou mediana (min-max) para variáveis contínuas – comparação de médias feita pelo teste T de Student; Valores expressos em porcentagem para variáveis categóricas – teste de associação de qui-quadrado. Valores de p destacados em negrito apresentam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos($p<0,05$).*Comparação de médias por teste de Man Whitney.

No tocante ao biomarcador de ingestão de AG, o perfil de AG plasmático, houve diferença estatisticamente significante entre os grupos com relação às concentrações plasmáticas de C16:0, AGPI, n-6, AA, as razões AGS/n-6, AGS/AGPI e as atividades estimadas das enzimas SCD-18 e D5D (Tabela 11).

Tabela 11. Comparação de concentrações plasmáticas de ácidos graxos segundo grupos, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

Ácidos Graxos do Plasma (%)	Não Inflamado (n=169)	Inflamado (n=93)	p
AGS	39,4 (2,6)	39,9 (2,9)	0,209
C14:0	0,77 (0,18 – 2,39)	0,87 (0,19 – 2,44)	0,165
C16:0	27,4 (2,6)	28,1 (2,7)	**0,039**
C18:0	11,2 (1,5)	10,8 (1,7)	0,098
AGMI	19,2 (11,5 – 35,4)	20,6 (9,1 – 39,1)	0,051
C16:1 n-7	1,8 (0,3 – 5,0)	1,9 (0,6 – 7,2)	0,164
C18:1 n-9	17,4 (10,6 – 32,4)	18,7 (8,0 – 31,9)	0,058
AGPI	40,9 (4,8)	39,3 (4,9)	**0,011**
n-6	36,7 (4,6)	35,3 (4,6)	**0,018**
C18:2 n-6	25,3 (3,9)	24,7 (4,2)	0,266
C20:3 n-6	2,45 (0,56)	2,43 (0,55)	0,761
AA	9,0 (2,2)	8,2 (1,8)	**0,002**
n-3	4,0 (2,0 – 9,9)	3,8 (2,2 – 10,4)	0,173
C18:3 n-3	0,61 (0,23 – 1,49)	0,65 (0,23 – 1,51)	0,247
EPA	0,49 (0,17 – 3,6)	0,47 (0,20 – 2,61)	0,382
DPA	0,80 (0,33 – 1,52)	0,78 (0,32 – 1,60)	0,253
DHA	2,1 (0,7 – 5,6)	1,9 (0,8 – 5,8)	0,081
AGAI n-3	3,4 (1,5 – 9,3)	3,2 (1,6 – 10,0)	0,080
Razões			
AGS/n-6	1,1 (0,2)	1,2 (0,2)	**0,025**
AGS/n-3	10,0 (2,6)	10,5 (2,4)	0,144
AGS/AGPI	0,98 (0,17)	1,04 (0,19)	**0,021**
AGS/AGAI n-3	12,1 (3,6)	12,9 (3,5)	0,061
n-6/n-3	9,2 (2,3)	9,2 (2,1)	0,953
n-6/AGAI n-3	11,1 (3,2)	11,4 (3,1)	0,527
AA/EPA	17,8 (2,4 – 71,9)	16,7 (2,4 – 44,4)	0,602
AA/DHA	4,5 (1,3)	4,4 (1,2)	0,733
Estimativas de atividade enzimática			
SCD-16	0,07 (0,01 – 0,15)	0,07 (0,02 – 0,28)	0,299
SCD-18	1,6 (0,7 – 4,9)	1,7 (0,5 – 4,3)	**0,045**
D5D	3,9 (1,2)	3,5 (1,0)	**0,025**
D6D	0,10 (0,03)	0,10 (0,03)	0,704

AA – ácido araquidônico; DHA – ácido docosaexaenoico; DPA – ácido docosapentaenóico; EPA – ácido eicosapentaenoico; AGAI – ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa; AGMI – ácidos graxos monoinsaturados; n-3 – ácidos graxos ômega-3; n-6 – ácidos graxos ômega-6; AGPI – ácidos graxos poli-insaturados; AGS – ácidos graxos saturados. Valores expressos em média (DP) ou mediana (min-max). Adotado teste t de *Student* para comparação de médias. Valores destacados em negrito evidenciam diferença estatisticamente significante entre os grupos (p<0,05)

Nenhum dos SNP analisados no presente projeto foi associado ao grupo inflamado (Tabelas 12-15). Apenas o SNP -596 A>G (rs1800797) do gene da IL-6 apresentou associação marginalmente significante (p= 0,051).

Tabela 12. Associação entre SNP do gene da IL-1β e padrão inflamatório, ISA-capital 2008 - 2010, São Paulo.

SNP	Genótipo	Não Inflamado		Inflamado		p
		n	%	n	%	
-1473 G>C (rs1143623)	GG	97	64,2	54	35,8	0,92
	GC+CC	72	64,9	39	35,1	
+3966 C>T (rs1143634)	CC	106	68,0	50	32,1	0,12
	CT+TT	59	58,4	42	41,6	
+6053 G>A (rs1143643)	GG	87	66,4	44	34,0	0,52
	GA+AA	82	62,6	49	37,4	
-511 G>A (rs16944)	GG	60	66,7	30	33,3	0,45
	GA	73	60,3	48	39,7	
	AA	34	69,4	15	30,6	

IL – interleucina. Valor de p proveniente do teste de qui-quadrado.

Tabela 13. Associação entre SNP do gene do TLR-4 e padrão inflamatório, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

SNP	Genótipo	Não Inflamado		Inflamado		p
		n	%	n	%	
+896 A>G (rs4986790)	AA	148	63,3	86	36,8	0,25
	AG+GG	18	75,0	6	25,0	
+1196 C>T (rs4986791)	CC	155	63,5	89	36,5	0,35
	CT+TT	12	75,0	4	25,0	
Intronic G>A (rs5030728)	GG	83	65,4	44	34,7	0,78
	GA+AA	86	63,7	49	36,3	
+3725 G>C (rs11536889)	CC	133	62,7	79	37,3	0,22
	CG+GG	36	72,0	14	28,0	

TLR – Receptor do tipo Toll. Valor de p proveniente do teste de qui-quadrado.

Tabela 14. Associação entre SNP do gene da adiponectina e padrão inflamatório, ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

SNP	genótipo	Não Inflamado		Inflamado		p
		n	%	n	%	
-11377 G>C (rs266729)	CC	95	62,9	56	37,1	0,60
	CG+GG	72	66,1	37	33,9	
+45 T>G (rs2241766)	TT	128	65,3	68	34,7	0,67
	TG+GG	38	62,3	23	37,7	
-7734 C>A (rs16861209)	CC	127	66,2	65	33,9	0,28
	CA+AA	40	58,8	28	41,2	
-11391 G>A (rs17300539)	GG	141	65,0	76	35,0	0,65
	GA+AA	27	61,4	17	38,6	
+276 G>T (rs150299)	GG	68	59,7	46	40,4	0,19
	GT	77	66,4	39	33,6	
	TT	23	76,7	7	23,3	

ADIPOQ – gene da adiponectina. Valor de p proveniente do teste de qui-quadrado.

Tabela 15. Associação entre SNP do gene da IL-6 e padrão inflamatório, ISA-capital 2008-2010, São Paulo, Brasil.

SNP	genótipo	Não Inflamado		Inflamado		P
		n	%	n	%	
-174 C>G (rs1800795)	GG	114	68,7	52	31,3	0,06
	GC+CC	54	58,8	41	43,2	
-572 G>C (rs1800796)	CC	136	64,2	76	35,9	0,74
	CT+TT	32	66,7	16	33,3	
-596 A>G (rs1800797)	CC	116	68,6	53	31,4	0,051
	CA+AA	52	56,5	40	43,5	

IL – interleucina. Valor de p proveniente do teste de qui-quadrado.

6.6 Interação entre o perfil de AG plasmáticos e SNP sobre as chances para grupo inflamado

6.4.1 SNP do gene da IL-1β

As análises de OR para grupo inflamado no maior percentil de AG do plasma foram omitidas para o SNP -31 T>C (rs1143627), porque este estava em alto desequilíbrio de ligação com o SNP -511 G>A (rs16944), o qual foi utilizado como seu “tag SNP”. Além disso, o SNP +3966 C>T (rs1143634) apresentou desvio do

equilíbrio de Hardy-Weimberg quando considerada uma amostra de 262 indivíduos e, por esse motivo, seus resultados também foram omitidos.

Observando os resultados expostos na Tabela 16, é possível constatar que os indivíduos homozigotos dominantes para o SNP -1473 G>C (rs1143623) apresentaram risco reduzido para o grupo inflamado quando as concentrações plasmáticas de AA e n-3 estavam acima da mediana. Além disso, indivíduos homozigotos dominantes para esse SNP e para o SNP -511 G>A (rs16944) apresentaram risco reduzido de estar no grupo inflamado quando se encontravam no percentil mais alto de atividade da D5D estimada.

Destaca-se que indivíduos portadores do alelo recessivo do SNP +6054 G>A (rs1143643) apresentaram redução da chance de estarem no grupo inflamado quando estavam no maior percentil de concentração plasmática de C18:0, AA, n-3 e n-6 e atividade estimada da D5D, sendo que foi detectada interação estatisticamente significante entre este SNP e C18:0 e AA (Tabela 11). Os indivíduos homozigotos dominantes para o SNP +6054 G>A apresentaram maior chance de estarem no grupo inflamado quando se encontravam no percentil mais alto de atividade estimada da D6D, sendo que a interação SNP-D6D foi estatisticamente significante.

Tabela 16. OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da IL-1β – ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

AG plasma (%)	rs 1143623			rs16944			rs1143643		
	CC (n=151)	CG+GG (n=111)	P inter	GG (n=90)	GA+AA (n=170)	P inter	GG (n=131)	GA+AA (n=131)	P inter
C14:0	1,25 (0,60 - 2,60)	0,84 (0,35 - 2,03)	0,438	0,86 (0,31 - 2,35)	1,29 (0,65 - 2,57)	0,388	0,96 (0,44 - 2,09)	1,18 (0,53 - 2,65)	0,749
C16:0	1,21 (0,59 - 2,47)	1,40 (0,60 - 3,26)	0,773	1,12 (0,42 - 2,96)	1,39 (0,72 - 2,71)	0,607	1,01 (0,47 - 2,16)	1,84 (0,84 - 4,08)	0,195
C16:1 n-7	1,16 (0,56 - 2,44)	0,83 (0,32 - 2,12)	0,453	1,00 (0,38 - 2,67)	0,91 (0,44 - 1,87)	0,837	0,55 (0,24 - 1,26)	1,76 (0,75 - 4,11)	0,103
C18:0	0,71 (0,35 - 1,44)	0,58 (0,23 - 1,46)	0,797	0,56 (0,22 - 1,44)	0,74 (0,37 - 1,48)	0,772	1,36 (0,63 - 2,94)	**0,30 (0,13 - 0,7)**	**0,018**
C18:1	1,35 (0,65 - 2,81)	0,71 (0,27 - 1,89)	0,356	1,54 (0,59 - 4,05)	0,81 (0,39 - 1,66)	0,477	0,59 (0,26 - 1,33)	1,80 (0,77 - 4,17)	0,055
C18:2 n-6	1,50 (0,71 - 3,18)	1,26 (0,52 - 3,05)	0,643	1,61 (0,57 - 4,53)	1,31 (0,65 - 2,65)	0,576	1,34 (0,61 - 2,94)	1,17 (0,51 - 2,68)	0,637
C18:3 n-3	1,44 (0,70 - 2,96)	1,32 (0,56 - 3,11)	0,850	2,23 (0,86 - 5,76)	1,10 (0,56 - 2,16)	0,253	0,88 (0,41 - 1,89)	1,84 (0,83 - 4,05)	0,252
C20:3 n-6	0,92 (0,44 - 1,94)	1,37 (0,59 - 3,19)	0,717	0,83 (0,32 - 2,19)	1,30 (0,66 - 2,55)	0,690	1,76 (0,81 - 3,84)	0,80 (0,37 - 1,75)	0,105
AA	**0,43 (0,21 - 0,89)**	0,73 (0,29 - 1,83)	0,255	0,38 (0,14 - 1,04)	0,59 (0,3 - 1,18)	0,567	1,39 (0,64 - 3,04)	**0,18 (0,08 - 0,44)**	**0,002**
EPA	0,77 (0,35 - 1,67)	0,45 (0,18 - 1,14)	0,836	0,63 (0,23 - 1,76)	0,66 (0,33 - 1,34)	0,630	0,72 (0,32 - 1,62)	0,66 (0,29 - 1,5)	0,996
DPA	0,60 (0,29 - 1,23)	0,78 (0,31 - 1,96)	0,356	0,74 (0,29 - 1,88)	0,64 (0,31 - 1,32)	0,969	0,62 (0,27 - 1,39)	0,76 (0,35 - 1,65)	0,673
DHA	0,54 (0,26 - 1,14)	0,66 (0,27 - 1,62)	0,729	0,35 (0,12 - 1,00)	0,81 (0,41 - 1,61)	0,339	0,85 (0,39 - 1,86)	0,51 (0,22 - 1,15)	0,268
AGS	1,23 (0,60 - 2,50)	0,94 (0,41 - 2,16)	0,756	1,36 (0,54 - 3,48)	0,99 (0,51 - 1,91)	0,777	1,06 (0,5 - 2,28)	1,18 (0,55 - 2,54)	0,674
AGMI	1,33 (0,64 - 2,76)	0,86 (0,32 - 2,31)	0,458	1,64 (0,62 - 4,30)	0,85 (0,41 - 1,76)	0,480	0,64 (0,28 - 1,44)	1,95 (0,83 - 4,58)	0,064
AGPI	0,84 (0,4 - 1,76)	1,08 (0,46 - 2,52)	0,708	0,73 (0,27 - 1,99)	1,01 (0,51 - 2,00)	0,959	1,59 (0,72 - 3,55)	0,47 (0,21 - 1,09)	**0,038**
AGAI n-3	0,67 (0,32 - 1,39)	0,53 (0,22 - 1,31)	0,965	0,93 (0,35 - 2,48)	0,54 (0,27 - 1,08)	0,482	0,57 (0,26 - 1,28)	0,79 (0,36 - 1,75)	0,681
n-6	0,58 (0,28 - 1,23)	1,10 (0,46 - 2,66)	0,277	0,61 (0,22 - 1,69)	0,79 (0,4 - 1,56)	0,964	1,17 (0,54 - 2,56)	**0,43 (0,19 - 0,99)**	0,083
n-3	**0,43 (0,2 - 0,93)**	0,56 (0,23 - 1,35)	0,496	0,40 (0,14 - 1,15)	0,54 (0,27 - 1,08)	0,626	0,70 (0,32 - 1,53)	**0,38 (0,17 - 0,88)**	0,276
AGS/AGPI	1,25 (0,59 - 2,66)	1,05 (0,45 - 2,46)	0,798	1,02 (0,36 - 2,87)	1,17 (0,59 - 2,32)	0,547	1,01 (0,46 - 2,23)	1,38 (0,61 - 3,14)	0,501
n-6/n-3	1,59 (0,74 - 3,43)	2,03 (0,82 - 5,06)	0,955	1,79 (0,66 - 4,85)	1,69 (0,82 - 3,5)	0,723	1,62 (0,71 - 3,71)	1,59 (0,7 - 3,63)	0,983
AA/EPA	0,92 (0,43 - 1,96)	1,56 (0,66 - 3,71)	0,629	0,86 (0,33 - 2,26)	1,34 (0,66 - 2,72)	0,709	1,18 (0,53 - 2,62)	1,00 (0,45 - 2,23)	0,744
SCD-16	0,83 (0,39 - 1,77)	1,04 (0,41 - 2,66)	0,812	0,56 (0,21 - 1,55)	1,00 (0,49 - 2,06)	0,208	0,69 (0,31 - 1,56)	0,99 (0,42 - 2,34)	0,594
SCD-18	1,74 (0,86 - 3,56)	1,48 (0,55 - 3,99)	0,669	2,11 (0,82 - 5,44)	1,30 (0,64 - 2,62)	0,588	1,02 (0,47 - 2,2)	2,58 (1,11 - 6,03)	0,143
D5D	0,66 (0,32 - 1,37)	**0,27 (0,1 - 0,69)**	0,268	0,66 (0,26 - 1,71)	**0,41 (0,2 - 0,82)**	0,567	0,50 (0,23 - 1,09)	**0,41 (0,18 - 0,94)**	0,971
D6D	1,36 (0,65 - 2,85)	1,66 (0,73 - 3,81)	0,729	0,95 (0,36 - 2,50)	1,94 (0,99 - 3,81)	0,136	**2,69 (1,23 - 5,9)**	0,86 (0,39 - 1,9)	**0,043**

P inter = P de interação entre SNP-AG plasma. Análise de regressão logística incluindo idade, IMC, sexo e fumo como covariáveis. OR (IC95%) e valores de p em negrito representam p<0,05.

6.4.2 SNP do gene do TLR-4

A Tabela 17 mostra os valores de OR (IC95%) para estar no grupo inflamado quando os indivíduos apresentaram valores de AG do plasma acima da mediana, estratificado por genótipos, de acordo com os SNP analisados no gene do TLR-4. Os SNP +896 A>G (rs4986790) e +1196 C>T (rs4986791) não participaram dessa análise, porque a estratificação por mediana e por genótipo deixou categorias com nenhum indivíduo, impossibilitando a análise.

O SNP intron G>A (rs5030728) não apresentou interação estatisticamente significante com os AG do plasma, mas foi possível verificar respostas diferentes entre os genótipos, sendo que os indivíduos portadores do alelo variante para esse SNP, que estavam acima da mediana de DHA, AGAI n-3 e n-3 plasmáticos, apresentaram chances reduzidas de estarem no grupo inflamado, tomando como referência os indivíduos que estavam abaixo da mediana para esses AG do plasma. Ainda sobre o SNP intron G>A (rs5030728), os indivíduos dos genótipos GA+AA apresentaram maiores chances de estar no grupo inflamado quando se encontravam acima da mediana para as razões AGS/n-3 e AGS/AGAI n-3.

Considerando o SNP +3725 G>C (rs11536889), foi possível detectar uma interação estatisticamente significante apenas com a razão AA/EPA. Os indivíduos dos genótipos GC+CC apresentaram chance muito elevada de estar no grupo inflamado quando estavam no maior percentil da razão plasmática AA/EPA. Os indivíduos homozigotos dominantes para esse SNP apresentaram chances reduzidas de estar no grupo inflamado quando estavam no maior percentil de 20:3 n-6, DHA, n-3 e D5D do plasma.

Tabela 17. OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene do TLR-4 – ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

AG plasma (%)	rs 5030728			rs11536889		
	GG (n=127)	GA+AA (n=135)	P inter	GG (n=212)	GC+CC (n=50)	P inter
C14:0	1,35 (0,6 - 3,03)	0,91 (0,42 - 1,98)	0,428	1,17 (0,64 - 2,13)	0,76 (0,15 - 4)	0,573
C16:0	1,13 (0,51 - 2,5)	1,75 (0,83 - 3,71)	0,489	1,33 (0,74 - 2,38)	1,23 (0,28 - 5,39)	0,934
C16:1 n-7	0,78 (0,33 - 1,83)	1,37 (0,62 - 3,04)	0,358	1,00 (0,53 - 1,87)	0,64 (0,13 - 3,21)	0,797
C18:0	0,76 (0,34 - 1,68)	0,62 (0,29 - 1,32)	0,703	0,80 (0,44 - 1,46)	0,29 (0,05 - 1,55)	0,167
C18:1	0,82 (0,35 - 1,91)	1,14 (0,52 - 2,5)	0,830	0,86 (0,46 - 1,6)	2,73 (0,53 - 14,01)	0,168
C18:2 n-6	2,14 (0,9 - 5,08)	0,78 (0,36 - 1,68)	0,187	1,56 (0,83 - 2,92)	0,39 (0,09 - 1,78)	0,109
C18:3 n-3	2,09 (0,91 - 4,8)	0,90 (0,43 - 1,9)	0,166	1,52 (0,84 - 2,74)	0,42 (0,09 - 2,04)	0,168
C20:3 n-6	1,53 (0,69 - 3,41)	0,89 (0,42 - 1,91)	0,507	1,12 (0,61 - 2,04)	2,11 (0,45 - 9,87)	0,702
AA	0,47 (0,21 - 1,08)	0,61 (0,29 - 1,29)	0,746	**0,48 (0,26 - 0,87)**	1,75 (0,35 - 8,8)	0,232
EPA	0,57 (0,24 - 1,36)	0,83 (0,38 - 1,83)	0,851	0,67 (0,36 - 1,26)	0,59 (0,14 - 2,55)	0,643
DPA	1,08 (0,48 - 2,4)	0,50 (0,23 - 1,11)	0,116	0,77 (0,42 - 1,42)	0,66 (0,13 - 3,46)	0,494
DHA	1,16 (0,47 - 2,82)	**0,36 (0,16 - 0,79)**	0,085	**0,52 (0,28 - 0,96)**	1,47 (0,3 - 7,25)	0,311
AGS	0,84 (0,38 - 1,86)	1,49 (0,71 - 3,13)	0,414	1,12 (0,63 - 2,01)	0,93 (0,21 - 4,22)	0,620
AGMI	0,79 (0,34 - 1,86)	1,33 (0,6 - 2,94)	0,579	0,91 (0,48 - 1,71)	2,96 (0,57 - 15,36)	0,150
AGPI	1,21 (0,53 - 2,75)	0,66 (0,3 - 1,45)	0,446	0,94 (0,52 - 1,73)	0,93 (0,21 - 4,18)	0,786
AGAI n-3	0,97 (0,4 - 2,35)	**0,44 (0,21 - 0,95)**	0,130	0,67 (0,37 - 1,23)	0,35 (0,06 - 1,96)	0,430
n-6	1,09 (0,48 - 2,46)	0,50 (0,23 - 1,13)	0,296	0,94 (0,51 - 1,73)	0,19 (0,03 - 1,08)	0,089
n-3	0,52 (0,22 - 1,26)	**0,45 (0,21 - 0,96)**	0,653	**0,54 (0,29 - 0,99)**	0,19 (0,03 - 1,45)	0,433
AGS/AGPI	0,64 (0,27 - 1,52)	1,90 (0,88 - 4,12)	0,145	1,15 (0,62 - 2,11)	0,79 (0,17 - 3,68)	0,972
n-6/n-3	2,40 (0,95 - 6,04)	1,26 (0,58 - 2,75)	0,597	1,64 (0,86 - 3,13)	3,02 (0,62 - 14,67)	0,382
AA/EPA	1,20 (0,51 - 2,83)	1,01 (0,47 - 2,18)	0,848	0,89 (0,48 - 1,66)	**5,96 (1,02 - 34,68)**	**0,034**
SCD-16	0,49 (0,21 - 1,17)	1,41 (0,63 - 3,14)	0,156	0,80 (0,42 - 1,51)	0,98 (0,2 - 4,79)	0,760
SCD-18	1,16 (0,51 - 2,63)	2,09 (0,97 - 4,53)	0,333	1,37 (0,75 - 2,52)	3,20 (0,6 - 17,17)	0,248
D5D	0,36 (0,16 - 0,82)	0,63 (0,3 - 1,35)	0,447	**0,43 (0,24 - 0,79)**	0,69 (0,14 - 3,36)	0,491
D6D	1,52 (0,68 - 3,42)	1,56 (0,73 - 3,34)	0,985	1,52 (0,84 - 2,77)	1,49 (0,35 - 6,36)	0,746

P inter = P de interação entre SNP-AG plasma. Análise de regressão logística incluindo idade, IMC, sexo e fumo como covariáveis. OR (IC95%) e valores de p em negrito representam p<0,05.

6.4.3 SNP do gene da adiponectina

A Tabela 18 mostra valores de OR para estar no grupo inflamado tendo os menores percentis de AG do plasma como categoria de referência, estratificando a população por genótipo. Os portadores do alelo G para o SNP +45 T>G (rs2241766) apresentaram chance reduzida de estar no grupo inflamado quando AA, EPA, n-3, AGPI e AGAI n-3 do plasma estavam acima da mediana. Além disso, a interação entre esse SNP e n-3 do plasma foi estatisticamente significante.

Outras interações estatisticamente significantes foram encontradas entre o SNP -7734 C>A (rs16861209) e as concentrações plasmáticas de AA e DPA, sendo que os indivíduos portadores do genótipo CC apresentaram OR reduzido para o grupo inflamado quando estavam no maior percentil de AA, EPA, DPA e AGAI n-3 e atividade estimada da D5D no plasma. Esses mesmos indivíduos apresentaram maior chance de estar no grupo inflamado quando a razão n-6/n-3 do plasma estava acima da mediana.

Com relação ao SNP -11391 G>A (rs17300539), foi encontrada uma interação estatisticamente significante com AGS, sendo que indivíduos portadores do alelo variante A apresentaram chance aumentada para o grupo inflamado quando AGS do plasma estava acima da mediana. Em contrapartida, os indivíduos GG para esse SNP apresentaram chance reduzida de estar no grupo inflamado quando estavam no maior percentil de AA, AGAI n-3 e atividade estimada de D5D no plasma.

Apesar de não ter sido constatada nenhuma interação entre o SNP -11377 C>G (rs266729) e os AG do plasma, os portadores do alelo variante G pareceram mais sensíveis a diferenças no AA, EPA, DHA, n-3, AGAI n-3 e atividade estimada de D5D no plasma, porque apresentaram chance reduzida para o grupo inflamado quando se encontravam no maior percentil desses AG do plasma.

Tabela 18. (Continua) OR (IC95%) para o grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da adiponectina – ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	rs 2241766			rs16861209			rs17300539		
AG plasma (%)	TT (n=196)	TG+GG (n=61)	p inter	CC (n=192)	CA+AA (n=68)	p inter	GG (n=217)	GA+AA (n=44)	p inter
C14:0	1,40 (0,74 - 2,67)	0,65 (0,17 - 2,46)	0,247	1,02 (0,54 - 1,96)	1,41 (0,44 - 4,53)	0,867	1,03 (0,56 - 1,87)	1,54 (0,32 - 7,34)	0,778
C16:0	1,37 (0,73 - 2,55)	2,38 (0,65 - 8,75)	0,557	1,13 (0,6 - 2,12)	2,72 (0,87 - 8,44)	0,291	1,08 (0,6 - 1,93)	3,63 (0,86 - 15,4)	0,119
C16:1 n-7	0,92 (0,47 - 1,77)	1,52 (0,39 - 5,99)	0,907	0,88 (0,45 - 1,72)	1,55 (0,47 - 5,14)	0,662	0,89 (0,48 - 1,67)	1,81 (0,36 - 9,15)	0,642
C18:0	0,63 (0,34 - 1,18)	0,47 (0,12 - 1,77)	0,804	0,56 (0,29 - 1,08)	0,93 (0,32 - 2,77)	0,294	0,67 (0,37 - 1,22)	0,63 (0,15 - 2,66)	0,845
C18:1	0,99 (0,52 - 1,89)	2,91 (0,7 - 12,2)	0,441	1,11 (0,57 - 2,17)	0,98 (0,32 - 3,05)	0,640	1,04 (0,56 - 1,93)	0,91 (0,16 - 5,35)	0,627
C18:2 n-6	1,64 (0,84 - 3,19)	0,35 (0,1 - 1,26)	0,061	1,55 (0,79 - 3,02)	0,55 (0,18 - 1,68)	0,214	1,52 (0,82 - 2,8)	0,44 (0,09 - 2,1)	0,229
C18:3 n-3	1,48 (0,8 - 2,76)	0,70 (0,17 - 2,89)	0,310	1,40 (0,75 - 2,65)	1,09 (0,38 - 3,15)	0,790	1,43 (0,79 - 2,58)	0,87 (0,21 - 3,64)	0,338
C20:3 n-6	0,98 (0,53 - 1,81)	1,92 (0,44 - 8,31)	0,400	1,51 (0,79 - 2,9)	0,51 (0,17 - 1,52)	0,085	1,42 (0,78 - 2,59)	0,35 (0,08 - 1,47)	0,070
AA	0,62 (0,33 - 1,17)	**0,11 (0,02 - 0,61)**	0,491	**0,38 (0,19 - 0,74)**	1,19 (0,41 - 3,44)	**0,044**	**0,50 (0,27 - 0,92)**	0,88 (0,23 - 3,3)	0,333
EPA	0,88 (0,46 - 1,69)	**0,20 (0,04 - 0,94)**	0,101	**0,44 (0,22 - 0,88)**	1,63 (0,52 - 5,14)	0,053	0,63 (0,33 - 1,17)	0,77 (0,19 - 3,16)	0,503
DPA	0,64 (0,33 - 1,22)	0,58 (0,15 - 2,19)	0,927	**0,47 (0,24 - 0,92)**	1,44 (0,49 - 4,2)	**0,037**	0,61 (0,33 - 1,13)	1,44 (0,37 - 5,62)	0,228
DHA	0,76 (0,4 - 1,43)	0,33 (0,08 - 1,45)	0,318	0,54 (0,28 - 1,07)	0,75 (0,25 - 2,24)	0,511	0,67 (0,36 - 1,25)	0,46 (0,12 - 1,78)	0,697
AGS	1,00 (0,54 - 1,87)	1,32 (0,39 - 4,5)	0,633	0,79 (0,42 - 1,5)	2,66 (0,87 - 8,14)	0,087	0,80 (0,45 - 1,44)	**4,20 (1,02 - 17,29)**	**0,019**
AGMI	1,00 (0,52 - 1,92)	3,79 (0,87 - 16,61)	0,277	1,22 (0,62 - 2,39)	0,85 (0,27 - 2,65)	0,464	1,14 (0,61 - 2,13)	0,73 (0,12 - 4,3)	0,464
n-6	1,03 (0,54 - 1,97)	0,34 (0,09 - 1,26)	0,286	0,98 (0,51 - 1,88)	0,66 (0,22 - 2,01)	0,707	0,99 (0,54 - 1,82)	0,54 (0,12 - 2,47)	0,622
n-3	0,93 (0,5 - 1,74)	**0,09 (0,02 - 0,46)**	**0,019**	0,52 (0,27 - 1,04)	0,89 (0,31 - 2,57)	0,370	0,63 (0,34 - 1,18)	0,71 (0,19 - 2,74)	0,849
AGPI	0,84 (0,44 - 1,62)	**0,24 (0,06 - 0,92)**	0,214	0,67 (0,35 - 1,29)	0,84 (0,27 - 2,59)	0,501	0,79 (0,43 - 1,44)	0,54 (0,12 - 2,47)	0,835
AGAI n-3	0,63 (0,33 - 1,2)	**0,08 (0,01 - 0,53)**	0,115	**0,41 (0,21 - 0,80)**	0,90 (0,29 - 2,78)	0,302	**0,47 (0,25 - 0,89)**	0,77 (0,2 - 3,07)	0,596
AGS/n-6	1,08 (0,55 - 2,1)	2,08 (0,6 - 7,24)	0,501	1,01 (0,52 - 1,94)	1,62 (0,51 - 5,18)	0,587	0,99 (0,53 - 1,83)	1,74 (0,43 - 7,06)	0,503
AGS/n-3	1,28 (0,68 - 2,4)	2,67 (0,66 - 10,73)	0,406	1,64 (0,84 - 3,17)	1,10 (0,38 - 3,25)	0,486	1,44 (0,78 - 2,66)	1,10 (0,29 - 4,19)	0,74
AGS/AGPI	1,07 (0,56 - 2,06)	2,08 (0,6 - 7,24)	0,506	1,16 (0,61 - 2,22)	1,36 (0,44 - 4,25)	0,945	1,05 (0,57 - 1,94)	1,74 (0,43 - 7,06)	0,551
n-6/n-3	1,34 (0,69 - 2,59)	3,22 (0,75 - 13,79)	0,192	**2,21 (1,10 - 4,45)**	0,86 (0,25 - 2,96)	0,267	1,71 (0,9 - 3,25)	1,61 (0,36 - 7,17)	0,843
AA/EPA	0,88 (0,46 - 1,68)	2,04 (0,52 - 7,99)	0,209	1,56 (0,79 - 3,11)	0,54 (0,18 - 1,67)	0,125	1,17 (0,63 - 2,2)	0,91 (0,24 - 3,47)	0,787
SCD-16	0,84 (0,43 - 1,63)	1,03 (0,25 - 4,17)	0,994	0,85 (0,43 - 1,71)	0,97 (0,32 - 2,96)	0,932	0,81 (0,43 - 1,52)	1,08 (0,23 - 5,18)	0,804
SCD-18	1,40 (0,75 - 2,63)	6,29 (1,36 - 29,21)	0,346	1,87 (0,97 - 3,61)	1,24 (0,42 - 3,72)	0,359	1,54 (0,84 - 2,82)	2,20 (0,39 - 12,29)	0,923
D5D	0,53 (0,28 - 1)	0,19 (0,04 - 0,79)	0,376	**0,37 (0,19 - 0,72)**	1,02 (0,35 - 3,01)	0,123	**0,48 (0,26 - 0,88)**	0,54 (0,14 - 2,1)	0,822
D6D	1,16 (0,62 - 2,2)	5,24 (1,19 - 23,11)	0,129	1,51 (0,79 - 2,88)	1,24 (0,42 - 3,69)	0,661	1,62 (0,89 - 2,95)	0,70 (0,17 - 2,85)	0,411

P inter = P de interação entre SNP-AG plasma. Análise de regressão logística incluindo idade, IMC, sexo e fumo como covariáveis. OR (IC95%) e valores de p em negrito representam p<0,05.

Tabela 18. (Continuação) OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da adiponectina – ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

AG plasma (%)	rs266729			rs1501299		
	CC (n=151)	CG+GG (n=109)	p inter	GG (n=114)	GT+TT (n=146)	p inter
C14:0	1,59 (0,77 - 3,27)	0,54 (0,21 - 1,4)	0,141	0,94 (0,4 - 2,17)	1,33 (0,61 - 2,9)	0,495
C16:0	1,34 (0,66 - 2,72)	1,41 (0,59 - 3,4)	0,947	1,83 (0,81 - 4,11)	1,06 (0,5 - 2,25)	0,403
C16:1 n-7	0,96 (0,45 - 2,05)	1,06 (0,42 - 2,66)	0,635	1,34 (0,57 - 3,14)	0,85 (0,38 - 1,91)	0,480
C18:0	0,61 (0,3 - 1,27)	0,72 (0,3 - 1,74)	0,823	0,56 (0,25 - 1,26)	0,68 (0,32 - 1,46)	0,920
C18:1	1,32 (0,63 - 2,74)	0,75 (0,28 - 1,97)	0,347	0,93 (0,39 - 2,24)	1,21 (0,56 - 2,6)	0,497
C18:2 n-6	1,02 (0,49 - 2,12)	1,82 (0,73 - 4,52)	0,435	0,87 (0,39 - 1,95)	1,70 (0,73 - 3,95)	0,417
C18:3 n-3	1,23 (0,61 - 2,47)	1,24 (0,52 - 2,93)	0,937	1,11 (0,5 - 2,45)	1,48 (0,7 - 3,12)	0,490
C20:3 n-6	0,79 (0,39 - 1,59)	1,96 (0,8 - 4,81)	0,099	1,27 (0,56 - 2,88)	0,94 (0,44 - 1,99)	0,404
AA	0,66 (0,33 - 1,33)	**0,38 (0,15 - 0,95)**	0,375	0,50 (0,22 - 1,13)	0,56 (0,26 - 1,22)	0,928
EPA	0,89 (0,43 - 1,86)	**0,34 (0,13 - 0,90)**	0,327	0,50 (0,21 - 1,16)	0,78 (0,35 - 1,76)	0,524
DPA	0,66 (0,32 - 1,36)	0,79 (0,33 - 1,89)	0,798	0,65 (0,29 - 1,48)	0,70 (0,32 - 1,52)	0,796
DHA	0,81 (0,39 - 1,66)	**0,31 (0,11 - 0,84)**	0,327	0,64 (0,27 - 1,51)	0,54 (0,25 - 1,16)	0,529
AGS	1,26 (0,63 - 2,54)	0,85 (0,36 - 2,03)	0,487	1,04 (0,47 - 2,3)	1,18 (0,56 - 2,48)	0,714
AGMI	1,33 (0,63 - 2,81)	0,87 (0,33 - 2,3)	0,508	1,29 (0,54 - 3,11)	1,05 (0,49 - 2,28)	0,939
n-6	0,72 (0,35 - 1,49)	1,49 (0,58 - 3,8)	0,358	0,64 (0,28 - 1,49)	1,18 (0,54 - 2,58)	0,410
n-3	0,78 (0,37 - 1,62)	**0,35 (0,13 - 0,94)**	0,514	0,51 (0,21 - 1,22)	0,63 (0,3 - 1,37)	0,979
AGPI	0,56 (0,27 - 1,17)	1,30 (0,5 - 3,39)	0,283	0,76 (0,33 - 1,75)	0,64 (0,3 - 1,4)	0,674
AGAI n-3	0,69 (0,33 - 1,45)	**0,21 (0,07 - 0,60)**	0,251	0,44 (0,18 - 1,08)	0,46 (0,21 - 1)	0,775
AGS/n-6	1,15 (0,55 - 2,44)	0,92 (0,37 - 2,33)	0,954	1,55 (0,68 - 3,53)	0,82 (0,36 - 1,85)	0,33
AGS/n-3	1,33 (0,64 - 2,77)	1,82 (0,72 - 4,57)	0,832	1,54 (0,67 - 3,54)	1,45 (0,68 - 3,13)	0,954
AGS/AGPI	1,63 (0,77 - 3,44)	0,67 (0,27 - 1,67)	0,243	1,61 (0,7 - 3,73)	0,89 (0,4 - 1,95)	0,367
n-6/n-3	1,48 (0,68 - 3,19)	2,50 (0,95 - 6,55)	0,793	1,72 (0,71 - 4,16)	1,96 (0,88 - 4,38)	0,737
AA/EPA	0,79 (0,39 - 1,61)	2,26 (0,86 - 5,97)	0,161	0,88 (0,38 - 2,04)	1,23 (0,57 - 2,67)	0,71
SCD-16	0,77 (0,36 - 1,65)	1,06 (0,41 - 2,7)	0,374	1,19 (0,51 - 2,73)	0,74 (0,32 - 1,7)	0,434
SCD-18	1,87 (0,89 - 3,94)	1,57 (0,63 - 3,93)	0,713	1,66 (0,72 - 3,82)	1,76 (0,8 - 3,85)	0,724
D5D	0,60 (0,3 - 1,23)	**0,34 (0,14 - 0,86)**	0,494	0,45 (0,2 - 1,05)	0,52 (0,24 - 1,1)	0,864
D6D	1,63 (0,8 - 3,32)	1,24 (0,52 - 3)	0,852	**2,46 (1,08 - 5,61)**	0,97 (0,45 - 2,08)	0,089

P inter = P de interação entre SNP-AG plasma. Análise de regressão logística incluindo idade, IMC, sexo e fumo como covariáveis OR (IC95%) e valores de p em negrito representam p<0,05.

6.4.4 SNP do gene da IL-6

Entre os SNP avaliados no gene da IL-6, apenas dois participaram da análise e estão descritos na Tabela 19, uma vez que o SNP rs1800795 passou a ser “tag SNP” do SNP rs1800797, devido ao alto desequilíbrio de ligação entre ambos. Apesar de nenhum dos SNP apresentar interação estatisticamente significante com os AG do plasma, é possível observar que indivíduos homozigotos dominantes para o SNP -174 C>G (rs1800795) apresentaram menor chance de estar no grupo inflamado quando se encontravam acima da mediana de n-3 do plasma e atividade estimada da D5D. Os mesmos indivíduos apresentaram maiores chances de estar no grupo inflamado quando se encontravam no maior percentil de AGS/AGAI n-3.

Tabela 19. OR (IC95%) para grupo inflamado no percentil maior (acima da mediana) de AG do plasma, estratificado por genótipos dos SNP do gene da IL-6 – ISA-capital 2008-2010, São Paulo.

	rs1800795			**rs1800796**		
AG plasma (%)	CC (n=166)	CG+GG (n=95)	P inter	GG (n=212)	GC+CC (n=48)	P inter
C14:0	0,95 (0,47 - 1,9)	1,22 (0,48 - 3,12)	0,619	1,19 (0,65 - 2,2)	0,84 (0,19 - 3,73)	0,630
C16:0	1,21 (0,61 - 2,41)	1,55 (0,62 - 3,85)	0,772	1,10 (0,61 - 1,99)	5,00 (0,85 - 29,41)	0,245
C16:1 n-7	1,01 (0,49 - 2,1)	0,94 (0,37 - 2,42)	0,965	0,90 (0,48 - 1,69)	4,15 (0,75 - 23,13)	0,232
C18:0	0,64 (0,32 - 1,28)	0,66 (0,26 - 1,7)	0,798	0,65 (0,36 - 1,19)	0,57 (0,14 - 2,32)	0,952
C18:1	0,98 (0,48 - 2)	1,11 (0,41 - 3,04)	0,891	1,05 (0,56 - 1,97)	1,49 (0,27 - 8,11)	0,747
C18:2 n-6	1,81 (0,87 - 3,74)	0,71 (0,27 - 1,86)	0,116	1,10 (0,59 - 2,04)	1,84 (0,39 - 8,7)	0,581
C18:3 n-3	1,18 (0,6 - 2,35)	1,27 (0,52 - 3,12)	0,883	1,31 (0,72 - 2,36)	4,98 (0,8 - 31,14)	0,697
C20:3 n-6	1,20 (0,6 - 2,4)	0,97 (0,39 - 2,37)	0,925	1,04 (0,58 - 1,89)	1,79 (0,34 - 9,36)	0,864
AA	0,50 (0,25 - 1)	0,77 (0,29 - 2,03)	0,433	**0,51 (0,28 - 0,94)**	0,29 (0,06 - 1,46)	0,912
EPA	0,66 (0,31 - 1,4)	0,51 (0,2 - 1,29)	0,871	0,64 (0,34 - 1,19)	0,44 (0,1 - 1,91)	0,905
DPA	0,53 (0,26 - 1,1)	1,02 (0,42 - 2,46)	0,288	0,70 (0,38 - 1,28)	0,43 (0,08 - 2,46)	0,772
DHA	0,57 (0,27 - 1,19)	0,65 (0,25 - 1,64)	0,539	0,66 (0,36 - 1,21)	0,22 (0,04 - 1,15)	0,434
AGS	0,97 (0,49 - 1,92)	1,39 (0,57 - 3,43)	0,583	0,97 (0,53 - 1,75)	1,75 (0,41 - 7,57)	0,605
AGMI	0,89 (0,43 - 1,86)	1,61 (0,58 - 4,46)	0,446	1,10 (0,58 - 2,07)	1,78 (0,33 - 9,52)	0,675
AGPI	0,86 (0,43 - 1,74)	1,19 (0,44 - 3,28)	0,647	0,87 (0,47 - 1,61)	0,60 (0,13 - 2,83)	0,800
AGAI n-3	0,57 (0,27 - 1,19)	0,72 (0,3 - 1,77)	0,474	0,67 (0,37 - 1,24)	**0,15 (0,02 - 0,99)**	0,540
n-6	0,81 (0,41 - 1,63)	0,69 (0,25 - 1,93)	0,780	0,72 (0,39 - 1,34)	0,45 (0,09 - 2,19)	0,775
n-3	**0,43 (0,2 - 0,90)**	0,55 (0,22 - 1,39)	0,428	0,58 (0,31 - 1,07)	**0,05 (0,01 - 0,49)**	0,154
AGS/n-6	1,16 (0,57 - 2,37)	0,81 (0,3 - 2,2)	0,695	1,03 (0,55 - 1,94)	1,74 (0,39 - 7,69)	0,608
AGS/n-3	1,72 (0,84 - 3,54)	1,21 (0,49 - 2,94)	0,380	1,24 (0,68 - 2,26)	6,00 (0,9 - 40,13)	0,432
AGS/AGPI	1,29 (0,64 - 2,62)	0,81 (0,3 - 2,18)	0,531	1,13 (0,6 - 2,11)	1,81 (0,38 - 8,65)	0,740
n-6/n-3	1,64 (0,77 - 3,48)	2,14 (0,81 - 5,64)	0,975	1,73 (0,91 - 3,32)	2,23 (0,53 - 9,5)	0,990
AA/EPA	1,44 (0,69 - 3,03)	0,93 (0,36 - 2,37)	0,443	0,89 (0,48 - 1,68)	2,96 (0,7 - 12,54)	0,212
SCD-16	0,87 (0,42 - 1,83)	0,86 (0,32 - 2,28)	0,817	0,84 (0,44 - 1,62)	2,18 (0,4 - 11,75)	0,342
SCD-18	1,59 (0,79 - 3,21)	1,64 (0,63 - 4,32)	0,859	1,57 (0,86 - 2,88)	3,31 (0,63 - 17,48)	0,563
D5D	**0,47 (0,23 - 0,95)**	0,62 (0,24 - 1,57)	0,789	**0,47 (0,26 - 0,86)**	0,45 (0,1 - 2,14)	0,524
D6D	1,31 (0,65 - 2,64)	1,66 (0,67 - 4,13)	0,536	1,28 (0,7 - 2,34)	2,85 (0,68 - 11,89)	0,434

P inter = P de interação entre SNP-AG plasma. Análise de regressão logística incluindo idade, IMC, sexo e fumo como covariáveis. Valores em negrito de OR(IC95%) indicam P<0,05.

Além disso, portadores do alelo variante para o SNP -572 G>C (rs1800796) apresentaram maior chance de estar no grupo inflamado quando estavam no percentil mais alto da razão AGS/AGAI n-3 do plasma e chance menor quando estavam acima da mediana para n-3 e AGAI n-3. Os indivíduos homozigoto dominantes para esse mesmo SNP apresentaram chance reduzida de estar no

grupo inflamado quando apresentaram valores plasmáticos de AA e de atividade estimada da D5D acima da mediana.

7 DISCUSSÃO

Os resultados do presente projeto permitiram avaliar, em uma população adulta proveniente do estudo de base populacional ISA-capital (2008-2010), a associação de SNP localizados nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 e do perfil de AG do plasma com a predisposição a um padrão inflamatório sistêmico, caracterizado pela elevação das concentrações plasmáticas de PCR, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, CCL2 e sICAM-1 em detrimento da redução da concentração plasmática de adiponectina.

É importante destacar que o presente estudo é pioneiro na avaliação da frequência genotípica, frequência alélica, desequilíbrio de ligação e a formação de blocos haplotípicos entre os SNP rs266729, rs17300539, rs16861209, rs1501299 e rs2241766 do gene da adiponectina, os SNP rs4986790, rs4686791, rs5030728, rs11536889 do gene do TLR-4, os SNP rs1143623, rs16944, rs1143627, rs1143634 e rs1143643 do gene da IL-1β e os SNP rs1800795, rs1800796, rs1800797 do gene da IL-6 em um estudo de base populacional em São Paulo. Dada a escassez desse tipo de informação para a população brasileira, os resultados oriundos deste estudo podem ser utilizados para comparação com futuros estudos realizados em São Paulo e em outras regiões do Brasil, bem como para estudos de colaboração mundial para verificar associação gene-doença em populações de diferentes ancestralidades.

Além disso, também foi avaliada a presença de equilíbrio de Hardy-Weinberg na distribuição genotípica de cada SNP. A análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg possibilita principalmente verificar a qualidade do ensaio de genotipagem e do processo de amostragem (HOSKING, L *et al.*, 2004; ZIEGLER e KÖNIG, 2010). Todos os SNP avaliados no presente estudo estavam em equilíbrio de Hardy-Wienberg, reforçando a qualidade desses dados.

A região promotora dos genes é a região do DNA onde a RNA Polimerase II (enzima responsável pela transcrição de RNA mensageiro) se liga, juntamente com outras proteínas, chamadas fatores de transcrição, para iniciar a transcrição gênica. Variações genéticas nessa e em outras regiões mais distais do DNA , denominadas regiões regulatórias do gene, podem alterar a ativação dos genes, modulando a

quantidade de proteína que será originada pelo processo de transcrição e tradução (KARP et al., 2010). Dessa forma, eperava-se que os SNP localizados na região promotora de genes de biomarcadores inflamatórios estivessem associados a alterações na concentração plasmática do biomarcador codificado pelo gene em questão. Entretanto, essa associação não foi encontrada. Nesse estudo, SNP na região promotora foram associados à concentração plasmática de outros biomarcadores, como foi o caso dos SNP -7734 C>A (rs16861209) e -11391 G>A (rs17300539) do gene da adiponectina que foram associados à concentração plasmática de IL-1β (Tabela 3) e os SNP -1474 G>C (rs1143623) e -511 G>A (rs16944) do gene da IL-1β, que apresentaram associação estatisticamente significante com a concentração plasmática de sVCAM-1 e de CCL2, respectivamente (Tabela 5).

Com relação aos SNP presentes no gene do TLR-4, constatou-se que indivíduos portadores do alelo variante para os SNP +896 A>G e +1196 C>T apresentaram concentração significativamente maior de sICAM-1 em comparação com os indivíduos homozigotos dominantes. Em concordância com esse achado, o estudo de Zeuke *et al*. (2002) demonstra que a ativação da via do TLR-4, induzida por LPS, em células do endotélio vascular da artéria coronária de seres humanos, resulta em aumento da concentração plasmática de moléculas de adesão, como a sICAM-1 e a sVCAM-1. Os SNP +896 A>G e +1196 C>T estão localizados em exons do gene do TLR4 e promovem duas trocas de aminoácidos na proteína codificada: ácido aspártico por glicina na posição 299 e treonina por isoleucina na posição 399, respectivamente. Essas trocas geram redução da atividade do TLR4 de modo que, em contraposição aos resultados observados na população desse projeto, ambas foram relacionadas à redução de concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão, ao menor risco de formação de placas ateroscleróticas e menor risco para estreitamento da íntima de artérias (KIECH *et al.*, 2002). O fato de SNP no gene de biomarcadores inflamatórios e TLR4 serem capazes de alterar outros biomarcadores inflamatórios levou à hipótese de que eles pudessem influenciar o padrão inflamatório sistêmico e não apenas cada biomarcador inflamatório pontualmente, o que vai de encontro à crescente produção de estudos que relatam associação entre os SNP avaliados no presente projeto e doenças com origem em processos inflamatórios como DM2, SM (BERMÚDEX *et*

al., 2013), DCV (CONEN *et al.*, 2009), câncer (DLUZNIEWSKI *et al.*, 2012), doenças autoimunes, Alzheimer (FERRACCIOLI *et al.*, 2012), entre outras. Não obstante, apenas alguns desses estudos apresentaram a influência desses SNP sobre a concentração do biomarcador inflamatório codificado pelo gene (SIITONEN *et al.*, 2011 e NAJAR *et al.*, 2012).

Oliveira *et al.* (2012) analisaram a associação entre os SNP -11391G>A, +45 T>G e +276 G>T presentes no gene da adiponectina, a concentração plasmática de adiponectina (total e de alto peso molecular) e a incidência de doença arterial coronariana (DAC) em pacientes do Hospital Universitário da UNIFESP-Brasil. Este estudo evidenciou que a presença do alelo G referente ao SNP +45 T>G e do alelo A para o SNP -11391 G>A estavam associadas a maior concentração plasmática de adiponectina (adiponectina total, para o primeiro, e de alto peso molecular, para ambos). Entretanto, o mesmo alelo G para o SNP +45 T>G associou-se à maior incidência de DAC (*odds ratio* de 2,45; p= 0,04) e o alelo variante para o SNP +276 G>T associou-se à menor incidência de DAC (*odds ratio* de 1,89, p= 0,03), apesar de não ter apresentado efeito sobre a concentração plasmática de adiponectina. Esses resultados nos possibilita concluir que as variações genéticas parecem influenciar a ocorrência de DAC independentemente da concentração plasmática de adiponectina, o que pode ser explicado pelo fato desses SNP terem efeito sobre a concentração de outros biomarcadores inflamatórios, o que vai ao encontro dos resultados observados no presente projeto.

Por esse motivo, optou-se por conduzir as análises subsequentes considerando um padrão inflamatório sistêmico e não mais avaliando a concentração plasmática de cada biomarcador inflamatório isoladamente. Para isso, uma análise multivariada de *Cluster* foi utilizada para agrupar indivíduos de acordo com o estado global de inflamação. A análise obteve sucesso em separar os indivíduos em dois grupos com perfis inflamatórios distintos: “inflamados” e “não inflamados”.

O grupo inflamado apresentou idade, circunferência da cintura, pressão arterial e concentração plasmática de VLDL-c e de TG significativamente maiores em relação ao grupo não inflamado. Essas características observadas no grupo inflamado são compatíveis com componentes que caracterizam o diagnóstico de

SM, a qual tem a RI e a inflamação crônica, sistêmica e de baixa intensidade como base para seu desenvolvimento (LUMENG e SALTIEL, 2011). A hipertensão arterial é resultante, entre outros fatores, da disfunção endotelial combinada com a vasoconstrição e a redução da vasodilatação, ambas resultantes da ativação de vias inflamatórias no endotélio vascular (ANDERS *et al.*, 2015). No tocante ao aumento da concentração plasmática de triacilglicerol, cabe destaca que a inflamação gera a RI em tecidos metabólicos e, combinadas, elas são responsáveis por aumentar a lipólise no tecido adiposo, reduzir a captação de glicose nesse tecido e no músculo esquelético, bem como ativar vias de lipogênese e neoglicogênese hepáticas, ocasionando acúmulo de triacilglicerol no fígado e aumento da sua concentração plasmática (JUNG e CHOI, 2014). Combinadas, a hipertensão arterial e a dislipidemia, juntamente com o quadro inflamatório sistêmico, aumentam o risco para eventos cardiovasculares relacionados à aterosclerose (LOVREN *et al.*, 2015).

Os dois grupos também apresentaram diferenças entre as médias de AG do plasma, sendo que o grupo inflamado possuía maior quantidade de C16:0 e menor quantidade de AGPI, n-6 e AA no plasma, quando comparado com o grupo não inflamado. Esses resultados vão de encontro àqueles verificados em outros estudos realizados em humanos nos quais o AG C16:0 foi positivamente associado com a concentração plasmática de PCR (KASKA *et al.*, 2014 e PERREAULT *et al.*, 2014), risco para SM (WARESJO *et al.*, 2005 e MAYNERIS-PERXACHS *et al.*, 2014), DCV (WARESJO *et al.*, 2008a) e negativamente associado com a concentração plasmática de adiponectina (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2005). Essa associação positiva pode ser explicada pelo fato de o AG C16:0 ser capaz de ativar a via de sinalização do TLR-4, a qual culmina na translocação e ativação do fator de transcrição designado NF-κB para o núcleo celular, e, por consequência, ocorre a ativação da transcrição gênica de proteínas com ação pró-inflamatória, contribuindo para a patogênese de doenças metabólicas (HUANG *et al.*, 2012).

Além disso, as atividades de enzimas, estimadas pela razão entre o produto e substrato da reação, também diferiram entre os grupos, sendo que o grupo inflamado apresentou maior atividade da SCD-1 e menor atividade da enzima D5D. Essa atividade reduzida da enzima D5D deve estar relacionada à quantidade reduzida de AA e de n-6 nos indivíduos participantes do grupo inflamado.

No tocante à menor concentração plasmática de AA e atividade reduzida da enzima D5D verificada no grupo inflamado, cabe destacar que a síntese de AG poli-insaturados de cadeia longa, como AA e EPA, a partir dos AG essenciais, C18:2 n-6 e C18:3 n-3, respectivamente, é realizada por enzimas designadas elongases e por enzimas dessaturases — como as enzimas D6D e D5D —, as quais são principalmente moduladas por estímulos da alimentação e hormonais (WARENSJO et al., 2008b;RAATZ *et al.*, 2012) Estudos longitudinais e de abordagem de randomização mendeliana evidenciaram que as atividades estimadas dessas enzimas e variações genéticas localizadas nos genes que codificam para as mesmas têm relação de causalidade no desenvolvimento de DM2, RI e aumento da concentração plasmática de PCR, sendo que a atividade da D5D é negativamente relacionada a esses desfechos enquanto a atividade da D6D é positivamente relacionada (WARENSJO *et al*., 2005 e KROGER e SCHULZE, 2012). Apesar dos mecanismos que justifiquem uma atuação das enzimas dessaturases no desenvolvimento de desordens metabólicas não estarem elucidados, aventa-se que a redução da atividade da D5D diminuiria, consequentemente, a concentração plasmática de AA nos indivíduos do grupo inflamado, justificanto os resultados observados no presente projeto.

Além disso, estudos com humanos de delineamento transversal têm sido inconclusivos a respeito da associação entre a concentração plasmática de AA e a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios (PETERSSON *et al.* 2008 e PERREAULT *et al.* 2014), sendo que alguns estudos mais recentes relatam uma proteção desse AG contra DCV e uma associação negativa do mesmo com concentrações plasmáticas de IL-6 (FEZEU *et al.* 2014; KASKA *et al.* 2014).

A atividade aumentada da enzima SCD-1, por sua vez, tem sido associada, em outros estudos, com risco aumentado para SM (WARESJO *et al.*, 2005), mortalidade por DCV (WARESJO *et al.*, 2008a), e correlacionada positivamente com alguns fatores de risco para ambas, como circunferência da cintura elevada, intolerância à glicose (medida por teste de tolerância oral à glicose) (STEFAN *et al.*, 2008), hipertrigliceridemia (PILLARD *et al.*, 2008) e aumento da concentração de PCR sérica (PETERSSON *et al.*, 2008). Como essa enzima está relacionada com a síntese de 18:1 n-9 e 16:1 n-7 a partir de 18:0 e 16:0, respectivamente, etapa fundamental para a lipogênese hepática (SAMPATH *et al.*, 2007), e pode ter sua

atividade aumentada, entre outros fatores, por AGS da alimentação (WARESJO *et al.*, 2008b), os resultados encontrados nesse e em outros estudo podem estar relacionados com o potencial pró-inflamatório desses AGS e pró-ateroscleróticos da lipogênese hepática, com a qual está intimamente associada.

No presente estudo, não foi verificada nenhuma associação significativa entre todos os SNP analisados e os padrões inflamatórios. Entretanto, considerando que as alterações dos biomarcadores inflamatórios podem ocorrer pela presença de polimorfismos e pelo perfil plasmático de AG, foram verificadas interações entre os SNP presentes nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 e os AG plasmáticos.

Nesse sentido, o SNP +6054 G>A (rs1143643) do gene da IL-1β apresentou interação estatisticamente significante com C18:0, AA, AGPI e atividade estimada da D6D, sendo que apenas os indivíduos portadores do alelo variante apresentaram menor chance de estarem no grupo inflamado quando as concentrações plasmáticas de C18:0 e AA estavam acima da mediana. Apesar de ser um SNP sinônimo, em alguns estudos, como no estudo de Shen *et al*. (2007), o genótipo GG foi associado ao maior risco para SM, hipertensão arterial, maior concentração plasmática de PCR e menor concentração plasmática de adiponectina, sendo, por tanto, considerado um genótipo de risco. Nesse mesmo estudo, ainda, AGPI da membrana eritrocitária foram modificadores de efeito do SNP +6054 G>A, sendo que os indivíduos GG nos percentis mais altos de AGPI, n-3 e EPA+DHA da membrana deixaram de apresentar risco para SM.

Apesar de estudos *in vitro* demonstrarem que a adição de C18:0 livre em meio de cultura estimula vias de sinalização celular pró-inflamatórias, como a via de sinalização da proteína JNK-1 e 2 e do NFκB, bem como a expressão de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias (IL-1β, IL-6 e TNF-α) em macrófagos peritoneais (ANDERSON *et al.*, 2012) e células endoteliais (HARVEY *et al.*, 2010), os estudos em humanos têm apresentado resultados conflitantes acerca da ação desse AG sobre a inflamação, sendo que alguns estudos evidenciam risco elevado para DM2 e concentração plasmática de C18:0, os quais foram associados positivamente com concentrações de LDL-c e de fibrinogênio (MA *et al.*, 2015) e índices de RI (KUROTANI *et al.*, 2012), enquanto outros estudos apontam para desfechos metabólicos de proteção, como redução das concentrações plasmáticas

de PCR (PERREAULT *et al.*, 2014) e risco reduzido para eventos cardiovasculares (FEZEU *et al.*, 2014). A maioria dos estudos, no entanto, apresenta resultados sem significância estatística a respeito da associação entre concentração plasmática de C18:0 e inflamação (MAYNERIS-PERXACHS *et al.*, 2014, FERNÁNDEZ-REAL *et al.*, 2005, KLEIN-PLATAT *et al.*, 2005, WARENSJÖ *et al.*, 2008, KASKA *et al.*, 2014, PETERSSON *et al.*, 2008, PETERSSON *et al.*, 2009). Esses resultados conflitantes podem ser provenientes de variações de delineamento de estudo, poder estatístico da amostra e características das populações estudadas, como sexo, idade, raça, presença de doenças metabólicas ou variações genéticas. O SNP +6054 G>A do gene da IL-1β, apontado pelo presente estudo, poderia estar entre essas variações genéticas que influenciam a associação do perfil de AG do plasma como fatores de risco ou proteção para inflamação e desordens metabólicas, uma vez que esse SNP é modificador do efeito do C18:0, sendo que apenas uma categoria genotípica (AG+AA) apresentou proteção conferida por níveis plasmáticos aumentados desse AG.

Outra interação gene-AG do plasma encontrada no presente projeto se refere ao SNP +3725G>C do gene do TLR-4, para o qual indivíduos GC+CC apresentaram chance elevada de estar no grupo inflamado quando estavam acima da mediana para a razão AA/EPA plasmáticos. Como a conversão do AA em eicosanoides de série par é realizada pelas mesmas enzimas que convertem o EPA em eicosanoides de série ímpar (cuja ação pró-inflamatória é menos intensa em relação àquela dos eicosanoides de série par), e o EPA e DHA em maresinas, protectinas e resolvinas (as quais possuem ação anti-inflamatória), a razão plasmática AA/EPA reflete a disponibilidade dos dois substratos na membrana de células, onde, dependendo do equilíbrio entre eles, pode haver um desvio da síntese de eicosanoides para um perfil mais ou menos pró-inflamatório (Calder, 2015). Adicionado a isso, o estudo de Sato *et al.* (2012) investigou o mecanismo pelo qual o SNP +3725 G>C do gene do TLR-4, localizado em uma região não traduzível do RNA mensageiro, poderia exercer seus efeitos sobre a inflamação e, nesse sentido, constatou-se que o RNA mensageiro contendo o alelo variante deixa de sofrer inibição de dois microRNAs, o miRNA -1236 e o miRNA -642, o que acarreta no aumento da síntese e da quantidade de TLR-4 nas células. Seguindo essas hipóteses, é plausível que indivíduos carreadores do alelo C variante, que tem conteúdo aumentado de TLR-4

na membrana celular, apresentem maior risco para um perfil inflamatório sistêmico com razão plasmática AA/EPA elevada, já que as propriedades anti-inflamatórias, de inibição da sinalização celular do TLR-4, exercidas pelo EPA, estariam deficientes nesses indivíduos devido a menor disponibilidade desse AG na produção de eicosanoides com propriedades anti-inflamatórias (resolvinas), na modulação do fator de transcrição PPAR-γ, e na ativação da via celular do GPR-120 (Calder, 2015).

Com relação aos SNP localizados no gene da adiponectina, três deles apresentaram interação estatisticamente significante com os AG plasmáticos, de forma a influenciar o risco de pertencer ao grupo inflamado. Nesse sentido, para o SNP +45 T>G, apenas os portadores do alelo G no percentil mais alto de ácidos graxos n-3 no plasma apresentaram menor chance de pertencer ao grupo inflamado, enquanto essa proteção dos AG n-3 não foi observada em indivíduos com o genótipo TT. Esse resultado pode ser explicado pela modulação que os AG n-3 exercem sobre a transcrição gênica da adiponectina, uma adipocina com potente ação de sensibilização à insulina, anti-inflamatória e antiaterogênica (SHEHZAD *et al.* 2012), uma vez que EPA e DHA tem capacidade de ativar o receptor nuclear PPAR-γ, que está envolvido na ativação do gene da adiponectina (OSTER *et al.*, 2010). Além disso, de acordo com Guzman *et al.* (2012) e Siintonen *et al.* (2011), indivíduos carreadores do alelo G para o SNP +45 T>G apresentam maior concentração plasmática de adiponectina. Como esse SNP é localizado no interior do gene, em uma região exon, a presença do alelo T deve estar relacionada a mecanismos pós-transcricionais de regulação da síntese de adiponectina, de forma que indivíduos portadores do alelo G, que sofreriam menor influência de fatores regulatórios pós-transcricionais, seriam mais sensíveis à ativação da região promotora induzida pelos AG n-3. Nesse caso, portanto, carreadores do alelo G para o SNP +45 T>G se beneficiariam mais com a orientação de uma alimentação rica em ácidos graxos n-3.

Entretanto, de forma contrária aos resultados verificados no presente projeto, o estudo conduzido por Alsaleh e colaboradores (2013), incluindo participantes do estudo MARINA, constatou aumento de 22% na concentração de adiponectina plasmática após 12 meses de suplementação com 1,8 g/dia de EPA+DHA (1,51:1) apenas nos indivíduos TT, com mais de 58 anos. Diante disso, mais estudos

conduzidos na população brasileira são necessários para delinear conclusões e condutas clínicas mais adequadas a essa população e possíveis diferenças entre faixas etárias.

Nenhuma interação estatisticamente significante entre AG do plasma e os SNP -7734 C>A e -11391 G>A foi encontrada por outros estudos. No presente estudo, apenas os indivíduos CC para o SNP -7734 C>A teriam menor chance de pertencerem ao grupo inflamado quando AA, EPA, DPA e atividade estimada da D5D do plasma estavam acima da mediana. Os portadores do alelo A para o SNP -11391 G>A apresentaram maior chance de pertencer ao grupo inflamado no maior percentil de AGS do plasma, enquanto os indivíduos GG apresentaram menor chance quando estavam no maior percentil de AA, AGAI n-3 e atividade estimada de D5D do plasma.

Considerando que o alelo G para o SNP -11377 C>G tem sido associado a risco aumentado para DM2 (CHU *et al.* 2013) e DCV (ZHANG *et al.* 2012), os resultados do presente estudo referentes a esse SNP, apesar de não envolverem interações gene-nutriente estatisticamente significantes, fornecem informações importantes para uma possível redução do risco dessas doenças. Nesse sentido, aventa-se que uma dieta capaz de aumentar as concentrações plasmáticas de AA, EPA, DHA, n-3 e AGAI n-3, bem como modular a atividade da enzima D5D, poderia reduzir as chances dos indivíduos GC+GG desenvolverem doenças metabólicas decorrentes do estado inflamatório crônico, sistêmico e de baixa intensidade. Além disso, redução da ingestão e da concentração plasmática de AGS pode ser benéfica para esses indivíduos, uma vez que Fergunson *et al.* (2010) e Perez-Martinez *et al.* (2008) observaram aumento do índice HOMA-IR (modelo de avaliação homeostático usado para determinar graus de RI) nos carreadores do alelo G para o SNP -11377 C>G em valores elevados de AGS do plasma e da dieta, respectivamente, em indivíduos com SM, provenientes do estudo multicêntrico LIPIGENE (30 a 70 anos, com IMC entre 20 e 40), e em estudantes da Universidade de Córdoba (Espanha), idade média de 23 anos, respectivamente.

8 CONCLUSÃO

Com base nos resultados do presente projeto, pode-se concluir que:

- Os SNP localizados nos genes da adiponectina, TLR-4, IL-1β e IL-6 tem efeito sobre a concentração plasmática de alguns biomarcadores inflamatórios, todavia nenhum SNP apresentou associação com o grupo inflamado.
- A concentração plasmática de C16:0, razões AGS/n-6 e AGS/AGPI e a atividade estimada da enzima SCD-18 foram associadas positivamente e as concentrações plasmáticas de AGPI, n-6 e AA e a atividade estimada da enzima D5D foram negativamente associadas a um padrão inflamatório sistêmico.
- Interações SNP-AG plasmáticos, influenciando as chances para um padrão inflamatório sistêmico, foram encontradas entre o SNP +6054 G>A (rs1143643) do gene da IL-1β e C18:0, AA, AGPI e atividade estimada da enzima D6D, entre o SNP +3725 G>C (rs11536889) do gene do TLR-4 e a razão AA/EPA, entre o SNP +45 T>G (rs2241766) do gene da adiponectina e n-3, entre o SNP -7734 C>A (rs16861209) do gene da adiponectina e AA e entre o SNP -11391 G>A (rs17300539) do gene da adiponectina e AGS.

O presente estudo contribuiu para identificar a frequência genotípica de SNP não antes estudados na população brasileira em uma amostra proveniente de um estudo de base populacional. Além disso, as informações obtidas poderão contribuir para estudos que visam desenvolver medidas para a redução do risco de doenças crônicas associadas com o estado inflamatório crônico, sistêmico e de baixa intensidade de forma individualizada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, AK; LICHTMAN, AH. Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico. Brasil. 2007.

ACKERMANN, D; JONES, J; BARONA, J; CALLE, MC; KIM, JE; LAPIA, B; VOLEK, JS; MCINTOSH, M; KALYNYCH, C; NAJM, W; LERMAN, RH; FERNANDEZ, ML. Waist circumference is positively correlated with makers of inflammation and negatively with adiponectin in women with metabolic syndrome. **Nutr Res**. v.31, p. 197-204, 2011.

ALSALEH, A; CREPOSTINAIA, D; MANIOU, Z; LEWIS, FJ; HALL, WL; SANDER, TA; O'DELL, SD; MARINA STUDY TEAM. Adiponectin gene variant interacts with fish oil supplementation to influence serum adiponectin in older individuals. **J Nutr**. v.143, p. 1021-1027, 2013.

ANDERS, HJ; BAUMANN, M; TRIPEPI, G; MALLAMACHI, F. Immunity in arterial hypertension: associations or causalities? **Nephrol Dial Transplant**. V.0, P.1–6, 2015.

ANDERSON, EK; HILL, AA; HASTY, AH. Stearic Acid Accumulation in Macrophages Induces Toll- Like Receptor 4/2-Independent Inflammation Leading to Endoplasmic Reticulum Stress–Mediated Apoptosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.32, p.1687–1695, 2012.

BEATON, GH. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analyses and choice of methodology. **Am J Clin Nutr**. v.59, p.253S-261S, 1994.

BELFORTE, FS; LESKOW, FC; POSKUS, E; STEINHARDT, AP. Toll like receptor 4 D299G polymorphism in metabolic disoders: a meta-analysis. **Mol Biol Rep.** v. 40, p. 3015-3020, 2013.

BERMUDEZ, VJ. et al. Single-Nucleotide Polymorphisms in Adiponectin, AdipoR1, and AdipoR2 Genes: Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus Candidate Genes. **Am J Therapeutics,** v.20, p. 414-421, 2013.

BERRAHMOUNE, H; HERBETH, B; LAMONT, JV; FITZGERALD, PS; VISVIKIS-SIEST, S. Association between TNF-α and IL-1 bloc polymorphisms and plasma MCP-1 concentration. **Atherosclerosis**.v.192, p. 348-353, 2007.

BICKMAN, BT. A role of sphingolipids in the pathophysiology of obesity-induced inflammation. **Cell Mol Life Scie**. v. 69, p. 2135-2146, 2012.

BRYK, D; ZAPOLSKA-DOWNAR, D; MALECKI, M; HAJDUKIEWICZ, K; SITKIEWICZ, D. Trans fatty acids induce a proinflammatory response in endothelial cells through ros-dependent nuclear factor-κB activation. **J Physiol and Pharmoco**l. V. 62(2), p. 229-238, 2011.

CALDER, PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.1851, p.469–484, 2015.

CALDER, PC; ALBERS, R; ANTOINE, JM; BLUM, S; BOURDET-SICARD, R; FERNS, GA; FORKERTS, G; FRIEDMANN, PS; FROST, GS; GUARNER, F; LOVIK, M; MCFARLANE, S; MEYER, PD; M'RABET, L; SERAFINI, M; VAN EDEN, W; VAN LOO, J; VAS DIAS, W; VIDRY, S; WWINKLHOFER-ROOB, BM; ZHAO, J. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. **Br J Nutr**. v.101, p. S1–S45, 2009.

CANELLA, DS; LEVY, RB; MARTINS, APB; CLARO, RM; MOUBARAC, JC; BARALDI, LG; CANNON, G; MONTEIRO, CA. Ultra-processed food products and obesity in Brazilian households (2008-2009). **PLoS ONE**, v. 9, e92752, 2014.

CAROBBIO, S; RODRIGUEZ-CUENCA, S; VIDAL-PUIG, A. Origins of metabolic complications in obesity: ectopic fat accumulation. The importance of the qualitative aspects of lipotoxicity. **Curr Opin Clin Nut**. v.14, p. 520-526, 2011.

CHAVEZ, JA; SUMMERS, SA. A Ceramide-Centric View of Insulin Resistance. Cell Metabolism, v. 15, p.585-594, 2012.

CHO, HP; NAKAMURA, MT; CLARKE, SD. Cloning, expression and regulation of human Δ5 desaturase. **J Biol Chem** v.274, p.37335–37339, 1999.

CHU, H; WANG, M; ZHONG, D; SHI, D; MA, L; TONG, N; ZHANG, Z. AdipoQ polymorphisms are associated with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis study. **Diabetes Metab Res Rev**.v29, p.532-545, 2013.

CONEN, D *et al*., Association of 77 Polymorphisms in 52 Candidate Genes with Blood Pressure Progression and Incident Hypertension: The Women's Genome Health Study. **J hyperteins.**, v.29, p.476-483, 2009.

CORELLA, D; ORDOVAS, JM. Interactions between dietary n-3 fatty acids and genetic variants and risk of disease. **Br J Nutr**. v.107, p. S271-S283, 2012.

CUDA, C; BADAWI, A; KARMALI, M; EL-SOHEMI, A. Polymorphism in Toll Like receptor 4 are associated with factors of the Metabolic Syndrome and modify the association between dietary saturated fat and fasting high density lipoprotein cholesterol. **Met Clin Experimental**. v.60, p. 1131-1135, 2010.

CUPPARI, L; ANÇÃO, MS. Uso de programas computadorizados na avaliação dietética. In: FISBERG, RM (Coord.); SLATER, B; MARCHIONI, DML; MARTINI, LA**. Inquéritos Alimentares: métodos e bases científicas**. 1ed. Barueri: Manole, 2005. p.71-82.

DHIBI, M; BRAHMI, F; MNARI, A; HOUAS, Z; CHARGUI, I; BCHIR, L; GAZZAH, N; ALZAIF, MA; HAMMAMI, M. The intake of a high fat diet with different trans fatty acid levels differently induces oxidative stress and non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats. **Nutrition and Metabolism**. v. 8, i. 85, 2011.

DLUZNIEWSKI, PJ et al. Response and in Oxidation and Prostate Cancer Recurrence Variation in *IL10* and Other Genes Involved in the Immune. **Cancer Epidemiol Biomarkers**, v.21, p.1774-1782, 2012.

ESSER, N; LEGRAND-POELS, S; PIETTE, J; SCHEEN, AJ; PAQUOT, N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Diab Res Clin Pract**. v.105, p. 141-150, 2014.

FENECH, M; EL-SOHEMY, A; CAHILL, L; FERGUSON, LR; FRENCH, TA; TAI, ES; MILNER, J; KOH, WP; XIE, L; ZUCKER, M; BUCKLEY, M; COSGROVE, L; LOCKETT, T; FUNG, KY; HEAD, R. Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints

on the current status and applications in nutrition research and practice. **J Nutrigenetics and Nutrigenomics** . v.4, p.69-89, 2011.

FERGUSON, JF; PHILLIPS, CM; TIERNEY, AC; PÉREZ-MARTÍNEZ, P; DEFOORT, C; HELAL, O; LAIRON, D; PLANELLS, R; SHAW, DI; LOVEGROVE, JA; GJELSTAD, IMF; DREVON, CA; BLAAK, EE; SARIS, WHM; LESZCZYNSKA-GOŁABEK, I; KIEC-WILK, B; RISÉRUS, U; KARLSTRÖM, R; LOPEZ-MIRANDA, J; ROCHE, HM. Gene-nutrient interactions in the metabolic syndrome: single nucleotide polymorphisms in ADIPOQ and ADIPOR1 interact with plasma saturated fatty acids to modulate insulin resistance. **Am J Clin Nutr**, v.91, p.794-801, 2010.

FERNÁNDEZ-REAL, JM; VENDRELL, J; RICART W. Circulating adiponectin and plasma fatty acid profile. Endocrinology and metabolism. v.51(3), p. 603-609, 2005.

FERRACCIOLI, G; CARBONELLA, A; GREMESE, E; ALIVERNINI, S. Rheumatoid arthritis and Alzheimer's disease: Genetic and epigenetic links in inflammatory regulation. **Descovery Medicine,** v.14, p. 379-388, 2012.

FEZEU, LK; LAPORTE, F; KESSE-GUYOT, E; ANDREEVA, VA; BLACHER, J *et al.* Baseline Plasma Fatty Acids Profile and Incident Cardiovascular Events in the SU.FOL.OM3 Trial: The Evidence revisited. **PLoS ONE**, v.9(4), p.e92548, 2014.

FISBERG, RM; MARTINI, LA; SLATER, B. Métodos de Inquéritos alimentares. In: FISBERG, RM (Coord.); SLATER, B; MARCHIONI, DML; MARTINI, LA. **Inquéritos Alimentares: métodos e bases científicas**. 1ed. Barueri: Manole, 2005. p.1-29.

GREGOR, MF; HOTAMISLIGIL, GS. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual Reviews of immunology**. v. 29, p. 415-445, 2011.

GUZMAN-ORNELAS, MO; CHAVARRIA-AVILA, E; MUNOZ-VALLE, JF; ARMAS-RAMOS, LE; CASTRO-ALBARRAN, J; AGUILAR ALDRETE, ME; OREGON-ROMERO, E; VAZQUEZ-DEL MERCADO, M; NAVARRO-HERNANDEZ, RE. Association of ADIPOQ +45T>G polymorphism with body fat mass and blood levels of soluble adiponectin and inflammation markers in a Mexican-Mestizo population. **Diabetes Metab Syndr Obes**. v5, p.369-378, 2012.

HAN, LY; WU, QH; JIAO, ML; HAO, YH; LIANG, LB; GAO, LJ; LEGGE, DG; QUAN, H; ZHAO, MM; NING, N; KANG, Z; SUN, H. Associations between single-nucleotide polymorphism (+45T>G, +276G>T, -11377C>G, -11391G>A) of adiponectin gene and type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. **Diabetologia**. v.54, p. 2303-2314, 2011.

HARVEY, KA; WALKER, CL; XU, Z; WHITLEY, P; PAVLINA, TM; HISE, M; ZALOGA, GP; SIDDIQUI, RA. Oleic acid inhibits stearic acid-induced inhibition of cell growth and pro-infl ammatory responses in human aortic endothelial cells. **J. Lipid Res**. v.51, p.3470–3480, 2010.

HAUBROCK, J; NÖTHLINGS, U; VOLATIER, J; DEKKERS, A; OCKÉ, M; HARTTIG, U; ILLNER, A; KNÜPPEL, S; ANDERSEN, LF; BOEING, H Estimating Usual Food Intake Distributions by Using the Multiple Source Method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. J. Nutr., v.141, p.914–920, 2011

HEDRICK, VA; DIETRICH, AM; ESTABROOKS, PA; SAVLA, J; SERRANO, E; DAVY, BM. Dietary Biomarkers: advances, limitations and future directions. **Nutrition Journal**, v. 11, p. 1-14, 2012.

HODSON, L; SKEAFF, CM; FIELDING, BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as biomarkers of dietary intake. **Prog Lip Res.**, v47, p.348-380, 2008.

HODSON, L; FIELDING, BA. Stearoyl-CoA desaturase: rogue or innocent bystander? **Progress in Lipid Research**. v. 52, p. 15–42, 2013.

HOSKING, L; LUMSDEN, S; LEWIS, K; YEO, A; MCCARTHY, L; BANSAL, A; RILEY, J; PURVIS, I; XU, CF. Detection of Genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. Eur J Hum Genet., v.12, p.395-399, 2004.

HUANG, S; RUTKOWSKY, JM; SNODGRASS, RG; ONO-MOORE, KD; SCHNEIDER, DA; NEWMAN, JW; ADAMS, SH; HWANG, DH. Saturated fatty acids activate TRL-mediated proinflammatory signaling pathways. **J Lipid Research**. v. 53, p. 2002-2013, 2012.

JOFFE, YT; COLLINS, M; GOEDECKE, JH. The Relationship between Dietary Fatty Acids and Inflammatory Genes on the Obese Phenotype and Serum Lipids. **Nutrients**, v.5, p.1672 – p.1705, 2013.

JUNG, UJ; CHOI, MS. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Int J Mol Sci**. v.15, p.6184-6223, 2014.

KASKA, L; MIKA, A; STEPNOWSKI, P; PROCZKO, M; RATNICKI-SKLUCKI, K; SLEDZINSKI, T; GOYKE, E; SWIERCZYNSKI, J. The relation between specific fatty acid of serum lipids and serum C-reactive protein levels in morbidly obese women. **Cell Physiol Biochem**., v. 34, p.1101-1108, 2014.

KLEIN-PLATAT, C; DRAI, J; OUJAA, M; SCHLIENGER, JL; SIMON, C. Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents. **Am J Clin Nutr**, v.82, p.1178–1184, 2005.

KRÖGER, J; SCHULZE, MB. Recent insights into the relation of D5 desaturase and D6 desaturase activity to the development of type 2 diabetes. **Curr Opin Lipidol**., v.23, p.4-10, 2012.

KUROTANI, K;SATO, M;EJIMAB, Y; NANRIA, A; YI, S;PHAMA, NM; AKTER, S; POUDEL-TANDUKAR, K; KIMURAD, Y; IMAIZUMIB, K;MIZOUEA, T. High levels of stearic acid, palmitoleic acid, and dihomo-ɣ-linolenic acid and low levels of linoleic acid in serum cholesterol ester are associated with high insulin resistanc. **Nutr Res**, v.33, p.669-675, 2012.

LAAKSONEN DE, LAKKA TA, LAKKA HM,NYYSSÖNEN K, RISSANEN T, NISKANEN LK, SALONEN JT. Serum fatty acid composition predicts development of impaired fasting glycaemia and diabetes in middle-aged men. **Diabetic Med**., v. 19, p.456-464, 2002.

LEE, B-C; LEE, J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1842, p. 446–462, 2014.

LOTENBERG, AM; AFONSO, MS; LAVRADOR, MSF; MACHADO, RM; NAKANDAKARE, ER. The role of dietary fatty acids in the pathology of metabolic syndrome. **The J Nutr Biochem**. In press. 2012.

LOVREN, F; TEOH, H; VERMA, S. Obesity and Atherosclerosis: Mechanistic Insights. **Canadian Journal of Cardiology**, v.31, p.177-183, 2015.

LUMENG, CN; SALTIEL, AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **J Clin Invest**. v. 121, p.2111-2117, 2011.

MA, W; WU, JHY; WANG, Q; LEMAITRE, RN; MUKAMAL, KJ; DJOUSSE, L; KING, IB; SONG, X; BIGGS, ML; DELANEY, JA; KIZER, JR; SISCOVICK, DS; MOZAFFARIAN, D. Prospective association of fatty acids in the de novo lipogenesis pathway with risk of type 2 diabetes: the Cardiovascular Health Study. **Am J Clin Nutr**, v.101, p.153–63, 2015.

MANOLAKIS, AC; KAPSORITAKIS, AN; TIAKA, EK; SIDIROPOULOS, A; GEROVASSILI, A; SATRA, M; VAMVAKOPOULOU, D; TSIOPOULOS, F; PAPANAS, N; SKOULARIGIS, I; POTAMIANOS, SP; VAMVAKOPOULOS, N. TLR-4 gene polymorphisms: evidence for protection against type 2 diabetes but not for diabetes-associated ischaemic heart disease. **Eur J Endocrinol**. v. 165, p. 261-267, 2010.

MATHIS, D. Immunological goings-on in visceral adipose tissue. **Cell Metabolism.** v. 17, p 851-859, 2013.

MAYNERIS-PERXACHS J, GUERENDIAIN M, CASTELLOTE A, ESTRUCH R, COVAS MI, FITÓ M, SALAS-SALVADÓ J, MARTÍNEZ-GONZÁLEZ MA, AROS F, LAMUELA-RAVENTÓS RM, LÓPEZ-SABATER MC. Plasma fatty acid composition, estimated desaturase activities, and their relation with the metabolic syndrome in a population at high risk of cardiovascular disease. **Clin Nutr**., v. 33, p.90-97, 2014.

MCNELIS, JC; OLEFSKY, JM. Macrophages, immunity and metabolic disease. Immunity, v.41, p.36-48, 2014.

MILLER, SA; DYKES, DD; POLESKY, HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **NucleicAcids Res.** v.16, p. 1215, 1988.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **VIGITEL Brasil 2013: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Relatório piblicado**. Brasília – DF, 2014.

MITIRAOUI, N; EZZIDI, I; TURKI, A; CHAIEB, A; MAJHOUB, T; ALMAWI, WY. Single-nucleotide polymorphisms and haplotypes in the adiponectin gene contribute to the genetic risck for type 2 diabetes in Tunisian Arabs. **Diabetes Research and Clinical Practice**. In press, 2012.

MONTEIRO, CA; LEVY, RB; CLARO, RM; DE CASTRO, IR; CANNON, G. Increasing consumption of ultraprocessed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. **Public Health Nutrition**. v. 14, p. 5-13, 2011.

MOSHFEGH, AJ; RHODES, DG; BAER, DJ; MURAYI, T; CLEMENS, JC; RUMPLER, WV. The US Department of Agriculture Automated Multiple-Pass Method reduces bias in the collection of energy intake. **Am J Clin Nutr**. v. 94, p. 57-64, 2008.

MOZAFFARIAN, D; ARO, A; WILLET, WC. Health effects of *trans*-fatty acids: experimental and observational evidence. **Eur J Clin Nutr**. v. 63, p. s5-s21. 2009

NAJAR, RA; GHADERIAN, SMH; PANAH, AST. C-reactive protein (CRP) gene polymorphisms: implication in CRP plasma levels and susceptibility to acute myocardial infarction. **Mol Bio Rep.**, v.39, p. 3705 – 3712, 2012.

NETEA, MG; DINARELLO, CA. More than inflammation: Interleukin 1-β polymorphisms and the lipid metabolism. **J Clin Endocrinol Metab**. v.96, p. 1279-1281, 2011.

Oliveira, CS; Saddi-Rosa, P; Crispim, F; Canani, LH; Gerchman, F; Giuffrida, FM; Vieira, JG; Velho, G; Reis AF. Association of ADIPOQ variants, total and high molecular weight adiponectin levels with coronary artery disease in diabetic and non-diabetic Brazilian subjects. **J Diabetes Complications**.v.26, p. 94-98, 2012.

ORDOVAS, J. Diet/genetic interactions and their effects on inflammatory markers. **Nutr Rev**. Boston Massachusetts, EUA. 2007

OSTER, RT; TISHISKY, JM; YUAN, Z; ROBINSON, LE. Docosahexaenoic acid increases cellular adiponectin mRNA and secreted adiponectin protein, as well as PPARγ mRNA, in 3T3-L1 adipocytes. **Appl Phisiol Nutr Metab** v35, p.783-789, 2010.

PEREIRA, RA; DUFFEY, KJ; SICHIERI, R; POPKIN, BM. Sources of excessive saturated fat, trans fat and sugar consumption in Brazil: an analysis of the first Brazilian nationwide individual dietary survey. **Pub Health Nutr.** doi:10.1017/S1368980012004892, p. 1-9, 2012.

PÉREZ-MARTÍNEZ, P; LÓPEZ-MIRANDA, J; CRUZ-TENO, C; DELGADO-LISTA, J; JIMÉNEZ-GOMEZ, Y; FERNÁNDEZ, JM; GÓMEZ, MJ; MARIN, C; PÉREZ-JIMÉNEZ, F; ORDOVAS, JM. Adiponectin gene variants are associated with insulin sensitivity in response to dietary fat consumption in caucasian men. **J Nutr.** v. 138, p. 1609-1614, 2008.

PERREAULT, M; ROKE,K; BADAWI, A; NIELSEN, DE; ABDELMAGID, SA; EL-SOHEMY, A; MA, DWL; MUTCH, DM. Plasma Levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7, and 20:3n-6 are Positively Associated, but 18:0 and 18:2n-6 are Inversely Associated with Markers of Inflammation in Young Healthy Adults. **Lipids**. V.49, p. 255-263, 2014.

PETERSSON, H; BASU, S; CEDERHOLM, T; RISÉRUS U. Serum fatty acid composition and indices of stearoyl-CoA desaturase activity are associated with systemic inflammation: longitudinal analysis in middle aged men. **Br J Nutr**.,v. 99, p.1186-1189, 2008.

PHILIPIS, CM. Nutrigenetics and Metabolic Disease: Current Status and Implications for Personalised Nutrition. **Nutrients**, v. 5, p.32-57, 2013.

PILLARD, F; CATHELINE, D; DUFF, FL; BOURIEL, M; DEUGNIER, Y; DAUBERT, JC; LEGRAND, P. Plasma palmitoleic acid, a product of stearoyl-coA desaturase activity, is an independent marker of triglyceridemia and abdominal adiposity. **Nutr Metab Card Dis**. V.18, p.436-440, 2008.

POPKIN, BM. Contemporary nutritional transition: determinants of diets and its impact on body composition. **PNS**. V.70, p. 82-91, 2011.

POPKIN, BM; ADAIR, LS; NG, SW. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. Nutr Rev. v. 70, p. 3-21, 2012.

PORTAL DA SAÚDE SUS [homepage na internet]. Disponível em <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/abril/15/PPT-Vigitel-2014-.pdf >, acesso em 19 abr. 2015.

RAATZ, SK; YOUNG, LR; PICKLO, MJ; SAUTER, ER; QIN, W; KURZER, MS. Total dietary fat and fatty acid content modifies plasma phospholipid fatty acids, desaturase activity indices, and urinary prostaglandin E in women. Nutr Reasearch., v.32, p. 1-7, 2012.

RAZQUIN, C; MARTINEZ, JA; MARTINEZ-GONZALES, MA; FERNÁNDEZ-CREHUET, J; SANTOS, JM; MARTI, A. A mediterranean diet rich in virgin olive oil may reverse de effects of the -174 G/C IL-6 gene variant on 3-year body weight change. **Mol. Nutr. Food Res**. v.54, p. s75-s82, 2010.

SAMPATH, H; MIYAZAKI, M; DOBRZYN, A; NTAMBI, J. Stearoyl-CoA Desaturase-1 Mediates the Pro-lipogenic Effects of Dietary Saturated Fat. **J Biological Chemistry**. V.282, p. 2483-2493, 2007.

SATO, K; YOSHIMURA, A; KANEKO, T; UKAI, T; OZAKI, Y; NAKAMURA, H; LI, X; MATSUMURA, H; HARA, Y; OGATA, Y. A single nucleotide polymorphism in 3'-untranslated region contributes to the regulation of Toll-like receptor 4 translation. J Biol Chem, v. 287, p.25163-25172, 2012.

SHEHZAD, A; IQBAL, W; SHEHZAD, E; LEE, YS. Adiponectin: regulation of its production and its role in human disease. **Hormones**, v. 11, p.8-20, 2012.

SHEN, J; ARNETT, DK; PEACOCK, JM; PARNELL, LD; KRAJA, A; HEXSON, JE; TSAI, MJ; LAI, C; KABAGAMBE, EK; STRAKA, RJ; ORDOVAS, JM. Interleukin1b Genetic Polymorphisms Interact with Polyunsaturated Fatty Acids to Modulate Risk of the Metabolic Syndrome. **The Journal of Nutrition**. V.137, p.1846 – 1851, 2007.

SHEN, J; OBIN, MS; ZHAO, L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. **Molecular Aspects of Medicine**. v.34, p.39-58, 2013.

SHOELSON, SE; LEE, J; GOLDFINE, AB. Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest. v. 116, p. 1793-1801, 2006.

SIITONEN, N et al. Association of ADIPOQ gene variants with body weight, type 2 diabetes and serum adiponectin concentrations: the Finnish Diabetes Prevention Study. **BMC Medical Genetics**, v. 12, p. 1-13, 2011.

SIMOPOULOS, AP. Importance of the ômega-6/ômega-3 balance in health and disease: evolutionary aspects of diet. **World Rev Nutr Diet**. V. 102, p. 10-21, 2011.

SIMOPOULOS, AP. The importance of n-6/n-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic disease. **Exp. Biol and Med**. v.233, p. 674-688, 2008.

SIRIWARDHANA, N; KALUPAHANA, NS; CEKANOVA, M; LEMIEUX, M; GREER, B; MOUSTAID-MOUSSA, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compouds. **J Nutr Biochem.** v. 24, p. 613-623, 2013.

STEFAN, N; PETER, A; CEGAN, A; STEIGER, H; MACHANN, J; SCHICK, F; CLAUSSEN, D; FRITSCHE, A; HÄRING, HU; SCHLEICHER, E. Low hepatic stearoyl-CoA desaturase 1 activity is associatedwith fatty liver and insulin resistance in obese humans. **Diabetologia**. V.51, p. 648-656, 2008.

STEINHARDT, AP; ARANGUREN, F; TELLECHEA, ML; GÓMEZ-ROSSO, LA; BRITES, FD; MARTÍNEZ-LARRAD, MT; SERRANO-RÍOS, M; FRECHTEL, GD; TAVERNA, MJ. A functional nonsynonymous toll-like receptor 4 gene polymorphism is associated with metabolic syndrome, surrogates of insulin resistance, and syndromes of lipid accumulation. **Metabolism.** v. 59, p. 711-717, 2010.

STERN, SE; WILLIAMS, K; FERRANNINI, E; DEFRONZO, RA; BOGARDUS, C; STERN, MP. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. **Diabetes**. v.54, p.333-339, 2005.

TANTI, J; CEPPO, F; JAGER, J; BERTHOU, F. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance**. Frontiers in Endocrinology**. v. 3 (181), p.1-15, 2013.

TRAYHURN, P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. **Physiol Rev**. v.93, p. 1-21, 2013.

TUCKER, KL; SMITH, CA; LAI, CQ; ORDOVAS, JM. Quantifying diet for nutrigenomic studies. **Ann Rev Nutr**. v.33, p. 349-371, 2013.

TVRZICKA, E; KREMMYDA, L; STANKOVA, B; ZAK, A. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease – a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.** v. 155, p. 117-130, 2011.

VANDANMAGSAR, B; YOUM, YH; RAVUSSIN, A; GALGANI, JE; STADLER, K; MYNATT, RL; RAVUSSIN, E; STEPHENS, JM; DIXIT, VD. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. **Nat Med**., v.17, p. 179-189, 2011.

VERLY JUNIOR, E; FISBERG, RM; CESAR, CL; MARCHIONI, DM. Sources of variation of energy and nutrient intake among adolescents in São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.26, n.11, p.2129-2137, 2010.

WADA, M; DELONG, CJ; HONG, YH; RIEKE, CJ; SONG, I; SIDHU, RS;YUAN, C; WARNOCK, M; SCHMAIER, AH; YOKOYAMA, C; SMYTH, EM; WILSON, SJ; FITZGERALD, GA; GARAVITO, RM; SUI, X; REGAN, JW; SMITH, WL. Enzymes and receptors of prostaglandin pathways with arachidonic acid-derived versus eicosapentaenoic acid-derived substrates and products. **J. Biol. Chem**.,v.282, p. 22254–22266, 2007

WARENSJÖ E, RISÉRUS U, VESSBY B. Fatty acid composition of serum lipids predicts the development of the metabolic syndrome in men. **Diabetologia**, v.48, p.1999-2005, 2005.

WARENSJÖ, E; RISÉRUS, U; GUSTAFSSON, IB; MOHSEN, R; CEDERHOLM, T; VESSBY, B. Effects of saturated and unsaturated fatty acids on estimated

desaturase activities during a controlled dietary intervention. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease**. V.18, p.683-690, 2008b.

WARESJO, E; SUNDSTROM, J; VESSBY, B; CEDERHOLM, T; RISÉRUS, U. Markers of dietary fat quality and fatty acid desaturation as predictors of total and CVD mortality: a population-based prospective study. **The American Journal of Clinical Nutrition**. V.88, p.203-209, 2008a.

WARODOMWICHIT, D; SHEN, J; ARNETT, DK; TSAI, MY; KABAGAMBE, EK; PEACOCK, JM; HIXSON, JE; STRAKA, RJ; PROVINCE, M; AN, P; LAI, C; PARNELL, LD; BORECKI, I; ORDOVAS, JM. The monounsaturated fatty acid intake modulates the effect of ADIPOQ polymorphisms on obesity. **Obesity**, v.17, p.510-517, 2009.

WEYRICH, P; STAIGER, H; STANCAKOVA, A; MACHICAO, F; MACHANN, J; SCHICK, F; STEFAN, N; KUUSITO, J; LAAKSO, M; SCHAFER, S; FRITSCHE, A; HARING, HU. The D229G/T399I Toll-like receptor 4 variant associates with body and liver fat: from the TULIP and METSIM studies. **Plos one**. v. 5, I. 11, e13980, 2010.

WOLF, J; ROSE-JOHN, S; GARBERS, C. Interleukin-6 and its receptors: A highly regulated and dynamic system. **Cytokine**, v.70, p.11-20, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Non-communicable diseases Country profiles 2014.**Report.** Geneva, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. **Report**. Geneva, 2000. (WHO - Technical Report Series, 894).

ZEUKE, S; ULMER, AJ, KULSUMOTO, S; KATUS, HÁ; HEINE, H. TLR-4 mediated inflammatory activation of human coronary artery endothelial cells by LPS. **Cardiovascular Research**, v.56, p.126-134, 2002.

ZHANG, BC; LI, WM; XU, YW. A meta-analysis of the association of adiponectin gene polymorphisms with coronary heart disease in Chinese Han population. **Clin Endocrinol,** v.76, p. 358-364. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04167.x, 2012.

ZIEGLER, A; KÖNIG, I. Data Quality. In: ZIEGLER, A; KÖNIG, I. **A Statistical Approach to Genetic Epidemiology**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH e Co, 2010. p. 67-109.

ANEXO 1 **– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU LEGAL RESPONSÁVEL

Dados de Identificação

Nome do Paciente:.....
Documento de Identidade Nº :..... Sexo: ( ) M ( ) F
Data de Nascimento:...../...../.....
Endereço:.....Nº:.....Apto:.....
Bairro:.....Cidade:.....
CEP:.....Telefone:.....

Responsável Legal:.....
Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.): .....
Documento de Identidade Nº :..... Sexo: ( ) M ( ) F
Data de Nascimento:...../...../.....
Endereço:.....Nº:.....Apto:.....
Bairro:.....Cidade:.....
CEP:.....Telefone:.....

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Protocolo de Pesquisa: Homocisteína, polimorfismos do gene MTHFR, fatores dietéticos e risco cardiovascular: estudo de base populacional – ISA-Capital

Pesquisador: XXXX, portador(a) do documento de Identidade Nº XX-X, sexo X, exercendo a função de Professor Doutor do Departamento X da Faculdade X.

Avaliação de Risco da Pesquisa

Nenhum risco ( ) risco mínimo (x) risco moderado ( ) risco alto ( )

Duração da Pesquisa: vinte e quatro meses.

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO SUJEITO DA PESQUISA OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

As doenças cardiovasculares estão entre as doenças que mais afetam os brasileiros e se relacionam com a alimentação. Poucos estudos têm sido realizados no Brasil para investigar os fatores da dieta relacionados com o risco de doenças cardiovasculares. Um destes fatores é a homocisteína, um composto encontrado naturalmente no sangue. É reconhecido que indivíduos que apresentam elevada concentração de homocisteína no sangue possuem mais chance de desenvolver doenças cardiovasculares. A concentração de homocisteína é modificada tanto

pela dieta quanto por características genéticas. Assim, este estudo tem como objetivo investigar, nos indivíduos que participaram do inquérito em saúde ISA-SP, a relação entre o consumo alimentar e marcadores de risco de doenças cardiovasculares, bem como as características genéticas envolvidas nesta relação da dieta com os marcadores de risco cardiovascular, em especial a homocisteína. Vimos convidá-lo a participar deste estudo.

Sua participação nesta pesquisa inclui os seguintes procedimentos: a) responder um questionário sobre hábitos de vida e uma entrevista sobre o consumo de alimentos; b) permitir fazer as suas medidas de peso, altura e da cintura; c) permitir a coleta de uma amostra de 20 ml de sangue para análise de homocisteína, vitaminas B6, B12, ácido fólico, lípides e marcadores de inflamação, e para extração do DNA. O DNA coletado será usado unicamente para investigar as variações do gene que produz a enzima que participa da regulação das funções das vitaminas e da homocisteína, chamada enzima MTHFR. Na coleta de sangue pode haver pequeno desconforto. Raramente, a punção venosa pode provocar pequeno hematoma (manchas roxas) no local da punção, que, em geral, desaparecem depois de 3 a 5 dias. Esta coleta será feita por um profissional de enfermagem.

Os resultados obtidos nesta pesquisa poderão colaborar no entendimento dos fatores que influenciam o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

IV – ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

Se tiver qualquer dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a Profa. XXXX pelo telefone: XXXX-XXXX, ou com o Comitê de Ética X (XXXX-XXXX).

Todas as informações prestadas nesta entrevista são de caráter confidencial e serão utilizadas somente para fins científicos, sem qualquer identificação pessoal. Esclarecemos que seu consentimento está sendo pedido para este estudo, não sendo extensível a nenhum outro projeto de pesquisa. É garantida e respeitada a privacidade na divulgação dos resultados da pesquisa, e não haverá, de forma alguma, sua identificação.

Qualquer provável benefício para o bem estar da população depende da exatidão de suas respostas. Portanto, se o Sr(a) não entender alguma das questões, por favor, solicite os esclarecimentos que julgar necessários. Também estaremos a disposição para informá-lo(a) sobre os procedimentos, riscos e benefícios decorrentes da pesquisa, ou qualquer dúvida sobre o estudo.

É garantido o direito de desistir a qualquer momento da participação nesta pesquisa, sem prejuízo algum para você. O(a) Sr(a) tem a liberdade de não participar do estudo, ou retirar seu consentimento a qualquer momento. O(A) Sr(a) pode se recusar a responder a qualquer pergunta do questionário ou participar de qualquer procedimento. Os resultados dos exames serão encaminhados pelo correio para sua residência.

V – INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Você poderá entrar em contato com a Profa. XXXX pelo telefone: (XX) XXXX-XXXX, ou email XXXX@usp.br , sobre a pesquisa, ou no endereço: X, CEP: XXXXX-XXX. Também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da X, no mesmo endereço, telefone (XX) XXXX-XXXX, email: XXXX@XXXX.XX.X.

VI – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

_____ _____

Assinatura do sujeito de pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador (carimbo ou nome legível)