**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Associação de polimorfismos de genes relacionados à obesidade
e comorbidades com resposta à intervenção no estilo de vida de
indivíduos de risco cardiometabólico**

Maíra Ladeia Rodrigues Curti

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Nutrição em
Saúde Pública para obtenção de título
de Mestre em Ciências**

**Área de Concentração: Nutrição em
Saúde Pública**

**Orientadora: Prof^a Tit. Sandra Roberta
G. Ferreira Vivolo**

**São Paulo
2012**

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.

**Associação de polimorfismos de genes relacionados à
obesidade e comorbidades com resposta à intervenção no
estilo de vida de indivíduos de risco cardiometabólico**

Maíra Ladeia Rodrigues Curti

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Nutrição em
Saúde Pública para obtenção de título
de Mestre em Ciências**

**Área de Concentração: Nutrição em
Saúde Pública**

**Orientadora: Prof^a Tit. Sandra Roberta
G. Ferreira Vivolo**

**São Paulo
2012**

Curti, Maíra LR.

Associação de polimorfismos de genes relacionados à obesidade e comorbidades com resposta à intervenção no estilo de vida de indivíduos de risco cardiometabólico. Maíra Ladeia Rodrigues Curti. São Paulo, 2012.

p.1-111

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública.

Título em inglês: Association of polymorphisms of related-obesity diseases genes and response to lifestyle intervention in individuals at cardiometabolic risk.

1. Polimorfismos	2. Diabetes mellitus tipo 2	3. Risco cardiometabólico
4. Inflamação	5. Resistência à insulina	6. Síndrome metabólica

APRESENTAÇÃO

O projeto de pesquisa que deu origem a esta dissertação de mestrado, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Este foi elaborado a partir de projeto-matriz intitulado “ANÁLISE DO PERFIL DE RISCO CARDIOMETABÓLICO DE AMOSTRA POPULACIONAL DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO E IMPLEMENTAÇÃO DE PROGRAMA DE PREVENÇÃO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2” (Fapesp 07/55120-0), sob a coordenação da Orientadora.

No capítulo **Introdução** são feitas considerações que fornecem o embasamento teórico deste trabalho. Apresentam-se a **Justificativa** e a **Hipótese** que nortearam a realização da dissertação. Na sequência, os **Objetivos** estão explicitados e o **Método** é apresentado de forma detalhada.

Atendendo às normas deste Programa de Pós-Graduação, a dissertação de mestrado está redigida na forma **Artigo Científico**. Diante do volume de dados, resultante do trabalho desenvolvido, foram elaborados dois artigos, submetidos em idioma e formato adequados à publicação. No primeiro artigo, buscou-se encontrar associações de polimorfismos que codificam para substâncias com reconhecido papel na inflamação e sensibilidade à insulina com intervenção em hábitos de vida. No segundo artigo, foram selecionados polimorfismos relacionados à adiposidade corporal e metabolismo lipídico, os quais têm sido mais frequentemente contemplados na literatura.

Utiliza-se do capítulo de **Considerações Finais** para consolidar as principais contribuições que o presente trabalho trouxe ao conhecimento na área, incluindo as **Conclusões**.

Ao final, encontram-se as **Referências Bibliográficas** referentes aos capítulos iniciais desta dissertação, seguidas de **Anexos** de interesse e do **Currículo Lattes**.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais que em tudo me apoiaram, desde sempre, nos meus erros e acertos. Especialmente ao meu pai, que hoje se realiza através da minha conquista. *“Eis que os filhos são herança da parte do Senhor, e o fruto do ventre o seu galardão. Como flechas na mão do homem valente, assim são os filhos da mocidade” Sl:127:3-4*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade incrível de realizar um sonho, por ter permitido que eu estivesse na melhor Universidade do país, uma das melhores do mundo, aprendendo com *experts* a arte e a ciência da nutrição. Agradeço pelo sustento diário em todo esse período.

Agradeço aos meus pais Maria e Paulo, pelo amor sem medida e o apoio incondicional.

Agradeço a toda à minha família pelo apoio. Especialmente à minha irmã Tainara, ao meu irmão José “Neto”, à Tia Cris, à Tia Mila. Aos meus sogros Suely e Ricardo pelo apoio e compreensão.

Agradeço a amiga Luciene Silva por todo seu importante apoio.

Agradeço ao meu marido Sergio e meu filho Gabriel pela compreensão das minhas ausências e apoio nos momentos difíceis.

Agradeço as colegas da faculdade Camila Barros e Adriana Cezareto por doarem seu tempo e seu conhecimento, apontando os caminhos que já haviam percorrido. Agradeço também aos outros colegas do grupo de alunos da Professora Sandra por toda a ajuda.

Agradeço aos professores Patrícia Jaime pelo apoio, Thomas Ong e Marcelo Rogero pelo importante direcionamento nos assuntos de genética, e à Marly Cardoso pelas opiniões na pré-banca.

Agradeço a CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Agradeço especialmente à Professora Sandra Vivolo, minha orientadora, que em todos os momentos me apoiou, sendo sempre exigente, mas respeitando minhas opiniões, compreendendo minhas limitações e transmitindo seu vasto conhecimento científico e das relações humanas.

RESUMO

Curti MLR. Associação de polimorfismos de genes relacionados à obesidade e comorbidades com resposta à intervenção no estilo de vida de indivíduos de risco cardiometabólico. [Dissertação de Mestrado em Nutrição em Saúde Pública] São Paulo. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2012.

Introdução: Fatores genéticos estão entre os determinantes de obesidade, podendo influenciar a resposta a intervenções em estilo de vida. O impacto de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) na resposta de biomarcadores a intervenções não é claro. **Objetivo:** Este estudo examinou as associações de seis SNPs – FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala, Apo A1 -75G/A, TNF- α -308G/A, IL-6 -174G/C e AdipoQ 45T/G – com mudanças induzidas por uma intervenção em amostra de brasileiros de risco cardiometabólico. **Métodos:** Em um programa de nove meses de orientações em hábitos alimentares e atividade física, 180 indivíduos com prediabetes ou síndrome metabólica foram genotipados e agrupados segundo a presença do alelo variante de cada SNP e comparados quanto a variáveis antropométricas, metabólicas e inflamatórias. **Resultados:** A intervenção resultou em redução do consumo calórico, aumento da atividade física, melhora na antropometria e outros biomarcadores. Estratificando pelos SNPs, os principais achados estão contidos em dois artigos. **Artigo 1:** Objetivo: associar a resposta a intervenção aos polimorfismos TNF α -308 G/A, IL-6 -174 G/C e AdipoQ 45T/G que exercem reconhecido papel na inflamação e sensibilidade a insulina. Houve melhor resposta do perfil glicêmico após a intervenção nos portadores do alelo variante do SNP TNF α -308 G/A. Observou-se melhora das variáveis lipídicas nos portadores do alelo variante do SNP IL-6 -174 G/C, enquanto que aqueles com o genótipo referência obtiveram melhora no

metabolismo da glicose. Carreadores do SNP AdipoQ 45T/G não obtiveram melhora no perfil lipídico nem no glicêmico. **Artigo 2:** Objetivo: associar a resposta a intervenção aos polimorfismos FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala e Apo A1 -75G/A, os quais tem sido relacionados a adiposidade corporal e metabolismo glico-lipídico. O alelo variante do FTO T/A associou-se a melhores p inflamatório e glicêmico em resposta à intervenção. Portadores do alelo variante do SNP PPAR γ Pro12Ala obtiveram melhora na pressão arterial, enquanto que indivíduos com o genótipo referência melhoraram o metabolismo lipídico. Carreadores do alelo variante do SNP Apo A1 -75G/A apresentaram aparente melhora no perfil lipídico que não se manteve significativa com ajuste para medicação. **Conclusões:** SNPs relacionados à obesidade e comorbidades podem influenciar a resposta de marcadores metabólicos e inflamatórios a intervenções em hábitos de vida em brasileiros. O SNP TNF α -308G/A parece favorecer um melhor perfil glicêmico. O SNP IL-6 -174G/C pode conferir efeito benéfico no perfil lipídico, mas não na glicemia. O SNP AdipoQ 45T/G compromete a resposta à intervenção em indivíduos de risco cardiometabólico no nosso meio. O SNP FTO T/A pode favorecer a resposta do metabolismo da glicose e a atenuação da inflamação. O SNP PPAR γ Pro12Ala pode ter impacto benéfico na pressão arterial, mas não no metabolismo lipídico. Em contraste com a literatura, o SNP Apo A1 -75G/A não parece influenciar resposta dos lípidos à intervenção. Mais estudos envolvendo estes SNPs são necessários para possível direcionamento de intervenções a subgrupos específicos de indivíduos de risco.

Descritores: Polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) – intervenção – estilo de vida – risco cardiometabólico - nutrigenética

ABSTRACT

Curti, MLR. Association of related-obesity diseases genes polymorphisms and response to lifestyle intervention in individuals at cardiometabolic risk. [Master thesis]. São Paulo. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 2012.

Introduction: Genetic factors are one of the determinants of obesity and may influence the response to interventions. The impact of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in weight loss and inflammatory response to interventions is not clear. **Objective:** This study examined associations of six polymorphisms – FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala, Apo A1 -75G/A, TNF- α -308G/A, IL-6 -174G/C and AdipoQ 45T/G – with changes induced by lifestyle intervention in Brazilians at cardiometabolic risk. **Methods:** In a 9-month intervention on diet and physical activity, 180 individuals with prediabetes or metabolic syndrome were genotyped and compared according the presence of variant allele of the SNPs and anthropometric, metabolic and inflammatory variables. **Results:** The intervention resulted in lower energy intake and greater total physical activity as well as improvement in anthropometry and several biomarkers. Stratified by SNPs, the main findings are covered in two articles. **Article 1:** Variant allele carriers of TNF α -308 G/A SNP decreased plasma glucose after intervention. Lipid profile improved after intervention in variant allele carriers of IL-6 -174 G/C, while individuals with reference genotype had better plasma glucose response. Variant allele carriers of AdipoQ 45T/G did not improve lipid and glycemic profile. **Article 2:** Only variant allele carriers of FTO T/A decreased fasting plasma glucose and C-reactive protein concentration after intervention. Blood pressure reduced after intervention

in variant allele carriers of the PPAR γ Pro12Ala, while the reference genotype increased Apo A1. Apparent favorable response of lipid profile to intervention in variant allele carriers of Apo A1 -75G/A was not maintained after adjustments for lipid-lowering medication. **Conclusions:** SNPs associated with obesity and comorbidities may influence the response of metabolic and inflammatory markers after lifestyle intervention. The TNF α -308G/A may predispose a better response of glucose metabolism. The IL-6 -174 G/C SNP may confer a beneficial effect on lipid profile but not in glucose metabolism. Our findings reinforce unfavorable effects of the AdipoQ 45T/G SNP in lipid and glucose metabolism after lifestyle intervention in Brazilians at cardiometabolic risk. FTO T/A SNP induces a favorable impact on inflammatory status and glucose metabolism. The reference genotype of PPAR γ Pro12Ala seems to favor a better lipid profile, while the variant allele tends to decrease blood pressure. In contrast to literature, our data did not support benefits on lipid profile of the variant allele of Apo A1 -75G/A SNP. Further studies of these SNPs are needed to direct interventions to specific subgroups of at-risk individuals.

Keywords: single nucleotide polymorphisms (SNP) – intervention on lifestyle - cardiometabolic risk – nutrigenetics

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Obesidade no risco cardiometabólico	15
1.2 Prevenção de diabetes mellitus tipo 2	17
1.3 Fatores etiopatogênicos do diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica: genética e adiposidade corporal	19
1.3.1 O gene FTO – <i>fat mass and obesity associated</i> e seus polimorfismos	22
1.3.2 Citocinas e outras substâncias envolvidas no risco cardiometabólico e seus polimorfismos	25
• Adiponectina	
• Fator de necrose tumoral alfa	
• Interleucina 6	
• <i>Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma</i>	
• Apolipoproteínas	
2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	37
3. OBJETIVOS	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 Delineamento	40
4.2 Casuística	40
4.3 Protocolo do Programa de intervenção	43
4.4 Metas do programa de intervenção e critérios de resposta	44
4.5 Métodos analíticos	45
4.6 Estudos genéticos	45
4.7 Análise estatística	47
4.8 Aspectos éticos	48
5. ARTIGO 1	
Associations of the TNF- α -308G/A, IL6 -174G/C and AdipoQ 45T/G polymorphisms with inflammatory and metabolic responses to lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk	49
6. ARTIGO 2	
FTO T/A and PPAR γ Pro12Ala but not APOA1 -75 polymorphisms are associated with better response to lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk	72
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
8. REFERÊNCIAS	95
9. ANEXOS	107
10. CURRÍCULO LATTES DO ALUNO E DO ORIENTADOR	110

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA - *American Diabetes Association*
AdipoQ - gene da adiponectina
AMPK – proteína quinase ativada por AMP
Apo A (B, C, E) - Apolipoproteína A (B, C, E)
BMI - *Body mass index*
BP - *Blood pressure*
CC - Circunferência da cintura
CI - *Confidence interval*
COEP - Comissão de Ética em Pesquisa da FSP-USP
CRP - *C-reactive protein*
CSE - Centro de Saúde-Escola Paula Souza
DM2 - Diabetes mellitus tipo 2
DP – Desvio padrão
DPS- *Diabetes Prevention Study*
DCV - Doença cardiovascular
FSP/USP – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo
FTO – *fat mass and obesity associated gene*
GEE- *Generalized estimating equation models*
GJA - Glicemia de jejum alterada
HA - Hipertensão arterial
HDL-c - Lipoproteína de alta densidade / *High density lipoprotein*
HOMA-IR - *Homeostasis model assessment of insulin resistance*
IAM - Infarto agudo do miocárdio
IDF - *International Diabetes Federation*
IL-6 - Interleucina 6 / *Interleukin 6*
IMC - Índice de massa corporal
IPAQ - Questionário internacional de atividade física / *International Physical Activity Questionnaire*
IRS-1 - Substrato 1 do receptor de insulina
LCAT - Lecitina-colesterol aciltransferase
LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade / *Low density lipoprotein*
MBP - *Mean blood pressure*
MS - *Metabolic syndrome*
OMS – Organização Mundial da Saúde
OR - *Odds ratio*
PAD - Pressão arterial diastólica
PAM - Pressão arterial média
PAS - Pressão arterial sistólica
PCR - Proteína C-reativa
PPAR - Receptor ativado de proliferador de peroxissomo/ *Peroxisome proliferator activated receptor*
RI - Resistência à insulina
SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia
SD - *Standard deviation*
SM - Síndrome Metabólica
SNP- Polimorfismo de nucleotídeo único / *Single nucleotide polymorphisms*
T2D - *Type 2 diabetes*
TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido
TGD - Tolerância à glicose diminuída
TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa / *Tumor necrosis factor- α*
TOTG - Teste oral de tolerância à glicose
VLDL-c - Lipoproteína de muito baixa densidade / *Very low density lipoprotein*
WC - *Waist circumference*

INTRODUÇÃO

Doenças metabólicas, tais como obesidade, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), e hipertensão arterial (HA), são problemas de saúde pública devido às crescentes prevalências e associação com a doença cardiovascular (DCV) aterosclerótica, importante causa de mortalidade em países desenvolvidos e em desenvolvimento (BARROSO *et al*, 2002; POPKIN, 2001; WHO, 2003). Este quadro decorre em grande parte da epidemia de obesidade (WHO, 2000), considerada condição central na gênese de doenças metabólicas, entre as quais o DM2 aparece como a mais devastadora. Estimou-se que na virada do século havia 170 milhões de indivíduos diabéticos em todo mundo e que em 2025 esse número atingirá 300 milhões (KING *et al*, 199; ZIMMET *et al*, 2001). Suas debilitantes complicações crônicas comprometem consideravelmente a qualidade de vida e reduz a sobrevida, além de ser onerosa aos sistemas de saúde.

O termo **risco cardiometabólico** passou a ser empregado a partir da constatação de que a DCV frequentemente é acompanhada de distúrbios metabólicos geradores do DM2. Há ainda evidências de que portadores de DM2 apresentam alto risco de eventos cardiovasculares, comparável ao de indivíduos não-diabéticos com evento prévio (HAFFNER *et al*, 1998). Assim, indivíduos sob condições que reconhecidamente predisponham a desenvolver DCV ou DM2 são denominados “de risco cardiometabólico”, requerendo intervenção por parte de profissionais da saúde pública. Muito se conhece sobre a predisposição ao DM2 e DCV, que envolve fatores genéticos e ambientais.

Existem amplas evidências de que o DM2 pode ser prevenido por mudanças no estilo de vida e por medicamentos empregados no tratamento da

obesidade ou do DM2 (ALBERTI *et al*, 2007; WHO, 2004). Certos hábitos alimentares, como baixo consumo de frutas, legumes e verduras e alto consumo de alimentos ricos em gorduras, açúcares e de alta densidade energética, juntamente com inatividade física, associam-se a ganho de peso, principal fator de risco ambiental para DM2 (WHO, 2000; BROWN *et al*, 2009). Conhecendo a história natural desta doença, a intervenção sobre tais hábitos de vida representa importante oportunidade de prevenção. Vale destacar que a literatura demonstra heterogeneidade na resposta de indivíduos a intervenções, a qual pode ser, pelo menos em parte, a variações genéticas.

1.1. Obesidade no risco cardiometabólico

Dados da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000) revelam que um bilhão de pessoas apresentam excesso de peso no mundo, sendo 300 milhões consideradas obesas. No Brasil, a Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 revelou crescimento acelerado do excesso de peso. Em 35 anos sobrepeso (índice de massa corporal – IMC entre 25 e 30 kg/m²) quase triplicou entre homens, de 18,5% para 50,1% e nas mulheres passou de 28,7% para 48%. Já a obesidade (IMC >30 kg/m²) cresceu mais de quatro vezes entre os homens, de 2,8% para 12,4% e mais de duas vezes entre as mulheres, de 8% para 16,9%. O crescimento dos indicadores foi homogêneo segundo gênero e estrato sócio-econômico nas regiões brasileiras (IBGE, 2008-2009).

Especialmente a adiposidade abdominal está envolvida na gênese de doenças como o DM2, dislipidemias e HA, que contribuem para ocorrência de DCV. Este cenário está contribuindo para a diminuição da expectativa de vida para este século (DE LORENZO *et al*, 2007). Tais doenças encontram-se frequentemente associadas, caracterizando a Síndrome Metabólica (SM), cujo elo

fisiopatológico é a resistência à insulina (RI) (REAVEN, 1988). O acúmulo de tecido adiposo visceral gera RI em grande parte devido à grande liberação de ácidos graxos livres para a circulação portal e sistêmica, prejudicando o metabolismo glico-lipídico no fígado e reduzindo a captação de glicose pela musculatura esquelética (BODEN, 2006). Além disso, citocinas secretadas por este tecido contribuem para reduzir ainda mais a captação tecidual de glicose.

Entre os critérios diagnósticos da SM os do *National Cholesterol Education Program* (NCEP-ATPIII, 2001) e da *International Diabetes Federation* (IDF) são dos mais empregados (ALBERTI *et al*, 2009). Ambos reconhecem a importância da adiposidade abdominal, hiperglicemia, hipertrigliceridemia, lipoproteína de alta densidade (HDL-c) baixo e HA entre seus critérios diagnósticos. Além destas clássicas anormalidades, também pertencem ao espectro da SM a síndrome dos ovários policísticos, esteato-hepatite não-alcoólica, elevada proporção de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) pequena e densa, marcadores de atividade inflamatória subclínica e fatores pró-trombóticos (BOPPIDI & DARAM, 2008).

Na população americana estimou-se a prevalência de SM em torno de 27% (FORD *et al*, 2002), não estando disponíveis dados representativos da população brasileira. A importância deste diagnóstico baseia-se no risco aumentado de DCV e de DM2 (MOKDAD *et al*, 2003; LAKKA *et al*, 2002). Meta-análise, avaliando dados de mais de 170.000 indivíduos, concluiu que além de aumentar o risco de evento cardiovascular em uma e meia vez, confere aumento de risco de DM2 em mais de quatro vezes (FORD *et al*, 2008). Este cenário reflete a importância da identificação precoce de indivíduos de risco para DM2 e SM visando a prevenção.

Estudos têm investido na identificação de marcadores precoces da SM e de novos fatores de risco para DCV (ZULET *et al*, 2007; KOMER *et al*, 2007). Embora existam experiências positivas quanto à eficácia de medidas preventivas contra o DM2 (TUOMILEHTO *et al*, 2001; KNOWLER *et al*, 2002; RAMACHADAN *et al*, 2006), ainda não foram definidas estratégias para torná-las efetivas em âmbito populacional.

1.2. Prevenção de diabetes mellitus tipo 2

Os benefícios do estilo de vida saudável em retardar o desenvolvimento de DM2 foram evidenciados em vários estudos (TUOMILEHTO *et al*, 2001; KNOWLER *et al*, 2002; RAMACHADAN *et al*, 2006). No *Finnish Diabetes Prevention Study*, indivíduos com tolerância a glicose diminuída e IMC $>25 \text{ kg/m}^2$ foram sorteados para uma intervenção na dieta e atividade física (TUOMILEHTO *et al*, 2001). A incidência de DM2 foi 58% menor no grupo submetido à intervenção comparado ao controle. Na mesma época, o *Diabetes Prevention Program* mostrou que, em indivíduos de risco, mudanças no estilo de vida reduziam mais a incidência em comparação com a metformina (KNOWLER *et al*, 2002). Em estudo mais recente, o *Indian Diabetes Prevention Programme* (RAMACHADAN *et al*, 2006) as reduções no risco foram menos acentuadas, da ordem de 28,5% por mudanças no estilo de vida, 26,4% pela metformina e de 28,2% pela combinação.

A preocupação com cifras crescentes de DM2 associada às dificuldades na adesão das populações a hábitos saudáveis incrementaram pesquisas envolvendo intervenção farmacológica que mostraram benefícios menores que os alcançados pelas mudanças no estilo de vida (CHIASSON *et al*, 2002; HEYMSFIELD *et al*, 2000; GERSTEIN *et al*, 2006). Os resultados destes estudos

motivam a instituição de medidas potencialmente capazes de reduzir substancialmente os riscos de progressão de pré-DM para DM2. A intervenção precoce pode acarretar grandes benefícios à população, aumentando a expectativa e a qualidade de vida, além de ter impacto econômico favorável ao sistema de saúde.

A IDF propõe estratégias de prevenção do DM2 para países desenvolvidos e em desenvolvimento, com base no controle dos fatores de risco modificáveis com mudanças no estilo de vida (ALBERTI *et al*, 2007). A estratégia de prevenção proposta define uma abordagem dirigida aos indivíduos de alto risco para DM2 e outra para a população geral. Para a última, a IDF discute medidas que possam influenciar a saúde de grande parte da população, prevenindo outras doenças crônicas além do DM2, tendo a redução da obesidade na base desta abordagem.

Uma vez mostrada a eficácia de programas de prevenção, eram necessárias intervenções efetivas para prevenir DM2 na população geral. Pesquisadores europeus foram pioneiros neste sentido, tendo proposto medidas para implantar intervenções e fiscalizar sua aplicação e efetividade. O *DE-Plan* (*Diabetes in Europe – Prevention using lifestyle, physical activity and nutritional intervention*) objetivou identificar indivíduos de alto risco por questionários elaborados para realidade local e testar custo-efetividade de transformar o conhecimento atual das medidas de prevenção em programas de saúde reais (http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2004/action3/docs/2004_3_25_inter_en.pdf).

O *IMAGE* (*Implementation of a European guideline and training standards for diabetes prevention*) se propôs a elaborar diretrizes para prevenção primária de DM2, criar um currículo para treinar agentes de prevenção, estabelecer padrões para controle de qualidade dos programas e implementar um *site* para

treinamento destes agentes (SCHWARZ *et al*, 2007). Em face da característica progressiva do DM2 nas populações e do aumento de sua prevalência com a idade, fica claro que medidas simples não serão suficientes para preveni-lo, devendo haver uma abordagem metódica e sustentada para se reduzir seu impacto social e econômico. Além disso, ações de educação alimentar e incentivo à atividade física baseadas na realidade local são de fundamental importância para possibilitar eficiência satisfatória para os programas de prevenção.

1.3. Fatores etiopatogênicos do diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica: genética e adiposidade corporal

Não há dúvidas de que a adiposidade corporal excessiva tem papel etiopatogênico no DM2 e SM e de que fatores genéticos interferem na predisposição à obesidade e às doenças interligadas pela RI. O tecido adiposo participa na homeostase energética por meio da produção de proteínas reguladoras da síntese de ácidos graxos, que podem ser rapidamente mobilizados quando necessário. Além disso, os adipócitos secretam adipocitocinas com ações autócrinas, parácrinas ou endócrinas. A síntese destas substâncias podem sofrer variações na dependência de fatores genéticos.

Da mesma forma que é reconhecida a importância da genética para ocorrência de DM2 (BOUGNÈRES, 2002), também fatores genéticos influenciam a forma como diferentes indivíduos respondem às intervenções. Avanços na genômica nutricional têm contribuído para explicar a heterogeneidade das respostas às intervenções sobre hábitos de vida. Genômica nutricional envolve a interação complexa que ocorre em duas direções: a alimentação influenciando a expressão dos genes (nutrigenômica) e características do genoma influenciando a resposta à alimentação (nutrigenética).

A nutrigenética fornece subsídios para demonstrar que fatores genéticos interferem no estado nutricional e na resposta a intervenções dietéticas, e apontar interações entre dieta e doença (FENECH *et al*, 2008). Estes estudos analisam associações com a presença de *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) – polimorfismos de nucleotídeo único, que consistem na troca de uma base nitrogenada na sequência de um determinado gene, ou de sua região regulatória. Ao contrário das mutações, SNPs não são raros, apresentam frequência maior que 1%, embora suas frequências variem entre as populações. SNPs resultaram do processo evolutivo de milhares de anos da interação ambiente-genoma humano; uma parte deles é potencialmente capaz de influenciar a forma como alimentos e/ou seus compostos bioativos são absorvidos e metabolizados (BARNES *et al*, 2008).

O impacto da troca de uma única base nucleotídica no DNA é variado, podendo comprometer a expressão da proteína, aumentar ou diminuir sua atividade ou ainda não ter efeito funcional sobre a proteína. Dependendo do conjunto de SNPs herdado, indivíduos respondem diversamente a uma mesma alimentação. Os SNPs podem também influenciar o metabolismo de lípidos e carboidratos e modular o processo inflamatório, envolvido na fisiopatogênese de doenças crônicas como o DM2 e DCV (CORELLA & ORDOVAS, 2005). Já foram identificados cerca de 12 milhões de SNPs no total de três bilhões de pares de bases presentes no genoma humano. Para selecionar aqueles com maior importância biológica e delinear estudos nesta área, alguns critérios têm sido usados: o SNP deve estar em gene modulado nutricionalmente, que codifica para proteínas (enzimas, receptores), situadas em pontos chave do metabolismo e associadas a doenças ou desfechos de interesse. Além disso, o SNP deve apresentar alta prevalência na população estudada, resultar em alteração

funcional relevante e associar-se a biomarcadores passíveis de mensuração (MUTCH *et al*, 2005).

Em se tratando do DM2, numerosos estudos exploraram a relação de polimorfismos com sua presença, confirmando ser esta uma doença poligênica (MELISTAS *et al*, 2009; ORDOVAS, 2007; FLOREZ *et al*, 2006; GOUNIBERTHOLD *et al*, 2004; HAUTALA *et al*, 2007; ZACHAROVA *et al*, 2005; HE, 1990). Considerando que a maioria dos casos é precedida de obesidade e RI, genes ligados à susceptibilidade genética à obesidade também devem participar da predisposição. O entendimento dos fatores genéticos responsáveis pelo equilíbrio energético e a adiposidade corporal é de grande interesse frente à epidemia global da obesidade e comorbidades.

O principal meio de prevenção do DM2 e de outros componentes da SM é controle da adiposidade corporal, o que reflete em atenuação do estado pró-inflamatório. São poucas as investigações sobre a associação de polimorfismos com variações na adiposidade corporal em resposta a programas de mudanças em hábitos de vida. É fato que indivíduos obesos submetidos à mesma dieta em termos quantitativos e qualitativos, respondem distintamente a programas de redução de peso, sugerindo que a carga genética individual deva influenciar tal resposta. É razoável supor que genes relacionados à homeostase energética possam contribuir para esta heterogeneidade de resposta. Neste sentido, genes que codificam citocinas sintetizadas pelo tecido adiposo, o *peroxissome proliferator activated receptor* (PPAR) e apolipoproteínas são interessantes alvos de investigação. Polimorfismos destes genes foram identificados em certas populações, mas estudos no nosso meio são menos numerosos.

1.3.1. O gene FTO – *fat mass and obesity associated* e seus polimorfismos

O gene FTO – *fat mass and obesity associated* – foi o primeiro *locus* identificado como preditivo do IMC, confirmado por diversos pesquisadores (FRAYLING *et al*, 2007; DINA *et al*, 2007; HUNT *et al*, 2008). Polimorfismos deste gene foram detectados em numerosos grupos populacionais: caucasóides (FRAYLING *et al*, 2007; DINA *et al*, 2007; HUNT *et al*, 2008; HUBACEK *et al*, 2008, RODRIGUEZ-LOPEZ *et al*, 2010), asiáticos (OHASHI *et al*, 2007; TAN *et al*, 2008; HOTTA *et al*, 2008) e africanos (HENNIG *et al*, 2009; LIU *et al*, 2010a). Vários SNPs no gene FTO foram descritos na literatura, tais como rs1421085, rs3751812, rs8050136, rs9941349 e rs9939609, sendo que o último é o mais amplamente estudado, tendo sido escolhido para ser abordado neste trabalho.

O gene FTO foi descoberto em estudo cujo objetivo era encontrar associações de variações no genoma com DM2 (FRAYLING *et al*, 2007). O SNP rs 9939609 (FTO T/A – substituição da base timina por adenina no *intron* 1 do cromossomo 16) mostrou forte associação com DM2, mas, após ajuste pelo IMC, não foi mantida, sugerindo que deveria ser mediada pela adiposidade corporal (FRAYLING *et al*, 2007; LOOS *et al*, 2008; HINNEY *et al*, 2010).

O impacto da presença deste SNP no IMC é relativamente pequeno, mas consistente quanto ao risco de obesidade. Em estudos envolvendo caucasóides, cada alelo variante A aumenta o IMC em torno de 0,40 a 0,66 kg/m², o que representa de 1,3 a 2,1 kg para um indivíduo de 1,80 m de altura (FRAYLING *et al*, 2007; ANDREASEN *et al*, 2008, LIU *et al*, 2010a). A presença de cada alelo A aumenta a *odds ratio* para excesso de peso em cerca de 1,2 e 1,3, respectivamente (FRAYLING *et al*, 2007; ANDREASEN *et al*, 2008). Homozigotos

para o alelo A pesam 3 a 4 kg a mais e têm 1,67 vezes mais risco de obesidade comparados àqueles que não herdaram o alelo variante (SCUTERI *et al*, 2007; FRAYLING *et al*, 2007). Apesar deste efeito relativamente pequeno, a importância do FTO não pode ser subestimada, já que a frequência do alelo variante é alta em populações de descendência europeia (cerca de 63% dos indivíduos carregam pelo menos um alelo variante e 16% são homozigotos variantes). Estudos mostram que cerca de 20% dos casos de obesidade poderiam ser evitados se fosse eliminado o efeito do alelo variante nas populações (FRAYLING *et al*, 2007; DINA *et al*, 2007). Diversos estudos confirmam a associação deste SNP também com adiposidade central, tanto em adultos como em crianças (DO *et al*, 2008; ANDREASEN *et al*, 2008; XI *et al*, 2010; LIU *et al*, 2010a). Porém, estudo transversal com uma amostra de dois mil indivíduos europeus e afro-americanos não encontrou associação com percentual de gordura corporal, tecido adiposo visceral ou subcutâneo nessa população (LIU G *et al*, 2010a).

Apesar dos achados concordantes de que a associação deste SNP com DM2 é mediada pelo IMC, outros sugerem que este exerce influência independente do IMC no metabolismo da glicose, tais como aumento na concentração plasmática de insulina, diminuição da sensibilidade a insulina e associação com DM2 (DO *et al*, 2008; LEGRY *et al*, 2009). Estudo conduzido em chineses relacionou o SNP a diagnóstico recente de DM2 (LI *et al*, 2010) e outro, em amostra populacional multiétnica, encontrou associação com risco de SM (AL-ATTAR *et al*, 2008).

Também se investigou o possível papel de SNPs do FTO na resposta a intervenções. Em intervenção focada em melhorias na alimentação e aumento da prática de atividade física, crianças que apresentavam ambos os genótipos homozigotos variantes dos genes INSIG2 e FTO T/A tiveram menor redução de

peso (REINEHR *et al*, 2009). No *Diabetes Prevention Study* (DPS), o genótipo variante AA foi associado independente do IMC, com diminuição da concentração de HDL-c e aumento de citocinas implicadas na aterogênese, somente no sexo masculino. Durante o seguimento, esse grupo teve um aumento de 2,1 no risco para DCV (IC 95% 1,17-3,73; $p=0,013$). Tais resultados sugerem que este SNP pode contribuir para o desenvolvimento de DVC em homens com alteração no metabolismo da glicose (LAPPALAINEN *et al*, 2011). No entanto, ainda com os dados do DPS, não foi observada associação do alelo variante do FTO T/A com a magnitude da perda de peso alcançada na intervenção (LAPPALAINEN *et al*, 2009). Em outro estudo de intervenção que verificou o efeito deste SNP em indivíduos que ingeriram dieta mediterrânea, verificou-se que apesar dos portadores do alelo A apresentarem maior peso corpóreo no momento basal, após três anos de intervenção tiveram menor ganho de peso comparado a indivíduos com o genótipo referência TT (RAZQUIN *et al*, 2010).

Outros estudos com diferentes delineamentos, realizados em diversas populações, indicaram que o alelo variante A pode afetar a ingestão de energia total (CECIL *et al*, 2008; WARDLE *et al*, 2008; HAUPT *et al*, 2009), aumentando a saciedade (WARDLE *et al*, 2008), sem interferir com o gasto energético (CECIL *et al*, 2008; GOOSSENS *et al*, 2009) ou nível de atividade física (SPEAKMAN *et al*, 2008; WARDLE *et al*, 2009; JONSSON *et al*, 2009). Alguns autores sugerem que o ganho de peso dos portadores do alelo variante ocorre devido à maior ingestão alimentar e não por redução no gasto energético (HAUPT *et al*, 2009). Porém, um estudo não encontrou associação do alelo A com regulação da ingestão alimentar ou com preferência por alimentos específicos (HASSELBALCH *et al*, 2010).

Algumas evidências apontam que a susceptibilidade genética à obesidade associada ao alelo variante A pode ser suprimida pela atividade física

(ANDREASEN *et al*, 2008). Estudo realizado com a população japonesa mostrou que o IMC foi significativamente maior nos indivíduos com o genótipo AA com menor atividade física, mas não naqueles ativos, sugerindo associação dependente da atividade física (KARASAWA *et al*, 2010). Outro estudo envolvendo 4.839 adultos revelou que a baixa atividade física e uma dieta rica em gordura poderiam favorecer a obesidade de forma mais acentuada nos portadores do alelo variante (SONESTEDT *et al*, 2009).

Dessa forma, o conjunto dos achados descritos sugere que o SNP FTO T/A pode influenciar o IMC e estar envolvido em outros processos que interferem no risco cardiometabólico.

1.3.2. Citocinas e outras substâncias envolvidas no risco cardiometabólico e seus polimorfismos

A seleção das substâncias que influenciam o metabolismo glico-lipídico e o risco cardiometabólico aqui apresentada baseou-se na disponibilidade dos valores de suas concentrações sanguíneas, produtos diretos ou indiretos dos genes cujos polimorfismos foram investigados.

➤ Adiponectina

Este hormônio de 244 aminoácidos é secretado exclusivamente pela célula adiposa apresentando efeitos sensibilizadores da ação insulínica (BERG *et al*, 2001; YAMAUCHI *et al*, 2001). Assim, beneficia o metabolismo glico-lipídico e melhora o risco cardiometabólico (MEIER *et al*, 2004; HAVEL *et al*, 2004). A adiponectina reduz ácidos graxos livres circulantes, aumenta a oxidação de gordura e estimula a captação de glicose em miócitos e adipócitos pela ativação a AMPK (YAMAUCHI *et al*, 2002; ORDOVAS, 2007; WHITEHEAD *et al*, 2006; RABE *et al*, 2008; YAMAUCHI *et al*, 2008; KADOWAKI *et al*, 2007).

Em contraste com outras adipocitocinas, encontra-se diminuída em condições de RI (BAJAJ *et al*, 2004; ZACHAROVA *et al*, 2005, LI *et al*, 2008). Vários estudos confirmam a associação de hipoadiponectinemia com obesidade, DM2 (ZACHAROVA *et al*, 2005; HARA, 2005; LI *et al*, 2008), perfil lipídico aterogênico (YAMAMOTO *et al*, 2004; CHAN *et al*, 2005) e DCV (MAAHS *et al*, 2005). Elevações nas concentrações de adiponectina após perda de peso se associaram à melhora do perfil lipídico, independentemente das mudanças na adiposidade corporal (BARATTA *et al*, 2004). Além disso, o encontro de associação negativa com proteína C reativa (PCR) e fibrinogênio indica que a adiponectina é dotada de propriedades antiinflamatórias e antiaterogênicas (TAKEMURA *et al*, 2007; FERGUSON *et al*, 2010; HENNEMAN *et al*, 2010). Foram relatados efeitos inibitórios sobre a adesão de monócitos ao endotélio, transformação de macrófagos em células espumosas e produção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (WHITEHEAD *et al*, 2006; SHENG & YANG, 2008; BEHRE, 2007; RASOULI *et al*, 2008). Este conjunto de observações permite afirmar que a adiponectina seja protetora contra malefícios da obesidade, tais como o DM2 e a aterosclerose (FERGUSON *et al*, 2010; SHENG & YANG, 2008; ZACHAROVA *et al*, 2005).

Diversos polimorfismos (-11391G/A, 11377C/G, 45T/G e 276G/T) no gene da adiponectina foram descritos em diferentes populações, sendo associados a hipoadiponectinemia, DM2 e SM (HARA *et al*, 2005; PÉREZ-MARTINEZ *et al*, 2008). O SNP 45T/G, caracterizado pela troca de uma tirosina por guanina na posição +45 do exon 2 é dos mais relatados e mais fortemente associado à obesidade, RI e SM, (MELISTAS *et al*, 2009; MUSSO *et al*, 2008; LOOS *et al*, 2007; LI *et al*, 2007). O *Quebec Family Study* comprovou sua associação com adiposidade generalizada e abdominal (LOOS *et al*, 2007). Estudo chinês

encontrou associação de presença do alelo G com DM2 e menores concentrações de adiponectina. A frequência dos genótipos TG e GG foi de 37% entre portadores de DM2 e de 20% entre não-diabéticos (LI *et al*, 2007). Percentuais mais altos foram observados em estudo desenvolvido na Coreia do Sul, envolvendo indivíduos com TGD e DM2 (TG de 42% e GG de 8%), os quais também apresentavam menor adiponectinemia e maior RI (CHUNG *et al*, 2009).

O STOP-NIDDM, estudo multicêntrico incluindo 770 indivíduos com alto risco para DM2, encontrou cerca de 20% dos genótipos TG e GG que, comparados com o genótipo TT, associaram a risco 1,8 vezes maior para ocorrência de DM2 (ZACHAROVA *et al*, 2005). Em estudo caso-controle, os genótipos TG e GG foram significativamente mais frequentes entre indivíduos diabéticos comparados com controles não-diabéticos; indivíduos com estes genótipos apresentaram risco 2,6 maior de desenvolver DM2 (MOHAMMADZADEH & ZARGHAMI, 2009).

Em suma, dados nacionais e internacionais são consistentes quanto à existência de relação entre SNPs da adiponectina com doenças que compõem a SM (GOUNI-BERTHOLD *et al*, 2004; HAUTALA *et al*, 2007).

➤ **Fator de necrose tumoral alfa**

O TNF- α é uma das mais potentes proteínas pró-inflamatórias, indutoras de RI. Hotamisligil *et al* (1992) encontraram correlação positiva entre a massa de tecido adiposo e a expressão do gene que codifica o TNF- α . A produção de TNF- α depende não somente dos adipócitos hipertrofiados, mas também dos macrófagos que infiltram o tecido adiposo (WEISBERG *et al*, 2003; BASTARD *et al*, 2006). Hoje esta ligação entre obesidade e inflamação crônica subclínica é amplamente reconhecida (FERRANTE, 2007; GIL *et al*, 2007). A inflamação

induzida por esta e outras adipocitocinas media a relação da RI com manifestações da SM (ZINMAN *et al*, 1999; LAGO *et al*, 2007; CAVE *et al*, 2008).

Demonstrou-se que o TNF- α induz a fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) em serina, comprometendo a transdução do sinal insulínico e, em última análise, a captação de glicose (SHOELSON *et al*, 2006).

Numerosos SNPs foram descritos na região promotora do gene que codifica o TNF- α como -1031T/C, -863C/A, -857C/T, -575G/A, -376G/A, -308G/A, -244G/A e -238G/A (HAJEER & HUTCHINSON, 2000; BAYLEY *et al*, 2004). Alterações nesta região podem alterar a transcrição e expressão, influenciando o desenvolvimento de condições como RI e artrite reumatóide (ABRAHAM & KROEGER, 1999). O polimorfismo na posição -308G/A (rs1800629) está entre os mais estudados (WILSON *et al*, 1992). Analisando-se o impacto funcional dos alelos G e A encontram-se resultados divergentes: alguns apontam diferenças na síntese de TNF α (KROEGER *et al*, 1997; WILSON *et al*, 1997; KROEGER *et al*, 2000) enquanto outros não (BRINKMAN *et al*, 1995, KROEGER *et al*, 2000), sendo que na maioria o alelo variante A associa-se à redução na transcrição e síntese de TNF- α .

Este SNP mostrou-se associado com a razão cintura-quadril de mulheres coreanas, tendo sido sugerido que o alelo A conferiria risco de obesidade e de RI (UM & KIM, 2004). Mesmo em indivíduos não-obesos, o SNP do TNF α já foi associado a estado inflamatório. Carreadores do alelo A apresentaram maiores concentrações de marcadores inflamatórios circulantes em alguns estudos (ARAUJO *et al*, 2004; LAKKA *et al*, 2006), mas não em todos (GANDER *et al*, 2004). Esta relação parece sofrer influência da idade, gênero e grupo étnico (ARAUJO *et al*, 2004; LAKKA *et al*, 2006). Numa metanálise que investigou a

associação entre o SNP -308G/A e componentes da SM não foram encontradas associações com glicemia de jejum e presença de DM2 ou HA (SOOKOIAN *et al*, 2005). No entanto, portadores do alelo A apresentaram maiores valores de pressão arterial e insulinemia de jejum, os quais foram dependentes da idade e do grupo étnico.

➤ **Interleucina 6**

A interleucina 6 (IL-6), cujo gene localiza-se no cromossomo 7, é secretada por monócitos, macrófagos, adipócitos, osteoblastos, células endoteliais, células β pancreáticas, miócitos e outras. O tecido adiposo é importante sítio de secreção em humanos, sendo que o visceral secreta de duas a três vezes mais IL-6 que o subcutâneo. A IL-6 induz a produção hepática de PCR (STEPHENS *et al*, 2007; HEINRICH *et al*, 1990), é essencial no controle de processos inflamatórios agudos, estimula a síntese de citocinas anti-inflamatórias e em estados inflamatórios crônicos tem papel pró-inflamatório (STEENSBERG *et al*, 2003; STARKIE *et al*, 2003). Altas concentrações de IL6 associaram-se à obesidade, adiposidade visceral (QI *et al*, 2007; REXRODE *et al*, 2003; VOZAROVA *et al*, 2001), intolerância à glicose (STEPHENS *et al*, 2007; QI *et al*, 2007; FREEMAN *et al*, 2002) e HA (HUMPHRIES *et al*, 2001). Assim como outras substâncias pró-inflamatórias, a IL6 interfere na sinalização insulínica, contribuindo para gerar RI, o que justifica ser preditiva de DM2 (FRIED *et al*, 1998).

Associações de SNPs no gene da IL-6 e obesidade foram descritas em vários estudos (QI *et al*, 2007; STRANDBERG *et al*, 2008; BERTHIER *et al*, 2003; GRALLERT *et al*, 2006; HAMID *et al*, 2005; GROBUSCH *et al*, 2006; WERNSTEDT *et al*, 2004). Foram relatados polimorfismos na região promotora do gene, como -597G/A, -572G/C e -174G/C, sendo o último o mais prevalente e de

maior importância biológica. Em estudo de base populacional com 9.960 americanos, o SNP -174G/C foi encontrado em 57% dos caucasóides e 93% dos afroamericanos (HUANG *et al*, 2007).

Um dos primeiros estudos deste SNP, realizado em uma população espanhola saudável, revelou que portadores do genótipo referência e não os do alelo variante C apresentavam concentrações maiores de glicose e triglicérides e menores de HDL-c (FERNANDEZ-REAL *et al*, 2000). Achados subsequentes foram discordantes uma vez que o alelo C se associou a pior perfil cardiometabólico. Diversos investigadores, em diferentes populações, encontraram que o alelo C SNP -174G/C associou-se a menor gasto energético, maior adiposidade, pior sensibilidade à insulina e risco de obesidade (BERTHIER *et al*, 2003; MCKENZIE *et al*, 2004; POITOU *et al*, 2005; FERNANDEZ REAL *et al*, 2001; KUBASZEK *et al*, 2003). Em uma população canadense e francesa o genótipo referência GG foi mais freqüente em homens magros com menores concentrações de insulina e glicose (BERTHIER *et al*, 2003). Outros mostraram que portadores do alelo C apresentaram maiores valores de IMC, IL-6, PCR e lipoproteínas (BRULL *et al*, 2001; EKLUND *et al*, 2006; GOYENECHEA *et al*, 2006 JONES *et al*, 2001). A perda de peso não reduziu as concentrações de PCR em homens finlandeses com o genótipo CC, mas sim em indivíduos com os genótipos GG e GC (EKLUND *et al*, 2006).

Alguns investigadores detectaram esta associação do alelo C com obesidade e DM2 apenas em subgrupos de indivíduos com excesso de peso (BOUHAHA *et al*, 2010; STEPHENS *et al*, 2004).

Em suma, o conjunto destas evidências sugere que o SNP -174G/C no gene da IL-6 parece elevar sua concentração sanguínea e deteriorar o

metabolismo da glicose e lípidos. Não foram encontrados trabalhos estudando o SNP -174G/C em amostras da população brasileira.

➤ ***Peroxisome proliferator-activated receptors***

A família dos *Peroxisome Proliferator Activated Receptors* (PPAR α , PPAR β e PPAR γ) tem relevantes funções no metabolismo glico-lipídico, influenciando o transporte de ácidos graxos, diferenciação de adipócitos, inflamação dentre outras (GOUDA *et al*, 2010). O PPAR γ possui duas isoformas. A isoforma 1 é expressa em vários tecidos e a 2 no tecido adiposo, onde atua como responsável pela diferenciação dos pré-adipócitos a adipócitos, induzindo a expressão de genes que promovem a entrada de lípidos nas células, síntese de triglicérides, sensibilidade à insulina, oxidação de ácidos graxos e metabolismo extracelular de lípidos (transporte reverso de colesterol) (JONES, 2001; TORRA *et al*, 2001; DANAWATI *et al*, 2005). Diversos SNPs no gene que codifica para o PPAR γ 2 foram identificados, tais como 161C/T, 1431 C/T, 162L/V e Pro12Ala (GOUNI-BERTHOLD *et al*, 2004). No caso do Pro12Ala, este polimorfismo decorre de troca de bases ocorrida no códon 12 do gene do PPAR γ que resulta na substituição de aminoácido prolina por alanina.

Relatam-se freqüências do alelo Ala de aproximadamente 12% entre caucasóides, 4% em japoneses, 3% em afroamericanos e 1% em chineses (STUMVOLL & HARING, 2002). Este SNP tem sido associado à adiposidade corporal, embora existam controvérsias (MORI *et al*, 2001; FREDERIKSEN *et al*, 2002; GURI *et al*, 2006; HAUTALA *et al*, 2007; HE, 1990;). Estudos com homens iranianos (MIRZAEI *et al*, 2009), chineses (CHEN *et al*, 2009), brasileiros com descendência européia (MATTEVI *et al*, 2007) e em homens italianos (MORINI *et al*, 2008) encontraram associação deste alelo com maior IMC e risco de

obesidade. Concordantemente, em crianças gregas o alelo Ala associou-se à adiposidade apenas no sexo masculino (DEDOUSSIS *et al*, 2009). Porém, estudo conduzido em população javanesa mostrou fraca associação com obesidade (DANAWATI *et al*, 2005). Em mulheres pós-menopausadas de origem polonesa, o alelo Ala também não se relacionou ao IMC, mas predispôs a perfil lipídico desfavorável (MILEWICZ *et al*, 2009).

A maioria dos estudos sobre a associação deste SNP com DM2 identifica papel protetor do alelo Ala (STUMVOLL & HARING, 2002; MOON *et al*, 2005; GOUDA *et al*, 2010). Sua presença associa-se a uma menor massa adiposa, menor concentração de ácidos graxos livres, TNF- α e maior adiponectinemia, resultando em melhora da sensibilidade à insulina (DEEB *et al*, 1998; STUMVOLL & HARING, 2002; TONJES & STUMVOLL, 2007; GOUDA *et al*, 2010). Em dinamarqueses homozigotos para o alelo Ala, encontraram-se menores níveis de pressão arterial e triglicérides quando comparados àqueles com genótipo Pro12Pro (FREDERIKSEN *et al*, 2002). Estudo brasileiro encontrou relação direta do alelo Ala com sensibilidade à insulina e inversa com o risco de DM2 (TAVARES *et al*, 2005).

Outros achados mostraram que portadores deste alelo apresentaram maior oxidação lipídica e sensação de saciedade, sugerindo papel protetor no controle da ingestão alimentar (ROSADO *et al*, 2006; ROSADO *et al*, 2007). Submetidos a refeição com alto teor de gordura, estes indivíduos apresentam menores valores de insulina, resistência à insulina e triglicérides quando comparados ao genótipo referência (HELWIH *et al*, 2007).

Metanálise envolvendo 80 mil pessoas de diversas etnias reforçou que o alelo Ala confirmou papel protetor contra DM2, apesar da magnitude da associação variar entre populações (GOUDA *et al*, 2010). Em parte, a

heterogeneidade na proteção pode ser explicada por diferenças no IMC. Obesos portadores do alelo podem ter até o dobro do risco para desenvolver DM2.

Enfim, o SNP Pro12Ala do gene do PPAR γ 2 parece proteger contra DM2, embora não esteja claro se a proteção do alelo Ala se mantém quando a obesidade já está instalada.

➤ **Apolipoproteínas**

A mobilidade dos lípidos entre territórios orgânicos via lipoproteínas é coordenada pelas apoproteínas, componentes estruturais das lipoproteínas, que desempenham funções relevantes na homeostase do colesterol e metabolismo lipídico. As apoproteínas conferem hidrossolubilidade, coordenam o movimento e as atividades das lipoproteínas pela modulação da atividade enzimática e são mediadoras da remoção de partículas da circulação por receptores específicos.

A apoproteína predominante na HDL-c é a apolipoproteína A (Apo A), enquanto que na LDL-c é a Apo B. As demais lipoproteínas têm em sua composição uma mistura de Apo B, Apo C e Apo E. Estas substâncias podem ser determinadas no sangue e, à semelhança da quantificação das lipoproteínas, as Apos podem expressar o grau de risco cardiovascular.

Considerando a relevância das Apos na identificação de risco cardiovascular, a literatura também tem investigado a relação de SNPs dos genes que as codificam com distúrbios do metabolismo lipídico. Polimorfismos já foram descritos em diferentes populações, sendo mais numerosos e recentes aqueles relativos à apoproteína A.

▪ **Apolipoproteína A**

A Apo A apresenta duas isoformas A1 (Apo A1) e A2 (Apo A2) e é responsável pelo transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado,

interagindo com outras lipoproteínas, enzimas, proteínas de transferência e receptores. Sintetizada no fígado e no intestino, age como co-fator para a lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) enzima que esterifica o colesterol no plasma, é ligante para o cassete ABCA-I (transportador que promove o fluxo de colesterol livre e fosfolípidos das células) e, portanto, está envolvida no transporte reverso do colesterol (KUYL & MENDELSON, 1992; PEREZ-MARTINEZ *et al*, 2008; SORCI-THOMAS *et al*, 1989). Apo A1 e HDL-c são, portanto, consideradas fatores de proteção cardiovascular (ORDOVAS, 2006). À semelhança da HDL-c, baixa concentração sanguínea de Apo A1 é indicativa de risco cardiovascular (BLOCK *et al*, 2009). Em uma coorte de homens suecos (WALLENFELDT *et al*, 2004) e no *Atherosclerosis Risk in Communities* (SHARRETT *et al*, 1994), a Apo A1 se associou inversamente com a espessura íntima-média da carótida.

Diversos polimorfismos foram descritos no gene da Apo A1, situado no braço longo do cromossomo 11, como -1131 T/C, -3 A/G, 553G/T, -75 G> A e 83 C/T (LIU *et al*, 2010b). Os dois últimos foram fortemente associados com os níveis de HDL-c e Apo A1 circulantes (KAMBOH *et al*, 1996).

O SNP -75G/A (rs670), localizado na região promotora do gene, é dos mais estudados quanto à sua relação com concentrações de HDL-c e Apo A1, mas apresenta resultados conflitantes (ORDOVAS, 2006). O alelo A ocorre comumente em caucasóides (SHARRETT *et al*, 1994); tem sido associado a aumento da transcrição da Apo A1 em alguns estudos (PAGANI *et al*, 1992; PAUL-HAYASE *et al*, 1992; TALMUD *et al*, 1994; XU *et al*, 1990), mas não em outros (JUO *et al*, 1999; BARRE *et al*, 1994; LOPEZ-MIRANDA *et al*, 1994). Parece, ainda, ser influenciado pela ingestão de ácidos graxos ômega 3 e 6 (TAI *et al*, 2002; LACQUEMANT *et al*, 2000; DO *et al*, 2009). Além disso, este polimorfismo pode contribuir para a variabilidade no metabolismo lipídico pós-

prandial e na resposta das lipoproteínas às mudanças dietéticas em indivíduos saudáveis (MARIN *et al*, 2002).

Os polimorfismos -75G/A e 83C/T foram estudados em 176 indivíduos na Espanha. Os resultados mostraram que o alelo A foi significativamente mais frequente em pacientes com angina instável e infarto do miocárdio (IAM) do que em controles saudáveis. A presença do alelo T foi associada a menor concentração de HDL-c e colesterol total (REGUERO *et al*, 1998). Estudo similar que avaliou 100 indivíduos (50 com diagnóstico de IAM e 50 controles) mostrou que portadores da combinação dos alelos G e T podem ser mais susceptíveis ao IAM do que indivíduos com outros genótipos (GOMEZ *et al*, 2010). Esta relação do SNP -75G/A, níveis sanguíneos de Apo A1 e risco de doença arterial coronariana variam de acordo com o grupo étnico estudado. Parece que a associação com eventos coronarianos recorrentes é diferente em se tratando de indivíduos brancos e negros, já que este SNP foi associado a risco significativamente aumentado entre os últimos, mas não entre brancos (BLOCK *et al*, 2009). Em estudo envolvendo a população européia, não foi comprovada associação deste SNP com as concentrações de HDL-c e LDL-c (BAUERFEIND *et al*, 2006). Quanto ao gênero, um estudo envolvendo indivíduos caucasóides, mostrou que o SNP -75G/A foi associado a maiores níveis de Apo B, colesterol e LDL-c em mulheres mas não em homens (LARSON *et al*, 2002).

Mais recentemente, estudo de intervenção conduzido no México que avaliou o SNP -75G/A em uma amostra de hipercolesterolêmicos, mostrou uma prevalência de 53,5% dos genótipos GA e AA nesses indivíduos (TORRES *et al*, 2009). No grupo considerado hiporresponsivo a uma dieta pobre em ácidos graxos saturados (aumento <10% no HDL-c), 74% dos indivíduos carregavam o alelo A. Já no grupo considerado hiperresponsivo (>20% de aumento no HDL-c)

apenas 40% carregavam o alelo A, o que indica associação do alelo A com diminuição na resposta à intervenção. Independente do genótipo, a dieta com baixo teor de gorduras saturadas reduziu significativamente as concentrações lipídicas nestes indivíduos. Outro estudo, conduzido na China, incluindo indivíduos de diferentes origens étnicas, revelou que este SNP modula a concentração de HDL-c de forma heterogênea: para uma população a concentração de HDL-c foi maior nos portadores do genótipo GG, o que não se repetiu noutro grupo étnico (LI *et al*, 2008).

Há evidências de que as concentrações de lipoproteínas podem responder de forma distinta à atividade física de acordo com o genótipo. Indivíduos sem dislipidemia, submetidos a exercícios físicos aeróbicos supervisionados, apresentaram diferentes respostas em termos de HDL-c, sendo que carreadores do alelo A foram menos beneficiados com esta prática (RUAÑO *et al*, 2006).

Pode-se concluir até o momento que o SNP -75G/A no gene que codifica a Apo A1 pode ter impacto na concentração sanguínea desta apoproteína. Os estudos disponíveis são ainda inconclusivos quanto ao alelo que se associaria a um maior risco, o que pode variar na dependência da população analisada.

2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

É inquestionável a necessidade de programas para prevenção de doenças associadas à obesidade que elevam o risco cardiometabólico, considerando que estão entre as principais responsáveis pela mortalidade das populações atuais.

A heterogeneidade no alcance de metas e na resposta a programas de prevenção de DM2 pode ser influenciada, entre outros motivos, pelas características genéticas individuais, interagindo com fatores ambientais (BOUCHARD, 2008; BRAY, 2008). É possível que certos polimorfismos estejam associados a diferentes respostas a programas de mudanças no estilo de vida.

O entendimento das relações gene-resposta é relevante para compreender os mecanismos de regulação do peso corporal que podem auxiliar no desenvolvimento de programas de prevenção de DM2. Genes envolvidos na regulação da adiposidade corporal e metabolismo glico-lipídico podem potencialmente influenciar a resposta a intervenções em hábitos de vida. Dentre estes, destacam-se os genes da adiponectina (AdipoQ), TNF- α , IL6, PPAR γ e Apo A1 dentre outros (MARTINEZ *et al*, 2008; UUSITUPA, 2005; GRARUP *et al*, 2007). No nosso meio, são raros os estudos que avaliam, prospectivamente, a relação de polimorfismos com a resposta a intervenções.

A hipótese do presente estudo é a de que certos polimorfismos relacionados à adiposidade corporal, metabolismo glico-lipídico e ao estado inflamatório estão associados a diferentes respostas a programa de prevenção de DM2 em indivíduos de alto risco cardiometabólico.

Espera-se que futuramente marcadores genéticos possam auxiliar na identificação de indivíduos com maior chance de se beneficiar de intervenções sobre seus hábitos de vida (dieta e atividade física), direcionando a abordagem terapêutica de indivíduos de risco.

3. OBJETIVOS

▪ **Objetivo geral**

O objetivo principal deste estudo é investigar a associação de seis SNPs com a resposta a programa de prevenção de DM2 por mudanças em hábitos de vida em indivíduos de alto risco cardiometabólico.

▪ **Objetivos específicos**

➤ Estudar, em indivíduos de alto risco cardiometabólico, no ponto de partida do programa de prevenção de DM2 e após nove meses de seguimento, a associação entre a presença dos polimorfismos FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala, Apo A1 -75G/A, TNF- α -308G/A, IL6 -174G/C e AdipoQ 45T/G com:

- Medidas de adiposidade corporal: IMC e circunferência abdominal;
 - Parâmetros metabólico-hormonais: glicemia de jejum e após sobrecarga, perfil lipídico (colesterol total, HDL-c, LDL-c, Apo A1, Apo B, triglicérides, insulina, HOMA-IR e adiponectina);
 - Marcadores inflamatórios: PCR, IL-6 e TNF- α .
- Analisar associações dos SNPs com a resposta ao programa de prevenção.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento

Trata-se de estudo de intervenção no qual os participantes foram submetidos a um programa que incentivou mudanças em estilo de vida, focado em hábitos alimentares e atividade física, desenvolvido no Centro de Saúde-Escola Geraldo de Paula Souza, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, integrante do Sistema Único de Saúde. O estudo matriz (FAPESP 07/55120-0) foi delineado para avaliar se medidas empregadas previamente em estudos de eficácia eram efetivas para reduzir o risco cardiometabólico em estrato da população do Município de São Paulo, e inclui uma análise da amostra também aos 18 meses de intervenção (não objeto desta Dissertação). As análises do presente estudo incluem dados obtidos no ponto basal da intervenção e ao final dos nove primeiros meses de acompanhamento.

4.2. Casuística

Campanhas de saúde, nas quais os indivíduos eram submetidos a questionário de risco cardiometabólico e glicemia capilar, serviram de base para os convites de comparecimento ao Centro de Saúde para realização de exames clínico-laboratoriais que incluíram teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Estes procedimentos foram precedidos de assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Foram incluídos 230 indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 18 e 80 anos, portadores de pré-diabetes ou SM sem alteração do metabolismo glicídico, considerados de alto risco para desenvolver DM2 (FORD *et al*, 2008). Condições pré-diabéticas foram definidas pela presença de glicemia de jejum

alterada (GJA) ou tolerância à glicose diminuída (TGD), segundo critérios da *American Diabetes Association* (ADA, 1997).

Os critérios de exclusão foram: residir fora da Grande São Paulo; mulheres gestantes; problemas neurológicos ou psiquiátricos graves não-estabilizados; uso de medicação antiobesidade e/ou antidiabético oral; portadores de neoplasias, doenças crônicas transmissíveis, insuficiência hepática ou renal, disfunção tireoidiana não-tratada. Doses de medicações anti-hipertensiva e hipolipemiante foram mantidas estáveis durante o período do estudo, ou caso necessário, reduzidas para manter a estabilidade das variáveis.

O diagnóstico de SM foi estabelecido segundo os critérios da IDF vigentes na ocasião do rastreamento (IDF, 2006), porém sem DM2. O indivíduo elegível deveria ter circunferência da cintura (CC) <90 cm e <80 cm, para homens e mulheres, respectivamente, além de no mínimo dois dos seguintes critérios:

- Glicose plasmática de jejum ≥ 100 mg/dL e < 126 mg/dL;
- Triglicérides ≥ 150 mg/dL ou uso de medicação específica;
- HDL-c < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres ou uso de medicação;
- Pressão arterial sistólica > 130 mmHg ou diastólica > 85 mmHg ou uso de anti-hipertensivos.

Após esta avaliação, os indivíduos que preencheram os critérios de inclusão, foram convidados a participar da intervenção e os que aceitaram assinaram novo TCLE. A avaliação clínico-laboratorial dos indivíduos no momento basal e ao final de 9 meses de acompanhamento incluiu obtenção de dados sócio-demográficos, de exame físico (avaliação antropométrica e aferição da pressão arterial) e coleta de sangue para determinações bioquímicas, hormonais e análises genéticas. A atividade física total foi mensurada através do

questionário internacional de atividade física (IPAQ), versão longa (CRAIG *et al*, 2003), aplicado por educador físico treinado. Também foram obtidos dados dietéticos (três recordatórios alimentares de 24 horas por nutricionista treinada), e psicológicos (qualidade de vida e transtornos psíquicos por psicóloga) que não serão diretamente utilizados para as análises do presente projeto.

Três medidas de pressão arterial foram realizadas com adequação do manguito à circunferência braquial; após cinco minutos de repouso na posição sentada, com o braço direito apoiado na altura do átrio esquerdo. Para aferição da pressão arterial foi empregado aparelho automático (Omron model HEM-712C, Omron Health Care, Inc, USA). Os valores finais de pressão sistólica (PAS) e diastólica (PAD) a serem considerados serão aqueles que representam a média aritmética das duas últimas medidas. Para as análises, foi utilizado o valor da pressão arterial média (PAM), calculado através da fórmula: $PAM = PAS + (PAD \times 2) / 3$. As variáveis antropométricas estatura (estadiômetro fixo) e peso (balança digital com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g) foram obtidas segundo técnica previamente descrita (LOHMAN *et al*, 1988). O IMC foi calculado dividindo-se o peso (kg) pelo quadrado de altura (m) e a classificação do estado nutricional realizada segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2003). A CC foi medida com fita métrica inelástica, no ponto médio entre a última costela flutuante e crista ilíaca, com indivíduo em pé, abdomen relaxado, braços ao longo do corpo e pés unidos.

A coleta de sangue foi realizada após jejum mínimo de 12 horas. Após sua obtenção, os indivíduos foram submetidos a TOTG com 75 gramas e, após duas horas, foi coletada a amostra para glicemia pós-sobrecarga.

Os parâmetros laboratoriais a serem considerados para fins do presente projeto são: glicemia de jejum, glicemia de duas horas, triglicérides, colesterol

total e frações, Apo A1, Apo B, insulina de jejum, adiponectina, IL-6, PCR e TNF- α . Amostras foram estocadas a -80°C para posterior extração do DNA.

4.3. Protocolo do programa de intervenção

Em consultas com endocrinologista e reuniões com equipe multiprofissional (nutricionista, educador físico e psicólogo), os participantes receberam orientações sobre dieta e atividade física. Estes pacientes retornaram em consulta médica trimestralmente para reavaliação e reforço à adesão ao programa. Também foram oferecidas sessões psicoeducativas grupais com a equipe multiprofissional, das quais participou parte dos incluídos.

➤ Estratégia de intervenção em hábitos de vida

As orientações dietéticas foram fornecidas segundo as recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2005), Ministério da Saúde (MS, 2005) e OMS (WHO, 2003). Dessa forma, a prescrição dietética foi adequada às necessidades energéticas individuais e ao estado nutricional, monitorada no basal e ao final da intervenção. As dietas foram fracionadas, ricas em fibras (>20 g), com a seguinte distribuição das calorias totais: 50-60% proveniente dos carboidratos (carboidratos complexos, principalmente), menos de 10% de ácidos graxos saturados, no mínimo 20% provenientes de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados. Assim, o plano alimentar orientou:

- o consumo de gorduras saturadas e ácidos graxos *trans* minimizado (incentivado uso de óleo vegetal em pequenas quantidades nas preparações culinárias em detrimento de banha, manteiga ou outras fontes de gordura animal, desencorajando o consumo de produtos industrializados como biscoitos e bolos recheados, sorvetes e outros produtos ricos em gordura *trans*);

- o consumo de gorduras mono e poliinsaturadas estimulado (incentivada utilização de azeite de oliva em quantidades limitadas (1 a 2 colheres de sopa por dia), principalmente em preparações que não sofram cocção, e incentivando o consumo de peixes como salmão, atum e sardinha);

- carnes magras até 2 porções médias/dia e as gordas desestimuladas;
- o consumo de laticínios de 2 a 3 porções/dia (produtos pobres em gorduras);
- 5 porções/dia de verduras/legumes e 2 a 4 porções/dia de frutas;
- carboidratos entre 6-11 porções/dia, especialmente grãos integrais.

As orientações de atividade física tiveram como meta a prática de no mínimo de 30 minutos/dia de exercício moderados, tendo em mente os benefícios na redução de risco cardiovascular (WHO, 2003). No campus da FSP/USP foram oferecidas sessões práticas ao longo do acompanhamento. As atividades físicas realizadas em ambiente doméstico, de trabalho, além das de locomoção e principalmente as de lazer foram estimuladas. Ao final de nove meses foi repetido o IPAQ para avaliar mudanças nestas práticas.

4.4. Metas do programa de intervenção

A intervenção buscou melhora do perfil cardiometabólico dos participantes, particularmente no que se refere ao perfil glicêmico. Para que tal melhora fosse alcançada, foram estabelecidas metas do programa de intervenção, semelhantes às de outros estudos da literatura (KNOWLER *et al*, 2002; TUOMILEHTO *et al*, 2001):

- redução mínima de 5% do peso (para indivíduos com excesso de peso);
- ingestão de no mínimo 20 g de fibras por dia;
- consumo de gorduras saturadas $\leq 10\%$ das calorias totais;
- prática de ≥ 150 minutos de atividade física moderada por semana.

A escolha destes critérios foi baseada nos objetivos de melhora dos reconhecidos fatores de risco (adiposidade corporal, pressão arterial e concentrações sanguíneas de glicose e lipoproteínas), habitualmente empregados para o diagnóstico da SM.

Análises das relações entre alcance de metas, bem como da adesão ao programa e variações em parâmetros metabólicos foram objeto de outro estudo do Grupo.

4.5 Métodos analíticos

A glicose plasmática e perfil lipídico foram dosados imediatamente após a coleta, no laboratório do CSE-FSP/USP. A glicose plasmática foi determinada pelo método da glicose-oxidase e as concentrações de colesterol total, HDL-c e triglicérides por métodos colorimétricos enzimáticos, processados em analisador automático. As concentrações de LDL-c e Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) foram obtidas por diferença, utilizando-se a equação de Friedewald. A PCR, IL-6 e TNF- α foram dosados por quimioluminescência (aparelho Immulite da Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). Alíquotas de soro estocadas a -80°C foram posteriormente empregadas para determinação de insulina por ensaio imunofluorimétrico baseado em anticorpo monoclonal (AutoDelfia, Perkin Elmer Life Sciences Inc, Norton, OH, USA), de adiponectina por ELISA (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA) e de apolipoproteínas A1 e B por turbidimetria (aparelho Olympus). A resistência à insulina será estimada por meio do cálculo do HOMA-IR (MATTHEWS *et al*, 1985).

4.6 Estudos genéticos

A escolha dos polimorfismos foi baseada em prévios relatos de influência em biomarcadores alterados na SM. Para sua identificação foram

utilizadas as amostras de sangue coletadas em tubos Vacutainer com EDTA, estocadas a -80° C.

Para a determinação dos SNPs AdipoQ 45T/G (rs2241766), TNF- α - 308G/A (rs1800629), FTO T/A (rs9939609), IL6 -174G/C (rs1800795), PPAR γ Pro12Ala (rs1801282) e ApoA1 -75G/A (rs670) foi feita inicialmente a extração do DNA genômico, do sangue total, utilizando-se o método conhecido como *salting out*, descrito por Miller *et al* (1988). Após a extração, a viabilidade e qualidade do material extraído foram visualizadas em gel de agarose a 1%, e a concentração obtida por leitura em espectrofotômetro Nanodrop 8000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE - Thermo Scientific). Todo o processo de extração foi acompanhado pela aluna.

Posteriormente à extração, o material foi congelado em gelo seco e enviado a Inglaterra para procedimentos de genotipagem quanto aos polimorfismos de interesse em caixas de armazenamento adequadas para transporte de material biológico, com fechamento individual dos tubos de cada amostra, evitando assim sua contaminação. O transporte foi realizado pela FedEx Express Brasil, especializada em transporte de amostras biológicas. A genotipagem foi realizada pela empresa Kbiosciences (Herts, England), por meio da técnica *polymerase chain reaction* alelo específico, de acordo com a metodologia descrita por Myakishev *et al* (2001). O ensaio permite a amplificação e a detecção simultânea do DNA com a utilização de um *primer reverse* comum em cada tubo de reação e dois *primers* marcados com dois diferentes fluoróforos, os quais reconhecem sequências específicas correspondentes a cada alelo. O sinal de fluorescência emitido durante o andamento da reação foi captado por um leitor de fluorescência utilizado para a clusterização e posterior identificação dos

genótipos. Como controle de qualidade do processo e para testar a reprodutibilidade intra e inter-placas foram utilizados o controle negativo com água e o teste de amostra com genótipo conhecido, aplicado em duplicata em todas as placas. Assegurou-se que os *clusters* indiciativos das classes de genótipos estavam bem claros e distintos nos resultados, evitando erros de classificação.

4.7 Análise estatística

Os dados referentes aos exames clínico-laboratoriais foram armazenados em banco de dados e analisados com auxílio do programa PASW Statistics 18 for Windows. O nível de significância estatística foi fixado em 5%.

Para o primeiro artigo, a distribuição das variáveis foi avaliada através do teste Kolmogorov-Smirnov. Foram calculadas frequências relativas e absolutas, médias e desvios-padrão das variáveis numéricas com distribuição normal. Frequências foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. As variáveis insulina, PCR, adiponectina e IL-6 requereram transformação logarítmica. Foi empregado teste *t* de Student para amostras independentes (ou teste de Wilcoxon para as variáveis não-paramétricas).

Para o segundo artigo, as variáveis foram expressas em média e erro padrão. A análise dos dados foi feita por Equações de Estimação Generalizadas (*Generalized Estimating Equations* - GEE) (Liang & Zeger, 1986) as quais permitem a utilização de distribuições que pertencem a família exponencial, para os treze biomarcadores separadamente. Todos os modelos foram controlados por idade e sexo, além da medicação (hipolipemiante ou antiipertensiva) quando aplicável. Para todos os modelos foi verificado o efeito da intervenção (basal *versus* 9 meses), dos polimorfismos (com *versus* sem o alelo variante), assim como a interação entre intervenção e a presença dos polimorfismos. Quando interação foi

detectada, realizou-se a comparação antes e após intervenção pelas categorias de polimorfismos; quando a interação não foi detectada, a comparação foi feita apenas para a amostra total (utilizando a correção de Bonferroni para a comparação dos pares). Foram consideradas variáveis com distribuição normal (com função de ligação identidade): peso, circunferência de cintura, pressão arterial média, LDL-c, Apo A1, Apo B, glicemia de jejum e pós-sobrecarga. Foram consideradas variáveis com distribuição gamma (com função de ligação logarítmica): triglicérides, colesterol total, HDL-c, insulina e PCR. Especificamente para a pressão arterial média, levou-se em consideração o efeito da medicação anti-hipertensiva, enquanto que para variáveis lipídicas, o da medicação hipolipemiante. Nos modelos que havia controle por medicação, foi avaliado o efeito da interação entre a medicação e o tempo e a medicação e os polimorfismos.

Para avaliar se os SNPs se encontravam em equilíbrio de Hardy-Weinberg foi utilizado o qui-quadrado com dois graus de liberdade, considerando-se em equilíbrio os valores acima de 5,991 ($p > 0,05$).

4.9. Aspectos éticos

Este projeto está de acordo com os requisitos do Comitê de Ética da FSP-USP em atenção à resolução nº196 do Conselho Nacional de Saúde que regulamenta pesquisas em seres humanos. O estudo matriz e o projeto foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa da FSP-USP (Of. COEP 305/09, anexo 1). Todos os participantes assinaram TCLE, quando convidados para o rastreamento e os elegíveis para integrar o programa de intervenção (anexo 2).

5. ARTIGO 1

**Associations of the TNF- α -308G/A, IL6 -174G/C and AdipoQ 45T/G
polymorphisms with inflammatory and metabolic responses to lifestyle
intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk**

Maira L. R. Curti, Milena M. Pires, Camila R. Barros, Antonela Siqueira-Catania,
Sandra R.G. Ferreira

Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, Brazil

Correspondence

Sandra Roberta G. Ferreira

Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São
Paulo

Av. Dr. Arnaldo, 715 – São Paulo, SP, Brasil – CEP 01246-904

Tel. 55 11 3061-7701 Fax 55 11 3061-7705

e-mail: sandrafv@usp.br

Submetido a *Diabetology & Metabolic Syndrome*

Julho de 2012

Abstract

Background: Cytokines secreted by the adipose tissue influence inflammation and insulin sensitivity, and lead to metabolic disturbances. How certain single-nucleotide polymorphisms (SNPs) interfere on lifestyle interventions is unclear. We assessed associations of selected SNPs with changes induced by a lifestyle intervention. **Methods:** This 9-month intervention on diet and physical activity included 180 Brazilians at high cardiometabolic risk, genotyped for the TNF- α -308G/A, IL-6 -174G/C and AdipoQ 45T/G SNPs. Changes in metabolic and inflammatory variables were analyzed according to these SNPs. Individuals with at least one variant allele were grouped and compared with those with the reference genotype. **Results:** In the entire sample (66.7% women; mean age 56.5 ± 11.6 years), intervention resulted in lower energy intake, higher physical activity, and improvement in anthropometry, plasma glucose, HOMA-IR, lipid profile and inflammatory markers, except for IL-6 concentrations. After intervention, variant allele carriers of the TNF- α -308G/A decreased plasma glucose. Regarding the IL6 -174G/C SNP, carriers of the variant allele had a better response of lipid profile and adiponectin concentration, but only the reference genotype group decreased plasma glucose. In contrast to individuals with the reference genotype, carriers of variant allele of AdipoQ 45T/G SNP did not change plasma glucose, apolipoprotein B, HDL-c and adiponectin concentrations in response to intervention. **Conclusion:** The TNF α -308G/A SNP may predispose a better response of glucose metabolism to lifestyle intervention. The IL-6 -174 G/C SNP may confer a beneficial effect on lipid but not on glucose metabolism. Our findings reinforce unfavorable effects of the AdipoQ 45T/G SNP in lipid profile and glucose metabolism after intervention in Brazilians at cardiometabolic risk. Further studies

are needed to direct lifestyle intervention to subsets of individuals at cardiometabolic risk.

Key words: Polymorphisms – intervention – lifestyle – cardiometabolic risk

Introduction

Obesity-related diseases are major public health problems. Intervention programs have been based on dietary changes and physical activity aiming at controlling weight gain and prevent metabolic disturbances. Adipose tissue is an important source of cytokines capable to trigger inflammatory mechanisms and generate insulin resistance, involved in the genesis of these diseases (1).

Apart from the role of environmental determinants, also genetic factors predispose to obesity and may influence the response to interventions on lifestyle. Heterogeneous responses to lifestyle interventions should be at least in part controlled by genetic factors (2). Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were described in association with the risk for obesity and metabolic diseases (3), but how certain SNPs could interfere on the process of weight loss is less investigated.

The tumor necrosis factor- α (TNF- α) SNP at position -308G/A (4) has been associated with obesity risk (5) and increased C-reactive protein (CRP) concentrations (6). A positive correlation between the adipose tissue mass and expression of the gene that encodes TNF- α was described (7). The role of this adipocytokine in inflammatory response is well-established (8). Also, TNF- α deteriorates insulin signaling and reduces glucose uptake (9), mediating the relationship of insulin resistance with manifestations of the metabolic syndrome (MS) (10). A functional impact of G and A alleles in the synthesis of TNF- α is controversial (11,12).

Interleukin-6 (IL-6) has also been associated with cardiometabolic diseases; its concentrations were shown to be predictive of type 2 diabetes (T2D) (13). Despite being essential for reducing acute inflammatory processes, in chronic

inflammatory states may assume a pro-inflammatory role (14). Adipose tissue is one of the most important sources of IL-6 secretion, and visceral tissue secretes 2 to 3 times more IL-6 than the subcutaneous tissue (13). Associations of the -174G/C polymorphism with increased adiposity, inflammation and metabolic disturbances have been investigated (15). Carriers of C allele seem to have different cardiometabolic effects depending on body mass index (BMI). The -174G/C was associated with T2D in overweight individuals but not in eutrophic ones (16). In contrast, joint analysis, based on data from 17 studies, suggested an association of IL-6 G/C genotype with fasting glucose levels independently of the BMI (17). Moreover, C allele carriers have shown greater IL-6 concentrations, leading to an increase in circulating CRP (18-20). On the other hand, the reference genotype (G allele) was associated with higher triglycerides, very low density lipoprotein, plasma glucose and lower high density lipoprotein (HDL-c) concentrations than C allele carriers (21).

Adiponectin plays a role in energy homeostasis regulation, lipid and glucose metabolism and insulin sensitivity (22,23). This adipocytokine is also known by its anti-atherogenic and anti-inflammatory properties. Low concentration of adiponectin was found in T2D (24) and coronary heart disease (25). The AdipoQ 45T/G polymorphism was shown to be associated with hypoadiponectinemia and risk of T2D in different populations (26-28). The STOP-NIDDM found a 1.8 times greater risk for T2D in carriers of the variant allele (29). Also, associations of this SNP with other diseases included in the spectrum of the MS have been reported (30-32).

To date, relatively few studies have investigated the associations of common variants in the genes coding for TNF- α , IL-6 and adiponectin with their plasma concentration changes following interventions on lifestyle. Assuming that

part of the heterogeneous response to lifestyle interventions among populations may be explained by genotypic factors, we investigated whether certain inflammation related-polymorphisms influence the response profile of Brazilian individuals. This study assessed the association of the TNF- α -308G/A, IL-6 -174G/C and AdipoQ 45T/G polymorphisms with changes in anthropometric, metabolic and inflammatory biomarkers following a lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk.

Methods

This was a 9-month intervention study on lifestyle for prevention of T2D carried out during 2009 and 2010. The study protocol was approved by the local ethical committee and individuals provided informed written consent before entering the study. Individuals aged from 18 to 80 years were screened at Healthcare Unit of the School of Public Health, University of São Paulo, Brazil. Those with at least one risk factor were invited to a clinical examination and laboratory tests including a 75-gram oral glucose tolerance test. Inclusion criteria were the presence of prediabetes (impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance according to the American Diabetes Association (33) or MS according to International Diabetes Federation criteria for Latin-American populations (34). For the purpose of this study, two categories of skin colors was defined – white and non-white – being the latter composed of mulattos and blacks. Asian descendants were excluded. Those with a medical history of neurological or psychiatric disturbances, thyroid, liver, renal and infectious diseases were excluded.

The intervention on lifestyle consisted of medical consultations every three months, where counseling for changing living habits was given. Our intervention goals were similar to those previously proposed (1,2). Individuals also attended

group sessions, where topics on healthy diet, physical activity and psychosocial stress management were discussed with a multi-professional team. At the end of the ninth month, examinations were repeated. Compliance rate to the intervention program did not differ between subgroups of individuals stratified according to the genotypes.

A total of 301 individuals were eligible and 180 agreed to participate. Thirty-seven participants lost to follow-up and eight DNA samples with low quality that resulted in poor genotyping calls were excluded.

Dietary data were collected using 24-hour food recalls by trained nutritionists. Physical activity level was assessed by the long version of the international Physical Activity Questionnaire (35). Individuals that achieved 150 min per week of total physical activity were considered active.

Height was measured using a fixed stadiometer, weight was obtained from individuals wearing light clothes and no shoes on a Filizola digital scale and BMI was calculated. Abdominal circumference was measured at the midpoint between the bottom of the rib cage and above the top of the iliac crest during minimal respiration.

Venous blood samples were collected after overnight fasting. Plasma glucose was measured by the glucose-oxidase method and lipoproteins determined enzymatically by automatic analyser. Aliquots were frozen at -80 °C for further determinations of apolipoproteins (Apo), inflammatory markers and for genotyping. Apo A1 and B concentrations were determined using turbidimetry. CRP, IL-6 and TNF- α concentrations were determined by immunoenzyme chemiluminescent assay (Immulite, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). Serum insulin was determined by immunometric assay using a quantitative chemiluminescent kit (AutoDelfia, Perkin Elmer Life Sciences Inc,

Norton, OH, USA). Adiponectin was measured by ELISA (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Whole blood was used for DNA extraction for determination of the SNPs.

Genotyping

Genomic DNA was extracted from whole blood using the *salting out* method (36). After extraction, the viability of the extracted material was visualized in 1% agarose gel and concentration was obtained by spectrophotometer Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Genotyping of the TNF- α -308G/A (rs1800629), IL-6 -174G/C (rs1800795) and AdipoQ 45T/G (rs 2241766) polymorphisms was performed using an allele specific polymerase chain reaction or amplification refractory mutation (37). Detection of the products was made using fluorescence resonance energy (38).

Statistical analysis

Data were expressed by means and standard deviations (SD) or medians and interquartile intervals. The normality of the distribution of each variable was analyzed by Kolmogorov-Smirnov test. Log-transformation was performed to obtain normal distribution of skewed variables (insulin, adiponectin, IL-6 and CRP). Student *t* test (or Wilcoxon) was used to compare means of variables between groups with and without polymorphisms. Chi-square test was used to evaluate the Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). Statistical analyses were performed using the SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) for Windows. Statistical significance was assumed when *p* values were < 0.05 .

Results

Among 138 individuals, 66.7% were women and 30.4% non-white; the mean age of the sample was 56.5 (± 11.6) years and BMI was 30.3 (± 5.6) kg/m². A total of 62.3% had prediabetes and 90.6% MS. After intervention, mean values of energy intake reduced and total physical activity elevated significantly considering the entire sample (Table 1), as well as the subsets of individuals stratified by the presence of the polymorphisms (data not shown). The proportion of active individuals at the ninth month was higher than at baseline (52.2 *versus* 55.6%, $p < 0.05$). Significant improvement in anthropometric variables, plasma glucose, lipid profile and inflammatory markers was observed, except for IL-6 concentrations.

Genotype groups were in Hardy-Weinberg equilibrium, except the TNF α -308G/A. The individuals with at least one variant allele were grouped and compared with those with the reference genotype.

TNF α -308G/A polymorphism (Table 2)

The overall frequency of the variant allele was 12.8% and the distribution of GG, GA, and AA genotypes was 79.4%, 15.4%, and 5.2%, respectively.

Variant A allele carriers did not improve values of waist circumference, HDL-c and Apo A1 after intervention but the reference genotype group did. Regarding glucose metabolism, at baseline, higher fasting plasma glucose (103.9 ± 11.2 *versus* 97.8 ± 11.1 mg/dL; $p = 0.012$) and lower values of insulin [5.6 (4.0, 10.7) *versus* 9.8 (6.1, 12.0)] were observed in the A allele carriers and only this group decreased significantly fasting plasma glucose (-6.5 ± 11.8 *versus* $-1.6 \pm 14.1\%$; $p = 0.050$) after intervention.

Mean values of TNF- α decreased and IL-6 increased after intervention in both genotype groups.

IL6 -174G/C polymorphism (Table 3)

The overall frequency of the variant allele in sample was 46.2% and the distribution of GG, GC, and CC genotypes was 35.0%, 37.3%, and 27.6%, respectively.

Pre- and post-intervention mean body weight values were similar in genotype groups and waist circumference decreased significantly only in reference group.

Variant C allele carriers showed greater improvement in the lipid profile after intervention than the reference genotype group. Lower concentrations of total (191.5 $\pm$ 43.2 *versus* 209.5 $\pm$ 42.7 mg/dL, $p = 0.023$) and LDL-c (115.5 $\pm$ 38.6 *versus* 131.8 $\pm$ 37.1 mg/dL, $p = 0.019$) were observed only among the variants, who increased significantly Apo A1 concentrations (134.3 $\pm$ 15.9 to 139.8 $\pm$ 16.8 mg/dL, $p = 0.001$) and had a higher mean increment in HDL-c concentration (13.3 *versus* 3.0%, $p = 0.043$) than the reference group. On the other hand, changes in glucose metabolism were more favorable in the reference genotype. The latter group decreased fasting plasma glucose (99.4 $\pm$ 11.4 to 95.3 $\pm$ 11.9 mg/dL, $p = 0.038$), but not the variant allele carriers.

In both genotype groups, the intervention induced reductions in CRP and TNF- α concentrations and increase in mean IL-6 values, but only variant allele carriers showed significant increase in adiponectin concentration.

Adipo 45T/G polymorphism (Table 4)

The overall frequency of the variant allele was 14.7% and the TT, TG and GG genotypes were 72.0%, 26.5%, and 1.5%, respectively.

Variant G allele carriers showed a worse glucose and lipid metabolism response to intervention than the reference genotype. In contrast to reference genotype, the variant allele group did not decrease mean values of fasting plasma glucose and Apo B nor increase HDL-c values.

In both genotype groups, the intervention induced reductions in CRP and TNF- α concentrations and increase in mean IL-6 values, but only variant allele carriers showed significant increase in adiponectin concentration significantly.

Discussion

Our data showed diverse responses to lifestyle intervention when analyzing the entire sample or subgroups stratified according to the SNPs. This may suggest a role for genotype in the response to lifestyle interventions. Contrasting with numerous reports on the frequencies of these three SNPs (TNF- α -308G/A, IL6 -174G/C and AdipoQ 45T/G) associated with body adiposity, metabolic disturbances and inflammation, their association with response to intervention on lifestyle has been rarely investigated. Admixture of the Brazilian population does not allow adequate classification by ethnic group; this condition may limit the comparisons of our findings with the same polymorphisms studied in other populations. Despite the heterogeneity of our population, the frequencies of the variant alleles did not markedly differ from data previously reported in literature (39-41).

The TNF- α , IL-6 and AdipoQ polymorphisms were selected considering the participation of these cytokines in underlying mechanisms of obesity-related metabolic disturbances, such as inflammation and insulin resistance. It is consistently demonstrated the deleterious effect of TNF- α in insulin signaling pathways (11). Both, TNF- α and IL-6 were shown to promote liver secretion of

inflammatory biomarkers like CRP (42). Also, insulin-sensitizing, anti-inflammatory and anti-atherogenic properties of adiponectin have been described (43). Although it is clear that TNF- α and adiponectin exert opposite roles, findings regarding interleukins action are not so homogeneous.

The presence of the TNF- α -308G/A polymorphism was associated with more favorable response of glucose metabolism to intervention, despite non-significant change in adiposity. Considering that the entire sample lose weight, it is possible that the subset with this TNF- α variant allele may have been protected against glucose disturbance independent of the body adiposity. At baseline, variant allele carriers had higher mean fasting plasma glucose levels, and exhibited a greater decrease after intervention compared with the reference group. This is in line with a case control study in a Tunisian population, in which this SNP was not associated with obesity or T2D (16). However, the results of a meta-analysis indicated no association with variant allele and fasting plasma glucose or T2D (44).

On the other hand, other intervention-induced cardiometabolic benefits, such as increases in HDL-c and Apo A1 concentrations, were not detected in variant allele carriers but in the reference genotype group. Deleterious effects of this TNF- α variant allele was previously suggested in a meta-analysis in which individuals carrying the -308G/A polymorphism had greater risk of obesity and comorbidities (44).

It has been postulated that functional polymorphisms in promoter region could affect transcription rates and circulating levels of cytokines (45). However, in our sample, the presence of the -308G/A SNP did not influence TNF- α concentration at baseline or the response pattern to the intervention, since both genotype groups exhibited reductions in mean values of this cytokine. This is in

agreement with a recent meta-analysis including healthy individuals that reported lack of associations between this TNF- α SNP and circulating levels, refuting a functional consequence of its presence (46).

In our study, some findings suggest that C allele carriers of the IL-6 -174G/C polymorphism could have obtained more benefits from the intervention on lipid metabolism than those with the reference genotype, but not in glucose metabolism. Only C allele carriers showed a significant decrease in total cholesterol and LDL-c and increase in HDL-c and Apo A1 concentrations. Cross-sectional studies, conducted in several populations, had already reported a worse lipid profile in the reference genotype individuals compared with variant carriers. In Caucasian populations, significantly higher plasma triglyceride, total cholesterol and LDL-c and slightly lower HDL-c were observed in individuals with the reference genotype than in C variant allele carriers (17,47). However, the variant allele carriers did not reduce fasting plasma glucose but did those with reference genotype. These contrasting results might be at least in part to a decrease in central adiposity verified only in the reference genotype group. Our findings are in agreement with those obtained from a Finnish Caucasian population in which GG genotype had lower fasting plasma glucose than C allele carriers (17).

Both genotype groups IL-6 -174 G/C SNP responded to the intervention with reductions in plasma TNF- α and CRP, but with unexpected elevations in mean IL-6 concentrations. Additionally, variant allele carriers had significant increase adiponectin concentration after intervention. Attenuation of pro-inflammatory actions of TNF- α and CRP and the favorable effect of adiponectin on inflammation and insulin sensitivity, those findings are desirable for individuals at high cardiometabolic risk undergoing lifestyle interventions.

To our knowledge, increased circulating levels of IL-6, particularly in carriers of IL-6 -174 G/C SNP submitted to long-term lifestyle intervention, have not been reported. It is known that IL-6 is released from skeletal muscle during exercise proportionally to exercise intensity (48). However, the increased output found in the recovery phase of prolonged exercise is most probably from the skeletal muscle and, to a lesser extent, from the subcutaneous adipose tissue (49). Our intervention program included physical activity but the majority of the sample performed light-to-moderate exercises (data not shown). Given the fact that IL-6, more than any other cytokine, is produced locally in the skeletal muscle in response to exercise, it is likely that it plays a beneficial role in mediating exercise-related metabolic changes (50).

Our recommendation to enhance physical activity during the intervention was attended by the entire sample since the proportion of active individuals increased at the end of the intervention. Despite no correlation detected between changes in physical activity and changes in IL-6 concentration (data not shown), we speculate that the IL-6 elevation in our sample could be partially attributed to exercise. This finding does not seem to reflect a pro-inflammatory effect, since mean values of CRP reduced significantly. Further investigations, including a large spectrum of interleukins, are necessary to understand their role in interventions on life habits.

The group of carriers of variant allele AdipoQ 45T/G SNP did not change fasting plasma glucose and adiponectin concentrations but the reference genotype group did. We speculate that the lack of increment in adiponectin concentration after intervention may have contributed to impede benefits in glucose metabolism in the variant allele carriers. Controversial data have been reported among populations (27,29,51-53). Our result may be considered somehow different from

a case-control study, since higher adiponectin concentration was found among variant allele homozygous in healthy Korean woman (51). In contrast, a cross-sectional survey in Chinese population showed lower plasma adiponectin in variant allele carriers compared with the TT genotype (52). Data from the STOP-NIDDM trial (29) and a case control study in obese Iranian population (53) are in line with ours, since they support that variant G allele might confer susceptibility to T2D.

Our findings indicated unfavorable effects of the variant allele of the AdipoQ 45T/G in lipid profile, when compared to the entire sample and to the reference genotype group. Carriers of the G allele did not decrease Apo B nor increase HDL-c concentrations after intervention. Similarly to ours, in a Chinese cross-sectional study, G carriers had higher total and LDL-cholesterol levels than the reference genotype group (52). The beneficial response of CRP concentrations to our intervention seems having not depended on the AdipoQ 45T/G SNP. This set of evidence suggests the presence of this SNP impedes metabolic response to lifestyle interventions.

Despite the strength of addressing important SNPs codifying for proteins known to affect inflammatory status and insulin sensitivity, and examining a great number of metabolic biomarkers, our study has the limitation of the sample size. Therefore, our results should be considered preliminary at best.

In summary, the TNF α -308G/A SNP may predispose a better response of glucose metabolism to intervention. The IL-6 -174 G/C SNP may confer a beneficial effect on lipid but not in glucose metabolism. Our findings reinforce unfavorable effects of the AdipoQ 45T/G SNP in lipid profile and glucose metabolism after lifestyle intervention in Brazilians at cardiometabolic risk. Further studies on SNPs of genes involved on the control of inflammatory status and

insulin sensitivity should provide more subsidies to achieve the goals of preventing metabolic disturbances through lifestyle changes in individuals at high cardiometabolic risk.

Acknowledgment: Foundation for Research Support of the State of São Paulo

Table 1: Mean (SD) or median (interquartile interval) values of variables at baseline and after 9 months of lifestyle intervention in total sample.

	Baseline	9 months	<i>p</i>
Energy intake (kcal/day)	1814 (673)	1530 (558)	0.008
Total physical activity (min/wk)	186 (60, 262)	221 (70, 303)	0.007
Weight (kg)	78.6 (15.5)	76.7 (15.4)	0.005
Body mass index (kg/m ²)	30.3 (5.6)	29.6 (5.6)	0.002
Waist circumference (cm)	99.2 (12.3)	98.1 (12.0)	0.005
Fasting plasma glucose (mg/dL)	99.5 (11.5)	96.7 (12.5)	0.018
2-h plasma glucose (mg/dL)	119.3 (28.3)	113.1 (29.3)	0.009
Triglycerides (mg/dL)	155.0 (65.5)	151.3 (71.5)	0.491
Total cholesterol (mg/dL)	202.0 (43.6)	198.0 (43.3)	0.238
HDL-c (mg/dL)	42.5 (12.4)	46.7 (12.5)	0.001
LDL-c (mg/dL)	128.0 (40.0)	121.0 (38.4)	0.063
Apolipoprotein B (mg/dL)	96.0 (22.6)	84.4 (24.0)	0.004
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	136.7 (18.5)	141.1 (19.7)	0.005
Insulin* (uUI/L)	9.6 (5.6, 11.9)	6.6 (4.2, 9.9)	0.003
HOMA-IR**	2.1 (1.3, 2.9)	1.5 (1.0, 2.3)	0.008
Adiponectin* (ng/dL)	11.8 (7.5, 18.9)	16.3 (11.5, 19.8)	0.012
Interleukin 6* (pg/dL)	2.5 (1.3, 4.0)	3.4 (2.0, 5.5)	0.007
C-reactive protein* (mg/dL)	0.370 (0.165, 0.617)	0.255 (0.070, 0.602)	0.036
Tumor necrosis factor α ** (pg/dL)	10.9 (9.0, 13.4)	8.8 (7.2, 10.5)	0.003

*Log-transformed for analysis

**Non-parametric test

HOMA-IR: homeostatic model assessment for insulin resistance

Table 2: Mean (SD) or median (interquartile interval) values of variables and variation after 9 months of lifestyle intervention according to SNP TNF –308 G/A genotypes.

	GG (n = 107)			AA + GA (n = 28)		
	Baseline	9 months	p	Baseline	9 months	p
Energy intake (Kcal/day)	1851.6(685.0)	1555.4(580.6)	.001	1633.6(620.9)	1449.0(488.5)	.006
Total physical activity (min/wk)	167(60, 278)	205(75, 305)	.002	140(30, 210)	210(60, 400)	.021
Weight (kg)	79.0(15.4)	77.1(15.2)	.006	76.5(16.6)	74.8(16.9)	.006
Waist circumference (cm)	99.2(12.1)	98.3(11.7)	.029	98.0(13.0)	96.9(13.6)	.205
Fasting glucose (mg/dL)	97.8(11.1)	96.2(13.1)	.233	103.9(11.2)†	97.1(9.9)	.007
Triglycerides (mg/dL)	159.1(68.0)	154.2(74.6)	.428	138.2(56.2)	141.7(61.9)	.689
Total cholesterol (mg/dL)	200.9(42.8)	197.3(43.3)	.413	202.2(47.4)	197.1(45.9)	.559
HDL-c (mg/dL)	41.7(12.3)	46.7(13.2)	.020	45.5(12.7)	46.3(10.0)	.778
LDL-c (mg/dL)	127.3(38.9)	120.1(38.2)	.097	126.8(44.6)	122.4(41.3)	.647
Apolipoprotein B (mg/dL)	95.6(22.4)	84.8(23.8)	.004	95.3(23.4)	82.5(25.5)	.004
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	135.8(17.8)	140.8(20.1)	.005	139.7(21.7)	142.0(19.0)	.443
Insulin* (uUI/L)	9.8(6.1, 12.0)	6.9(4.3, 10.5)	.009	5.6(4.0, 10.7)†	5.2(3.1, 8.8)	.151
Adiponectin* (ng/dL)	11.8(7.5, 18.7)	16.2(11.3, 19.4)	.019	11.7(7.3, 19.1)	16.2(12.2, 20.9)	.020
Interleukin 6* (pg/dL)	2.4(1.3, 3.7)	3.2(2.0, 5.2)	.013	2.4(1.1, 4.9)	4.2(2.4, 9.4)	.006
C-reactive protein* (mg/dL)	0.37(0.19, 0.59)	0.25(0.05, 0.55)	.001	0.36(0.13, 0.94)	0.32(0.15, 0.89)	.009
TNF-α** (pg/dL)	10.8(9.0, 13.2)	8.7(7.2, 10.8)	.020	11.3(9.4, 13.9)	8.9(6.9, 10.2)	.016

*log-transformed for analysis
TNF-α: Tumor necrosis factor alpha

**Non-parametric test

† p<0.05 *versus* GG

Table 3: Mean (SD) or median (interquartile interval) values of variables and variation after 9 months of intervention according to IL6 -174G/C SNP genotypes.

	GG (n = 47)			GC + CC (n = 86)		
	Baseline	9 months	p	Baseline	9 months	p
Energy intake (Kcal/day)	1748(729.6)	1481(588.0)	.002	1849(649.8)	1574(549.7)	.001
Total physical activity (min/wk)	140(60, 282)	140(70, 330)	.001	160(60, 260)	210(70, 290)	.001
Weight (kg)	76.9(15.3)	74.7(15.6)	.003	78.8(15.7)	77.2(15.3)	.001
Waist circumference (cm)	97.2(10.7)	95.7(11.1)	.036	99.4(12.8)	98.8(12.3)	.161
Fasting glucose (mg/dL)	99.4(11.4)	95.3(11.9)	.038	98.9(11.3)	97.1(12.8)	.233
Triglycerides (mg/dL)	161.1(60.3)	163.9(84.1)	.786	151.5(69.5)	145.3(65.1)	.299
Total cholesterol (mg/dL)	198.3(45.8)	209.5(42.7)	.122	202.9(42.9)	191.5(43.2)†	.011
HDL-c (mg/dL)	44.3(15.5)	45.6(13.6)	.446	41.6(10.5)	47.2(12.1)	.002
LDL-c (mg/dL)	123.1(42.7)	131.8(37.1)	.251	129.4(38.9)	115.5(38.6)†	.002
Apolipoprotein B (mg/dL)	95.6(23.2)	85.1(24.5)	.003	95.6(22.6)	84.1(24.0)	.001
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	140.7(22.8)	143.6(24.7)	.197	134.3(15.9)	139.8(16.8)	.001
Insulin* (uUI/L)	8.1(5.4, 11.4)	5.7(4.0, 9.1)	.004	9.7(5.6, 12.1)	7.0(4.3, 10.6)	.002
Adiponectin* (ng/dL)	11.8(7.8, 19.3)	13.1(9.8, 19.7)	.091	12.1(7.3, 18.6)	16.8(12.4, 19.8)	.005
Interleukin 6* (pg/dL)	1.7(0.9, 3.5)	2.8(2.0, 5.4)	.007	2.5(1.4, 4.6)	3.6(2.0, 5.8)	.027
C-reactive protein* (mg/dL)	0.33(0.10, 0.59)	0.25(0.06, 0.64)	.005	0.37(0.19, 0.58)	0.25(0.07, 0.56)	.005
TNF-α** (pg/dL)	11.0(9.0, 13.7)	8.9(6.9, 10.5)	.017	11.0(9.4, 13.3)	8.8(7.2, 10.6)	.016

*Log-transformed for analysis

TNF-α: Tumor necrosis factor alpha

**Non-parametric test

† p<0.05 versus GG

Table 4: Mean (SD) or median (interquartile interval) values of variables and variation after 9 months of lifestyle intervention according to SNP AdipoQ 45 T/G genotypes.

	TT (n = 94)			TG + GG (n = 37)		
	Baseline	9 months	p	Baseline	9 months	p
Energy intake (Kcal/day)	1805(720)	1558(617)	.001	1811(569)	1459(407)	.001
Total physical activity (min/wk)	150(60, 260)	210(60, 300)	.002	190(62, 280)	210(90, 360)	.008
Weight (kg)	79.4(17.1)	77.7(16.9)	.004	76.9(11.9)	74.9(12.1)	.003
Waist circumference (cm)	99.7(13.5)	98.9(13.1)	.077	97.9(8.8)	96.5(9.1)	.061
Fasting glucose (mg/dL)	99.2(11.8)	95.7(12.8)	.015	98.5(10.2)	98.8(11.3)	.891
Triglycerides (mg/dL)	155.5(65.9)	146.1(61.4)	.087	156.9(68.1)	166.7(95.3)	.432
Total cholesterol (mg/dL)	201.3(44.5)	195.3(43.6)	.167	197.7(42.6)	202.8(46.3)	.555
HDL-c (mg/dL)	42.2(12.4)	47.1(128.9)	.009	42.5(11.8)	44.6(10.8)	.242
LDL-c (mg/dL)	126.8(40.0)	118.9(38.1)	.068	125.1(41.8)	126.3(41.7)	.897
Apolipoprotein B (mg/dL)	96.6(22.5)	84.3(23.8)	.030	91.3(23.7)	82.9(26.0)	.068
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	136.7(19.5)	140.6(20.9)	.013	135.9(17.0)	142.3(17.9)	.005
Insulin* (uUI/L)	10.1(6.0, 12.5)	7.0(4.3, 10.5)	.001	6.8(3.9, 10.5)	5.4(3.6, 9.2) †	.005
Adiponectin* (ng/dL)	11.2(7.5, 16.2)	15.0(11.1, 18.2)	.005	15.7(7.9, 22.4)	18.2(12.8, 22.4)	.060
Interleukin 6* (pg/dL)	2.4(1.3, 3.7)	3.4(2.2, 5.8)	.009	2.7(1.2, 4.6)	3.2(2.0, 5.1)	.398
C-reactive protein* (mg/dL)	0.33(0.13, 0.58)	0.29(0.07, 0.64)	.040	0.42(0.21, 0.80)	0.20(0.07, 0.48)	.001
TNF-α** (pg/dL)	10.8(8.9, 13.4)	9.1(7.4, 10.8)	.005	10.9(10.1, 13.2)	8.3(6.9, 10.0)	.004

*Log-transformed for analysis

**Non-parametric test

† p = 0.054 *versus* TT

TNF-α: Tumor necrosis factor alpha

References

- 1- Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, *et al* Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New Engl J Med.* 2001;344(18):1343–1350.
- 2- Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, *et al* Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New Engl J Med.* 2002; 346(6):393–403.
- 3- Bougnères, P. Genetics of obesity and type 2 diabetes: tracking pathogenic traits during the predisease period. *Diabetes.* 2002;51(S3):S295-303.
- 4- Torres N, Guevara-Cruz M, Granados J, *et al* Reduction of serum lipids by soy protein and soluble fiber is not associated with the ABCG5/G8, apolipoprotein E, and apolipoprotein A1 polymorphisms in a group of hyperlipidemic Mexican subjects. *Nutr Res.* 2009;29(10):728-35.
- 5- Curti MLR, Jacob P, Borges MC, *et al* Obesity, inflammation and dyslipidemia: implications for nutrigenetics. *J Obes.* 2011;2011, article ID 497401.
- 6- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, *et al* Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:3195–9.
- 7- Um JY, Kim HM. Frequencies of the tumor necrosis factor gene polymorphisms in the Korean population. *Hereditas.* 2003;139(3):184-8.
- 8- Lakka HM, Lakka TA, Rankinen T, *et al* The TNF-alpha G-308A polymorphism is associated with C-reactive protein levels: the HERITAGE Family Study. *Vascul Pharmacol.* 2006;44(5):377-83.
- 9- Qi C, Pekala PH. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in adipocytes. *Proc Soc Exp Biol Med.* 223;2000:128–135.
- 10- Hotamisligil GS, Shargil NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1992;259:87-91.
- 11- Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006;116:1793-1801.
- 12- Cave MC, Hurt RT, Frazier TH, *et al* Obesity, inflammation, and the potential application of pharmaconutrition. *Nutr Clin Pract.* 2008;23:16-34.
- 13- Brinkman B M, Zuijdeest D, Kaijzel E L, *et al* Relevance of the tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) 308 promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation. *J Inflamm.* 1995;46(1):32-41.
- 14- Kroeger KM, Steer JH, Joyce DA, *et al* Effects of stimulus and cell type on the expression of the 308 tumour necrosis factor promoter polymorphism. *Cytokine.* 2000;12(2):110-119.
- 15- Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(3):847-50.
- 16- Steensberg A, Fischer CP, Keller C, *et al* IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol-endoc M.* 2003;285(2):E433-7.
- 17- Poitou C, Lacorte JM, Coupaye M, *et al* Relationship between single nucleotide polymorphisms in leptin, IL6 and adiponectin genes and their circulating product in morbidly obese subjects before and after gastric banding surgery. *Obes Surg.* 2005;15:11-23.
- 18- Bouhaha R, Baroudi T, Ennafaa H, *et al* Study of TNFalpha -308G/A and IL6 174G/C polymorphisms in type 2 diabetes and obesity risk in the Tunisian population. *Clin Biochem.* 2010;6:549-52.

- 19- Riikola A, Sipilä K, Kähönen M, *et al* Interleukin-6 promoter polymorphism and cardiovascular risk factors: the Health 2000 Survey. *Atherosclerosis*. 2009; 207(2):466-70.
- 20- Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, *et al* Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(9):1458-63.
- 21- Jones AB. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) modulators: diabetes and beyond. *Med Res Rev*. 2001;21:540–52.
- 22- Eklund C, Nenonen A, Kukkonen-Harjula K, *et al* Association of the IL6-174(G/C) polymorphism with C-reactive protein concentration after weight loss in obese men. *Eur Cytokine Netw*. 2006;17:131-5.
- 23- Fernandez-Real JM, Broch M, Vendrell J, *et al* Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85: 1334-1339.
- 24- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, *et al* Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(6):561-6.
- 25- Shand BI, Scott RS, Elder PA, *et al* Plasma adiponectin in overweight, nondiabetic individuals with or without insulin resistance. *Diabetes Obes Metab*. 2003;5(5):349-53.
- 26- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, *et al* Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(5):1930-5.
- 27- Matsuda M, Shimomura I, Sata M, *et al* Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. *J Biol Chem*. 2002; 277(40):37487-91.
- 28- Vendramini MF, Pereira AC, Ferreira SR, *et al* Japanese Brazilian Diabetes Study Group. Association of genetic variants in the adiponectin encoding gene (ADIPOQ) with type 2 diabetes in Japanese Brazilians. *J Diabetes Complic*. 2010;24(2):115-20.
- 29- Li LL, Kang XL, Ran XJ, *et al* Associations between 45T/G polymorphism of the adiponectin gene and plasma adiponectin levels with type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34(12):1287-90.
- 30- Chung HK, Chae JS, Hyun YJ, *et al* Influence of adiponectin gene polymorphisms on adiponectin level and insulin resistance index in response to dietary intervention in overweight-obese patients with impaired fasting glucose or newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(4):552-8.
- 31- Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M. The common polymorphisms (single nucleotide polymorphism [SNP] +45 and SNP +276) of the adiponectin gene predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP-NIDDM trial. *Diabetes*. 2005;54(3):893-9.
- 32- Musso G, Gambino R, De Michieli F, *et al* Adiponectin gene polymorphisms modulate acute adiponectin response to dietary fat: Possible pathogenetic role in NASH. *Hepatology*. 2008;47(4):1167-77.
- 33- Melistas L, Mantzoros CS, Kontogianni M, *et al* Association of the C45TG and C276GT polymorphisms in the adiponectin gene with insulin resistance in nondiabetic Greek women. *Eur J Endocrinol*. 2009;161:845–852.
- 34- Loos RJ, Ruchat S, Rankinen T, *et al* Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *Am J Clin Nutr*. 2007;85:26-34.
- 35- Alberti KGMM, Zimmet PZ, Shaw J: International Diabetes Federation: a consensus on Type 2 diabetes prevention. *Diabetic Medicine*. 2007;24:451–463.
- 36- Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, *et al* International Physical Activity Questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003; 35(8):1381-95.

- 37- Miller SA, Dykes DD Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215.
- 38- Newton CR, Heptinstall LE, Summers C, Super M. Amplification refractory mutation system for prenatal diagnosis and carrier assessment in cystic fibrosis. *Lancet.* 1989;2(8678-8679):1481-3.
- 39- Livak KJ, Flood SJ, Marmaro J, *et al* Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *PCR Methods Appl.* 1995;4(6):357-62.
- 40- HapMap (*haplotype map of the human genome*) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
- 41- Javor J, Ferencik S, Bucova M, *et al* Polymorphisms in the genes encoding TGF- β 1, TNF- α , and IL-6 show association with type 1 diabetes mellitus in the Slovak population. *Arch Immunol Ther Exp.* 2010;58:385–93.
- 42- Calle MC, Fernandez ML. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2012;38(3):183-91.
- 43- Namvaran F, Azarpira N, Geramizadeh B, *et al* Distribution and genotype frequency of adiponectin (+45 T/G) and adiponectin receptor2 (+795 G/A) single nucleotide polymorphisms in Iranian population. *Gene.* 2011;486 97–103.
- 44- Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem.* 2004;50(9):1511-25.
- 45- Sookoian SC, González C, Pirola CJ. Meta-analysis on the G-308A tumor necrosis factor alpha gene variant and phenotypes associated with the metabolic syndrome. *Obes Res.* 2005;13(12):2122-31.
- 46- Abraham LJ, Kroeger KM. Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease. *J Leukoc Biol.* 1999;66(4):562–6.
- 47- Mekinian A, Tamouza R, Pavy S, *et al* Functional study of TNF- α promoter polymorphisms: literature review and meta-analysis. *Eur Cytokine Netw.* 2011;22(2):88-102.
- 48- Fernandez-Real JMF, Vayreda M, Richart C, *et al* Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1154-1159.
- 49- Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 2005;98:1154–62.
- 50- Lyngso D, Simonsen L, Bulow J. Interleukin-6 production in human subcutaneous abdominal adipose tissue: the effect of exercise. *J Physiol.* 2002;543:373–8
- 51- Pedersen BK. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise and cytokines. *Immunol Cell Biol.* 2000;78(5):532-5.
- 52- Jang Y, Chae JS, Koh SJ, *et al* The influence of the adiponectin gene on adiponectin concentrations and parameters of metabolic syndrome in non-diabetic Korean women. *Clinica Chimica Acta.* 2008;391:85–90.
- 53- Lin-Lin Li, Xiao-Long Kang, Xin-Jian Ran, *et al* Associations between 45T/G polymorphism of the adiponectin gene and plasma adiponectin levels with type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007;34:1287–1290.
- 54- Ranjith N, Pegoraro RJ, Shanmugam R. Obesity-associated genetic variants in young Asian Indians with the metabolic syndrome and myocardial infarction. *Cardiovasc J Afr.* 2011;22(1):25-30.
- 55- Mohammadzadeh G, Zarghami N. Associations between single-nucleotide polymorphisms of the adiponectin gene, serum adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes mellitus in Iranian obese individuals. *Scand J Clin Lab Invest.* 2009;69(7):764-71.

6. ARTIGO 2

FTO T/A and PPARgamma PRO12ALA polymorphisms but not APOA1 -75 are associated with better response to lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk

Maira L.R. Curti, Marcelo M. Rogero, Valéria Troncoso Baltar, Camila R. Barros, Antonela Siqueira-Catania, Sandra R.G. Ferreira

Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, Brazil

Correspondence

Sandra Roberta G. Ferreira

Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo

Av. Dr. Arnaldo, 715 – São Paulo, SP, Brasil – CEP 01246-904

Tel. 55 11 3061-7701 Fax 55 11 3061-7705

e-mail: sandrafv@usp.br

Short title: Polymorphisms and lifestyle intervention response

Submetido à publicação na revista *Metabolic Syndrome and Related Disorders*

Manuscript ID: MET-2012-0055

Abstract

Background: The role of obesity-related polymorphisms on weight loss and inflammatory responses to interventions is unclear. We investigated associations of certain polymorphisms with response to a lifestyle intervention. **Methods:** This 9-month intervention on diet and physical activity included 180 Brazilians at high cardiometabolic risk, genotyped for the FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala and Apo A1 -75G/A polymorphisms. Changes in metabolic and inflammatory variables were analyzed according to them. **Results:** The intervention resulted in lower energy intake and higher physical activity. Anthropometric measurements, 2-h plasma glucose, insulin, HDL-c and Apo B improved significantly for total sample and these benefits did not depend on the genotypes. Only variant allele carriers of FTO T/A decreased fasting plasma glucose after intervention (100.0 ± 1.3 to 95.6 ± 1.4 mg/dL, $p = 0.021$). Mean blood pressure reduced after intervention in variant allele carriers of the PPAR γ Pro12Ala (109.4 ± 2.1 to 101.3 ± 2.1 mmHg, $p < 0.001$). Improvement in lipid variables was not significant after adjustment for medication. Only the reference genotype of PPAR γ Pro12Ala increased Apo A1 after intervention (134.3 ± 2.4 to 140.6 ± 2.3 mg/dL, $p < 0.001$). Only variant allele carriers of FTO reduced CRP concentration (0.366 ± 0.031 to 0.286 ± 0.029 mg/dL, $p = 0.023$). **Conclusion:** In Brazilian individuals, the FTO T/A induces a favorable impact on inflammatory status and glucose metabolism. The reference genotype of PPAR γ Pro12Ala seems to favor a better lipid profile, while the variant allele decreases blood pressure. Our data did not support benefits of the variant allele of Apo A1 -75G/A polymorphism. Further studies are needed to direct lifestyle intervention to subsets of individuals at cardiometabolic risk.

Key words: Polymorphisms – intervention – lifestyle – cardiometabolic risk

Introduction

Epidemics of non-communicable chronic diseases have encouraged programs of lifestyle modifications (1,2). Due to the well-known impact of certain dietary patterns on health, the majority of the initiatives are based on dietary changes aiming at controlling weight gain. Some nutrients such as saturated and *trans* fatty acids, as well as increased body adiposity are able to trigger inflammatory mechanisms which contribute to deteriorate insulin sensitivity (3-5). In parallel to environmental factors, genetic characteristics may be determinant of obesity and/or may influence the response to interventions on lifestyle to prevent comorbidities. In fact, some heterogeneous responses have been observed in lifestyle interventions worldwide (6).

Several single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were described in association with the risk for obesity and metabolic diseases (7-9). There is consistent evidence that the cluster of diseases such as type 2 diabetes, hypertension and dyslipidemia, inflammation and insulin resistance (10-12). However, little is known about the influence of certain SNPs on the weight loss and inflammatory responses to intervention programs.

Among the genetic determinants of obesity, the SNP in intron 1 of the fat mass and obesity-associated (FTO) gene is one of the most studied. The FTO rs9939609 (T/A) polymorphism was shown to be associated with both obesity and T2D in many populations, including the Brazilian one (13). The FTO-diabetes association is abolished by adjustment for body mass index (BMI), suggesting that this association is mediated through its effect on adiposity (8,4). The extent to which this inherited predisposition to obesity may influence the response to dietary interventions is scarcely investigated.

Also, the interest on SNPs of the nuclear hormone receptor peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ) is justified considering its role in regulating adipocyte differentiation, lipid and glucose homeostasis, and insulin sensitivity (15-17). Among these SNPs, the PPAR γ Pro12Ala polymorphism, the isoform expressed only in adipose tissue, has been associated with lower BMI, enhanced insulin sensitivity, and lower risk for T2D (18,19). To our knowledge, it is not clear how carriers of the PPAR γ Pro12Ala polymorphism respond to intervention on dietary habits and physical activity.

Since apolipoproteins are indicative of cardiovascular risk, the impact of polymorphisms in these genes has been investigated. Apolipoprotein A1 (Apo A1) is the major high density lipoprotein (HDL) associated apolipoprotein. Whether polymorphisms in the Apo A1 gene are associated with increased Apo A1 transcription and lipid metabolism disturbances is controversial. The -75G/A SP was associated with increased ApoA1 transcription in some studies (20,21) but not in others (22,23). Scarce data are available on its association with glucose metabolism and its relationship with response to dietary interventions (24).

Assuming that part of the heterogeneous response to lifestyle interventions among populations may be explained by genotypic factors, we investigated whether certain metabolic diseases related-polymorphisms influence the response profile of Brazilian individuals. This study assessed the association of the FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala and Apo A1 -75G/A SNPs with changes in metabolic variables and C-reactive protein following lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk.

Methods

This was a 9-month intervention study on dietary habits and physical activity for prevention of T2D carried out during 2009/2010. The study protocol was approved by the local ethical committee and individuals provided informed consent before entering the study. Individuals aged from 18 to 80 years were screened at Healthcare Unit of the School of Public Health, University of São Paulo, Brazil. Those with at least one risk factor were invited to a clinical examination and laboratory tests including a 75-gram oral glucose tolerance test. Inclusion criteria were prediabetes (impaired fasting glucose, defined as fasting glucose between 100 and 125 mg/dL and/or impaired glucose tolerance as 2-hour glucose between 140 and 200 mg/dL) or metabolic syndrome (MS) criteria according to International Diabetes Federation definition for Latin-American populations (25). For the purpose of this study, only two categories of skin colors was defined –white and non-white – being the latter composed of mulattos and blacks. Asian descendants were excluded as well as those with a medical history of neurological or psychiatric disturbances, thyroid, liver, renal and infectious diseases. From a total of 230 eligible individuals, 180 agreed to participate. Thirty-four participants lost to follow-up and 8 DNA samples with low quality that resulted in poor genotyping calls were excluded.

The intervention on lifestyle consisted of medical consultations every three months, where counseling for changing living habits was given. Our intervention goals were similar to those previously proposed (1,2). Individuals also attended group sessions, where topics on healthy diet, physical activity and psychosocial stress management were discussed with a multi-professional team. At the end of the ninth month, examinations were repeated. Compliance rate to the intervention

program did not differ between subgroups of individuals stratified according to the genotypes.

Dietary data were collected using 24-hour food recalls by trained nutritionists. Physical activity level was assessed by the long version of the international Physical Activity Questionnaire (26). Individuals that achieved 150 minutes per week of total physical activity were considered active.

Height and weight were measured using standard protocols. BMI was subsequently calculated. Waist circumference (WC) was measured at the midpoint between the bottom of the rib cage and above the top of the iliac crest during minimal respiration. Blood pressure (BP) was measured 3 times, in a sitting position, by automatic device (Omron model HEM-712C, Omron Health Care, Inc, USA). Mean values of the 2 last measurements were considered for calculation of mean BP (MBP): $\text{systolic BP} + (\text{diastolic BP} \times 2)/3$.

Venous blood samples were collected after overnight fasting and immediately centrifuged. Plasma glucose was measured by the glucose-oxidase method and lipoproteins determined enzymatically by automatic analyser. Aliquots were frozen at -80°C for further determinations of apolipoproteins, inflammatory markers and for genotyping. Apo A1 and B concentrations were determined using turbidimetry. C-reactive protein (CRP) and interleukin 6 (IL-6) concentrations were determined by immunoenzyme chemiluminescent assay (Immulite, Los Angeles, CA, USA). Serum insulin was determined by immunometric assay using a quantitative chemiluminescent kit (AutoDelfia, Norton OH, USA). Whole blood was used for DNA extraction for determination of the SNPs: FTO T/A (rs9939609), PPAR γ Pro12Ala (rs1801282) and Apo A1 -75G/A (rs670).

Genotyping

Genomic DNA was extracted from whole blood using the *salting out* method (27). After extraction, the viability of the extracted material was visualized in 1% agarose gel and concentration was obtained by spectrophotometer Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Genotyping of the selected polymorphisms was performed using an allele specific polymerase chain reaction or amplification refractory mutation (28). Detection of the products was made using fluorescence resonance energy (29).

Statistical analysis

Clinical and laboratory data were expressed as means and standard errors (SE). Chi-square test was used to evaluate the Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). We applied Generalized Estimating Equations (GEE) for longitudinal data (30) for thirteen biomarkers separately. All models were controlled for age and sex as well as for medication when necessary. For all models, the effect of the intervention (before vs after 9 months) of polymorphisms (with vs without), as well as interaction between intervention and the presence of the polymorphism, was checked. When interaction was detected, we performed the comparison before and after intervention by polymorphism categories; when it was not detected, we performed the pairwise comparison for whole sample only, using Bonferroni's correction. We considered the normal distribution (with link identity) for weight, waist circumference, mean blood pressure, LDL-c, Apo A1, Apo B, fasting and 2-h plasma glucose. We considered gamma distribution (with link logarithm) for triglycerides, total cholesterol, HDL-c, insulin and CRP. The effects of specific medication for mean blood pressure, as well as lipid-lowering medication for

triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL, Apo B and A1, were also considered. Statistical analyses were performed using the PASW Statistics 18 for Windows. We assumed significance level at 0.05.

Results

In the sample of 138 individuals, 66.7% were women and 30.4% non-white; the mean age was 56.6 (± 0.99) years and BMI was 30.4 (± 0.48) kg/m². A total of 62.3% had prediabetes and 90.6% had MS. They decreased energy intake (1814 ± 58 to 1530 ± 48 kcal, $p < 0.001$) and increased total physical activity (186 ± 14 to 220 ± 575 minutes/week, $p < 0.001$) after intervention. Genotype groups were in Hardy-Weinberg equilibrium.

The frequency of the variant allele of FTO T/A in the sample was 42.5%; the distribution of TT, TA and AA genotypes was 36.3%, 42.2%, and 21.5%, respectively. The variant allele of PPAR Pro12Ala was present in only 8% of the total sample and distribution of ProPro, ProAla and AlaAla genotypes was 83.0%, 16.2%, and 0.8%, respectively. The frequency of the variant allele ApoA1 -75G/A was 16% and the distribution of GG, GA and AA genotypes was 68.7%, 30.5%, and 0.8%, respectively. In 34 individuals who lost to follow up, the frequencies of the variant alleles and genotypes distributions were similar.

The individuals with at least one variant allele were grouped and compared with those with the reference genotype.

Weight, waist circumference, 2-h plasma glucose, HDL-c, Apo B and insulin decreased significantly after intervention in total sample, but it was not found a significant effect of interaction between intervention and the genotypes of FTO T/A

and PPAR γ ProAla and Apo1 – 75G/A after adjustments (Tables 1, Table 2 and Table 3).

As shown in Table 1, variant allele carriers of FTO T/A had lower fasting plasma glucose after intervention (99.9 ± 1.3 to 95.6 ± 1.4 mg/dL, $p = 0.021$) but not in the reference genotype group (98.9 ± 1.5 to 99.6 ± 1.8 mg/dL, $p = 0.999$). For PPAR γ Pro12Ala and ApoA1 -75G/A polymorphisms there was no significant interaction between genotypes and intervention (Tables 2 and Table 3).

Mean blood pressure decreased after intervention in variant allele carriers of the PPAR γ Pro12Ala (109.4 ± 2.1 to 101.3 ± 2.1 mmHg; $p < 0.001$) but not in reference genotype group (108.2 ± 1.4 to 107.1 ± 1.2 mmHg; $p = 0.999$). Among individuals who were taking medications since the intervention start, mean blood pressure decreased (113.4 ± 1.7 to 105.0 ± 1.6 mmHg; $p < 0.001$). Regarding FTO T/A and ApoA1 -75 G/A polymorphisms, no interaction between intervention and polymorphism was observed (Table 1 and Table 3), whereas it were found an interaction between intervention and medication.

Decreases in mean values of triglycerides, total cholesterol and LDL-c following intervention were not significant after adjustment for lipid-lowering medication, and this behavior did not depend on the genotypes.

Reference genotype group of PPAR γ Pro12Ala had a significant increment in Apo A1 concentration after intervention (134.3 ± 2.4 to 140.7 ± 2.3 mg/dL, $p < 0.001$) but not for variant allele carriers group (133.6 ± 4.2 to 131.4 ± 4.6 mg/dL; $p = 0.999$). Regarding the FTO T/A and ApoA1 -75G/A polymorphisms the difference in mean values between baseline and after 9 months were observed only for total sample (Tables 1 and Table 2). For ApoA1 -75 G/A polymorphism,

despite an increase in mean values of Apo A1 concentration in variant allele after intervention, this difference was not significant.

Variant allele carriers of FTO had lower CRP concentration after intervention (0.366 ± 0.032 to 0.286 ± 0.030 mg/dL, $p = 0.009$) but not in the reference genotype group (0.277 ± 0.033 to 0.332 ± 0.048 mg/dL, $p = 0.999$). For PPAR γ Pro12Ala and ApoA1 -75 G/A polymorphisms, no interaction with intervention was observed (Tables 2 and Table 3).

Discussion

The results showed diverse responses to intervention when analyzing the sample as a whole and as subgroups stratified according to the SNPs categories, suggesting a role for genotype in the response to lifestyle interventions.

The high admixture of the Brazilian population limits adequate classification by ethnic group and the comparisons of our findings with other populations. Contrasting with the great number of reports on the frequencies of SNPs associated with body adiposity and metabolic disturbances, their association with response to intervention on lifestyle is rare. Despite the heterogeneity of our population, the frequencies of the variant alleles studied did not markedly differ from data reported in literature (31-33). The FTO T/A, PPAR γ Pro12Ala and Apo A1 -75G/A polymorphisms were selected considering that they have been closely related to adiposity and obesity-associated diseases.

FTO T/A polymorphism

In contrast with case-control and cross-sectional studies conducted with childhood and obese adults in US and European populations (34,35), Brazilians carriers of the FTO T/A SNP and non-carriers showed similar body adiposity. Our data reinforced previous findings in T2D Brazilian individuals and in Asian Indian

and Caucasian Danish populations (37,38), in whom no association of this polymorphism with body adiposity and other components of the MS was detected (36). The association of FTO T/A SNP with response to lifestyle intervention was investigated in the Finnish *Diabetes Prevention Study*, similarly to our results, in which the variant allele did not modify the effect of lifestyle changes on body weight (39). More recently, data from the *Diabetes Prevention Program* showed that A allele of this SNP was associated with long-term weight loss after an intervention on lifestyle (40).

In contrast with a previous case-control study conducted in a Japanese population, in which the FTO T/A SNP was associated with glucose intolerance (41), in our sample, its presence seems to induce beneficial metabolic response to intervention. Although values of fasting plasma glucose were within the recommended limits, only variant allele carriers improved glucose metabolism, since fasting plasma glucose levels were reduced after intervention. Moreover, despite similar mean values of weight and waist circumference at baseline and after intervention in both genotype groups, the reduction in CRP concentrations only in variant allele carriers suggests that the presence of SNP could favor an anti-inflammatory response. Contrasting with our results, no effect of the A allele on CRP was showed and an increase in other inflammatory markers were observed in two Scandinavian studies (38,42).

PPAR γ Pro12Ala polymorphism

Some studies have shown that the Pro12Ala substitution was associated with obesity in several populations (43-45), but there are many others showing opposite results (46-48). In our sample of Brazilian individuals there was no

difference in body adiposity between carriers and non-carriers of the Ala allele, which did not influence the response to the intervention.

Our results suggest an association of the Ala allele with greater reductions in blood pressure following intervention compared with the reference genotype. This is in agreement with recent report showing that PPAR γ may have pleiotropic vascular effects in addition to its known blood glucose-lowering effect, which are protective against the progression of hypertension and atherosclerosis (49). Also, Frederiksen *et al* (46) reported that homozygosity of the Ala allele reduced diastolic BP in a Danish population. In another Caucasian sample, lower blood pressure levels were found in women with the Ala allele (50); in our sample gender adjustment did not alter its significant association with mean blood pressure. These findings are opposite to a study in Chinesees in which Ala allele carriers had a significant higher risk of hypertension than non-carriers (51).

Concerning lipid metabolism, our results showed benefits from the intervention on reference genotype of PPAR γ Pro12Ala polymorphism. At baseline and after intervention, both genotypic groups had similar total cholesterol and LDL-c concentrations, but only the reference genotype group increased Apo A1 values. Our findings are discordant with a Chinese study reporting lower cholesterol levels in Ala allele carriers although no result on Apo A1 was provided (52).

Apo A1 -75G/A polymorphism

Several studies conducted in different population have shown that this polymorphism was associated with benefits in lipid metabolism, specifically with greater Apo A1 concentrations among variant allele carriers (20,21,53). In contrast with previous cross-sectional studies, at baseline of our study the mean values of Apo A1 were not higher in variant carriers. An apparent favorable response of lipid

profile to intervention of variant allele carriers was not significant after adjusting for lipid-lowering medication, raising the importance of multiple adjustments for adequate interpretation of the impact of SNP on outcomes.

Strengths of our study include the longitudinal design, the multiple adjustments (age, gender, antihypertensive and lipid-lowering medications) and the availability of traditional risk factors and inflammatory markers measurements, allowing a comprehensive look at the impact of polymorphisms on the response to intervention on lifestyle. The main limitation was our sample size.

In summary, we conclude that, in a sample of Brazilian individuals, the FTO T/A polymorphism induces a favorable impact on inflammatory status and glucose metabolism. The reference genotype of PPAR γ Pro12Ala seems to favor a better lipid profile, while the variant allele to decrease blood pressure. Our data did not support benefits on lipid profile of the variant allele of Apo A1 -75G/A polymorphism. Studies of polymorphisms of genes involved in the control of body adiposity and related metabolic disturbances like ours provide subsidies to achieve the goal of optimizing the health of individuals at cardiometabolic risk via nutritional intervention.

Acknowledgment: Foundation for Research Support of the State of São Paulo

Table 1: Mean values (SE) of variables in baseline and after 9 months of lifestyle intervention according to FTO T/A genotypes.

		n	Baseline	9 months	p
Weight (kg)	TT	49	81.1 (2.3)	79.3 (2.3)	-
	TA+AA	85	78.74 (1.5)	76.9 (1.5)	-
	Total sample	134	79.9 (1.3)	78.1 (1.3)	<0.001
Waist circumference (cm)	TT	49	100.6 (1.7)	99.6 (1.7)	-
	TA+AA	85	99.5 (1.3)	98.5 (1.3)	-
	Total sample	134	100.0 (1.1)	99.1 (1.1)	0.008
Mean blood pressure (mmHg) ⁱ	TT	47	109.8 (1.9)	107.3 (1.7)	-
	TA+AA	77	107.7 (1.4)	105.2 (1.3)	-
	Total sample	124	108.7 (1.3)	106.3 (1.1)	0.013
Fasting plasma glucose (mg/dL)	TT	49	98.9 (1.5)	99.6 (1.8)	ns
	TA+AA	85	99.9 (1.3)	95.6 (1.4)	0.021
	Total sample	134	99.5 (1.0)	97.6 (1.2)	0.121
2-h plasma glucose	TT	49	121.0 (3.6)	114.6 (3.8)	-
	TA+AA	85	116.7 (2.9)	110.4 (2.8)	-
	Total sample	134	118.9 (2.5)	112.5 (2.6)	0.007
Triglycerides (mg/dL)	TT	49	158.6 (10.5)	155.4 (10.2)	-
	TA+AA	85	163.4 (11.5)	160.2 (11.1)	-
	Total sample	134	161.0 (9.3)	157.8 (9.0)	ns
Total cholesterol (mg/dL)	TT	49	199.8 (7.2)	196.2 (7.1)	-
	TA+AA	85	201.1 (6.3)	197.5 (6.6)	-
	Total sample	134	200.5 (5.8)	196.8 (6.0)	ns
HDL-c (mg/dL)	TT	49	40.1 (1.5)	44.1 (1.6)	-
	TA+AA	85	41.5 (1.6)	45.6 (1.8)	-
	Total sample	134	40.8 (1.3)	44.9 (1.5)	<0.001
LDL-c (mg/dL)	TT	49	128.0 (6.5)	121.5 (6.6)	-
	TA+AA	84	126.5 (6.1)	120.1 (6.5)	-
	Total sample	133 ⁱⁱ	127.3 (5.6)	120.8 (5.8)	ns
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	TT	49	133.5 (2.8)	138.3 (2.6)	-
	TA+AA	85 ⁱⁱⁱ	135.3 (2.7)	140.2 (2.8)	-
	Total sample	134	134.4 (2.4)	139.2 (2.3)	<0.001
Apolipoprotein B (mg/dL)	TT	49	94.0 (4.0)	82.7 (3.8)	-
	TA+AA	85 ⁱⁱⁱ	90.7 (3.5)	79.5 (3.8)	-
	Total sample	134	92.4 (3.2)	81.1 (3.3)	<0.001
Insulin (uUI/dL)	TT	49	11.0 (0.96)	8.7 (.71)	-
	TA+AA	85	10.0 (0.89)	7.9 (.80)	-
	Total sample	134	10.5 (0.67)	8.3 (.58)	<0.001
C-reactive protein (mg/dL)	TT	44	.277 (.033)	.332 (.048)	ns
	TA+AA	77	.366 (.032)	.286 (.030)	0.009
	Total sample	121 ^{iv}	.318 (.023)	.308 (.028)	ns

ⁱ model considering a significant interaction between medication and intervention (medication since baseline with significant reduction); ⁱⁱ at 9 months n=130; ⁱⁱⁱ at baseline n=132; ^{iv} at baseline n=113.

Table 2: Mean values (SE) of variables at baseline and after 9 months of lifestyle intervention according to PPAR γ Pro12Ala genotypes.

		n	Baseline	9 months	p
Weight (kg)	ProPro	111	79.5 (1.4)	77.6 (1.4)	-
	ProAla+AlaAla	23	79.1 (2.7)	77.3 (2.7)	-
	Total sample	134	79.3 (1.5)	77.5 (1.5)	<0.001
Waist circumference (cm)	ProPro	110	99.7 (1.2)	98.8 (1.2)	-
	ProAla+AlaAla	22	99.3 (2.4)	98.3 (2.3)	-
	Total sample	132	99.5 (1.3)	98.6 (1.3)	0.010
Mean blood pressure (mmHg) ⁱ	ProPro	103	108.2 (1.4)	107.1 (1.2)	ns
	ProAla+AlaAla	21	109.4 (2.1)	101.3 (2.1)	<0.001
	Total sample	124	108.9 (1.3)	104.3 (1.2)	<0.001
Fasting plasma glucose (mg/dL)	ProPro	111	100.4 (1.1)	98.0 (1.2)	-
	ProAla+AlaAla	23	96.1 (2.3)	93.7 (2.3)	-
	Total sample	134	98.3 (1.4)	95.8 (1.4)	0.041
2-h plasma glucose	ProPro	111	119.3 (2.6)	113.2 (2.8)	-
	ProAla+AlaAla	23	115.9 (5.1)	109.8 (4.8)	-
	Total sample	134	117.6 (3.1)	111.5 (2.9)	0.010
Triglycerides (mg/dL)	ProPro	111	161.1 (9.4)	158.4 (9.3)	-
	ProAla+AlaAla	23	158.2 (15.6)	155.5 (14.4)	-
	Total sample	134	159.7 (10.9)	157.0 (10.0)	ns
Total cholesterol (mg/dL)	ProPro	111	201.9 (5.8)	198.4 (5.9)	-
	ProAla+AlaAla	23	187.1 (9.2)	183.8 (9.3)	-
	Total sample	134	194.3 (6.4)	190.9 (6.6)	ns
HDL-c (mg/dL)	ProPro	111 ⁱⁱ	41.1 (1.4)	45.2 (1.6)	-
	ProAla+AlaAla	23	39.5 (2.0)	43.5 (2.3)	-
	Total sample	134	40.3 (1.5)	44.3 (1.7)	<0.001
LDL-c (mg/dL)	ProPro	111	128.2 (5.6)	122.4 (5.8)	-
	ProAla+AlaAla	22	115.4 (8.5)	109.7 (8.7)	-
	Total sample	133 ⁱⁱⁱ	121.8 (6.2)	116.1 (6.4)	ns
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	ProPro	111	134.3 (2.4)	140.7 (2.3)	<0.001
	ProAla+AlaAla	23	133.6 (4.2)	131.4 (4.6)	ns
	Total sample	134 ^{iv}	133.8 (2.7)	136.0 (2.8)	ns
Apolipoprotein B (mg/dL)	ProPro	111	92.4 (3.3)	81.1 (3.4)	-
	ProAla+AlaAla	23	91.0 (5.0)	79.7 (5.0)	-
	Total sample	134 ^{iv}	91.7 (3.6)	80.4 (3.7)	<0.001
Insulin (uUI/dL)	ProPro	111	10.6 (0.7)	8.4 (0.6)	-
	ProAla+AlaAla	23	9.3 (1.1)	7.4 (0.9)	-
	Total sample	134	10.0 (0.7)	7.9 (0.6)	<0.001
C-reactive protein (mg/dL)	ProPro	101	0.345 (0.025)	0.314 (0.028)	-
	ProAla+AlaAla	21	0.277 (0.049)	0.252 (0.046)	-
	Total sample	122 ^v	0.309 (0.031)	0.281 (0.031)	ns

ⁱ model considering a significant interaction between medication and intervention (medication since base line with significant reduction); ⁱⁱ at 9 months n=133; ⁱⁱⁱ at 9 months n=130; ^{iv} at baseline n=132; ^v at baseline n=114.

Table 3: Mean values (SE) of variables at baseline and after 9 months of lifestyle intervention according to ApoA1 -75G/A genotypes.

		n	Baseline	9 months	p
Weight (kg)	GG	89	79.7 (1.5)	77.9 (1.5)	-
	GA+AA	41	78.8 (2.7)	76.9 (2.7)	-
	Total sample	130	79.3 (1.5)	77.4 (1.5)	<0.001
Waist circumference (cm)	GG	89	100.1 (1.2)	99.1 (1.2)	
	GA+AA	41	98.5 (2.0)	97.5 (2.0)	
	Total sample ⁱ	130	99.3 (1.2)	98.3 (1.2)	0.005
Mean blood pressure (mmHg)ⁱⁱ	GG	83	109.0 (1.5)	106.3 (1.4)	-
	GA+AA	37	107.6 (1.8)	104.9 (1.7)	-
	Total sample	120	108.3 (1.3)	105.6 (1.1)	0.009
Fasting plasma glucose (mg/dL)	GG	89	99.7 (1.2)	97.5 (1.3)	-
	GA+AA	41	99.5 (1.8)	97.3 (1.9)	-
	Total sample	130	99.6 (1.2)	97.4 (1.2)	ns
2-h plasma glucose	GG	89	117.2 (2.8)	111.4 (3.0)	-
	GA+AA	41	122.1 (4.5)	116.3 (4.4)	-
	Total sample	130	119.7 (2.8)	113.8 (2.8)	0.016
Triglycerides (mg/dL)	GG	89	162.9 (9.9)	160.1 (10.0)	-
	GA+AA	41	159.4 (12.9)	156.7 (12.1)	-
	Total sample	130	161.1 (9.8)	158.4 (9.3)	ns
Total cholesterol (mg/dL)	GG	89	199.9 (6.0)	195.7 (6.0)	-
	GA+AA	41	208.2 (7.9)	203.9 (7.8)	-
	Total sample	130	204.0 (6.1)	199.8 (6.1)	ns
HDL-c (mg/dL)	GG	89	40.1 (1.5)	44.3 (1.6)	-
	GA+AA	41	43.0 (2.2)	47.5 (2.4)	-
	Total sample	130	41.5 (1.5)	45.9 (1.6)	<0.001
LDL-c (mg/dL)	GG	89	127.1 (5.7)	120.8 (5.8)	-
	GA+AA	41	131.6 (7.2)	125.2 (7.4)	-
	Total sample	130	129.3 (5.8)	123.0 (6.0)	ns
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	GG	89	133.2 (2.6)	138.1 (2.5)	-
	GA+AA	41	139.2 (3.5)	144.0 (3.5)	-
	Total sample	130	136.2 (2.4)	141.0 (2.3)	<0.001
Apolipoprotein B (mg/dL)	GG	89	93.0 (3.5)	81.3 (3.5)	-
	GA+AA	41	94.1 (4.3)	82.4 (4.3)	-
	Total sample	130	93.5 (3.4)	81.9 (3.4)	<0.001
Insulin (uUI/dL)	GG	89	10.3 (0.7)	7.9 (0.6)	-
	GA+AA	41	11.0 (1.2)	8.5 (0.9)	-
	Total sample	130	10.6 (0.7)	8.2 (0.6)	<0.001
C-reactive protein (mg/dL)	GG	81	0.329 (0.026)	0.307 (0.030)	-
	GA+AA	37	0.331 (0.042)	0.310 (0.041)	-
	Total sample	118	0.330 (0.027)	0.308 (0.028)	ns

ⁱ at 9 months n=128; ⁱⁱ model considering a significant interaction between medication and intervention (medication since base line with significant reduction); ⁱⁱⁱ at baseline n=110.

References

- 1) Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New Engl J Med*, 2001, 344(18):1343–1350.
- 2) Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New Engl J Med*, 2002, 346(6):393–403.
- 3) Esposito K, Ceriello A, Giugliano D. Diet and the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*, 2007, 5(4):291-5.
- 4) De Lorenzo A, Del Gobbo V, Premrov MG, et al. Normal-weight obese syndrome: early inflammation? *Am J Clin Nutr*, 2007, 85(1):40-5.
- 5) Saravanan N, Haseeb A, Ehtesham NZ, et al. Differential effects of dietary saturated and trans-fatty acids on expression of genes associated with insulin sensitivity in rat adipose tissue. *Eur J Endocrinol*, 2005, 153:159-165.
- 6) Ramachandran A, Snehalatha C, Mary S, et al. The Indian Diabetes Prevention Programme shows that lifestyle modification and metformin prevent type 2 diabetes in Asian Indian subjects with impaired glucose tolerance (IDPP-1). *Diabetologia*, 2006, 49(2):289–297.
- 7) Curti MLR, Jacob P, Borges MC, et al. Obesity, inflammation and dyslipidemia: implications for nutrigenetics. *J Obes* 2011, v2011, ID 497401.
- 8) Loos R J F, Bouchard C. The first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes Rev*, 2008, 9:246–250.
- 9) Corella D, Ordovas JM. Nutrigenomics in cardiovascular medicine. *Circ Cardiovasc Genet*, 2009, Dec, 2(6):637-51.
- 10) Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, et al. Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated vasodilation and nitric oxide production. *Diabetes*, 2000, 49(7):1231-8.
- 11) Boden G. Fatty acid-induced inflammation and insulin resistance in skeletal muscle and liver. *Curr Diab Rep*, 2006, 6:177-81.
- 12) Fantuzzi G, Mazzone T. Adipose tissue and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27:996-1003.
- 13) Ramos RB, Casanova GK, Maturana MA, et al. Variations in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene are related to glucose levels and higher lipid accumulation product in postmenopausal women from southern Brazil. *Fertil Steril*, 2011, 96(4):974-9.
- 14) Hinney A, Vogel CI, Hebebrand J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2010;3.
- 15) Jones AB. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) modulators: diabetes and beyond. *Med Res Rev*, 2001, 21:540 –52.
- 16) Torra IP, Chinetti G, Duval C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors:from transcriptional control to clinical practice. *Curr Opin Lipidol*, 2001,12:245–54.
- 17) Danawati CW, Nagata M, Moriyama H, et al. A possible association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 gene with obesity in native Javanese in Indonesia. *Diabetes Metab Res*, 2005, 21:465–469.
- 18) Tonjes A, Stumvoll M. The role of the Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2007, 10:410-4.
- 19) Gouda HN, Sagoo GS, Harding A, et al. The Association Between the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 (PPARG2) Pro12Ala Gene Variant and Type 2 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. *Am J Epidemiol*, 2010, 171:645–655.

- 20) Paul-Hayase H, Rosseneu M, Robinson D, et al. Polymorphisms in the apolipoprotein (apo) AI-CIII-AIV gene cluster: detection of genetic variation determining plasma Apo AI, Apo CIII and Apo AIV concentrations. *Hum Genet*, 1992, 88(4):439-46.
- 21) Talmud PJ, Ye S, Humphries SE. Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein AI gene associated with differences in apolipoprotein AI levels: the European Atherosclerosis Research Study. *Genet Epidemiol*, 1994, 11(3):265-80.
- 22) Juo SH, Wyszynski DF, Beaty TH, et al. Mild association between the A/G polymorphism in the promoter of the apolipoprotein A-I gene and apolipoprotein A-I levels: a meta-analysis. *Am J Med Genet*, 1999, 82(3):235-41.
- 23) Lopez-Miranda J, Ordovas JM, Espino A, et al. Influence of mutation in human apolipoprotein A-1 gene promoter on plasma LDL cholesterol response to dietary fat. *Lancet*, 1994, 343 (8908):1246-9.
- 24) Chen ES, Mazzotti DR, Furuya TK, et al. Apolipoprotein A1 gene polymorphisms as risk factors for hypertension and obesity. *Clin Exp Med*, 2009, 9(4):319-25.
- 25) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. International Diabetes Federation: a consensus on Type 2 diabetes prevention. *Diabetic Med*, 2007, 24(5):451-463.
- 26) Craig CL, Marshall AL, Sjöström M et al. International Physical Activity Questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*, 2003, 35(8):1381-1395.
- 27) Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988, 16(3):1215.
- 28) Newton CR, Heptinstall LE, Summers C, et al. Amplification refractory mutation system for prenatal diagnosis and carrier assessment in cystic fibrosis. *Lancet*, 1989, 2(8678-8679):1481-3.
- 29) Livak KJ, Flood SJ, Marmaro J, et al. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *PCR Methods Appl*, 1995, 4(6):357-62.
- 30) Liang K-Y, Zeger SL. Longitudinal data analysis using Generalized Linear Models. *Biometrika*, 1986, 73:13-22.
- 31) He W. PPAR γ 2 Polymorphism and human health. *PPAR Res*, 2009, 2009:849538.
- 32) HapMap (*haplotype map of the human genome*) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.
- 33) Chen ES, Mazzotti DR, Furuya TK, et al. Apolipoprotein A1 gene polymorphisms as risk factors for hypertension and obesity. *Clin Exp Med*, 2009, 9(4):319-25.
- 34) Scuteri A, Sanna S, Chen WM, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet*, 2007, 3(7):e115.
- 35) Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 2007, 316(5826):889-94.
- 36) Steemburgo T, de Azevedo MJ, Gross JL, et al. The rs7204609 polymorphism in the fat mass and obesity-associated gene is positively associated with central obesity and microalbuminuria in patients with type 2 diabetes from Southern, Brazil. *J Ren Nutr*, 2011: 8.
- 37) Ranjith N, Pegoraro RJ, Shanmugam R. Obesity-associated genetic variants in young Asian Indians with the metabolic syndrome and myocardial infarction. *Cardiovasc J Afr*, 2011, 22(1):25-30.
- 38) Zimmermann E, Skogstrand K, Hougaard DM, et al. Influences of the common FTO rs9939609 variant on inflammatory markers throughout a broad range of body mass index. *PLoS One*, 2011, 6(1):e15958.
- 39) Lappalainen TJ, Tolppanen AM, Kolehmainen M, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group. The common variant in the FTO gene did not modify the effect of lifestyle

- changes on body weight: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Obesity*, 2009, 17(4):832-6.
- 40) Delahanty LM, Pan Q, Jablonski KA, et al. Genetic predictors of weight loss and weight regain after intensive lifestyle modification, metformin treatment, or standard care in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care*, 2012, 35(2):363-6.
 - 41) Hotta K, Kitamoto T, Kitamoto A, et al. Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. *J Hum Genet*, 2011, 56(9):647-51.
 - 42) Lappalainen T, Kolehmainen M, Schwab US, et al. Association of the FTO gene variant (rs9939609) with cardiovascular disease in men with abnormal glucose metabolism -- the Finnish Diabetes Prevention Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2011, 21(9):691-8.
 - 43) Mattevi VS, Zembrzusi VM, Hutz MH. Effects of a PPARG gene variant on obesity characteristics in Brazil. *Braz J Med Biol Res*, 2007, 40:927-32.
 - 44) Morini E, Tassi V, Capponi D, et al. Interaction between PPARGgamma2 variants and gender on the modulation of body weight. *Obesity*, 2008, 16(6):1467-70.
 - 45) Mirzaei H, Akrami SM, Golmohammadi T, et al. Polymorphism of Pro12Ala in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene in Iranian diabetic and obese subjects. *Metab Syndr Relat Disord*, 2009, 7(5):453-8.
 - 46) Frederiksen L, Brodbæk K, Fenger M, et al. Studies of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR gamma gene in the Danish MONICA Cohort: homozygosity of the Ala allele confers a decreased risk of the insulin resistance syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(8):3989-3992.
 - 47) Franks PW, Jablonski KA, Delahanty L, et al. Pro12Ala variant at the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene and change in obesity-related traits in the Diabetes Prevention Program. *Diabetologia*, 2007, 50(12):2451-60.
 - 48) Milewicz A, Tworowska-Bardzińska U, Dunajska K. Relationship of PPAR gamma2 polymorphism with obesity and metabolic syndrome in postmenopausal Polish women. *Exp Clin Endocrinol*, 2009, 117(10):628-32.
 - 49) Marchesi C, Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptors and the vascular system: beyond their metabolic effects. *J Am Soc Hypertens*, 2008, 2: 227-238.
 - 50) Passaro A, Dalla Nora E, Marcello C, et al. PPARGy Pro12Ala and ACE ID polymorphisms are associated with BMI and fat distribution, but not metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10:112.
 - 51) Kim K, Lee S, Valentine RJ. Association of Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferative-activated receptor gamma2 gene with obesity and hypertension in Korean women. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2007, 53(3):239-46.
 - 52) Yang LL, Hua Q, Liu RK, et al. Association between two common polymorphisms of PPARGgamma gene and metabolic syndrome families in a Chinese population. *Arch Med Res*, 2009, 40(2):89-96.
 - 53) Pagani F, Giudici GA, Baralle FE, et al. Association of a polymorphism in the Apo AI gene promoter with hyperalphalipoproteinemia. *Eur J Epidemiol*, 1992, S8(1):54-8.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Evidências científicas permitem afirmar que a adoção de um estilo de vida saudável, com alimentação adequada e prática regular de atividade física, é a forma mais eficaz de prevenção de diversas doenças crônicas não-transmissíveis, assegurando qualidade de vida a indivíduos. Em termos de saúde pública, a boa relação custo-benefício desta estratégia também está comprovada.

Incentivar populações a adotarem hábitos de vida saudáveis tem sido a recomendação da OMS, em consonância com as diversas sociedades científicas internacionais. A heterogeneidade dos benefícios obtidos pelos programas de prevenção indica a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre fatores que contribuem para distintas respostas de subgrupos de indivíduos.

Tendo em mente que alterações genômicas resultantes da interação “genoma humano - meio ambiente” de milhares de anos devem influenciar a forma como indivíduos respondem a mudanças em hábitos, o presente estudo buscou contribuir para o entendimento da resposta de uma amostra de conveniência da população brasileira a um programa de prevenção para minimizar o risco cardiometabólico. Para tanto, se propôs a avaliar a influência de polimorfismos de certos genes envolvidos na transcrição de proteínas que reconhecidamente são importantes na fisiopatologia de distúrbios cardiometabólicos. Dados obtidos especificamente em indivíduos brasileiros são relevantes considerando que nossa miscigenação étnica é única em termos mundiais. Uma fortaleza deste estudo foi o delineamento longitudinal. Uma dificuldade inerente a esta escolha é a obtenção de grandes amostras e que sejam aderentes ao protocolo de seguimento.

As estratégias e metas da intervenção não diferiram das internacionalmente preconizadas e os benefícios nas clássicas variáveis clínicas e noutros biomarcadores foram obtidos na nossa amostra total. Um diferencial deste estudo foi a análise dos resultados estratificados pela presença dos polimorfismos selecionados: AdipoQ 45T/G, TNF- α -308G/A, IL6 -174G/C, PPAR γ Pro12Ala , FTO T/A e Apo A1 -75G/A.

O **artigo 1** avaliou associações de polimorfismos de genes que codificam para substâncias com reconhecido papel na inflamação e sensibilidade à insulina. Considerando-se apenas as diferenças de médias entre o momento basal e aos 9 meses, segundo a presença de alelo variante, verificou-se associação do SNP **TNF- α -308G/A** à melhor resposta glicídica à intervenção, resultado que difere da maioria das publicações da literatura. Em diferentes populações, o alelo variante associou-se a efeitos deletérios no metabolismo da glicose. Foi observada melhora no perfil lipídico nos portadores do SNP **IL-6 -174 G/C**, achado que vai de encontro a resultados reportados em outras populações. Este resultado, até onde conhecemos, é original no nosso meio. Na nossa amostra, entre os indivíduos com o genótipo referência deste SNP, observou-se melhora em variáveis glicêmicas, achado condizente com outros previamente descritos. Quanto ao SNP **AdipoQ 45T/G**, nossos dados reforçam os de outros autores mostrando que o alelo variante não influenciou a resposta à intervenção, no que diz respeito à adiposidade corporal, pressão arterial e metabolismo glico-lipídico, ao contrário do observado no genótipo referência.

O foco principal do **artigo 2** foi polimorfismos relacionados à adiposidade corporal e metabolismo lipídico. Na análise estatística deste artigo considerou-se a associação entre a intervenção e a presença dos polimorfismos, controlada para

idade, sexo e uso de medicações. Vale destacar que no caso do SNP **FTO T/A** – o qual na maior parte das publicações está associado a efeitos desfavoráveis – na nossa amostra se associou à melhora do perfil inflamatório e metabolismo da glicose. Em relação ao SNP **PPAR γ Pro12Ala**, verificou-se que portadores do alelo variante obtêm melhora na pressão arterial, enquanto que indivíduos com o genótipo referência apresentam melhora no perfil lipídico, achados concordantes com outros previamente descritos. O benefício do SNP **Apo A1 -75G/A** no metabolismo lipídico amplamente relatado em outras populações, coerente com o aumento das concentrações de Apo A1 observado na nossa análise bruta, não se confirmou após os ajustes para o efeito de medicações hipolipemiantes.

Pode-se demonstrar que alguns polimorfismos influenciam favorável ou desfavoravelmente o perfil inflamatório e metabólico. Comparando nossos achados com a literatura, parte está em concordância e parte difere. Para alguns SNPs, houve dificuldade na comparação de resultados diante da escassez na literatura de estudos com delineamento longitudinal, predominando os transversais ou caso-controle. Além disso, os estudos em nossa população ainda são escassos.

Um aspecto de originalidade do conjunto de dados obtidos neste trabalho refere-se ao fato de ter sido analisado o impacto da intervenção na presença dos polimorfismos de uma forma mais sistêmica. A gama de marcadores empregados procurou acrescentar conhecimento para entender o processo não apenas o efeito. Assim, tornou-se possível especular que características genéticas dos indivíduos submetidos a mudanças na alimentação e atividade física podem influenciar mecanismos intracelulares geradores de fatores inflamatórios que interferem na sinalização insulínica, determinando distúrbios metabólicos. Cabe

reconhecer a limitação deste estudo referente ao tamanho da amostra a qual não é tão pequena se considerarmos que são dados referentes a acompanhamento por nove meses.

Em suma, do artigo 1 e artigo 2, concluímos que a identificação de certos polimorfismos representa uma oportunidade de melhorar o entendimento da heterogeneidade das respostas a intervenções no nosso meio. Na amostra avaliada, os SNPs estudados influenciaram alterações no perfil antropométrico e estado inflamatório e metabólico de indivíduos submetidos a uma intervenção em hábitos de vida. Estudos de maior porte são necessários para comprovar nossos achados. Embora procedimentos usados neste trabalho sejam de alto custo e tenham tido propósitos de pesquisa, é provável que, em futuro próximo, se tornem mais acessíveis, melhorando a capacidade de identificar subgrupos de indivíduos mais responsivos a intervenções para melhor direcionamento de recursos em saúde pública.

8. REFERÊNCIAS

- Abraham LJ, Kroeger KM. Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease. *J Leukocyte Biol.* 1999;66(4):562–566.
- ADA - American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1997;20:1183-97.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. International Diabetes Federation: a consensus on type 2 diabetes prevention. *Diabet Med.* 2007;24:451-63.
- Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al Harmonizing the metabolic syndrome. A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120:1640-1645.
- Al-Attar SA, Pollex RL, Ban MR, et al Association between the FTO rs9939609 polymorphism and the metabolic syndrome in a non-Caucasian multi-ethnic sample. *Cardiovasc Diabetol.* 2008;7:5.
- Andreasen CH, Stender-Petersen KL, Mogensen MS, et al Low physical activity accentuates the effect of the FTO rs9939609 polymorphism on body fat accumulation. *Diabetes.* 2008;57:264–268.
- Araujo F, Pereira AC, Mota GF, et al The influence of tumor necrosis factor 308 and C-reactive protein G1059C gene variants on serum concentration of C-reactive protein: evidence for an age-dependent association. *Clin Chim Acta.* 349(1-2):129-134, 2004.
- Bajaj M, Mandarino LJ. Impaired mitochondrial activity and insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2004;350(23):2419-21.
- Baratta R, Amato S, Degano C, et al Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: evidence from both cross-sectional and intervention studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2665-71.
- Barnes S. Nutritional Genomics, Polyphenols, Diets, and Their Impact on Dietetics. *J Am Diet Assoc.* 2008;108:1888-1895.
- Barre DE, Guerra R, Verstraete R, et al Genetic analysis of a polymorphism in the human apolipoprotein A-I gene promoter: effect on plasma HDL-cholesterol levels. *J Lipid Res.* 1994;35(7):1292–1296.
- Barroso SG, Abreu VG, Francischetti EA. A participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica: um conceito emergente. *Arq Bras Cardiol.* 2002;78(6):618-30.
- Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, et al Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17:4-12.
- Bauerfeind A, Knoblauch H, Costanza MC, et al Concordant association of lipid gene variation with a combined HDL/LDL-cholesterol phenotype in two European populations. *Hum Hered.* 2006;61:123–131.
- Bayley JP, Ottenhoff TH, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun.* 2004;5(5):315-329.
- Berg AH, Combs TP, Du X, et al The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001;7(8):947-53.
- Behre CJ. Adiponectin, obesity and atherosclerosis. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007;67:449-58.

- Berthier MT, Paradis AM, Tchernof A, et al The interleukin 6 -174G/C polymorphism is associated with indices of obesity in men. *J Hum Genet.* 2003;48:14–19.
- Block R, Corsetti J, Goldenberg I, et al The common apolipoprotein A-1 polymorphism -75A>G is associated with ethnic differences in Recurrent coronary events after recovery from an acute myocardial infarction. *Heart Int.* 2009;4(1)pii: e8.
- Boden G. Fatty acid-induced inflammation and insulin resistance in skeletal muscle and liver. *Curr Diab Rep.* 2006;6:177-81.
- Boppidi H, Daram SR. Nonalcoholic fatty liver disease: hepatic manifestation of obesity and the metabolic syndrome. *Postgrad Med.* 2008;120:E01-7.
- Bouchard C. Gene-environment interactions in the etiology of obesity: defining the fundamentals. *Obesity.* 2008;16(S3):S5-S10.
- Bouhaha R, Baroudi T, Ennafaa H, et al Study of TNFalpha -308G/A and IL6 174G/C polymorphisms in type 2 diabetes and obesity risk in the Tunisian population. *Clinical Biochemistry.* 2010;6:549-52.
- Bougnères, P. Genetics of obesity and type 2 diabetes: tracking pathogenic traits during the predisease period. *Diabetes.* 2002;51(S3):S295-303.
- Bray MS. Implications of gene-behavior interactions: prevention and intervention for obesity. *Obesity.* 2008;16(S3):S72-8.
- Brinkman B M, Zuijdeest D, Kaijzel E L, et al Relevance of the tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) 308 promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation. *J Inflamm.* 1995;46 (1):32-41.
- Brown WV, Fujioka K, Wilson PW, et al Obesity: why be concerned? *Am J Med.* 2009; 122(S1):S4-11.
- Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, et al Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(9):1458-63.
- Cave MC, Hurt RT, Frazier TH, et al Obesity, inflammation, and the potential application of pharmaconutrition. *Nutr Clin Pract.* 2008;23:16-34.
- Cecil JE, Tavendale R, Watt P, et al An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *N Engl J Med.* 2008;359(24):2558-66.
- Chan DC, Watts GF, Ng TW, et al Adiponectin and other adipocytokines as predictors of markers of triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Clin Chem.* 2005;51(3):578-85.
- Chen HH, Lee WJ, Fann CS, et al Severe obesity is associated with novel single nucleotide polymorphisms of the ESR1 and PPARGgamma locus in Han Chinese. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90,2:255-62.
- Chiaasson JL, Josse RG, Gomis R, et al Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet.* 2002;359(9323):2072-7.
- Chung HK, Chae JS, Hyun YJ, et al Influence of adiponectin gene polymorphisms on adiponectin level and insulin resistance index in response to dietary intervention in overweight-obese patients with impaired fasting glucose or newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(4):552-8.
- Corella D, Ordovas JM. Single nucleotide polymorphisms that influence lipid metabolism: interaction with dietary factors. *Annu Rev Nutr.* 2005;25:341-90.
- Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, et al International Physical Activity Questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(8):1381-1395.

Curti MLR, Jacob P, Borges MC, et al Obesity, inflammation and dyslipidemia: implications for nutrigenetics. *J Obes.* 2011;2011,ID 497401.

Danawati CW, Nagata M, Moriyama H, et al A possible association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 gene with obesity in native Javanese in Indonesia. *Diabetes Metab Res Rev.* 2005;21:465–469.

Dedoussis GV, Vidra N, Butler J, et al Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) Pro12Ala polymorphism and risk for pediatric obesity. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(9):1047-50.

Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, et al A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet.* 1998;20: 284–287.

De Lorenzo A, Del Gobbo V, Premrov MG, et al Normal-weight obese syndrome: early inflammation? *Am J Clin Nutr.* 2007;85(1):40-5.

Dina C, Meyre D, Gallina S, et al: Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet.* 2007;39(6):724-6.

Do HQ, Nazih H, Luc G, et al Influence of cholesteryl ester transfer protein, peroxisome proliferator-activated receptor α , apolipoprotein E, and apolipoprotein A-I polymorphisms on high-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein A-I, lipoprotein A-I, and lipoprotein A-I:A-II concentrations: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction study. *Metabolism.* 2009;58:283–289.

Eklund C, Nenonen A, Kukkonen-Harjula K, et al Association of the IL6-174(G/C) polymorphism with C-reactive protein concentration after weight loss in obese men. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17: 131-5.

Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285:2486-97.

Fenech M. Genome health nutrigenomics and nutrigenetics – diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. *Food Chem Toxicol.* 2008;46:1365–1370.

Ferguson JF, Phillips CM, Tierney AC, et al 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.* 2010;91:794–801.

Fernández-Real JM, Broch M, Vendrell J, et al Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(3):1334-9.

Fernández-Real JMF, Vayreda M, Richart C, et al Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1154-1159.

Ferrante Jr AW. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. *J Int Med.* 2007;262:408-14.

Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, et al TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med.* 2006;355(3):241-50.

Ford E, Giles W, Dietz W. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *JAMA.* 2002;287:356-9.

Ford ES, Schulze MB, Pischon T, et al Metabolic syndrome and risk of incident diabetes: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Postdam Study. *Cardiovasc Diabetol.* 2008;7:35.

- Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007;316:889–894.
- Frederiksen L, Brodback K, Fenger M, et al Studies of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR gamma gene in the Danish MONICA Chort: homozygosity of the Ala allele confers a decreased risk of the insulin resistance syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(8):3989-3992.
- Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, et al C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes*. 2002;51:1596–1600.
- Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(3):847-50.
- Gander ML, Fischer JE, Maly FE, et al . Effect of the G-308A polymorphism of the tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene promoter site on plasma levels of TNF-alpha and C-reactive protein in smokers: a cross-sectional study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2004;4:17.
- Gerstein HC, Yusuf S, Bosch J, et al DREAM (Diabetes REduction Assessment with ramipril and rosiglitazone Medication). Trial Investigators, Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2006;368(9541):1096-105.
- Gil A, Maria Aguilera C, Gil-Campos M, et al Altered signalling and gene expression associated with the immune system and the inflammatory response in obesity. *Br J Nutr*. 2007;98:S121-6.
- Gomez P, Perez-Martinez P, Marin C, et al APOA1 and APOA4 gene polymorphisms influence the effects of dietary fat on LDL particle size and oxidation in healthy young adults. *J Nutr*. 2010;140(4):773-8.
- Goossens GH, Petersen L, Blaak EE, et al Several obesity- and nutrient-related gene polymorphisms but not FTO and UCP variants modulate postabsorptive resting energy expenditure and fat-induced thermogenesis in obese individuals: the NUGENOB study. *Int. J. Obes*. 2009;33(6):669-79.
- Gouda HN, Sagoo GS, Harding A, et al The Association Between the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 (PPARG2) Pro12Ala Gene Variant and Type 2 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. *Am J Epidemiol*. 2010;171:645–655.
- Gouni-Berthold I, Giannakidou E, Muller-Wieland I, et al Association between the PPAR_L162V polymorphism, plasma lipoprotein levels, and atherosclerotic disease in patients with diabetes mellitus type 2 and in nondiabetic controls. *Am Heart J*. 2004;147(6):1117-24.
- Grallert H, Huth C, Kolz M, et al IL-6 promoter polymorphisms and quantitative traits related to the metabolic syndrome in KORA S4. *Exp Gerontol*. 2006;41:737–745.
- Goyenechea E, Parra MD, Martinez JA. Weihgt regain afterslimming induced by as energy-restricted diet depends on interleukin-6 and peroxissome-proliferator-activated-receptor gamma2 gene polymorphisms. *Br J Nutr*. 2006; 96:965-72.
- Grarup N, Andersen G. Gene-environment interactions in the pathogenesis of type 2 diabetes and metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10:420-6.
- Grobush KK, Mohlig M, Spranger J, et al Interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism is associated with obesity in the EPIC-Potsdam Study. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:14–18.
- Guri AJ, Hontecillas R, Bassaganya-Riera J. Peroxisome proliferator-activated receptors: bridging metabolic syndrome with molecular nutrition. *Clin Nutr*. 2006;25: 871-85.

- Haffner SM, Lehto S, Rönkämaa T, et al Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998;339:229-34.
- Hajeer AH, Hutchinson IV. TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications. *Microsc Res Tech*. 2000;50(3):216-28.
- Hamid YH, Rose CS, Urhammer SA, et al Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. *Diabetologia*. 2005;48:251–260.
- Hara K, Yamauchi T, Kadowaki T. Adiponectin: an adipokine linking adipocytes and type 2 diabetes in humans. *Curr Diab Rep*. 2005;5:136-40.
- Hasselbalch AL, Angquist L, Christiansen L, et al A Variant in the Fat Mass and Obesity-Associated Gene (FTO) and Variants near the Melanocortin-4 Receptor Gene (MC4R) Do Not Influence Dietary Intake. *J Nutr*. 2010;140:831–834.
- Haupt A, Thamer C, Staiger H, et al Variation in the FTO gene influences food intake but not energy expenditure. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2009;117(4):194-7.
- Hautala AJ, Leon AS, Skinner JS, et al Peroxisome proliferator-activated receptor-delta polymorphisms are associated with physical performance and plasma lipids: the HERITAGE Family Study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292(5):H2498-505.
- Havel PJ. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes*. 2004;53(S1):S143-51.
- He W. PPARγ2 Polymorphism and human health. *PPAR Res*. 2009;2009:849538.
- Heinrich PC, Castell JV I, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*. 1990;265:621–636.
- Helwig U, Rubin D, Kiosz J, et al The minor allele of the PPARγ2 pro12Ala polymorphism is associated with lower postprandial TAG and insulin levels in non-obese healthy men. *Br J Nutr*. 2007;97(5):847-54.
- Henneman P, Aulchenko YS, Frants RR, et al The genetic architecture of plasma adiponectin overlaps with the genetics of metabolic syndrome related traits. *Diabetes Care*. 2010;33(4):908-13.
- Hennig BJ, Fulford AJ, Sirugo G, et al FTO gene variation and measures of body mass in an African population. *BMC Med Genet*. 2009;10: 21.
- Heymsfield SB, Segal KR, Hauptman J, et al Effects of weight loss with orlistat on glucose tolerance and progression to type 2 diabetes in obese adults. *Arch Intern Med*. 2000;160(9):1321-6.
- Hinney A, Vogel CI, Hebebrand J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2010;19(3):297-310.
- Hotamisligil GS, Shargil NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-α: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1992; 259:87-91.
- Hotta K, Nakata Y, Matsuo T, et al, Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet*. 2008;53:546–553.
- Huang H, Thuita L, Strickland P, et al Frequencies of single nucleotide polymorphisms in genes regulating inflammatory responses in a community-based population. *BMC Genetics*. 2007;8:7.
- Hubacek JA, Bohuslavova R, Kuthanova L, et al The FTO gene and obesity in a large Eastern European population sample: the HAPIEE study. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16:2764-66.

Humphries SE, Talmud PJ, Hawe E, et al Apolipoprotein E4 and coronary heart disease in middle-aged men who smoke: a prospective study. *Lancet*. 2001;358:115–119.

Hunt SC, Stone S, Xin Y, et al Association of the FTO gene with BMI. *Obesity* (Silver Spring). 2008;16: 902-904.

IDF - International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*, 3^a ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2006.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009*. Rio de Janeiro.

Jones AB. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) modulators: diabetes and beyond. *Med Res Rev*. 2001;21:540–52.

Jonsson A, Renstrom F, Lyssenko V, et al Assessing the effect of interaction between an FTO variant (rs9939609) and physical activity on obesity in 15,925 Swedish and 2,511 Finnish adults. *Diabetologia*. 2009;52:1334–1348.

Juo SH, Wyszynski DF, Beaty TH, et al Mild association between the A/G polymorphism in the promoter of the apolipoprotein A-I gene and apolipoprotein A-I levels: a meta-analysis. *Am J Med Genet*. 1999;82:235–41.

Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, et al Adiponectin and adiponectin receptors in obesity-linked insulin resistance. *Novartis Found Symp*. 2007;286:164-76.

Kamboh MI, Aston CE, Nestlerode CM, et al Haplotype analysis of two APOA1/MspI polymorphisms in relation to plasma levels of apo A-I and HDL-cholesterol. *Atherosclerosis*. 1996;127:255–262.

Karasawa S, Daimon M, Sasaki S, et al Association of the common fat mass and obesity associated (FTO) gene polymorphism with obesity in a Japanese population. *Endocr J*. 2010;57(4):293-301.

King H, Aubert RE, Herman WH: Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*. 1998;21(9):1414-1431.

Knowler WC, Barrett-Conner E, Fowler SE, et al Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002;346:393–403.

Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The 308 tumor necrosis factor- α promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol*. 1997;34(5):391-399.

Kroeger KM, Steer JH, Joyce DA, et al Effects of stimulus and cell type on the expression of the 308 tumour necrosis factor promoter polymorphism. *Cytokine*. 2000;12(2):110-119.

Kubaszek A, Pihlajamaki J, Punnonen K, et al The C-174G promoter polymorphism of the IL-6 gene affects energy expenditure and insulin sensitivity. *Diabetes*. 2003;52:558–561.

Kuyl JM, Mendelsohn D. Observed relationship between ratios HDL-cholesterol/total cholesterol and apolipoprotein A1/apolipoprotein B. *Clin Biochem*. 1992;25(5):313–316.

Lacquemant C, Lepretre F, Pineda Torra I, et al Mutation screening of the PPAR α gene in type 2 diabetes associated with coronary heart disease. *Diabetes Metab*. 2000;26:393–401.

Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, et al Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007;3:716-24.

Lakka HM, Lakka TA, Rankinen T, et al The TNF- α G-308A polymorphism is associated with C-reactive protein levels: the HERITAGE Family Study. *Vascul Pharmacol*. 2006;44(5):377-383.

Lakka HM, Laaksonen DE, Laaka TA, et al The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002;288:2709-16.

- Lappalainen TJ, Kolehmainen M, Schwab US, et al Association of the FTO gene variant (rs9939609) with cardiovascular disease in men with abnormal glucose metabolism e The Finnish Diabetes Prevention Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011;21(9):691-8.
- Lappalainen TJ, Tolppanen AM, Kolehmainen M, et al The common variant in the FTO gene did not modify the effect of lifestyle changes on body weight: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(4):832-6.
- Larson IA, Ordovas JM, Barnard JR, et al Effects of apolipoprotein A-I genetic variations on plasma apolipoprotein, serum lipoprotein and glucose levels. *Clin Genet*. 2002;61:176–184.
- Legry V, Cottel D, Ferrières J, et al Effect of an FTO polymorphism on fat mass, obesity, and type 2 diabetes mellitus in the French MONICA Study. *Metabolism*. 2009;58(7):971-5.
- Li LL, Kang XL, Ran XJ, et al Associations between 45T/G polymorphism of the adiponectin gene and plasma adiponectin levels with type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34(12):1287-90.
- Li X, Song F, Jiang H, et al A genetic variation in the fat mass- and obesity-associated gene is associated with obesity and newly diagnosed type 2 diabetes in a Chinese population. *Diabetes Metab Res Rev*. 2010;26(2):128-32.
- Li Y, Yin R, Zhou Y, et al Associations of the apolipoprotein A-I gene polymorphism and serum lipid levels in the Guangxi Hei Yi Zhuang and Han populations. *Int J Mol Med*. 2008;21(6):753-64.
- Liu G, Zhu H, Lagou V, et al FTO variant rs9939609 is associated with body mass index and waist circumference, but not with energy intake or physical activity in European- and African-American youth. *BMC Med Genet*. 2010a;11:57.
- Liu ZK, Hu M, Baum L, et al Associations of polymorphisms in the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with familial combined hyperlipidaemia in Hong Kong Chinese. *Atherosclerosis*. 2010b;208(2):427-32.
- Loos RJF, Bouchard C. The first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes Rev*. 2008;9:246–250.
- Loos RJ, Ruchat S, Rankinen T, et al Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *Am J Clin Nutr*. 2007;85:26-34.
- Lopez-Miranda J, Ordovas JM, Espino A, et al Influence of mutation in human apolipoprotein A-1 gene promoter on plasma LDL cholesterol response to dietary fat. *Lancet*. 1994;343(8908):1246–1249.
- Maahs DM, Ogden LG, Kinney GL et al Low plasma adiponectin levels predict progression of coronary artery calcification. *Circulation*. 2005;111:747-53.
- Marin C, Lopez-Miranda J, Gomez P, et al Effects of the human apolipoprotein A-I promoter G-A mutation on postprandial lipoprotein metabolism. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(2):319–25.
- Martinez JA, Parra MD, Santos JL, et al Genotype dependent response to energy-restricted diets in obese subjects: towards personalized nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17(S1):119-22.
- Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH Effects of a PPARG gene variant on obesity characteristics in Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40:927-32.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-19.

- Mckenzie JA, Weiss EP, Ghiu IA, et al Influence of the interleukin-6 174 G/C gene polymorphism on exercise training-induced changes in glucose tolerance indexes. *J Appl Physiol*. 2004;97:1338-1342.
- Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem*. 2004;50(9):1511-25.
- Melistas L, Mantzoros CS, Kontogianni M, et al Association of the C45TOG and C276GOT polymorphisms in the adiponectin gene with insulin resistance in nondiabetic Greek women. *Eur J Endocrinol*. 2009;161:845–852.
- Milewicz A, Tworowska-Bardzińska U, Dunajska K. Relationship of PPAR gamma2 polymorphism with obesity and metabolic syndrome in postmenopausal Polish women. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2009;117(10):628-32.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
- Mirzaei H, Akrami SM, Golmohammadi T, et al Polymorphism of Pro12Ala in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene in Iranian diabetic and obese subjects. *Metab Syndr Relat Disord*. 2009;7(5):453-8.
- Mohammadzadeh G, Zarghami N. Associations between single-nucleotide polymorphisms of the adiponectin gene, serum adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes mellitus in Iranian obese individuals. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009;69(7):764-71.
- Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, et al Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA*. 2003;289:76-9.
- Moon MK, Cho YM, Jung HS, et al Genetic polymorphisms in peroxisome proliferator-activated receptor gamma are associated with Type 2 diabetes mellitus and obesity in the Korean population. *Diabetic Medicine*. 2005;22(9):1161-1166.
- Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al The Pro12 – >Ala substitution in PPAR-gamma is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2001;50(4):891-894.
- Morini E, Tassi V, Capponi D, et al Interaction between PPARgamma2 variants and gender on the modulation of body weight. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(6):1467-70.
- MS - Ministério da Saúde. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Série A – Normas e manuais técnicos. Brasília (DF): Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Política de Alimentação e Nutrição; 2005.
- Musso G, Gambino R, De Michieli F, et al Adiponectin gene polymorphisms modulate acute adiponectin response to dietary fat: possible pathogenetic role in NASH. *Hepatology*. 2008;47:1167-1177.
- Mutch DM, Wahli W, Williamson G. Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. *FASEB J*. 2005;19:1602-16.
- Myakishev MV, Khripin Y, Hu S, et al High-throughput SNP genotyping by allele-specific PCR with universal energy-transfer-labeled primers. *Genome Res*. 2001;11(1):163-9.
- Ohashi J, Naka I, Kimura R, et.al. FTO polymorphism in oceanic populations. *J Hum Genet*. 52:1031-1035,2007.
- Ordovas J. Diet/Genetic interactions and their effects on inflammatory markers. *Nutr Rev*. 2007;65(12):S203–S207.
- Ordovas JM. Genetic interactions with diet influence the risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2006;83:443S–6S.

- Pagani F, Giudici GA, Baralle FE, et al Association of a polymorphism in the Apo AI gene promoter with hyperalphalipoproteinemia. *Eur J Epidemiol.* 1992;8(S1):54–58.
- Paul-Hayase H, Rosseneu M, Robinson D, et al Polymorphisms in the apolipoprotein (apo) AI-CIII-AIV gene cluster: detection of genetic variation determining plasma apo AI, apo CIII and apo AIV concentrations. *Hum Genet.* 1992;88(4):439–446.
- Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez, et al Influence of genetic factors in the modulation of postprandial lipemia. *Atheroscler Suppl.* 2008;9(2):49-55.
- Poitou C, Lacorte JM, Coupaye M, et al Relationship between single nucleotide polymorphisms in leptin, IL6 and adiponectin genes and their circulating product in morbidly obese subjects before and after gastric banding surgery. *Obes Surg.* 2005;15:11-23.
- Popkin BM. The nutrition transition and obesity in the developing world. *J Nutr.* 2001;131(3):871s-3s.
- Qi L, Zhang C, van Dam RM, et al Interleukin-6 genetic variability and adiposity: associations in two prospective cohorts and systematic review in 26,944 individuals. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:3618-25.
- Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, et al Adipokines and insulin resistance. *Mol Med.* 2008;14:741-51.
- Ramachandran A, Snehalatha C, Mary S, et al The Indian Diabetes Prevention Programme shows that lifestyle modification and metformin prevent type 2 diabetes in Asian Indian subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetologia.* 2006;49(2):289
- Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(S):S64-73.
- Razquin C, Martinez JA, Martinez- Gonzalez MA, et al A 3-year intervention with a Mediterranean diet modified the association between the rs9939609 gene variant in FTO and body weight changes. *Int J Obes (Lond).* 2010;34(2):266-72.
- Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988;37:1595-1606.
- Reguero JR, Cubero GI, Batalla A, et al Apolipoprotein A1 gene polymorphisms and risk of early coronary disease. *Cardiology.* 1998;90(3):231-5.
- Reinehr T, Hinney A, Toschke AM, et al: Aggravating effect of INSIG2 and FTO on overweight reduction in a one-year lifestyle intervention. *Arch Dis Child.* 2009;94(12):965-7.
- Rexrode KM, Pradhan A, Manson JE, et al Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Ann Epidemiol.* 2003;13:674–682.
- Rodriguez-Lopez R, Gonzalez-Carpio M, Serrano VM, et al, Asociacion de polimorfismos en El gen FTO con La obesidad mórbida en La población extremeña. *Endocrinol Nutr.* 2010;57(5):203–209
- Rosado EL, Bressan J, Hernández JA et al Effect of diet and PPARgamma2 and beta2-adrenergic receptor genes on energy metabolism and body composition in obese women. *Nutr Hosp.* 2006;21(3):317-31.
- Rosado EI, Bressan J, Martins MF, et al Polymorphism in the PPARgamma2 and beta2-adrenergic genes and diet lipid effects on body composition, energy expenditure and eating behavior of obese women. *Appetite.* 2007;49(3):635-43.
- Ruaño G, Seip RL, Windemuth A, Zöllner S, et al Apolipoprotein A1 genotype affects the change in high density lipoprotein cholesterol subfractions with exercise training. *Atherosclerosis.* 2006;185(1):65-9. Epub 2005 Jul 7.

SBC- Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(SI):1-28.

Schwarz PEH, Gruhl U, Bornstein SR, et al The European Perspective on Diabetes Prevention: development and Implementation of a European guideline and training standards for diabetes prevention (IMAGE). *Diabetes Vasc Dis Res.* 2007;4:353–7.

Scuteri A, Sanna S, Chen WM, et al Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.* 2007;3:e115.

Sharrett AR, Patsch W, Sorlie PD, et al Associations of lipoprotein cholesterol, apolipoproteins A-I and B, and triglycerides with carotid atherosclerosis and coronary heart disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb.* 1994;14(7):1098–1104.

Sheng T, Yang K. Adiponectin and its association with insulin resistance and type 2 diabetes. *J Genet Genomics.* 2008;35:321–326.

Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006;116:1793-1801.

Sonestedt E, Roos C, Gullberg B, et al Fat and carbohydrate intake modify the association between genetic variation in the FTO genotype and obesity. *Am J Clin Nutr.* 2009;90:1418–1425.

Sookoian, González C, Pirola CJ. Meta-analysis on the G-308A tumor necrosis factor alpha gene variant and phenotypes associated with the metabolic syndrome. *Obes Res.* 2005; 13(12):2122-2131.

Sorci-Thomas MG, Prack MM, Dashti N, et al Differential effects of dietary fat on the tissue-specific expression of the apolipoprotein A-I gene: relationship to plasma concentration of high density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1989;30(9):1397–1403.

Speakman JR, Rance KA, Johnstone AM. Polymorphisms of the FTO gene are associated with variation in energy intake, but not energy expenditure. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16:1961–1965.

SPSS Incorporation. Statistical package for the social science for windows student version/SPSS (computer program) release 13.0. Chicago: marketing department; 2000.

Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, et al Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J.* 2003;17(8):884-6.

Steensberg A, Fischer CP, Keller C, et al IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(2):E433-7.

Stephens JW, Hurel SJ, Cooper JA, et al A common functional variant in the interleukin-6 gene is associated with increased body mass index in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Mol Genet Metab.* 2004; 82(2):180-186.

Stephens JW, Hurel SJ, Lowe GDO. Association between plasma IL-6, the IL6 -174G>C gene variant and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. *Mol Genet Metab.* 2007;90:422–428.

Strandberg L, Mellström D, Ljunggren O, et al IL6 and IL1B polymorphisms are associated with fat mass in older men: the MrOS Study Sweden. *Obesity.* 2008;16:710-3.

Stumvoll M, Häring H. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes.* 2002;51(8):2341-7.

Tai ES, Demissie S, Cupples LA, et al Association between the PPARA L162V polymorphism and plasma lipid levels: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:805–10.

Takemura Y, Walsh K, Ouchi N. Adiponectin and cardiovascular inflammatory responses. *Curr Atheroscler Rep*. 2007;9:238-43.

Talmud PJ, Ye S, Humphries SE. Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein AI gene associated with differences in apolipoprotein AI levels: the European Atherosclerosis Research Study. *Genet Epidemiol*. 1994;11(3):265-280.

Tan JT, Dorajoo R, Seielstad M, et al FTO variants are associated with obesity in the Chinese and Malay populations in Singapore. *Diabetes*. 2008;57:2851-2857.

Tavares V, Hirata RD, Rodrigues AC, et al Association between Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma2 gene and insulin sensitivity in Brazilian patients with type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2005; 7:605-11.

Tonjes A, Stumvoll M. The role of the Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10:410-4.

Torra IP, Chinetti G, Duval C, et al Peroxisome proliferator-activated receptors: from transcriptional control to clinical practice. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:245-54.

Torres N, Guevara-Cruz M, Granados J, et al Reduction of serum lipids by soy protein and soluble fiber is not associated with the ABCG5/G8, apolipoprotein E, and apolipoprotein A1 polymorphisms in a group of hyperlipidemic Mexican subjects. *Nutr Res*. 2009;29(10):728-35.

Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, et al Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2001;344(18):1343-50.

Um JY, Kim HM. Tumor necrosis factor alpha gene polymorphism is associated with cerebral infarction. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004;122(1):99-102.

Uusitupa M. Gene-diet interaction in relation to the prevention of obesity and type 2 diabetes: evidence from the Finnish Diabetes Prevention Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005;15:225-33.

Vozarova B, Weyer C, Hanson K, et al Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res*. 2001;9:414-417.

Wallenfeldt K, Bokemark L, Wikstrand J, et al Apolipoprotein B/apolipoprotein A-I in relation to the metabolic syndrome and change in carotid artery intima-media thickness during 3 years in middle-aged men. *Stroke*. 2004;35(10):2248-2252.

Wardle J, Carnell S, Haworth CM, et al Obesity associated genetic variation in FTO is associated with diminished satiety. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3640-3643.

Wardle J, Llewellyn C, Sanderson S, et al. The FTO gene and measured food intake in children. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(1):42-5.

Weisberg S, McCann D, Desai M, et al Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003;112:1796-808.

Wernstedt I, Eriksson AL, Berndtsson A, et al A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:1272-1279.

Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, et al Adiponectin--a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2006;8:264-80.

Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AIF, et al Single base change in the human tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene detectable by NcoI restriction of a PCR product. *Hum Mol Genet*. 1992;1(5):353.

Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, et al Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA*.1997;94(7):3195-3199,.

World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva; 2003 [WHO Technical Report Series, 916].

World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health. World Health Organization. Geneva; 2004. [57a World Health Assembly WHA 57.17].

World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization; Geneva; 2000. [WHO Technical Report Series, 894].

Xi B, Shen Y, Zhang M, et al .The common rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene is associated with obesity risk in children and adolescents of Beijing, China. *BMC Med Genet*. 2010;11:107.

Xu CF, Nanjee MN, Savill J, et al Variation at the apolipoprotein (apo) AI-CIII-AIV gene cluster and apo B gene loci is associated with lipoprotein and apolipoprotein levels in Italian children. *Am J Hum Genet*. 1990;47(3):429–439.

Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, et al Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance: two-year follow-up study in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4053-61.

Yamauchi T, Hamon J, Minokushi Y, et al Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*. 2002;8:1288-95.

Yamauchi T, Kadowaki T. Physiological and pathophysiological roles of adiponectin and adiponectin receptors in the integrated regulation of metabolic and cardiovascular diseases. *Int J Obes*. 2008;32(S7):S13-8.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med*. 2001;7(8):941-6.

Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M. STOP-NIDDM Study Group The Common polymorphisms (single nucleotide polymorphism [SNP] + 276) of the adiponectin gene predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP- NIDDM trial. *Diabetes*. 2005;54(3):893-9.

Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414(6865):782-787.

Zinman B, Hanley AJ, Harris SB, et al .Circulating tumor necrosis factor-alpha concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(1):272-8.

Zulet MA, Puchau B, Navarro C, et al Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies. *Nutr Hosp*. 2007;22:511-2.

9. ANEXOS

ANEXO 1 - Ofício Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

OF.COEP/305/09

São Paulo, 30 de outubro de 2009.

Prezado(a) Pesquisador(a) e Orientador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo – COEP/FSP, **analisou** em sua **8.ª/09 Sessão Ordinária** realizada em **23/10/2009**, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde – CNS e suas complementares o **ADENDO** ao protocolo de pesquisa n.º **1695**, intitulado **"ANÁLISE DO PERFIL CARDIOMETABÓLICO DE AMOSTRA POPULACIONAL DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO E IMPLEMENTAÇÃO DE PROGRAMAS DE INTERVENÇÃO PARA PREVENÇÃO DE DIABETES"**, área temática **GRUPO III**, sob responsabilidade do(a) pesquisador(a) **Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo**, que solicitava alterações no tópico "material e métodos", e considera o protocolo de pesquisa acima intitulado **APROVADO**.

Cabe lembrar que conforme Resolução CN /196/96, são deveres do (a) pesquisador (a): **1. Comunicar**, de imediato, qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste CEP (Comitê de Ética em Pesquisa), para dar continuidade à pesquisa; **2. Manter sob sua guarda e em local seguro**, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP, no caso eventual auditoria; **3. Comunicar**, formalmente a este Comitê, quando do encerramento deste projeto; **4. Elaborar e apresentar relatórios parciais e final**; **5. Justificar**, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Cláudio Leone
Professor Titular

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - COEP

Ilm.ª Sr.ª
Prof.ª Titular Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública – USP

ANEXO 2: Termo de consentimento livre e esclarecido

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

1. Dados de Identificação

Nome do Paciente:
 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:

Efeito de intervenção multiprofissional não-farmacológica no consumo alimentar e perfil metabólico de indivíduos de alto risco para diabetes mellitus tipo 2

Pesquisador:

Camila Rizzo de Barros, sexo feminino, portadora do **Documento de Identidade** 18.528.841-8, orientanda de Mestrado de Nutrição em Saúde Pública pela Profa. Dra. Sandra R. G. Ferreira Vivolo, **Professora Titular do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da USP**.

1. Avaliação de Risco da Pesquisa: Os procedimentos da pesquisa apresentam risco mínimo de ocorrência de algum dano imediato ou tardio para o participante. Incluem preenchimento de questionário, medidas antropométricas (peso, altura, circunferência de cintura e bioimpedância elétrica) e coleta de 20 ml de sangue venoso em jejum. Raramente, a punção venosa pode provocar pequeno hematoma (manchas roxas) no local da punção, que, em geral, desaparecem após 3 a 5 dias. Os materiais serão todos descartáveis e a coleta será realizada no Centro de Saúde Paula Souza (CSPS), localizado nas dependências da Faculdade de Saúde Pública, em dia e hora pré-agendados com os participantes do estudo. Para a coleta de sangue serão necessárias 8 horas de jejum.

Paralelamente, o participante passará por uma consulta médica, na qual será submetido a exame físico e medida de pressão arterial.

A partir deste momento e por um período aproximado de 9 meses, os participantes do estudo receberão intervenção não-medicamentosa, baseada em nutrição saudável e estímulo à prática de atividade física. Serão realizadas consultas médicas trimestralmente, grupos de discussão sobre alimentação semanalmente no primeiro mês e mensalmente até o 9º mês, além de sessões práticas de atividade física em caráter não obrigatório. Os gastos relativos ao transporte do paciente para o CSPS serão custeados integralmente pelos pesquisadores.

Ao término do estudo, uma nova coleta de sangue e um teste oral de tolerância à glicose serão agendados. Este teste compreende, além da coleta de sangue em jejum, a ingestão de um líquido contendo açúcar (75 g de glicose) e uma nova coleta de sangue após 2h. Será realizado no laboratório do CSPS por profissional de enfermagem, com material descartável e pode trazer leve desconforto gástrico para o participante, que melhora espontaneamente após a interrupção do jejum.

2. Duração da Pesquisa: 9 (nove) meses

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

O **objetivo** da pesquisa é avaliar o impacto de mudanças no estilo de vida na ocorrência de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) em indivíduos de risco para esta condição. O DM2 afeta significativamente a qualidade de vida da nossa população e preveni-lo pode ser de grande valia para a saúde do indivíduo.

Antes de tomar uma decisão sobre sua participação neste estudo, é importante que leia e compreenda as explicações dos procedimentos propostos abaixo. Este termo de consentimento livre e esclarecido descreve a finalidade, os procedimentos, os benefícios, riscos, desconfortos e advertências deste estudo.

Sua participação inclui:

- Responder questionário sobre saúde e ingestão alimentar;
- Realizar bioimpedância elétrica. Este exame não causa dor ou qualquer desconforto, e necessita preparo de fácil execução (ingestão de 8 copos de água durante o dia que antecede o exame, não ingerir alimentos à base de cafeína ou bebida alcoólica e não exercitar-se na véspera do exame). A duração média é de 5 minutos.
- Permitir a coleta de 20 ml de sangue por punção venosa, para avaliação da glicemia de jejum e dos lipídeos.

d) Participar de uma etapa de intervenção com duração de 9 meses, período no qual consultas serão oferecidas para estimular a adoção de um modo de vida mais saudável.

e) Submeter-se a nova avaliação de saúde, semelhante à realizada no início do estudo, acrescentando-se um teste oral de tolerância à glicose. Este compreende a coleta de sangue em jejum seguida da ingestão de um líquido contendo 75 gramas de açúcar e, após 2 horas de espera, uma nova coleta de sangue para dosagem da glicemia pós-sobrecarga, necessária para saber se houve diminuição ou não no risco de diabetes ou se a doença já se encontra estabelecida. Após a coleta de sangue será oferecido lanche.

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

Se tiver qualquer dúvida ou pergunta relativa ao estudo, entre em **contato** com a Profa. Dra. Sandra Roberta Gouvea Ferreira, pelo telefone 3061-7870.

Não haverá **riscos** para a integridade física, mental ou moral da sua pessoa.

Todas as informações prestadas nesta entrevista serão de caráter confidencial e utilizadas somente para fins científicos descritos no protocolo desta pesquisa, sem qualquer identificação pessoal. Esclarecemos que o seu consentimento está sendo pedido para a participação neste 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, a sua identificação.

Qualquer provável benefício do estudo 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 à disposição para informá-lo(a) sobre os procedimentos, riscos e benefícios decorrentes da pesquisa, ou qualquer outra 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.

V – INFORMAÇÕES PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS

Você poderá entrar em **contato** em qualquer momento com a Dra. Sandra Roberta Gouvea Ferreira e com a nutricionista Camila Rizzo de Barros. Telefones: 3061-7870 ou pelos e-mails: sandrafv@usp.br e cabarros@usp.br. Ou com o Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/FSP Telefones: 3061-7779 ou 3061-7742 e-mail: coep@fsp.usp.br Endereço: Av. Dr. Arnaldo, nº 715 Bairro: Cerqueira César Cidade: São Paulo CEP: 01246-904

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

_____ Assinatura do pesquisador (carimbo ou nome legível)

10. CURRÍCULO LATTES ALUNO

Maíra Ladeia Rodrigues Curti

- Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/3464322072401482>
- Última atualização do currículo em 17/05/2012

Nutricionista pela Universidade de São Paulo (2006). Mestranda em Nutrição e Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (conclusão em 2012). Atua principalmente nas seguintes áreas: promoção de alimentação saudável, aconselhamento nutricional, intervenções em estilo de vida. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Maíra Ladeia Rodrigues Curti

Nome em citações bibliográficas: CURTI, MLR

Sexo: Feminino

Endereço

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição.
Avenida Doutor Arnaldo, 715. Cerqueira César. CEP 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30617705 Fax: (11) 30667771
URL da Homepage: <http://fsp.usp.br>

Formação acadêmica/titulação

2010 - Mestrado em andamento em Nutrição e Saúde Pública.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Associação de polimorfismos de genes relacionados à obesidade e comorbidades com resposta à intervenção não-farmacológica em indivíduos de risco cardiometabólico. Orientador: Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Palavras-chave: Nutrigenética; Intervenção em estilo de vida; Síndrome metabólica; Diabetes.

Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição.

2002 – 2006 - Graduação em Nutrição.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Avaliação de parâmetros antropométricos em portadores de HIV/AIDS: um estudo prospectivo. Orientador: Patrícia Constante Jaime.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

1996 – 1999 - Curso técnico/profissionalizante.

Escola Técnica Estadual Carlos de Campos.

Formação Complementar

2011 – 2011 - I Curso de Aconselhamento Nutricional. (Carga horária: 14h).

Instituto de Psiquiatria Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

2009 – 2009 - Abordagens Nutricionais Inovadoras em Obesidade (Carga horária: 64h).

Instituto de Psiquiatria Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

2005 – 2006 Curso Básico de LIBRAS em Contexto. (Carga horária: 180h).

Federação Nacional de Educação e Integração dos Surdos de SP.

CURRÍCULO LATTES ORIENTADOR

Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1C

- Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/6633883139386818>
- Última atualização do currículo em 30/04/2012

Possui graduação em Medicina pela Pontifícia Universidade Católica de Campinas (1981), mestrado em Medicina (Endocrinologia Clínica) pela Universidade Federal de São Paulo (1986) e doutorado em Medicina (Endocrinologia Clínica) pela Universidade Federal de São Paulo (1988). Possui bolsa de Produtividade em Pesquisa desde 1990, atualmente nível 1-C. Consultora médica e científica da Associação de Diabetes Juvenil. Consultora ad hoc do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, consultora ad hoc da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, coordenadora do departamento de Epidemiologia Sociedade Brasileira de Diabetes e do Centro de Referência para Prevenção e Controle de Doenças Associadas à Nutrição da FSP-USP. Exerce o cargo de Professor Titular da Universidade de São Paulo, junto à Faculdade de Saúde Pública, desde 2006 e de Chefe do Departamento de Nutrição da mesma Faculdade (12/2008 a 12/2010). Parecerista de: Revista da Associação Médica Brasileira, Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Cadernos de Saúde Pública (FIOCRUZ), Revista de Saúde Pública / Journal of Public Health, Revista Brasileira de Epidemiologia, NMCD - Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases, Public Health Nutrition (Wallingford) e BMC Public Health Research. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Medicina, atuando principalmente nos seguintes temas: diabetes mellitus, nipo-brasileiros, diabetes, hipertensão arterial e obesidade. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo

Nome em citações bibliográficas: FERREIRA, S. R. G.; Ferreira, Sandra R.; Ferreira, Sandra; Ferreira, Sandra R.G.; Ferreira, Sandra Roberta G.; Ferreira Vivolo, SRG

Sexo Feminino

Endereço

Universidade de São Paulo.
Avenida Dr. Arnaldo, 715. Cerqueira César
01246-904 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30617705 Ramal: 218 Fax: (11) 30616601

Formação acadêmica/titulação

1997 - Livre-docência.

Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.

Título: Hipertensão Arterial em Nipo-Brasileiros de 1a. e 2a. Gerações: Prevalência e sua Relação com a Síndrome de Resistência à Insulina., Ano de obtenção: 1997.

Palavras-chave: Hipertensão Arterial; Síndrome de Resistência à Insulina; Nipo-brasileiros.

Grande área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica.

Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Epidemiologia.

Setores de atividade: Saúde Humana; Cuidado À Saúde das Populações Humanas; Cuidado À Saúde das Pessoas.

1988 – 1989 Pós-Doutorado.

University of London.