



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

**BIOMARCADORES E CONSUMO ALIMENTAR HABITUAL DE
INDIVÍDUOS COM SÍNDROME METABÓLICA E GENÓTIPO
PRO12PRO DO GENE PPAR γ 2**

ANDREA LACERDA

**Orientadora: Prof.^a Dra. GLORIMAR ROSA
Co-Orientadora: Dra. EDNA MARIA MORAIS OLIVEIRA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

**RIO DE JANEIRO
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Lacerda, Andrea.

Biomarcadores e consumo alimentar habitual de indivíduos com síndrome metabólica e genótipo Pro12Pro do gene PPAR γ 2./
Andrea Longo Lacerda - Rio de Janeiro: UFRJ/Instituto de Nutrição, 2008.

xviii, XXf., il

Dissertação (mestrado) – UFRJ/Instituto de Nutrição, 2008.

Referências bibliográficas: f.XX-XX.

1. Síndrome Metabólica. 2. Resistência à Insulina 3. Hiperhomocisteinemia 4. Polimorfismo PPAR- γ 6. Rio de Janeiro. 7. Nutrição – Dissertação.

I. Rosa, Glorimar. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro. III. Título.

Dedicatória

Agradeço acima de tudo a Deus pela força em superar os obstáculos, pela oportunidade de escolha, pelo sustento em todos os momentos que roguei pela sua ajuda e pela luz do conhecimento.

Aos meus pais e amados do coração que em todos os momentos me apoiaram, sem nunca me deixar desanimar frente as dificuldades, me incentivando a aprender a cada dia através do exemplo de vida e profissional, como seres humanos e acadêmicos, e pelo orgulho que sentem pelas minhas conquistas. E, principalmente, por terem me ensinado o significado da vida, da determinação e da importância de dedicar-me e perseguir todos os meus sonhos e objetivos com convicção, segurança e, acima de tudo, confiança na minha capacidade como profissional, ser humano, filha e esposa.

Ao meu marido, que com muito amor, dedicação e compreensão me apoiou em todos os momentos; na ausência dos finais de semana de trabalho e paciência nos momentos mais difíceis, me incentivando sempre e carinhosamente em todos os meus projetos de vida, acreditando sempre em minha vitória e orgulhando-se sempre de minhas conquistas.

À minha orientadora Dra. Glorimar Rosa que me fez crescer como profissional e me ensinou a arte da pesquisa científica e expositora de idéias, acreditando na minha capacidade de trabalho e investiu sua confiança mesmo nos momentos em que o tempo parecia caminhar mais rápido que os nossos passos.

À minha co-orientadora Edna Maria Morais Oliveira que acreditou na minha capacidade de apreender a arte da Biologia Molecular, sempre me incentivando, apoiando e ajudando-me buscando respostas sem deixar-me desanimar em todos os momentos em tudo parecia sem solução.

Agradecimentos

A todos os voluntários que participaram do estudo, pois sem eles nada teria sido possível.
À doutoranda e amiga Sofia Kimi Uehara que esteve ao meu lado nos momentos em que me senti mais perdida e que em momento algum negou-me sua preciosa ajuda e conhecimento para que tudo fosse possível, sem deixar-me desanimar.

À mestranda e amiga Roberta Manhães da Silva que me ajudou nos momentos em que precisava de mais horas no meu dia e de mais braços e mãos do que possuía, e cujo apoio foi essencial para o andamento do projeto proposto.

À todos os companheiros do Laboratório de Organismos Geneticamente Modificados da Embrapa Agroindústria de Alimentos, que muito me ensinaram e apoiaram durante o andamento de minhas análises moleculares.

À Prof. Dra Eliane Rosado pelo incentivo e paciência, sobretudo no início de minhas pesquisas, compartilhando suas experiências na biologia molecular.

À todos que direta ou indiretamente estiveram auxiliando-me durante minhas análises e pesquisas.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A síndrome metabólica (SM), a resistência à insulina (RI) e a hiperhomocisteinemia (Hhcy) são variáveis fortemente relacionadas com as doenças cardiovasculares. Dados na literatura sobre o perfil dietético e genotípico, e sua influência na saúde de indivíduos com SM ainda são escassos. Além disso, estudos que relacionem a Hhcy e a SM ainda são contraditórios. O objetivo deste estudo foi investigar a associação da homocisteinemia e da insulinemia com variáveis bioquímicas e dietéticas em indivíduos com SM genotipados para o gene PPAR γ 2. A SM foi diagnosticada de acordo com os critérios do *National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Panel III*. Foram estudados indivíduos adultos, com sobrepeso ou obesidade de qualquer cor de pele e de ambos os gêneros. A glicemia e o perfil lipídico foram determinados por método enzimático-colorimétrico, o folato plasmático e em eritrócitos por diluição de radioisótopos, a insulinemia por radioimunoensaio, a homocisteinemia por cromatografia líquida de alta eficiência e a genotipagem pela PCR-RFLP. O estudo dietético incluiu o questionário de frequência alimentar. Foram aferidas as circunferências de cintura, peso corporal, estatura e a pressão arterial. Quanto à genotipagem do gene PPAR γ 2, os indivíduos estudados foram classificados como PRO12PRO. Todos os parâmetros diferiram entre os grupos estudados, com exceção da glicemia que não foi significativa. Além disso, o HDL-colesterol foi maior no grupo sem a SM. Os valores médios de Hcy plasmática foram diferentes entre os grupos, entretanto, a Hcy não se relacionou com os fatores de risco para a SM e os indivíduos com RI apresentaram maiores IMC, quando comparados com os não resistentes. A ingestão energética, protéica, de piridoxina, folato, magnésio, fibras totais e solúveis, sódio e cromo foram superiores no grupo com SM. Indivíduos com concentrações inadequadas de folato plasmático, assim como inadequação do consumo de cobalamina dietética apresentaram maiores chances de ter Hhcy e, concentrações aumentadas de TG mostraram-se associadas com a RI. O conteúdo de ácidos graxos polinsaturados e monoinsaturados da dieta se associou com a redução das concentrações séricas de Hcy e, indivíduos com concentrações adequadas de Hcy plasmática apresentaram maior consumo destes ácidos graxos. O grupo com SM apresentou menor consumo de fibras totais e solúveis que o grupo sem SM.

Palavras-chave: Síndrome Metabólica; Resistência à Insulina; Hiperhomocisteinemia; Polimorfismo PPAR- γ

ABSTRACT

The metabolic syndrome (MS), the insulin resistance (IR) and hyperhomocysteinemia (Hhcy) variables are strongly linked to cardiovascular disease. Data in the scientific literature on the dietary and genotypic profile, and its effect on individuals with MS are still scarce. Moreover, studies that relate to Hhcy and SM are still contradictory, showing the importance of new investigations. The purpose of this study was to investigate the association of homocysteinemia and biochemical variables with insulin and diet in subjects with SM genotyped the gene for PPAR gamma 2. The MS was diagnosed in accordance with the criteria of the National Cholesterol Education Program / Adult Treatment Panel III. We studied adults, overweight or obese, of any color of skin and both genders. The blood glucose and lipid profile were determined by enzyme-colorimetric method, the plasma and red cell folate by dilution of radioisotopes, the insulin by radioimmunoassay, the homocysteinemia by high performance liquid chromatography and genotyping by PCR-RFLP. The study included a questionnaire of dietary frequency food. They were measured the waist circumference of, body weight, height and PAS of the subjects studied. As for genotyping of the gene PPAR γ 2 were classified as PRO12PRO. All parameters differed between the groups studied, with unless blood glucose was not significant. Moreover, the HDL-cholesterol was higher in the group without MS. The average values of plasma Hcy were statistically different between groups. The energy intake, protein, pyridoxine, folate, magnesium, and total soluble fiber, sodium and chromium were higher in the group with MS. Individuals with inadequate levels of plasma folate, as well as inadequated consumption of dietary cobalamin had greater chances of having Hhcy and, concentrations increased triglyceridemia showed up associated with the IR. The presence of hypertriglyceridemia increases the chances of the appearance of RI, and increased systemic blood pressure. The diet polinsaturated and monoinsaturated fat acids showed up associated with the Hcy and, people with adequated concentrations of Hcy showed higher consumption of that fat acids.

Key-words: Metabolic syndrome; insulin resistance; hyperhomocysteinemia; PPAR- γ polimorfism.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Prevalência da Síndrome Metabólica de acordo com o NCEP/ATPIII (2001) em diferentes países em homens e mulheres de diferentes faixas etárias.	4
Figura 2: Metabolismo da Homocisteína.	10
Figura 3: Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da amplificação por PCR da posição 267 do gene PPAR γ 2. Linha 1: Padrão 25 pb DNA ladder (BioLabs [®]); Linha 2: Branco; Linha 3 a 7: fragmentos relativos ao produto de PCR de 267 pb do grupo com síndrome metabólica.	28
Figura 4: Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da digestão do segmento de DNA contendo o polimorfismo PPAR γ 2 amplificado através da PCR. Linha 1: Padrão 25 pb DNA ladder (BioLabs [®]); Linha 2 e 3: fragmento relativo ao genótipo Pro12Pro (homozigoto selvagem); Linha 4: fragmento relativo ao genótipo Pro12Ala (heterozigoto com polimorfismo).	29
Figura 5: Pirâmide Alimentar Brasileira Adaptada.	31
Figura 6: Perfil lipídico nos grupos estudados.	34
Figura 7: Diferenças das concentrações de insulina plasmática entre os grupos com e sem SM.	34
Figura 8: Diferenças nas concentrações de homocisteína entre os grupos.	35
Figura 9: Diferenças nas concentrações de folato plasmático entre os grupos.	36
Figura 10: Percentual de inadequação do consumo dietético dos indivíduos com SM e sem SM. Fonte: III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001); <i>Institute of Medicine</i> (2000).	38
Figura 11: Pirâmide Alimentar Brasileira Adaptada.	39
Figura 12a: Consumo habitual de porções de alimentos.	39
Figura 12b: Consumo habitual de porções de alimentos.	40

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Diferentes critérios para o diagnóstico da Síndrome Metabólica	2
Tabela 2: Detecção dos alelos Pro12Pro e Pro12Ala do gene PPAR γ 2	30
Tabela 3: Conversão dos alimentos em porções de acordo com o respectivo grupo da pirâmide alimentar.	31
Tabela 4: Componentes para SM nos grupos estudados (média \pm DP).	33
Tabela 5: Parâmetros antropométricos e bioquímicos dos grupos estudados (média \pm DP).	33
Tabela 6: <i>Odds ratio</i> (OR) para os determinantes da hiperhomocisteinemia e da resistência à insulina no grupo com síndrome metabólica	36
Tabela 7: Dados dietéticos quantitativos dos grupos estudados (média \pm DP).	38
Tabela 8: Descrição dos valores médios das porções consumidas pelos grupos com e sem SM de acordo com Philippi <i>et al</i> , 1999.	39

LISTA DE ABREVIATURAS

5-MTHF - 5-metiltetrahidrofolato
A - Adenina
AAACE – American Association of Clinical Endocrinologists
ACE - American College of Endocrinology
ADA - American Diabetes Association
AGL - ácidos graxos livres
AGMI – ácidos graxos monoinsaturados
AGPI – ácidos graxos polinsaturados
AGS – ácidos graxos saturados
Ala - Alanina
ATP III – Adult Treatment Panel III
BstU I - Bacillus stearothermophilus
C - Citosina
C/Q: razão cintura-quadril
CC – circunferência da cintura
CCS - Centro de Ciências da Saúde
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
C β S – cistationina β sintase
DCV - doença cardiovascular
DM - diabetes mellitus
DM2 - diabetes mellitus tipo 2
DNA – ácido desoxirribonucléico
dNTP – desoxirribonucleotídeos fosfatos
DP – desvio padrão
EAR - estimated average requirements
EDTA – ácido dietiltetraaminoacético
EGIR – European Group for the Study of Insulin Resistance
G - Guanina
GLUT-1 – transportador de glicose 1
GLUT-4 – transportador de glicose 4
HAS – hipertensão arterial sistêmica
hcy - homocisteína

HDL – lipoproteína de alta densidade
Hhcy - hiperhomocisteinemia
HOMA - Homeostasis Model Assessment
HUCFF – Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
IDF - International Diabetes Foundation
ILIB A – Grupo Latino-Americano da Oficina Internacional de Informações em Lípidos
IMC –índice de massa corporal
INJC - Instituto de Nutrição Josué de Castro
IRAS - Insulin Resistance Atherosclerosis Study
LANUTRI - Laboratório de Avaliação Nutricional
LDL – lipoproteína de densidade baixa
MS – metabolic syndrome
MTHFR: enzima metilenotetrahydrofolato redutase
NCEP – National Cholesterol Education Program
NS – não significativo
OMS – Organização Mundial da Saúde
ON - óxido nítrico
OR – Odds ratio
PA - pressão arterial sistêmica
pb – par de bases
PC - peso corporal
PCR - reação em cadeia da polimerase
PPARs - Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissomas
Pro – Prolina
PAS – Pressão arterial sistólica
RFLP- Restriction Fragment Length Polymorphism
RI – resistência à insulina
rpm – rotações por minuto
SAH – S-adenosilhomocisteína
SAM – S-adenosilmetionina
SM – síndrome metabólica
T - Timina
TBE – tampão tris, ácido bórico, EDTA
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TG - triglicerídeos

TOTG: teste oral de tolerância à glicose

Tris – tris hidroximetil aminometano

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

	Página
Resumo	vi
Abstract	vii
Lista de figuras	viii
Lista de tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	x
1 – Introdução	1
1.1 – Síndrome metabólica	1
1.2 – Resistência à insulina e síndrome metabólica	5
1.3 – Homocisteína e Síndrome Metabólica	8
1.4 – PPAR γ 2 e Síndrome Metabólica	13
1.4.1 – Resistência à insulina e PPAR γ 2	14
1.4.2 – Homocisteína e PPAR γ 2	15
2 - Justificativa	16
3 – Objetivos	17
3.1 – Geral	17
3.2 - Específicos	17
4 – Pacientes e métodos	18
4.1 – Casuística	18
4.2 – Aspectos Éticos	18
4.3 – Recrutamento dos voluntários	18
4.3.1 Critérios de Elegibilidade	19
4.3.2 Coleta de Dados	19
4.3.3 Avaliação Antropométrica	20
4.4 – Análises Laboratoriais	21
4.4.1. Análises Bioquímicas	21
4.4.2. Análises Moleculares	26
4.4.2.1 Extração do DNA a partir do Sangue Integral	26
4.4.2.2. Genotipagem	26
4.5 – Avaliação Dietética	30
4.6 – Tratamento Estatístico	32
5 – Resultados	32

6 – Discussão	40
7 - Conclusões	51
8 – Referências bibliográficas	52
9 – Anexos	66
Anexo 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (grupo com síndrome metabólica)	66
Anexo 2: Questionário Estruturado para a Coleta de Informações dos Voluntários	67
Anexo 3: Questionário de Frequência Alimentar	68
Anexo 4: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	69

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição e Prevalência

Uma série de anormalidades metabólicas, entre elas o acúmulo de gordura abdominal associada ao excesso de peso corporal a presença de hipertrigliceridemia, baixas concentrações de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), hipertensão arterial sistêmica (HAS), hiperglicemia de jejum e resistência à insulina (RI) compõe o espectro da Síndrome Metabólica (SM). Este conjunto de alterações metabólicas em um mesmo indivíduo, sendo o seu principal fator de risco a RI, foi primeiramente descrito por Reaven (1988), o qual a denominou inicialmente como Síndrome X.

Estudos populacionais prospectivos demonstram que a SM confere risco relativo em 2 vezes maior para eventos cardiovasculares e ateroscleróticos, e cerca de 5 vezes para o desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (Hernández *et al*, 2006; Haffner *et al*, 2006; Grundy *et al*, 2005; Haffner *et al*, 2003).

Diferentes critérios para o diagnóstico da SM foram sugeridos na última década, seis deles descritos na Tabela 1. Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (2006), todas as propostas para o diagnóstico da SM apresentam aspectos vulneráveis, considerando não haver método ideal, devendo a sua escolha se relacionar a viabilidade de aplicação clínica disponível.

Tabela 1. Diferentes critérios para o diagnóstico da Síndrome Metabólica:

Características	OMS, 1999	NCEP-ATPIII, 2001	AACE/ACE, 2003	EGIR, 1999	ILIB A, 2002	IDF, 2004
Pressão Arterial Sistêmica	Uso de anti-hipertensivos ou PA \geq 140/90 mmHg	Uso de anti-hipertensivo ou PA \geq 130/85 mmHg	PA \geq 130/85 mmHg	PA \geq 140/90 mmHg ou uso de tratamento	PA \geq 130/85 mmHg - excluindo-se os pacientes com nefropatia diabética clínica	PA \geq 130/85 mmHg ou tratamento específico
Dislipidemia	TG \geq 150mg/dL HDL < 35mg/ dL (H) e < 39mg/dl (M)	TG \geq 150mg/ dL HDL < 40mg/ dL (H) e < 50mg/dl (M)	TG \geq 150mg/ dL HDL < 40mg/ dL (H) e < 50mg/dl (M)	TG \geq 150mg/ dL HDL < 40mg/ dL ou tratamento para dislipidemia	\geq 150 mg/dL HDL < 40mg/dL (H) e < 50mg/dL (M)	TG \geq 150mg/dl ou tratamento específico HDL < 40mg/ dL (H) e < 50mg/ dL (M) ou tratamento específico
Obesidade/ Hiperadiposidade abdominal	IMC \geq 30kg/m ² e/ou C/Q > 0,9 (H) e > 0,85 (M)	Circunferência da Cintura > 102 cm (H) e > 88 cm (M)		Circunferência da Cintura \geq 94 cm (H) e \geq 80 cm (M)	C/Q > 0,90 (H) e > 0,85 (mulheres) e IMC \geq 30 kg/m ² .	Europa: \geq 94 (H)/ \geq 80 (M) América Sul e Central: \geq 90 (H)/ \geq 80 (M) China: \geq 90 (H)/ \geq 80 (M) Japão: \geq 85 (H)/ \geq 90 (M)
Tolerância à Glicose/ Glicemia	DM2 ou tolerância à glicose diminuída no TOTG ou resistência à insulina	Glicemia jejum \geq 110 mg/dl	Jejum 110-125 mg/dl 2 horas no TOTG > 140 mg/dl	Glicemia jejum \geq 110 mg/dl e < 126 mg/dl	Glicemia de jejum \geq 110 mg/dL e/ou \geq 140 mg/dL após 2 horas de sobrecarga oral de glicose;	Glicemia jejum \geq 100 mg/ dL ou DM2, previamente diagnosticado. Se acima de 100 mg/dl, TOTG é fortemente recomendado, embora não seja necessário para definir a presença de SM
Outras	Microalbuminúria (excreção de albumina em amostra noturna > 20 mcg/min) ou razão albumina/creatinina \geq 30mg/g.					Quanto a obesidade central, a África subsaariana e o Oriente Médio usam parâmetros europeus; Américas do Sul e Central seguem parâmetros do Sudoeste Asiático.
Condições necessárias ao diagnóstico	DM2 ou tolerância à glicose diminuída ou resistência à insulina e mais duas alterações.	Três ou mais alterações	Não estabelece		Três ou mais alterações	Duas ou mais alterações

Fonte: Adaptado de Atualização Brasileira sobre Diabetes, 2006.

Legenda: OMS: Organização Mundial de Saúde; NCEP-ATPIII: *National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Panel III*; AACE: *American Association of Clinical Endocrinologists*; ACE: *American College of Endocrinology*; EGIR: *European Group for the Study of Insulin Resistance*; IDF: *International Diabetes Foundation*; PA: pressão arterial sistêmica; TG: triglicérides; IMC: Índice de Massa Corporal; C/Q: razão cintura-quadril; DM2: diabetes *mellitus* tipo 2; TOTG: teste oral de tolerância à glicose; H: homens; M: mulheres; SM: Síndrome Metabólica.

A prevalência da SM está fortemente relacionada com o critério empregado para o seu diagnóstico e a existência de diversas propostas dificulta estabelecer um consenso, uma vez que se observa diferentes pontos de corte para cada componente descrito. Os critérios estabelecidos pelo NCEP/ATPIII foram desenvolvidos para uso clínico (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2006; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005). Além disso, a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (2005) e a Atualização Brasileira sobre Diabetes (2006), recomendam o uso desse critério para o diagnóstico da SM.

Estudos que investigaram prevalência de SM em brasileiros utilizando os critérios do NCEP/ATPIII constataram aumento significativo com a idade, variando de 15,8% (25 a 34 anos) a 48,3% na faixa de 55 a 64 anos (Salaroli *et al*, 2007). Dados internacionais apontam valores semelhantes, variando de 6,7% (20-29 anos) até 43% (maiores de 60 anos) (Ford *et al*, 2002). Quanto ao gênero, alguns estudos mostram prevalência maior em homens (Arai *et al*, 2006; Schmidt *et al*, 1996), enquanto outros apontaram diferenças entre homens e mulheres (Ford *et al*, 2002; Oliveira *et al*, 2006) ou não apresentaram diferenças (Salaroli *et al*, 2007; Zamora-Gonzales *et al*, 1996).

Salaroli *et al* (2007) utilizando os critérios preconizados pelo NCEP/ATPIII apontaram, prevalência de 29,8% na população estudada, sendo o parâmetro da SM mais freqüente em homens a HAS, seguido de hipertrigliceridemia, baixas concentrações de HDL-colesterol, hiperglicemia e obesidade abdominal. Nas mulheres, observou-se em primeiro lugar a HAS, baixas concentrações de HDL-colesterol, obesidade abdominal, hipertrigliceridemia e hiperglicemia.

Recentemente, estudo feito com 240 indivíduos na região do semi-árido baiano verificou prevalência de 30% de SM, constatando-se maior freqüência em mulheres (38,4%) que em homens (18,6%) (Oliveira *et al*, 2006).

Estudos com 877 nipo-brasileiros (Freire *et al*, 2005), e migrantes espanhóis e seus descendentes nascidos no Brasil (Pousada *et al*, 2006) constataram prevalência de SM de 49% e 26,3% respectivamente. Entretanto, o uso de diferentes critérios no diagnóstico mostra-se como fator de extrema importância para a variabilidade da prevalência constatada nos estudos. A Figura 1 mostra a prevalência da SM de acordo com os critérios preconizados pelo NCEP/ATPIII (2001) em diferentes países.

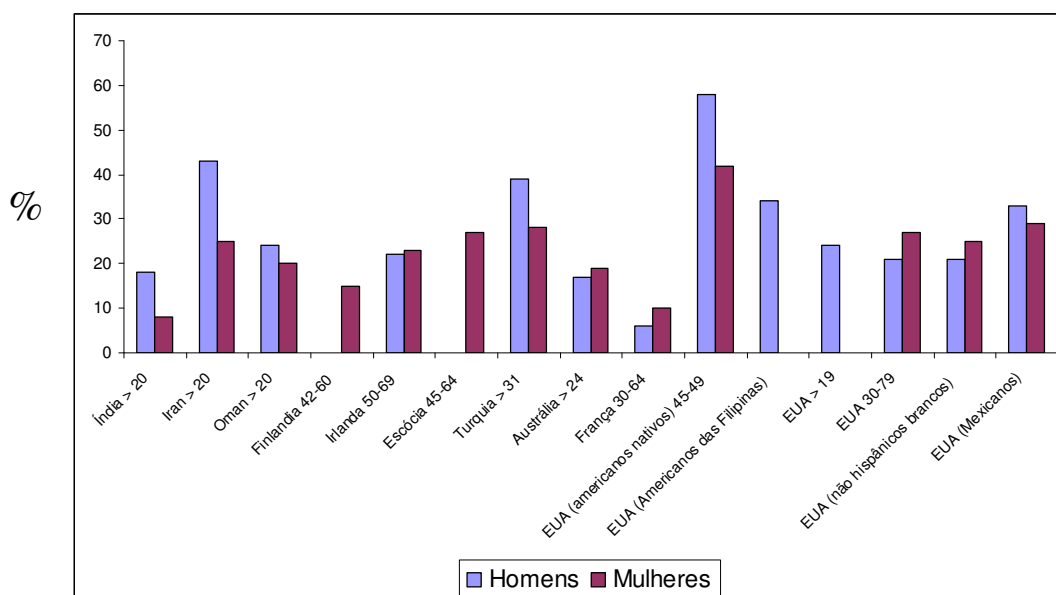


Figura 1. Prevalência da Síndrome Metabólica de acordo com o NCEP/ATPIII (2001) em diferentes países em homens e mulheres de diferentes faixas etárias. Fonte: Adaptado de Cameron, *et al* (2004).

Fatores etiológicos de natureza genética e ambiental, tais como desnutrição fetal, estresse psicossocial, aumento do consumo calórico, ganho de peso corporal e sedentarismo podem estar envolvidos na gênese da SM (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2006).

Desordens metabólicas decorrentes do aumento da prevalência da obesidade abdominal, o surgimento da RI e o efluxo excessivo de ácidos graxos livres (AGL) do tecido adiposo são observadas.

Além disso, destacam-se os receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs) como possíveis componentes genéticos relacionados com a fisiopatologia da SM,

uma vez que estão fortemente relacionados com o armazenamento de gordura, melhora da sensibilidade à insulina e do fluxo de glicose no tecido adiposo e músculo esquelético (Vidal-Puig *et al*, 1997; Tenenbaum *et al*, 2005; Medina-Gomez *et al*, 2005).

1.2 Resistência à Insulina e Síndrome Metabólica

A RI é caracterizada por uma redução na capacidade da insulina em estimular a utilização de glicose, ocasionando inúmeras anormalidades metabólicas (Pereira *et al*, 2003). O adipócito, de acordo com sua localização, apresenta características metabólicas diferentes, sendo a adiposidade intra-abdominal a que apresenta maior impacto sobre a deterioração da sensibilidade à insulina (Giorgino *et al*, 2005), observando a relação entre o acúmulo da adiposidade visceral como fator determinante da RI na SM (Arai *et al*, 2006; Lerario *et al*, 2002).

A gordura visceral encontra-se mais sujeita à lipólise, expressando maior número de receptores de glicocorticóides e maior sensibilidade à ação das catecolaminas (Ribeiro Filho *et al*, 2006), funcionando como tecido metabolicamente ativo e apresentando alta taxa de renovação. O aumento do influxo de AGL no sistema porta, provenientes da lipólise dos depósitos viscerais de triglicérides (TG), resulta em uma exposição exacerbada dos AGL nos tecidos hepáticos e extra-hepáticos, promovendo a redução da captação e degradação da insulina, aumento da neoglicogênese e maior produção hepática de glicose. Isto favorece a redução da captação da glicose induzida pela insulina e o aumento da glicemia, acarretando em uma maior produção de insulina e, conseqüentemente hiperinsulinemia (Ribeiro Filho *et al*, 2006; Zanela *et al*, 2002). Além disso, sugere-se que a ocorrência da obesidade visceral aumente em duas vezes o risco da ocorrência da SM tanto em homens quanto em mulheres (Arai *et al*, 2006) e esteja estreitamente relacionada com a presença de complicações cardiovasculares, entre elas a HAS (Barroso *et al.*, 2000).

Sabendo que diferentes tipos de obesidade (andróide e ginecóide) apresentam aspectos distintos, destaca-se a disposição andróide, ou visceral, a mais relacionada com a presença de HAS, alterações do perfil lipídico e intolerância à glicose (Barroso *et al.*, 2000). Desde 1985, sugere-se que a hiperinsulinemia poderia preceder o desenvolvimento da HAS (Modan *et al.*, 1985), atuando como fator coadjuvante na sua gênese. Sugere-se que a vasodilatação insulino-mediada por intermédio do óxido nítrico (ON) estaria comprometida nos estados de RI, provavelmente por alteração endotelial, uma vez que, como sugerido pelo estudo IRAS (*Insulin Resistance Atherosclerosis Study*), o estado crônico de hiperinsulinemia estaria relacionado com o aumento da proliferação miointimal e aumento da espessura arterial (Wagenknecht *et al.*, 1995). Além disso, a menor produção de ON e a maior produção de endotelina, secundárias a hiperinsulinemia, contribuiriam na vasoconstrição devido a um desbalanço entre mecanismos vasoconstritores e vasodilatadores do endotélio, promovendo desta forma a HAS (Potenza *et al.*, 2005).

Adicionalmente, sugere-se a ação da RI na ativação do sistema nervoso central com aumento da descarga adrenérgica, através da estimulação do sistema nervoso simpático, e promoção da vasoconstrição (Zanela *et al.*, 2002). O aumento da atividade adrenérgica determina a piora da sensibilidade à insulina por promover inibição direta da cadeia de transdução do receptor de insulina e, conseqüentemente, menor translocação do GLUT4, levando, desta maneira, ao estado de hiperinsulinemia (Chiappe *et al.*, 2004). Cabe ressaltar que a maior atividade adrenérgica e hiperinsulinemia, quando ocorre a RI, tem papel sinérgico na retenção de sódio e água e aumento da resistência periférica total (Corry *et al.*, 1999; DeFronzo & Ferrannini, 1991), onde a hiperinsulinemia atua promovendo a captação de sódio por meio do efeito agudo e direto nos túbulos renais (DeFronzo *et al.*, 1976; DeFronzo *et al.*, 1981), ou do aumento da filtração glomerular a qual, associada com a RI, criaria meio hemodinâmico intra-renal favorável à retenção de água e sódio, resultando na HAS (Dengel *et*

al, 1996). Além disso, distúrbios no transporte de íons através da membrana celular também são considerados (DeFronzo & Ferrannini, 1991).

Assim, a hiperinsulinemia por intermédio da vasodilatação atenuada, o possível espessamento da camada íntima, aumento da espessura da artéria, aumento da atividade simpática e retenção natrêmica contribuem para o aumento da PA.

Destaca-se também a relação entre a obesidade e o aumento das concentrações de aldosterona, havendo dois possíveis mecanismos, os quais podem explicar a interação do tecido adiposo com o sistema renina-angiotensina-aldosterona. A produção de diversos componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona pelo tecido adiposo, principalmente, o angiotensinogênio e o aumento da produção de AGL, proveniente do tecido visceral, que pode estimular a produção de aldosterona independente da renina (Vogt *et al*, 2007). Além disso, o aumento da gordura visceral resulta em aumento da compressão da alça de Henle e, conseqüente aumento da reabsorção de sódio e ativação do sistema renina-angiotensina (Zanela & Ribeiro, 2002).

Desta forma, indivíduos com HAS com diagnóstico de SM apresentam maior risco cardiovascular e necessitam de maior número de drogas anti-hipertensivas para atingir níveis satisfatórios de PA (Rodilla *et al*, 2004). Foi demonstrada associação entre o aumento das concentrações de insulina, valores de *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) e a presença de HAS (Martell *et al*, 2003).

O índice HOMA-IR, descrito por Turner *et al*. (1979) consiste em um modelo matemático que prediz a resistência à insulina pelas medidas de glicemia e insulina de jejum ($HOMA-IR = \text{insulinemia de jejum } (\mu U/mL) \times \text{glicemia de jejum (mmol)} / 22,5$), sendo amplamente utilizado e referido na literatura científica, uma vez que consiste em um método mais simples e de fácil aplicabilidade para a prática clínica, além de possuir menor custo. DeFronzo *et al*. (1979) desenvolveram o método atualmente considerado “padrão-ouro” para

avaliação da RI (*American Diabetes Association – ADA, 1998*), o clampeamento, que permite a mensuração da captação total de glicose em resposta a uma hiperinsulinemia fixa. Assim sendo, em condições constantes de glicemia e hiperinsulinemia, a quantidade de glicose consumida pelos tecidos seria igual à quantidade de glicose infundida durante o teste, no qual a glicemia é mantida dentro dos limites constantes e normais. Porém, a técnica do *clamp* ainda não se encontra disponível para grande parte dos pesquisadores, uma vez que é considerado um método sofisticado, o qual requer muito tempo do paciente, além de possuir custo elevado e ser invasivo. Daí, o método HOMA-IR vem sendo amplamente utilizado em diversos estudos (*Ikeda et al, 2001; Bonora et al, 2000; Haffner et al, 1996*), sendo considerado uma valiosa alternativa ao *clamp* euglicêmico na avaliação da RI em humanos (*Gelonese et al, 2006*). No estudo *BRAzilian Metabolic Syndrome study (BRAMS)*, foram descritos valores de corte para o diagnóstico da RI quando o HOMA-IR for superior a 2,71 (*DeFronzo et al, 1988*). *Geloneze et al. (2005)*, em estudo brasileiro feito com indivíduos com SM, confirmaram os pontos de corte anteriormente sugeridos, verificando que valores de HOMA-IR maiores ou iguais a 2,71 são indicativos de RI.

1.3 Homocisteína e Síndrome Metabólica

A homocisteína (Hcy) é um aminoácido sulfurado que não participa da síntese proteica, sintetizado a partir do metabolismo do aminoácido essencial metionina, proveniente tanto de fontes alimentares como do catabolismo de proteínas endógenas. O metabolismo da Hcy envolve duas vias principais: a de remetilação, que ocorre preferencialmente no jejum, e a de transulfuração, que ocorre quando há sobrecarga de metionina (*Figura 2*) (*Neves et al, 2004*).

Na via de transulfuração, a metionina é convertida em S-adenosilmetionina (SAM) que sofrerá ação de múltiplas transferases formando o S-adenosilhomocisteína (SAH). A SAH

é posteriormente hidrolisada, originando a Hcy, a qual se condensa de forma irreversível com a serina formando a cistationina, sendo essa reação catalisada pela enzima cistationina β sintase (C β S) e dependente de piridoxina que age como um cofator. A cistationina, por meio da ação da enzima γ -cistationase é hidrolisada à cisteína, cujo excesso eliminado pela urina na forma de α -cetobutirato (Figura 2) (Nerbass *et al*, 2006; Selhub *et al*, 1999).

Na via de remetilação o aminoácido essencial metionina é gerado a partir da Hcy, em uma reação catalisada pela metionina sintetase, que requer como cofator a cobalamina. A forma circulante ativa do folato, 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF), é o principal doador do grupamento metil dessa reação de remetilação da Hcy à metionina. A enzima metileno-tetrahidrofolato redutase (MTHR) é a responsável pela conversão do 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato (Nerbass *et al*, 2006; Selhub *et al*, 1999).

A manutenção das concentrações constantes de Hcy no meio intracelular faz-se através da migração desta para o meio extracelular. Valores plasmáticos e urinários de Hcy refletem sua síntese celular, utilização e integridade de suas vias de metabolismo (Neves *et al*, 2004). Omenn *et al* (1998) propuseram que concentrações de até 10 $\mu\text{mol/L}$ são consideradas seguras para indivíduos que já apresentaram algum evento cardiovascular e valores maiores que 10 $\mu\text{mol/L}$ caracterizam um quadro de hiperhomocisteinemia (Hhcy). Concentrações de Hcy acima de 20 $\mu\text{mol/L}$ indicam redução da sobrevida em 35% (Nygard *et al*, 1997). Kang *et al* (1996) estudaram indivíduos os quais nunca haviam apresentado eventos cardiovascular, e sugeriu valores entre 5 a 15 $\mu\text{mol/L}$ de Hcy plasmática considerados seguros para esta população.

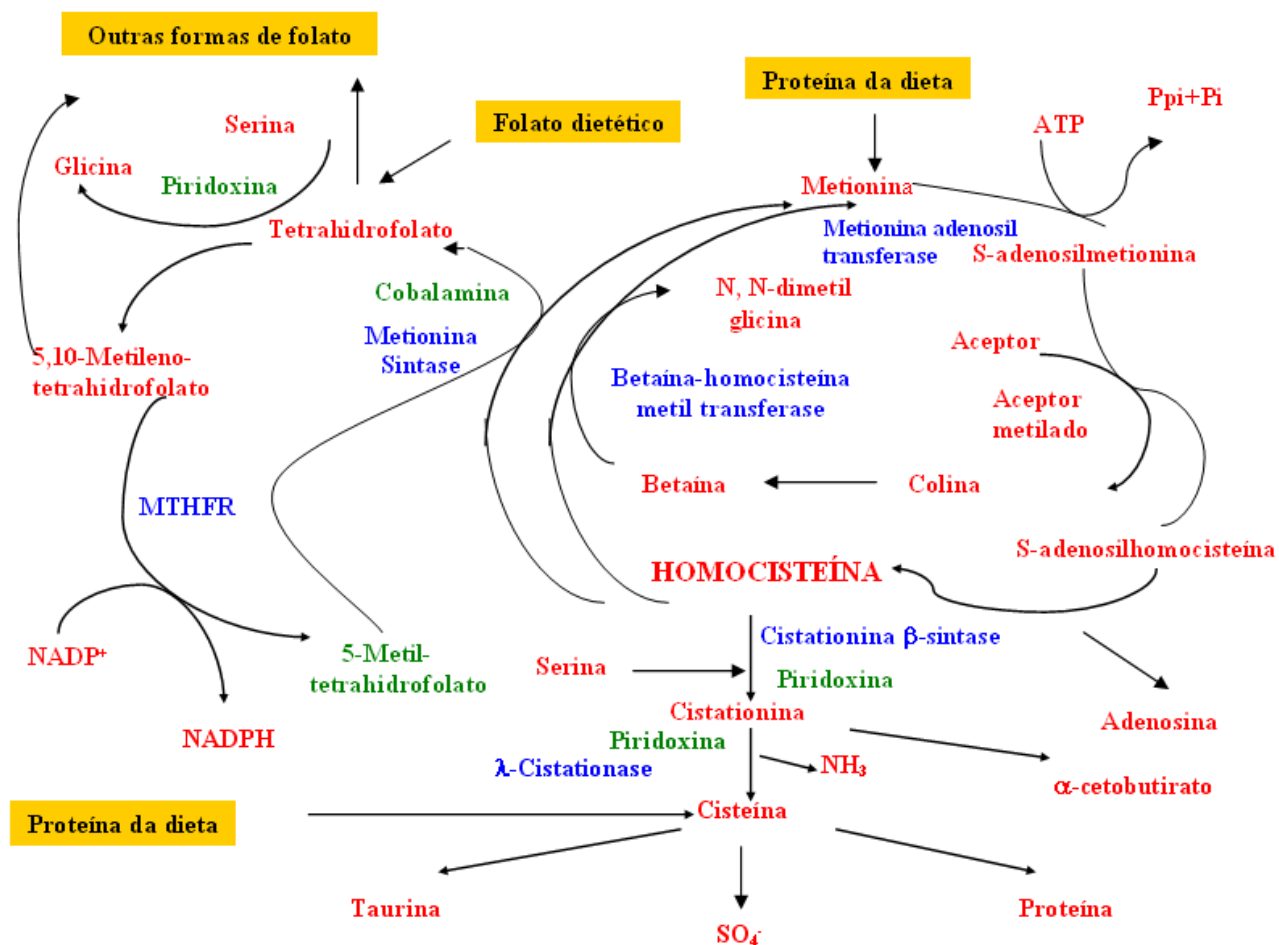


Figura 2. Metabolismo da homocisteína (Adaptado de Lentz, 1997).

Em 1969, surgiu a hipótese que concentrações aumentadas de Hcy estariam relacionadas com o aumento da incidência de doenças cardiovasculares oclusivas (McCully, *et al* 1969) a qual, nas últimas duas décadas, vem sendo confirmada através de estudos clínicos e epidemiológicos que apontam a elevação das concentrações plasmáticas de Hcy como fator de risco independente para o surgimento de aterosclerose na população em geral (McCully *et al*, 2005). Corroborando esta afirmação, recentemente, um amplo estudo que acompanhou 39.242 indivíduos durante 10 anos concluiu que maiores concentrações de Hcy aumentam as chances de morte por eventos cardiovasculares (Cui *et al*, 2008).

O aumento das concentrações de Hcy está associado à disfunção endotelial, maior gravidade da aterosclerose por meio das seguintes hipóteses: redução da vasodilatação pelo

ON, aumento da agregação plaquetária, aumento da coagulação sanguínea, tromboresistência, proliferação de células espumosas, síntese de colágeno, aumento das moléculas de adesão, células musculares lisas e da injúria oxidativa (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001; Ling *et al*, 2000; Guba *et al*, 1999; Tyagi *et al*, 1998; Upchurch *et al*, 1997; Tsai *et al*, 1994).

Entre os possíveis determinantes das concentrações de Hcy podem-se citar os fatores dietéticos, como a deficiência de piridoxina, cobalamina e, principalmente, de folato que atuam como importantes co-fatores e co-substratos nas reações de metabolização da Hcy (Selhub *et al*, 1999). Diversos estudos já demonstraram a estreita relação entre o estado nutricional de folato e as concentrações plasmáticas de Hcy. O folato atua estimulando a via de remetilação da Hcy, reduzindo as suas concentrações (*Homocysteine Lowering Trialist Group*, 1998), sendo o folato em eritrócitos considerado o melhor indicador do estado nutricional de folato, representando a ingestão crônica desta vitamina, enquanto o folato plasmático avalia apenas a ingestão dietética recente (Paula *et al*, 2003).

Além dessas deficiências vitamínicas, outros fatores podem influenciar nas concentrações plasmáticas de Hcy, tais como: variações genéticas que resultam numa menor capacidade catalítica das enzimas cistationina β sintase ou 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase, prejuízos na função renal, tabagismo e cafeína (Weisberg *et al*, 2001; Jacques *et al*, 2001; Selhub *et al*, 1999).

Nos últimos anos, tanto a RI como a Hhcy, tem sido fortemente associados com o surgimento de doenças cardiovasculares, sugerindo-se uma possível relação entre elas. Sendo assim, é plausível acreditar numa possível associação entre a Hhcy e a SM. Recentemente, uma correlação positiva entre o número de componentes da SM e o aumento das concentrações de Hcy plasmáticos foi demonstrada (Hajer *et al*, 2007), entretanto os estudos ainda são controversos e alguns resultados não confirmam estas hipóteses (Rhee *et al*, 2007; Garcin *et al*, 2005).

Oron-Herman, *et al* (2003), foram os primeiros a sugerir a Hcy como um possível componente da SM e estudos posteriores demonstraram esta mesma associação, aumentando o número de evidências científicas (Bjorck *et al*, 2006; Hajer *et al*, 2006; Guven *et al*, 2005; Setola *et al*, 2004).

Há uma década, foi realizado o primeiro estudo com humanos que demonstrava a associação entre as concentrações plasmáticas de insulina e Hcy (Giltay *et al*, 1998). Desde então, outros estudos buscam mostrar esta associação, porém os resultados ainda são contraditórios (Bjorck *et al*, 2006; Garcin *et al*, 2005; Gillum *et al*, 2003; Jermendy *et al*, 2001). A hipótese de que possa haver a relação entre as concentrações de insulina e Hcy, sugerindo que a insulina seja capaz de alterar a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo da Hcy ainda é controversa. Jacobs *et al* (1998) sugeriram que a insulina é capaz de regular as concentrações plasmáticas de Hcy através do aumento da atividade da C β S, a qual está diretamente relacionada com o catabolismo da Hcy. Por outro lado, em outro estudo, o efeito inverso é observado, isto é, a redução da atividade da C β S e uma associação positiva entre a hiperinsulinemia e o aumento das concentrações de Hcy (Fonseca *et al*, 2000).

Rosovolá *et al* (2002) demonstraram associação negativa entre a RI e a homocisteinemia. Posteriormente, Bjorck *et al* (2006), observaram uma forte associação entre os valores de insulina e HOMA-IR, sugerindo que para cada unidade aumentada nas concentrações de insulina plasmáticas há um aumento correspondente das concentrações séricas de Hcy em 0,5 $\mu\text{mol/L}$, fator que aumentaria ainda mais o risco cardiovascular decorrente do aumento plasmático de Hcy, isoladamente.

1.4 PPAR γ 2 e Síndrome Metabólica

Muitos receptores nucleares agem como sensores metabólicos, interferindo no controle do metabolismo. Distúrbios na sinalização destes receptores, causados por alterações ambientais, podem alterar o controle metabólico e contribuir para o desenvolvimento de doenças como, a obesidade, a resistência à insulina, DM2, hiperlipidemia e arteroesclerose. O fato da expressão gênica desses receptores estar alterada em várias doenças, e por serem ativados em resposta a pequenas moléculas, faz deles excelentes alvos metabólicos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e preventivas para o tratamento destas doenças (Francis *et al*, 2003).

O polimorfismo do DNA é uma condição na qual existem duas ou mais variantes de determinado gene, sem efeitos deletérios como os que ocorrem nas mutações, sendo caracterizado pela coexistência de mais de uma forma na mesma espécie e a presença de dois ou mais fenótipos alternativos (Stedman, 2003; Heilberg *et al*, 2003). A ocorrência de mais de uma versão de determinada proteína em uma população, ou seja, duas ou mais formas estruturalmente distintas, geneticamente diferentes e comuns é considerada um polimorfismo genético (Heilberg *et al*, 2003).

Os PPARs são membros de uma subfamília de receptores nucleares hormonais, capazes de modular múltiplos aspectos do metabolismo de lipídios e carboidratos (Liu *et al*, 2005; Kersten *et al*, 2002). Três isoformas são descritas (γ , α e δ/β), as quais são codificadas por diferentes genes e caracterizadas por seu padrão de distribuição nos tecidos e por sua função metabólica (Meirhaeghe *et al*, 2004). O PPAR γ é expresso em elevadas quantidades no tecido adiposo (Savage *et al*, 2003; Liu *et al*, 2005), sendo este considerado a forma que possui maior atividade adipogênica entre os membros da família PPAR, promovendo o armazenamento de gordura, melhorando a sensibilidade à insulina e o fluxo de glicose no tecido adiposo e músculo esquelético (Vidal-Puig *et al*, 1997; Tenenbaum *et al*, 2005;

Medina-Gomez *et al*, 2005). São identificadas três variantes do PPAR γ (γ 1, γ 2 e γ 3), sendo a isoforma γ 2 expressa quase que exclusivamente no tecido adiposo (Gurnell *et al*, 2003). O PPAR γ 2 possui 28 aminoácidos na sua região N-terminal, cuja ativação é independente de ligação, conferindo uma efetividade 5-10 vezes maior que outras isoformas (Werman *et al*, 1997).

1.4.1 Resistência à Insulina e PPAR γ 2

Uma possível associação entre suscetibilidade genética, metabolismo de glicose e RI vem sendo demonstrada pela literatura (Lehtovirta *et al*, 2000; Groop *et al*, 2000). O PPAR γ , como qualquer outro membro de uma superfamília de receptores esteróides, possui uma estrutura modular caracterizada pelo domínio de transativação AF-1 na região N-terminal, cuja ativação é independente de ligação. De acordo com Werman *et al* (1997), a insulina é capaz de regular a ativação deste domínio, promovendo uma nova base de convergência de sinalização entre estas moléculas. Desta forma, considerando as propriedades adipogênicas do PPAR γ 2, na presença de uma grande concentração de ligantes, há uma maior ativação do receptor e, em consequência disso maior impacto na lipólise e mobilização de gordura no tecido adiposo, aumentando a quantidade de AGL e aumento da RI (Ribeiro Filho *et al*, 2006; Sharma *et al*, 2006).

Segundo Altshuler *et al* (2000) a presença do polimorfismo do PPAR γ 2 caracterizado pelo alelo Ala reduz em 22% as chances de aparecimento de DM2. Em 2005, um estudo desenvolvido com 207 brasileiros diabéticos do tipo 2, observou uma redução do risco da RI nos indivíduos com o alelo Ala (Tavares *et al*, 2005).

Uma forte associação entre a presença do alelo Ala e a melhora da sensibilidade à insulina é descrita em diversos estudos desenvolvidos com diferentes populações como,

indivíduos com DM2 (Tavares *et al*, 2005; Muller *et al*, 2003; Mori *et al*, 2001; Hara *et al*, 2000), indivíduos saudáveis e de diferentes raças (Kao *et al*, 2003; Fritsche *et al*, 2001; Stumvoll *et al*, 2001), idosos e de meia-idade (Deeb *et al*, 1998), entre outros (Poulsen *et al*, 2003 Jacob *et al*, 2000), sugerindo que possa haver redução da afinidade do receptor com o elemento promotor e conseqüente redução da capacidade transcripcional do PPAR γ 2 Pro12Ala *in vitro* (Deeb *et al*, 1998). Outro mecanismo envolvendo alterações na ação do receptor sugere que a isoforma Ala esteja envolvida essencialmente na regulação da secreção de insulina, não observando melhora da sua sensibilidade, e que a alteração da atividade transcripcional do PPAR γ 2 envolve alterações no metabolismo dos AGL, os quais estão intimamente relacionados à secreção de insulina. Foi demonstrado que indivíduos com o alelo Ala apresentam menores concentrações plasmáticas de insulina após infusão de lipídios intravenosos que aqueles sem o polimorfismo (Pro12Pro) (Stefan *et al*, 2001).

1.4.2 Homocisteína e PPAR γ 2

Benefícios que relacionam o aumento da expressão do PPAR γ na função endotelial e fatores de risco cardiovasculares, promovendo uma menor incidência de eventos macrovasculares, são observados. A rosiglitazona é um medicamento do grupo das glitazonas, capaz de aumentar a expressão do PPAR γ e reduzir marcadores de risco para doenças cardiovasculares em diabéticos. Estudos apontam a capacidade deste medicamento em reduzir as concentrações de Hcy através do aumento da atividade da enzima CBS (Murthy *et al*, 2005). A relação negativa entre Hcy e o aumento da expressão do PPAR γ vem sendo alvo de pesquisa, sugerindo que a ativação deste receptor reduza as concentrações de Hcy e, conseqüentemente, a concentração do colágeno mediada pelas células musculares lisas, porém ainda não foi esclarecido (Brude *et al*, 1999; Inoue *et al*, 1998). Da mesma forma, considera-se a hipótese de que os efeitos nocivos da Hcy no endotélio vascular, que resulta em redução da

luz do vaso e aumento da proliferação das células espumosas, ocorra em decorrência a sua capacidade em inativar o PPAR γ , *in vitro* (Mujumbar *et al*, 2002). Oron-Herman *et al*, (2005), em estudo com ratos, observaram a redução significativa das concentrações de Hcy ao fornecer agonistas sintéticos do PPAR γ . O PPAR γ seria capaz de inibir substâncias que estariam aumentadas na presença de Hhcy, como a interleucina-6 e prostaglandina e sintetase microsossomial (Peng *et al*, 2005).

Ainda não está clara a relação entre a ativação do PPAR γ e seus efeitos nas concentrações de Hcy e o aumento do risco cardiovascular. Os estudos disponíveis na literatura científica indicam que a ativação do PPAR γ produziria efeitos indiretos nas concentrações de Hcy, sugerindo-se que a ativação do receptor por substâncias agonistas seja o principal fator responsável.

2 JUSTIFICATIVA

Considerando a importância dos fatores dietéticos na sua etiologia, desempenhando um papel fundamental tanto nos componentes isoladamente como na sua prevenção e controle, são necessários novos estudos que avaliem e investiguem o perfil dietético e sua influência na etiologia da SM.

Relatos da literatura científica sugerem uma etiologia multifatorial para a SM, e a influência de fatores dietéticos e de diferentes biomarcadores, entretanto ainda não está clara sua associação com a RI e a sua capacidade de influenciar e ser influenciada, direta ou indiretamente por esses fatores. Além disso, novos fatores de risco para SM vêm sendo apontados na literatura científica, como a Hhcy, porém ainda há controvérsias. Considerando a hiperhomocisteinemia um marcador das doenças cardiovasculares, é possível seu envolvimento na ocorrência da SM, porém são necessários mais estudos que tentem demonstrar essa associação com os diferentes fatores de risco para SM, e a sua relação com os

fatores dietéticos e diferentes parâmetros bioquímicos, apontando a necessidade do tratamento sistêmico do indivíduo com SM.

Da mesma forma, muito ainda deve ser esclarecido quanto a influência do padrão alimentar na modulação gênica e biomarcadores associados a etiologia da SM.

Destacando o envolvimento do PPAR γ 2 com os fatores de risco para SM, acreditamos que a genotipagem possa esclarecer algumas lacunas no conhecimento científico das interrelações características da etiologia da SM. Justificando, a importância de mais estudos que caracterizem o genótipo de pacientes com SM, a fim de gerar subsídios para a elaboração de estratégias de intervenção e prevenção dessa síndrome.

3 OBJETIVOS

3.1.Geral

Avaliar as associações do consumo alimentar habitual e biomarcadores com fatores de risco para SM em indivíduos genotipados para o gene PPAR gama 2.

3.2.Específicos

- Realizar a genotipagem no gene PPAR γ 2 nos grupos com e sem SM;
- Comparar quanti-qualitativamente a ingestão energética, de macronutrientes e de micronutrientes dos grupos sem SM e com SM;
- Identificar as associações da homocisteinemia com os fatores de risco para a SM;
- Investigar as associações entre as concentrações plasmáticas de Hcy e da RI com fatores dietéticos e indicadores bioquímicos;
- Calcular a razão de chances do biomarcadores estudado promoverem a hiperhomociteinemia e a RI;

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Casuística

Realizou-se um estudo transversal descritivo, cuja amostra (n = 60) foi constituída por indivíduos adultos (31 a 59 anos) de ambos os gêneros e de qualquer cor de pele, divididos em dois grupos, sendo um de indivíduos com SM e o outro com indivíduos sem SM.

4.2 Aspectos Éticos

O protocolo experimental do projeto mais amplo – *“Estado nutricional de folato, cobalamina, resistência à insulina, polimorfismo da MTHFR e PPAR γ 2, perfil lipídico e sua possível relação com homocisteinemia em indivíduos com síndrome metabólica”* sob nº 208/03, do qual este estudo faz parte, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) em 17 de abril de 2003.

4.3 Recrutamento de Voluntários

O recrutamento dos voluntários com SM ocorreu através de veiculação pela imprensa (jornal) e daqueles do grupo controle por meio de cartazes afixados no prédio do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O período de recrutamento ocorreu de maio a junho de 2005 e outubro a dezembro de 2007. Todos os indivíduos que demonstraram interesse em participar do estudo foram contactados por telefone onde, após confirmação da presença dos critérios de seleção propostos, fez-se o agendamento para primeira consulta.

4.3.1 Critérios de Elegibilidade

O grupo com SM foi composto de indivíduos adultos, com idade variando entre 38 e 59 anos, com sobrepeso ou obesidade ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) e que apresentavam o diagnóstico da SM, segundo critérios propostos pelo NCEP/ATP III (presença de 3 ou mais dos seguintes fatores de risco cardiovascular: intolerância à glicose – glicemia de jejum maior ou igual a 110 mg/dL, obesidade abdominal – CC: maior que 102cm (homens) e maior que 88cm (mulheres), TG maior ou igual a 150mg/dL, redução da lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) - menor que 40mg/dL (homens) e menor que 50mg/dL (mulheres) e HA maior ou igual a 130/85mm/Hg) (*Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*, 2001). Foram considerados hipertensos os indivíduos que faziam uso de medicamentos anti-hipertensivos.

Foram excluídos da pesquisa os indivíduos que faziam uso de suplementos vitamínicos, com quadro de DM2, em função do uso de hipoglicemiantes orais e/ou insulina e complicações renais comuns nesses pacientes, além de indivíduos que faziam uso de medicamentos hipolipemiantes e diuréticos tiazídicos.

O grupo sem SM foi constituído por indivíduos adultos, eutróficos ($IMC 18,5 - 24,9 \text{ kg/m}^2$), de ambos os gêneros, qualquer cor de pele, sem o diagnóstico da SM, segundo critérios do NCEP/ATP III (2001), sem história de doenças crônicas, não tabagistas e não etilistas.

4.3.2 Coleta de Dados

A primeira consulta ocorreu no Laboratório de Avaliação Nutricional do Instituto de Nutrição da UFRJ (LANUTRI/INJC). Após explicação verbal e detalhada da pesquisa, foi assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), segundo Resolução 196/96, pelos voluntários (Anexo 1 e Anexo 4), os mesmos foram orientados a responderem o

questionário estruturado para obtenção de informações gerais (Anexo 2) e de frequência de consumo alimentar (Anexo 3).

Foi medida a PA por método auscultatório, utilizando-se esfigmomanômetro de mercúrio, estetoscópio e manguito à circunferência braquial. Após esta etapa, uma nova data foi agendada para ser realizada a coleta de sangue, a qual ocorreu com auxílio de profissionais especializados do HUCFF no período da manhã (8:00 às 10:00), após jejum noturno de aproximadamente 12 horas. Foi utilizado um tubo com anticoagulante EDTA para amostras de plasma (500 µL), e outro sem anticoagulante EDTA para amostras de soro (500 µL) (Vacutainer, Becton Dickinson, USA).

Após a análise das concentrações plasmáticas de glicose e das concentrações séricas de triglicerídios e HDL-colesterol e, juntamente com os valores da CC e PA, foram selecionados os indivíduos que apresentavam o diagnóstico da SM, segundo os critérios do NCEP/ATP III (2001).

4.3.3 Avaliação Antropométrica

Os dados antropométricos foram obtidos utilizando-se as técnicas descritas abaixo:

- **Peso:** medido em quilogramas, utilizando balança antropométrica do tipo plataforma (Filizola[®]), com precisão de 100 g e capacidade máxima de 150 kg. Os voluntários foram pesados com o menor número de vestimentas possíveis e descalços, com peso igualmente distribuído entre os dois pés, braços estendidos ao longo do corpo e calcanhares juntos (Gibson *et al*, 1990);
- **Estatura:** medida em metros, sendo obtida através do uso de estadiômetro acoplado a balança com escala de 0,1cm. Os voluntários permaneciam em pé, descalços, em posição ortostática, encostando a nuca, nádegas e calcanhares na barra graduada da própria balança (Gibson *et al*, 1990);

Com base nestes dados antropométricos foi realizado o cálculo do IMC (peso/estatura) (WHO, 1995).

- Circunferência de Cintura (CC): Foi mensurada com auxílio de fita métrica inextensível e inelástica, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca (Documento do Consenso Latino-Americano sobre Obesidade, 1999).

4.4. Análises Laboratoriais

4.4.1. Análises Bioquímicas

As amostras de sangue coletadas foram imediatamente centrifugadas (4000 rpm, 15 minutos, Centrífuga Excelsa Baby I - FANEM) para a obtenção de soro (tubo sem EDTA) e plasma (tubos com EDTA), e separados em alíquotas de 500 µL acondicionadas em tubos tipo *eppendorff* (1,5 mL) e armazenados a 4° ou -20° C até as análises.

Nas amostras de soro, foram realizadas as seguintes dosagens: triglicerídios, colesterol total, HDL-colesterol e insulina. No plasma, foram determinadas as concentrações de glicose, folato e homocisteína. O folato em eritrócitos foi determinado a partir do sangue integral. Todas as análises colorimétricas foram feitas no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro/ UFRJ em triplicatas, sendo considerada a média aritmética entre as mesmas.

Os dados bioquímicos foram obtidos utilizando-se as técnicas descritas abaixo:

- Glicose Plasmática: Avaliada por método enzimático-colorimétrico, com uso de kit comercial CELM[®], segundo Trinder (1969). Nesse método, a glicose da amostra, na presença de oxigênio, sofre ação da enzima glicose oxidase, produzindo ácido glucônico e peróxido de hidrogênio(H₂O₂). O H₂O₂, na presença de 4-aminofenazona e fenol, sofre

ação da enzima peroxidase, produzindo 4-p-benzoquinona-monoiminofenazona, um composto róseo-avermelhado, com máximo de absorção em 505 nm.

- Triglicerídios Plasmáticos: Avaliado por método enzimático-colorimétrico, com uso de kit comercial KATAL[®], segundo McGowan (1983). Nesse método, os triglicerídios do soro são hidrolisados pela lipase lipoprotéica, produzindo glicerol livre que é fosforilado pela glicerol quinase. O produto da fosforilação sofre a ação da glicerol-fosfato-oxidase que, na presença de oxigênio, produz (H₂O₂). O H₂O₂ sob a ação da peroxidase em presença de p-clorofenol e 4-aminoantipirina, produz composto róseo-avermelhado, com máximo de absorção em 500 nm.
- Colesterol Total sérico: Avaliado por método enzimático-colorimétrico, com uso de kit comercial KATAL[®], segundo Richmond (1973). Nesse método, os ésteres de colesterol da amostra são hidrolisados pela enzima colesterol esterase, produzindo colesterol livre que, na presença da colesterol oxidase e de oxigênio, produz (H₂O₂). O H₂O₂, na presença de fenol e 4-aminoantipirina, sofre ação da peroxidase, produzindo um composto róseo-avermelhado (quinonimina), com máximo de absorção em 500 nm.
- HDL- colesterol sérico: Avaliado por método enzimático-colorimétrico, segundo Kostner *et al* (1979). Nesse método, a mistura de ácido fosfotúngstico/cloreto de magnésio precipita os quilomícrons, as lipoproteínas de densidade baixa (LDL-colesterol) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-colesterol), sem alterar a solubilidade da HDL-colesterol. Após a precipitação, a solução é submetida ao processo de

centrifugação, sendo recolhido o líquido sobrenadante que contém a fração HDL cujo conteúdo é determinado enzimaticamente.

Os valores de referência utilizados para a glicose, triglicerídios e HDL-colesterol foram àqueles propostos pelo NCEP/ATPIII (Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, 2001).

- Os valores de LDL-colesterol e VLDL-colesterol foram obtidos, segundo a fórmula de Friedwald, *et al* (1972):

$$\text{LDL-colesterol} = \text{Colesterol Total} - \text{HDL-colesterol} - \text{Triglicerídios} \div 5$$

$$\text{VLDL-colesterol} = \text{Triglicerídios} \div 5$$

Hipercolesterolemia e aumento da concentração sérica de LDL-colesterol foram definidos, segundo os seguintes valores: colesterol total ≥ 200 mg/dL e LDL-colesterol ≥ 130 mg/dL (III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

- Insulina sérica: foi determinada através do método de radioimunoensaio (COAT-A-COUNT Insulin[®], USA), com elevada especificidade para pró-insulina intacta e insulina. Nesse método, a insulina marcada com iodo ¹²⁵I compete, por um período fixo de tempo, com a insulina da amostra do paciente pelos sítios específicos do anticorpo anti-insulina. Em razão do anticorpo estar imobilizado na parede do tubo de polipropileno, uma simples decantação do sobrenadante é suficiente para finalizar a competição e isolar a fração de insulina radiomarcada ligada ao anticorpo. As dosagens de insulina foram realizadas em duplicata e a determinação da radioatividade foi feita no

Automatic Gama Counter Wallac 1470 Wizard. Os resultados foram expressos como $\mu\text{IU/mL}$ que equivale à $\mu\text{U/mL}$. A análise foi realizada no Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da UFRJ.

- Avaliação da Resistência à Insulina (RI): Os voluntários foram classificados como normoinsulinêmicos (concentração de insulina sérica de jejum $< 9\mu\text{U/ml}$) ou hiperinsulinêmicos (concentração de insulina sérica de jejum $> 9\mu\text{U/ml}$) (Sanchez-Margalet *et al*, 2002). A resistência à insulina foi estimada através do método *Homeostasis Model Assessment* (HOMA), segundo fórmula descrita abaixo (Matthews *et al*, 1985). Valores de HOMA $\geq 2,71$ caracterizavam quadro de resistência à insulina (Geloneze *et al*, 2005).

$$\text{HOMA-IR} = \text{insulinemia de jejum } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicemia de jejum } (\text{mmol/L}) / 22,5$$

Para converter os valores de glicose de mg/dL para mmol/L, dividir o resultado expresso em mg/dL por 18. Considerou-se como quadro de RI valores de HOMA-IR $\geq 2,71$ (Geloneze *et al*, 2005).

- Folato plasmático e folato em eritrócitos: As concentrações foram determinadas por meios da diluição de radioisótopos, empregando kit comercial Dualcount (Diagnostic Products[®], USA), segundo Gutcho & Mansbach (1977). O método se baseia numa reação de desnaturação que promove a liberação de folato, seguida da adição de vitaminas marcadas radioativamente [^{125}I] folato. Desse modo, ocorre competição entre as vitaminas da amostra e as marcadas radioativamente. Portanto, quanto maior a quantidade de [^{125}I] ácido fólico que se ligam às proteínas ligantes adicionadas,

menores os níveis de folato nas amostras. As análises foram realizadas em duplicata e a determinação da radioatividade foi feita no Automatic Gama Counter Wallac 1470 Wizard. Os resultados de folato plasmático foram expressos como nmol/L.

A dosagem do folato em eritrócitos foi determinada com kit comercial Folate (Diagnostic Products[®], USA), utilizando-se a mesma técnica do folato plasmático, sendo o resultado expresso em nmol/L e obtido, segundo a fórmula descrita abaixo. De acordo com as especificações dos *kits*, foram considerados os seguintes valores de referência: folato plasmático (7 – 39 nmol/L) e folato em eritrócitos (395 – 1585 nmol/L).

Todas as análises foram feitas em duplicatas e realizadas no Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da UFRJ.

$$\text{Folato em eritrócitos (nmol/L)} = 21 R \times (100/H)$$

R = concentração de folato no hemolisado/ H = hematócrito

- Homocisteína Plasmática: Foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção por fluorescência (385 nm excitação e 515 nm de emissão), segundo Ubbink *et al* (1992). Foi utilizado SBDF (7-fluorobenzo-2oxa-1,3-diazole-4-sulfonato de amônia) para derivatização dos aminoácidos sulfurados. A fase móvel empregada foi o tampão fosfato de mono potássio pH 1,95 com 4% de acetonitrila. A coluna utilizada foi a de fase reversa (150 mm x 4,6 mm id; LC-18-DB Supelco). O padrão de DL-homocisteína foi preparado em todas as análises, nas concentrações de 2,5 a 100,0 µmol/L em tampão de borato 0,1 mol/L (pH 9,5), contendo 2 mmol/L de EDTA. A relação da concentração do padrão com a área do pico na cromatografia foi $r^2 = 0,999$. As análises foram realizadas no cromatógrafo Shimadzu LC – 10AD acoplado com detector de fluorescência e coluna C-18

(150 mm x 4,6 mm I.D.). Em todas as análises, uma amostra controle de plasma foi utilizada para avaliação da reprodutibilidade. Todas as análises foram realizadas em duplicata. Os resultados obtidos foram expressos como $\mu\text{mol/L}$. Hiperhomocisteinemia foi definida para valores de homocisteína maiores do que $10 \mu\text{mol/L}$ (Omenn *et al*, 1998). As análises foram realizadas no Laboratório de Metabolismo e Nutrição da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), em Botucatu/SP.

4.4.2. Análises Moleculares:

4.4.2.1.Extração do DNA a partir do sangue integral

A extração de DNA das amostras foi feita conforme o método de extração do fenol-clorofórmio a partir de alíquotas de $800\mu\text{l}$ de sangue integral, obtido por punção venosa. Neste método de extração, utilizam-se substâncias desproteinizantes como o fenol-clorofórmio, capazes de desnaturar e retirar as proteínas que estão acopladas ao DNA e liberar os ácidos nucleicos (DNA) para solução aquosa. O tratamento com proteinase K auxilia na quebra de polipeptídeos, possibilitando uma melhor remoção pelo fenol. A adição posterior de etanol, então, fará com que o material genético precipite no tubo, sendo este posteriormente solubilizado.

4.4.2.2. Genotipagem

As amostras foram genotipadas utilizando-se o método PCR-RFLP (reação em cadeia da polimerase - polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição). Com base na seqüência de nucleotídeos do gene PPAR γ 2, para detecção dos alelos Pro12Pro e Pro12Ala, depositada no *GenBank* (AB005520) foi sintetizado um par de iniciadores (*primers*) nos sentidos: senso (5`GCCAATTCCAAGCCCAGTC3`) e anti-senso (5`GATATGTTTGCAGACAGTGTATCAGTGAAGGAATCGCTTCC* G3`)

O fragmento de DNA foi amplificado pela técnica *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ou reação em cadeia de polimerase (Mullis & Faloona, 1987), sendo as reações de amplificação realizadas em volume final de 50µL, contendo 50ng/µL de DNA isolado, 10µM de cada iniciador e 43µL de PCR Supermix (Invitrogen®), solução composta de Mg⁺⁺, dNTPs, e *Taq* Polimerase DNA recombinante em concentrações suficientes que permitam a amplificação durante a PCR.

O programa de amplificação constituiu-se de um ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 50 segundos, anelamento a 59°C por 50 segundos (permitindo a hibridização DNA-DNA de cada iniciador com as seqüências complementares da a região alvo) e extensão a 72°C por 50 segundos (realizada a partir de cada terminal 3' de cada iniciador). A etapa de extensão envolve a adição de nucleotídeos utilizando como molde a sequência-alvo, de maneira que uma cópia desta sequência é feita no processo. Ao final dos 40 ciclos, os produtos de amplificação foram submetidos a mais um ciclo de extensão a 72°C por 10 minutos, para completar a amplificação dos fragmentos. As reações foram realizadas em um termociclador (GeneAmp PCRSystem 9700-Applied Biosystems).

A amplificação gerou um fragmento de 267 pares de bases (pb). Uma quantidade de 10 µL do produto da amplificação por PCR foi submetida à eletroforese em gel de agarose a 2% e corado com brometo de etídio (7,5µL de uma solução 10mg/ mL), um corante que se intercala nas moléculas dos ácidos nucléicos sendo que a luz ultravioleta induz sua fluorescência. A eletroforese foi realizada em cuba horizontal (Bio Rad sub-cell Model 96) a 150V e 150 mA por 90 minutos, usando-se como tampão de corrida o TBE 1X (90mM Tris-borato; 2mM EDTA) (Figura 3).

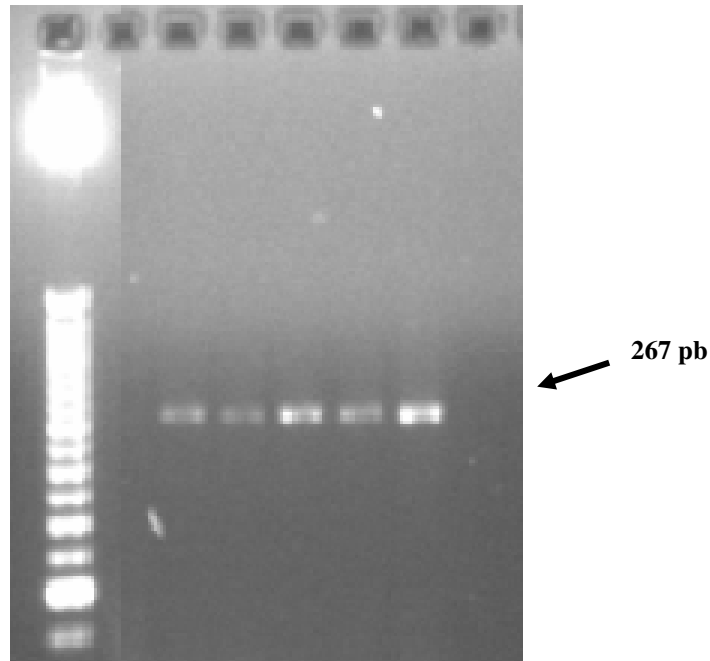


Figura 3: Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da amplificação por PCR da posição 267 do gene PPAR γ 2. Linha 1: Padrão 25 pb DNA ladder (BioLabs[®]); Linha 2: Branco; Linha 3 a 7: fragmentos relativos ao produto de PCR de 267 pb do grupo com síndrome metabólica.

Em seguida, os produtos de amplificação foram analisados por meio da técnica de polimorfismo no comprimento do fragmento de restrição (RFLP- “*Restriction Fragment Length Polymorphism*”), sendo 10 μ L do produto da reação de amplificação digeridos com a endonuclease de restrição BstU I (*Bacillus stearothermophilus* U458) (BioLabs[®]) (Senso: 5’...CG \wedge CG...3’/ Anti-senso: 3’...CG \wedge CG...5’), a 60°C por 3 horas no termociclador (GeneAmp PCRSystem 9700-Applied Biosystems) e separados por eletroforese, realizada em cuba horizontal (Bio Rad sub-cell Model 96), a 150 V e 150mA por 120 minutos de corrida em tampão TBE 1X (90mM Tris-borato; 2mM EDTA) em gel de agarose (3,0%) corado com brometo de etídio (10mg/ mL). A visualização das bandas foi feita sob luz ultravioleta e o gel foi fotodocumentado (Gel-Doc, Bio-Rad). Para identificação do peso molecular dos fragmentos resultantes foi utilizado como referência o padrão de tamanho molecular 25 pb DNA ladder (BioLabs[®]).

Ao ser submetido à clivagem com a enzima de restrição, o DNA amplificado foi cortado nos sítios de restrição, gerando fragmentos de diferentes pesos moleculares. Quando observamos no códon 12 a presença de uma citosina (C) em ambos os alelos, não houve sítio de restrição para a enzima e apenas o fragmento de 267 pb foi observado no gel de agarose. Quando a variante Guanina (G) esteve presente no códon 12 de um dos alelos, observaram-se três fragmentos de pesos moleculares distintos no gel de agarose (267 pb, 224 pb e 43 pb) (Figura 4; Tabela 2).

A análise da genotipagem foi realizada no Laboratório de Análises Moleculares da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

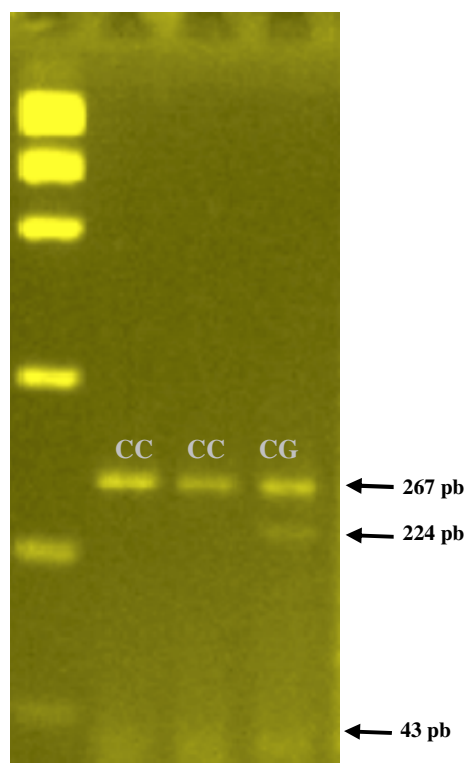


Figura 4: Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da digestão do segmento de DNA contendo o polimorfismo PPAR γ 2 amplificado através da PCR. Linha 1: Padrão 25 pb DNA ladder (BioLabs[®]); Linha 2 e 3: fragmento relativo ao genótipo Pro12Pro (homozigoto selvagem); Linha 4: fragmento relativo ao genótipo Pro12Ala (heterozigoto com polimorfismo).

Tabela 2: Detecção dos alelos Pro12Pro e Pro12Ala do gene PPAR γ 2.

PCR	Digestão Enzimática
GEN BANK AB005520	Enzima de restrição: <i>BstU I</i>
Localização do Polimorfismo: Códon 12:C→G; Pro→Ala	Sítio de digestão: CG/CG
Primeres: Senso: 5`GCCAATTCCAAGCCCAGTC3` (18 nucleotídeos) Anti-senso: 5`GATATGTTTGCAGACAGTGTATCAGTGAAGGAATCGCTTTCC`* G3` (43 nucleotídeos)	Condições Experimentais: Temperatura de digestão: 60° C Tempo: 18 min
Condições de Ciclagem: Temperatura e tempo de anelamento: 59° C/ 50 seg Temperatura e tempo de desnaturação: 95° C/ 50 seg Temperatura e tempo de extensão: 72° C/ 50 seg Número de ciclos: 40	Fragmentos Gerados: Alelo Pro12Pro: 267 pb Alelo Pro12Ala: 267, 224, 43 pb
[DNA]: 50ng/ μ L	
Fragmento gerado: 267 pb	

Fonte: Adaptado de Rosado *et al* (2006)

Legenda: *BstU I*: *Bacillus stearothermophilus* U458; C: Citosina; G: Guanina; T: Timina; A: Adenina; Pro: Prolina; Ala: Alanina; DNA: ácido desoxirribonucléico;

4.5 Avaliação Dietética

Empregou-se o questionário de frequência alimentar semi-quantitativo com ambos os grupos, com objetivo de calcular a ingestão dietética de folato, cobalamina, piridoxina, magnésio, zinco, sódio, metionina, cromo, fibra total, fibra solúvel, proteína, carboidrato, lipídios, AG saturados, AG monoinsaturados, AG polinsaturados, AG trans e colesterol. Os dados dietéticos obtidos em medidas caseiras foram convertidos em grama e mililitro e a avaliação da composição química dos inquéritos dietéticos utilizando-se o programa *Food Processor* versão 12 (Esha Research, Salem, EUA, 1984), após adaptação a realidade brasileira, excluindo alguns alimentos fortificados.

A partir do questionário de frequência, os alimentos relatados foram convertidos em porções, pelo valor calórico, de acordo com cada grupo de alimento (cereais, pães, tubérculos

e raízes/ frutas/ hortaliças/ leite e produtos lácteos/ carnes e ovos/ leguminosas/ óleos e gorduras/ açúcares e doces), segundo Philippi *et al* (1999) cuja característica reflete os hábitos da população Brasileira, em geral. (Tabela 3/ Figura 5).

Tabela 3: Conversão dos alimentos em porções de acordo com o respectivo grupo da pirâmide alimentar.

<i>Grupo Alimentar (Philippi et al, 1999)</i>	<i>1 porção equivale ao valor calórico (kcal)</i>
Pães, Cereais, Raízes e Tubérculos.	150
Hortaliças	15
Frutas	70
Leguminosas	55
Carne Bovina, Suína, Peixe, Frango, Ovos	190
Produtos lácteos.	120
Óleos e Gorduras.	73
Açúcares e doces.	110

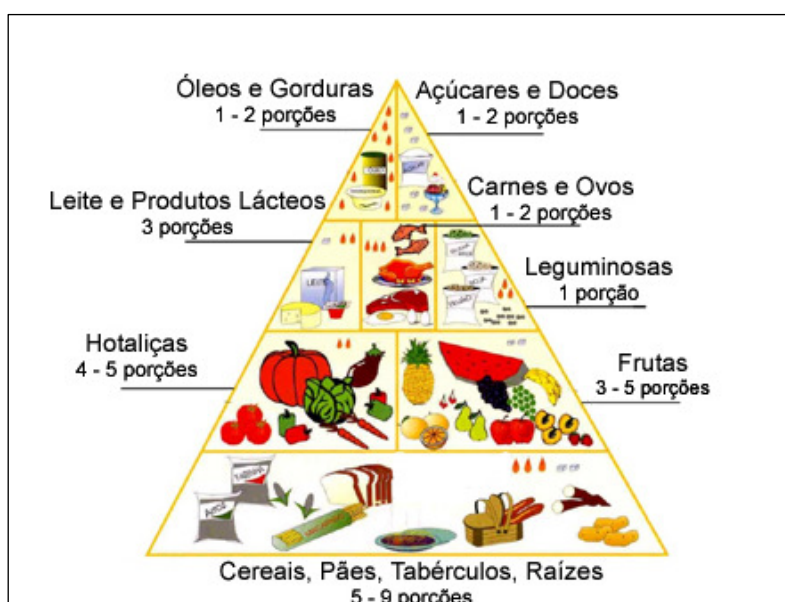


Figura 5: Pirâmide Alimentar Brasileira Adaptada (Philippi et al, 1999).

4.6 Tratamento Estatístico

Os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão. Foi realizada análise descritiva das variáveis contínuas, a razão de chances (“*odds ratio*”) para avaliar as variáveis determinantes da Hhcy e RI, e o Teste *t de Student* para compararmos os grupos com e sem SM.

Como as variáveis não seguem o modelo normal de distribuição, o que indica variabilidade e influência do valor médio, foi aplicado o teste de correlação de *Spearman* para caracterizar a relação entre a RI e Hhcy e as demais variáveis estudadas. Todas as análises foram conduzidas usando o pacote estatístico SPSS versão 11.0 e foram considerados resultados estatisticamente significativos àqueles com valores de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os dois grupos estudados, com e sem SM, foram constituídos, cada um deles, por 30 indivíduos (12 homens e 18 mulheres, em cada um dos grupos), de ambos os sexos, sendo 40% ($n = 24$) do sexo masculino e 60% ($n = 36$) do sexo feminino. A média de idade foi de 48 ± 7 anos para o grupo com SM e 43 ± 7 anos para o grupo sem SM.

Na tabela 4 os valores das médias e desvio-padrão da circunferência de cintura, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, triglicerídios, HDL-colesterol e glicose de ambos os grupos estudados são descritos.

Além destes, outros dados antropométricos e bioquímicos, apontaram diferenças significativas entre os grupos, como o IMC, concentrações de colesterol-total sérico, homocisteína plasmática e folato plasmático (Tabela 5). Segundo os valores de IMC, os indivíduos do grupo com SM foram classificados como obesos grau 2 ($IMC = 35,36 \pm 6,38 \text{ kg/m}^2$) e os do grupo controle como eutróficos ($IMC = 22,9 \pm 2,02 \text{ kg/m}^2$). Quanto ao perfil lipídico, no grupo com SM, as médias das concentrações séricas de TG, HDL-colesterol,

colesterol total, LDL-colesterol e VLDL-colesterol confirmam a presença de dislipidemia, ao contrário do grupo sem a SM. Com exceção dos valores de glicemia, todos os parâmetros considerados pelo NCEP/ATPIII (2001) para o diagnóstico da SM diferiram significativamente entre os grupos, sendo maiores no grupo com SM, com exceção do HDL-colesterol (Tabela 4). As médias das concentrações de colesterol total sérico e folato plasmático foram diferentes entre os grupos estudados, sendo a colesterolemia maior no grupo com SM e as concentrações de folato plasmático menores (Tabela 5). Entre os parâmetros analisados, os mais frequentes foram a hipertrigliceridemia, a hipertensão arterial sistêmica e o aumento da circunferência de cintura, respectivamente. O resumo descritivo das variáveis observadas nestes indivíduos está apresentado nas tabelas 4 e 5. A figura 6 mostra as diferenças do perfil lipídico entre os grupos.

Tabela 4: Componentes para SM nos grupos estudados (média ± DP).

Variáveis	Sem SM (n = 30)	SM (n = 30)	p-valor
	Média (± DP)	Média (± DP)	
Pressão Arterial Sistólica (≥ 130 mmHg)	113,60±22,12	127,67±14,06	0,005*
Pressão Arterial Diastólica (≥85 mmHg)	71,03±19	85,33±10,74	0,001*
Triglicerídios (≥ 150 mg/dL)	80,83±30,91	245,31±178,22	0,000*
HDL (≤40 mg/dL (H) e ≤50 mg/dL (M))	54,52±10,49	36,40±8,39	0,000*
Circunferência de cintura (≥102 cm (H) e ≥88 cm (M))	83,30±9,01	109,12±13,65	0,000*
Glicose (≥110mg/dL)	80,93±18,17	83,55±15,67	NS

NS: Não significativo/ DP= desvio-padrão

Tabela 5: Parâmetros antropométricos e bioquímicos dos grupos estudados (média ± DP).

Variáveis	Sem SM (n = 30)	SM (n = 30)	p-valor
	Média (± DP)	Média (± DP)	
Peso (kg)	63,77±10,83	97,92±22,81	0,000*
IMC (Kg ^m ²)	22,905±2,02	35,360±6,38	0,000*
Colesterol total (mg/dL)	183,61±20,45	250,99±62,61	0,000*
Homocisteína (µmol/L)	6,8930±3,01	9,5943±173,06	0,001*
Folato Plasmático (nmol/L)	22,02±10,12	14,25±10,01	0,004*
Folato eritrócitos (nmol/L)	426,42±170,53	350,99±2,87	NS

NS: Não significativo/ IMC: Índice de Massa Corporal;

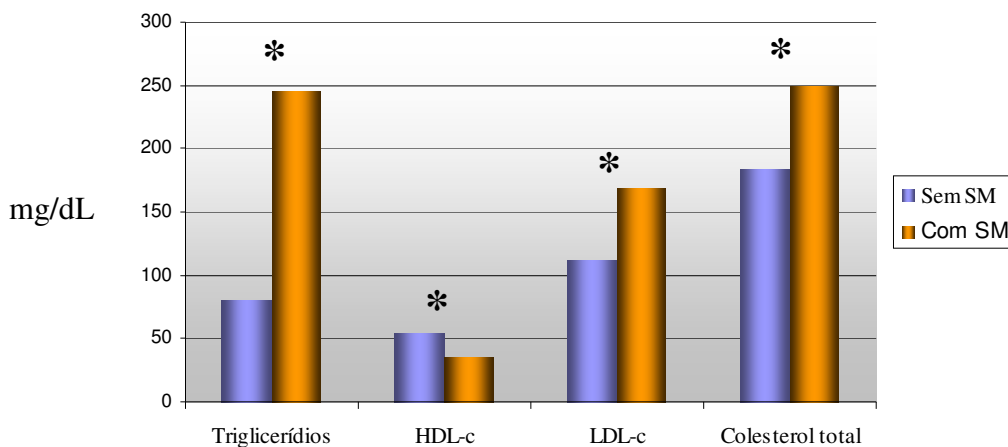


Figura 6: Perfil lipídico nos grupos estudados; * $p < 0,05$

Como apresentado na figura 7, os valores médios de insulina entre os grupos com e sem SM foi de $17,43 \pm 9,15 \mu\text{U/ml}$ e $4,65 \pm 3,99 \mu\text{U/ml}$, respectivamente, havendo a diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

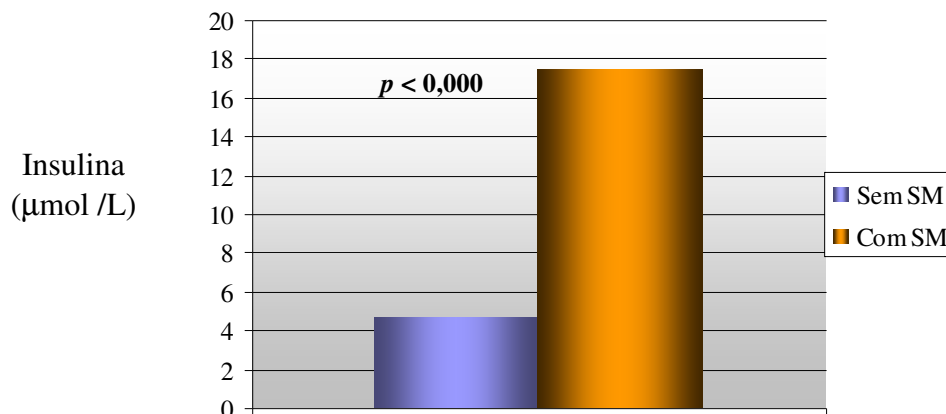


Figura 7: Diferenças das concentrações de insulina plasmática entre os grupos com e sem SM.

Quanto a genotipagem do gene PPAR γ 2, no grupo com SM apenas um voluntário apresentou o alelo Ala, sendo assim classificado como heterozigoto com polimorfismo (Pro12Ala). O restante dos indivíduos estudados foram classificados como homozigotos sem polimorfismo (Pro12Pro). No grupo sem SM, não foi observada a presença do alelo Ala, sendo estes, desta forma, homozigotos sem polimorfismo (Pro12Pro).

No grupo com SM, os valores médios de HOMA-IR (3,61) e da concentração de insulina ($17,43 \pm 9 \mu\text{U/mL}$ - hiperinsulinemia), demonstram a presença da RI, diferente do

grupo sem SM (HOMA = $1,006 \pm 0,81$; insulina = $4,65 \pm 3,99\mu\text{U/mL}$ - normoinsulinemia).

Sendo os valores da insulinemia entre os grupos sem e com SM estatisticamente significativas

Através da correlação de Spearman observou-se no grupo com SM que os parâmetros que mais se associaram com o aparecimento da RI foram o IMC ($p < 0,05$). A CC também mostrou correlação importante com a RI, entretanto este valor não foi estatisticamente significativo ($p = 0,06$), assim como o consumo de colesterol ($p = 0,089$).

Da mesma forma, os valores médios de Hcy plasmática foram estatisticamente diferentes entre indivíduos com SM ($9,59 \pm 2 \mu\text{mol/L}$) e sem SM ($6,89 \pm 3 \mu\text{mol/L}$) (Figura 11).

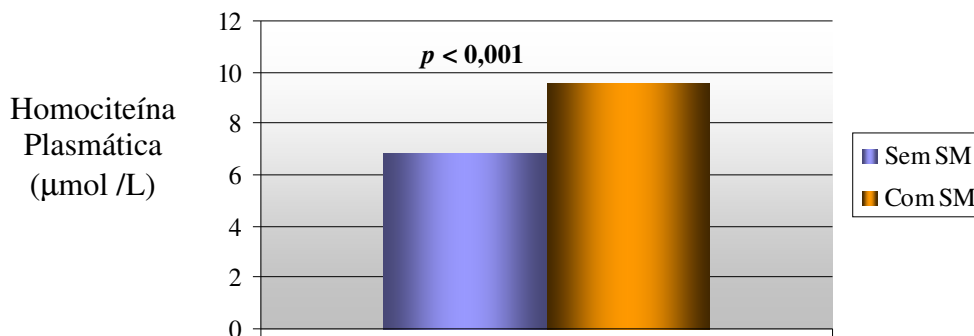


Figura 8: Diferenças nas concentrações de homocisteína entre os grupos;

Os fatores que mais se correlacionaram com a homocisteinemia foram o baixo consumo de gordura polinsaturada ($p < 0,05$) e monoinsaturada ($p < 0,05$). A gordura trans apresentou tendência em influenciar nas concentrações de Hcy, porém não foi significativa ($p = 0,06$), assim como a idade ($p = 0,084$). As concentrações de folato plasmático e homocisteinemia foram diferentes entre os grupos ($p < 0,05$). Nos indivíduos com SM, observamos que 20% dos indivíduos estudados apresentaram, simultaneamente, aumento das concentrações de Hcy e redução das concentrações de folato e, 53,3% apresentaram concentrações adequadas de homocisteína plasmática. As concentrações de folato plasmático foram maiores no grupo sem SM ($p < 0,004$), o que pode ser observado na figura 12.

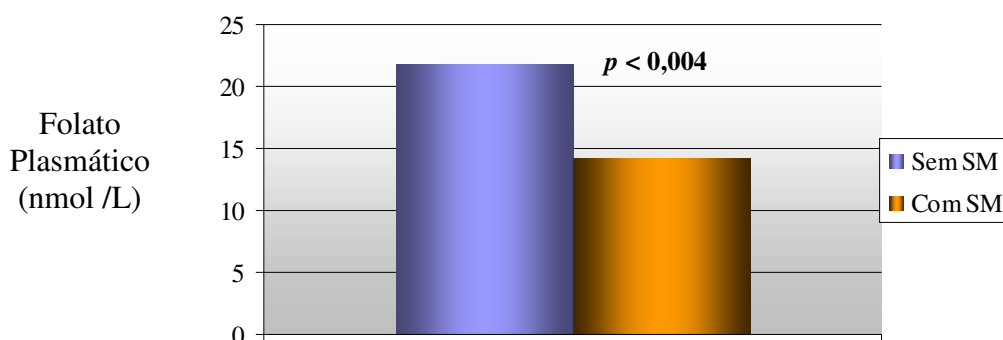


Figura 9: Diferenças nas concentrações de folato plasmático entre os grupos;

Na tabela 8 se observa as estimativas pontuais e intervalares das razões de chance de apresentar RI (acima de 2,71), e Hhcy (acima de 10 $\mu\text{mol/L}$), para um nível de significância de 5%, e seus respectivos p-valores, do grupo com SM e as variáveis categóricas dicotômicas.

Tabela 6: *Odds ratio* (OR) para os determinantes da hiperhomocisteinemia e da resistência à insulina no grupo com síndrome metabólica.

Variáveis Determinantes da Hiperhomocisteinemia	OR	IC 95%	p-valor
Sexo	1,120	0,256 – 4,905	NS*
Pressão Arterial Sistêmica	0,975	0,177 – 5,355	NS*
Circunferência de cintura	0,344	0,028 – 4,273	NS*
Glicemia	1,333	0,076 – 23,542	NS*
Triglicerídeos	3,692	0,360 – 37,856	NS*
Colesterol	0,300	0,045 – 1,982	NS*
Folato plasmático	13,714	1,381 – 136,212	<0,01
Folato em eritrócitos	0,429	0,076 – 2,419	NS*
Piridoxina	0,468	0,107 – 2,046	NS*
Cobalamina	6,429	1,026 – 40,261	<0,01
Folato dietético	1,575	0,343 – 7,224	NS*
Variáveis Determinantes da Resistência à Insulina	OR	IC 95%	p-valor
Sexo	0,250	0,042 – 1,483	NS*
Pressão Arterial Sistêmica	0,583	0,102 – 3,325	NS*
Circunferência de cintura	-	-	NS*
Glicemia	-	-	NS*
Triglicerídios	12,667	1,77 – 136,283	<0,01
Colesterol	1,000	0,150 – 6,671	NS*
Folato plasmático	0,583	0,102 – 3,325	NS*
Folato em eritrócitos	1,607	0,281 – 9,204	NS*
Piridoxina	1,500	0,325 – 6,918	NS*
Cobalamina	4,846	0,505 – 46,492	NS*
Folato dietético	0,643	0,127 – 3,254	NS*

Indivíduos com concentrações inadequadas de folato plasmático e cobalamina apresentaram maiores chances de ter Hhcy ($p < 0,001$) e, concentrações aumentadas de triglicéridios mostraram-se associadas com a resistência à insulina. Neste estudo, aqueles que possuíam consumo inadequado de cobalamina e baixas concentrações de folato plasmático apresentaram 6,42 e 13,7 vezes, respectivamente, maiores chances de desenvolver Hhcy em relação àqueles que possuíam consumo de cobalamina e concentrações de folato no plasma adequados. Da mesma forma, a hipertrigliceridemia aumentou em 12,5 vezes as chances de desenvolver RI, quando comparados com àqueles que apresentavam concentrações adequadas.

De acordo com os dados dietéticos analisados, descritos na tabela 6 e na figura 8, comparando os valores obtidos nos grupos estudados com as recomendações nutricionais preconizadas pelo *Institute of Medicine* (2000) e com as III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001), se observou deficiência em ambos os grupos estudados quanto ao consumo de cálcio e metionina, contemplando apenas 7,6% e 75,8% dos valores recomendados no grupo com SM, e 10,4% e 70,83% no grupo sem SM, respectivamente. Nos indivíduos com SM, a prevalência da inadequação da ingestão dietética foi de 13,4% para o folato dietético, 37,44% (homens) e 47,9% (mulheres) para as fibras, 94,12% (mulheres) para o cromo e de 35,34% (homens) e 32,57% (mulheres) para o magnésio. Os valores de sódio intrínseco mostraram-se aumentados em ambos os grupos, sendo que, no grupo com SM se observou valores de 185,33% do recomendado, e 116,6% nos indivíduos sem SM. No grupo sem SM não se verificou inadequação da ingestão de folato. O consumo dietético de folato foi maior no grupo sem SM ($p < 0,07$).

Tabela 7. Dados dietéticos quantitativos dos grupos estudados (média ± DP).

Variáveis	Sem SM	Com SM	p-valor
	Média (± DP)	Média (± DP)	
VET (kcal/ dia)	2037,89±810,88	2934,96±2274,10	0,05*
Carboidrato (g/d)	255,79±107,48	314,04±206,20	NS
Proteína (g/d)	103,87±38,10	76,51±23,39	0,002*
Gordura total (% VET)	27,78±7,76	29,70±13,38	NS
AGS (% VET)	6,95±4,53	11,63±7,82	NS
AGPI (% VET)	4,27±1,96	2,58±1,44	NS
AGMI (% VET)	10,06±5,18	6,41±3,46	NS
Gordura trans (% VET)	0,62±0,70	1,34±1,67	NS

NS: Não significativo/ VET: Valor energético total/ AGS: ácidos graxos saturados/ AGMI: ácidos graxos monoinsaturados/ AGPI: ácidos graxos polinsaturados.

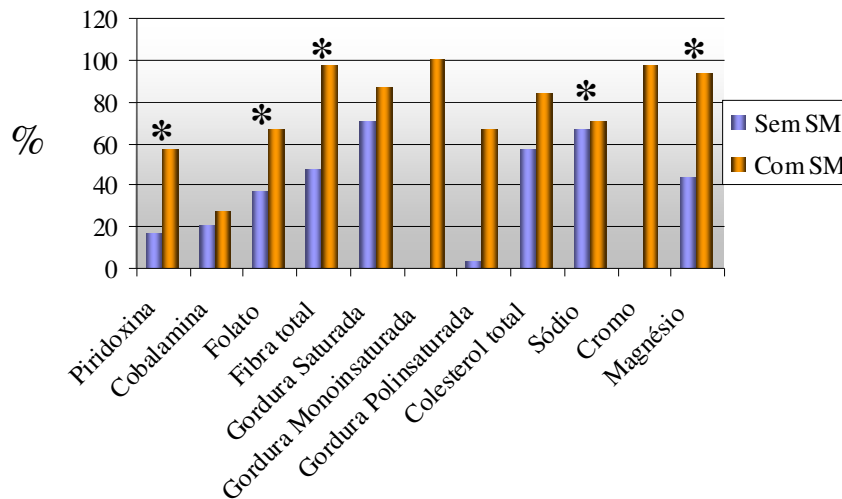


Figura 10: Percentual de inadequação do consumo dietético dos indivíduos com SM e sem SM. Fonte: III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001); *Institute of Medicine* (2000); * $p < 0,05$

As quantidades em porções de acordo com cada grupo alimentar da pirâmide de sugerida por Philippi *et al* (1999) são descritas na tabela 7 e na Figura 9. Baseando-se na Pirâmide Alimentar Brasileira Adaptada (1999), foi possível constatar um maior consumo do grupo com a SM dos grupos dos pães, cereais, raízes e tubérculos, hortaliças, carne bovina, suína, peixe, frango, ovos e óleos e gorduras. Quanto aos laticínios, os grupos apresentaram o mesmo consumo. No grupo com SM o grupo das carnes bovina, suína, peixe, frango e ovos ultrapassaram o valor máximo de ingestão preconizada, recomendando-se no máximo 2

porções e sendo consumidas $6 \pm 12,44$ porções. No grupo sem SM, as leguminosas sobrepujaram o valor estabelecido, consumindo $2 \pm 1,27$ porções/dia, enquanto o preconizado é de apenas 1 porção (Tabela 7 e Figuras 9 e 10).

Tabela 8 Descrição dos valores médios das porções consumidas pelos grupos com e sem SM de acordo com Philippi *et al*, 1999.

<i>Grupo Alimentar (Philippi, 1999)</i>	<i>Philippi, 1999</i>	<i>Sem SM</i>	<i>Com SM</i>
Pães, cereais, raízes e tubérculos.	9	4	6
Hortaliças	5	2	5
Frutas	5	4	3
Leguminosas	1	2	1
Carne bovina, suína, peixe, frango, ovos	2	2	6
Produtos lácteos.	3	2	2
Óleos e Gorduras.	2	1	2
Açúcares e doces.	2	1	1

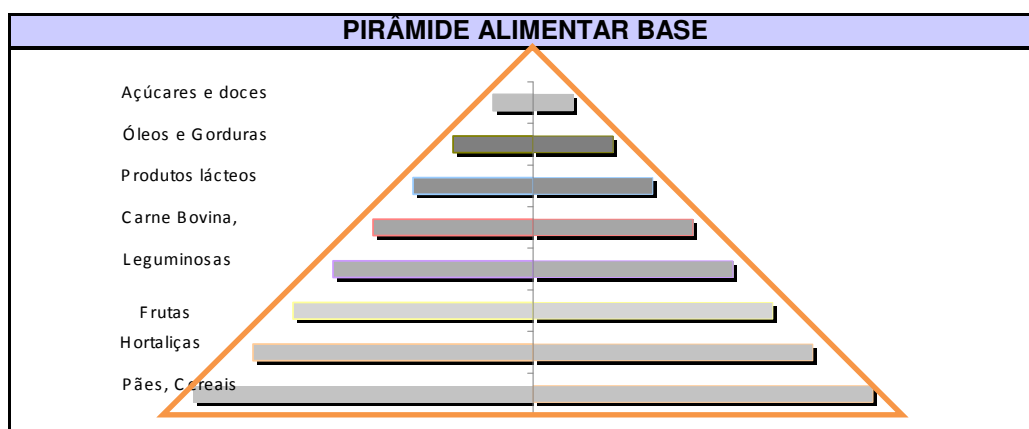


Figura 11: Pirâmide Alimentar Brasileira Adaptada (Philippi *et al*, 1999).

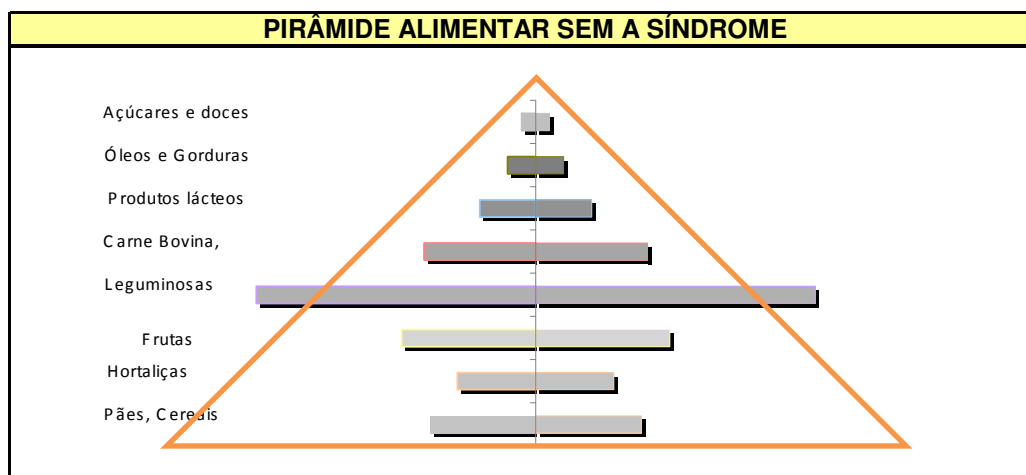


Figura 12a: Consumo habitual de porções de alimentos.

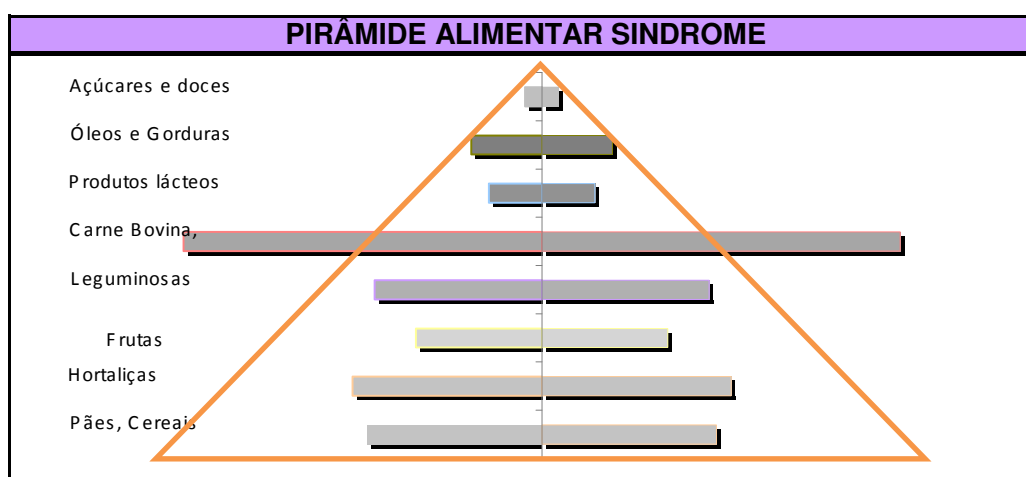


Figura 12b: Consumo habitual de porções de alimentos.

6 DISCUSSÃO

Uma possível associação entre suscetibilidade genética, metabolismo de glicose e RI vem sendo demonstrada em alguns estudos (Lehtovirta, 2000; Groop, 2000). A insulina é um ligante independente de ativação do PPAR γ 2 (Werman, 1997). Deeb *et al* (1998) sugeriram que o polimorfismo Pro12Ala poderia contribuir para a variabilidade de massa corporal (IMC) e à sensibilidade à insulina na população em geral. Yen *et al* (1997) afirmam que o polimorfismo Pro12Ala do PPAR γ 2 esteja presente em diversas populações e são necessários mais estudos para determinar a sua relevância em relação à obesidade, RI e DM2.

Apesar do pequeno número de indivíduos genotipados nos grupos com e sem SM, todos os participantes do estudo, com exceção de um voluntário, apresentaram o genótipo Pro12Pro para o gene PPAR γ 2. Evidências sugerem que o alelo Ala possa influenciar como agente protetor no aparecimento do DM2 (Tavares *et al*, 2005) através da redução da secreção de insulina plasmática e, embora esteja envolvido essencialmente na regulação da secreção de insulina, não se observou melhora da sua sensibilidade (Stefan *et al*, 2001). Desta forma, considerando as propriedades regulatórias na diferenciação de adipócitos e, possivelmente do metabolismo de lipídios e da sensibilidade à insulina (Yen *et al*, 1997), e a estreita relação

destas desordens com o aparecimento de DM2 e DCV, novos estudos com maior número de indivíduos genotipados para o gene PPAR γ 2, devem ser feitos, com objetivo de buscar novas e mais precoces formas de diagnóstico para a SM.

A relação entre o polimorfismo do PPAR γ 2 e outros aspectos da SM também foram descritos. A relação positiva entre o aumento da cc e a presença do alelo Ala foi observada em estudo desenvolvido com 921 mexicanos naturalizados americanos, constatando-se também o aumento do IMC nestes indivíduos com o polimorfismo (Cole, 2000). Pihlajamäki, *et al* (2004), acompanharam 311 indivíduos desde o nascimento e durante as diferentes fases da vida, mostrou a relação significativa entre o alelo Ala12 e o aumento da cc na idade adulta, quando comparados com os indivíduos com genótipo Pro12Pro, embora diferenças significativas no IMC não tenham sido observadas. Os autores sugerem que o alelo Ala12 esteja mais relacionado com o acúmulo de gordura que com o aumento da massa corporal de forma geral. Kao, *et al* (2003), em estudo desenvolvido com 1441 Afro-Americanos, observou o aumento dos valores de IMC, da relação C/Q e da cc nos indivíduos genotipados para o alelo Ala quando comparados com os Pro/Pro, mostrando-se esta relação mais significativa nos indivíduos que apresentavam sobrepeso. Apesar do anteriormente exposto, estudos recentes não têm observado esta relação entre o polimorfismo Pro/Ala e o aumento da cc (Li, 2006; Rhee, 2006), havendo, desta forma, a necessidade de mais estudos visando elucidar esta possível associação.

Estudos recentes sugerem que o alelo Ala esteja relacionado a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de HAS (Horik, 2004; Stefanski, 2006). Em estudo recente, Stefanski *et al* (2006) mostrou a relação significativa entre o aumento da pressão diastólica e a presença do alelo Ala em indivíduos obesos e diabéticos do tipo 2.

Uma relação negativa entre as concentrações aumentadas de Hcy e a expressão do PPAR vem sendo alvo de pesquisa (Brude *et al*, 1999; Inoue *et al*, 1998). Sugere-se que a

ativação do PPAR γ reduza as concentrações de Hcy e, conseqüentemente, a concentração do colágeno mediada pelas células musculares lisas, porém este fato ainda não está claro. Oron-Herman, *et al* (2005), em estudo com ratos, observaram a redução significativa das concentrações de Hcy e de insulina ao fornecer agonistas sintéticos do PPAR γ .

Ainda não está clara a relação dos possíveis efeitos do PPAR γ as concentrações de Hcy e no aumento do risco cardiovascular, mostrando-se desta forma, a necessidade de mais estudos que indiquem a relação direta deste receptor com as concentrações de Hcy plasmáticas.

Foi observada, com exceção da glicemia, diferença significativa entre os grupos em relação aos parâmetros que caracterizam a SM. Além disso, comparando os indivíduos com e sem RI se observou diferença no peso corporal e no IMC ($p < 0,05$). Apesar de não encontrarmos diferença, os indivíduos com RI apresentaram maior CC quando comparados àqueles sem RI

Ao compararmos o perfil alimentar dos grupos estudados se observou diferenças ($p < 0,05$) entre o folato dietético, piridoxina e metionina. Já é bem descrita na literatura a relação entre a deficiência destas vitaminas do complexo B (folato, cobalamina e piridoxina) e o aumento das concentrações séricas de Hcy, e a sua deficiência é responsável por aproximadamente dois terços de todos os casos de Hhcy, sendo o folato o micronutriente com maior impacto no metabolismo da Hcy, provavelmente devido ao seu papel como co-substrato na remetilação da Hcy à metionina (Ward *et al*, 2001; Selhub *et al*, 1999), e as concentrações de Hcy inversamente relacionados ao consumo de folato (Lucock *et al*, 2004). Como já esperado, as concentrações de Hcy plasmáticas foram maiores no grupo com SM, havendo diferenças entre os grupos estudados ($p < 0,05$). Desta forma, alguns estudos sugerem a relação entre a deficiência de folato e DCV, através da redução da remetilação da Hcy, que é um fator de risco independente para DCV (*Homocysteine Lowering with Folic Acid and*

Vitamins Disease, 2006; Lucock *et al*, 2004). Wald *et al* (2002), realizaram uma meta-análise e sugeriram relação causal entre Hcy e DCV, e que a redução da concentração de Hcy em 3 $\mu\text{mol/l}$ por meio da ingestão de ácido fólico reduziria o risco de doença cardíaca isquêmica, trombose venosa profunda e acidente vascular encefálico.

Em nosso estudo, se observou correlação entre o consumo de ácidos graxo e a homocisteinemia, tanto o AGPI ($p < 0,006$) quanto o AGMI ($p < 0,019$). Indivíduos com concentrações normais de Hcy consumiram maiores quantidades de AGPI ($p < 0,05$) e AGMI ($p < 0,05$) que aqueles com Hhcy. Corroborando os nossos resultados, estudos demonstraram uma associação inversa entre as concentrações plasmáticas de Hcy e o consumo de AGMI (Berstad *et al*, 2007) e AGPI da série n-3 (Berstad *et al*, 2007; Fontani *et al*, 2005).

Estudos recentes avaliaram os hábitos alimentares de indivíduos com SM e constataram que alimentos fritos e carnes estão diretamente associados com a presença da SM (Lutsey *et al*, 2008; Panagiotakos *et al*, 2007). Por outro lado, o consumo de peixes, vegetais e frutas mostraram-se inversamente associados com diversos marcadores clínicos que caracterizam a síndrome, como a CC, PA, TG e HDL-colesterol (Panagiotakos *et al*, 2007). Em nosso estudo, o grupo com SM mostrou consumo de proteína por quilograma de peso corporal superior (1,62 g/kg/peso), comparado com o grupo sem SM (0,78 g/kg/peso) ($p < 0,05$). Entretanto, de acordo com os dados demonstrados pela pirâmide alimentar de Philipi *et al* (1999) (Figuras 9 e 10), possivelmente o grupo das carnes esteja principalmente relacionado com as diferenças no teor de proteínas consumidas entre os grupos, uma vez que, o consumo do grupo das leguminosas no grupo sem SM, foi duas vezes maior e superior em relação ao grupo com SM, enquanto o consumo de laticínios foi igual entre os grupos.

Observa-se diferença entre os grupos estudados quanto ao consumo de fibras totais ($p < 0,05$) e solúveis ($p < 0,05$). O consumo de fibras totais foi aproximadamente duas vezes maior no grupo sem SM e o de fibras solúveis apresentou valores acima de duas vezes aqueles

observados nos indivíduos com SM. Da mesma forma, é provável que o teor aumentado de fibras dietéticas, tanto as totais quanto as solúveis, seja decorrente do consumo superior de alimentos do grupo das leguminosas e das frutas, caracterizados nos indivíduos sem SM. As fibras solúveis reduzem o tempo de trânsito intestinal e ajudam na diminuição das concentrações séricas de colesterol. Além disso, melhoram a tolerância à glicose, sendo responsáveis pela maioria dos benefícios cardiovasculares atribuídos às fibras alimentares. Já as fibras insolúveis não têm ação na colesterolemia, mas aumentam a saciedade, auxiliando na redução da ingestão energética. Dessa maneira, o aumento da ingestão de fibras alimentares pode promover a perda de peso e trazer benefícios diversos na saúde cardiovascular (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

Observou-se que, baseando-nos na pirâmide alimentar, o consumo de óleos e gorduras foi superior no grupo com SM ($2 \pm 1,8$ porções) que no sem SM ($1 \pm 2,29$ porção), embora estejam dentro dos valores sugeridos. O grupo com a SM também apresentou maior consumo, porém não significativo, de gordura saturada ($12,46 \pm 7,1g$) e menor consumo das gorduras monoinsaturada ($10,6 \pm 6,9g$) e polinsaturada ($5,52 \pm 7,4g$) que os indivíduos sem SM (saturada: $10,66 \pm 6,2g$; monoinsaturada: $9,68 \pm 4,0g$; polinsaturada: $4 \pm 1,3g$). Um estudo realizado na população nipo-brasileira demonstrou que o consumo de gordura total aumentou, enquanto que o consumo do AGPI linolêico reduziu a chance para a presença da SM (Freire, 2005). Além disso, o consumo superior das quantidades de fibras dietéticas, sobretudo as solúveis, pode atuar influenciando na redução das conseqüências negativas decorrentes ao alto consumo de gorduras saturadas. Este aspecto confirma a importante influência do consumo de fibras e redução do risco cardiovascular. Estudo recente comparando o risco cardiovascular em vegetarianos e onívoros, sugeriu que a alimentação onívora desbalanceada, com excesso de proteínas e gorduras de origem animal, pode estar relacionada com o aumento do risco cardiovascular. Além disso, os autores sugeriram que a mistura de arroz integral com

leguminosa (feijão, lentilha, ervilha, soja, grão de bico) oferece a quantidade de aminoácidos essenciais necessárias ao organismo, com a vantagem de reduzir a absorção de gordura saturada, além de propiciar quantidades adequadas de fibras da dieta (Teixeira *et al*, 2007). A importância da ingestão de grãos integrais como protetores para a SM foi confirmada em alguns estudos. Em indivíduos idosos, a ingestão diária de mais do que três porções de alimentos ricos em grãos integrais esteve associada à menor frequência da SM ao menor risco de mortalidade por doença cardiovascular (Sahyoun *et al*, 2006). Em outro estudo realizado na população iraniana, o consumo de grãos integrais foi negativamente associado com a presença de HAS, hipertrigliceridemia e SM (Esmailzadeh *et al*, 2005). No estudo *Framingham Offspring Cohort*, o maior consumo de alimentos ricos em fibras (particularmente de grãos integrais de cereais) foi negativamente associado com a RI e com a menor prevalência da SM. Também observada uma associação positiva entre o elevado consumo de carboidratos avaliado por meio do índice glicêmico dos alimentos (McKeown *et al*, 2004).

Em nosso estudo, o consumo percentual de carboidratos foi superior no grupo com SM comparado com o grupo sem SM. Observou-se que indivíduos com SM apresentaram maior consumo de carboidratos provenientes do grupo dos pães, cereais, raízes e tubérculos em relação ao controle e menor consumo no grupo das frutas e leguminosas, sugerindo-se que tanto o tipo de carboidrato proveniente da dieta, assim como suas combinações, possam estar diretamente associados com diferentes valores de índice glicêmico, os quais podem influenciar de maneira importante nas variações de glicemia pós-prandial, insulina plasmática e HOMA-IR. Corroborando esta hipótese, um estudo com 2834 indivíduos com SM investigou a relação entre o consumo de carboidrato, a RI e a prevalência da SM, e concluíram que o consumo de alimentos fonte como as frutas, legumes e cereais ricos em fibras estejam inversamente associados às concentrações de glicemia e diretamente associados

com o valor de HOMA-IR, sendo a prevalência da SM menor naqueles que consumiam maiores quantidades destes produtos quando comparados com aqueles que consumiam quantidades menores. Os autores também consideraram que indivíduos que consumiam dietas com maiores índices glicêmicos apresentavam 40% maiores chances de apresentarem SM (McKeown *et al*, 2004). Da mesma forma, Volek *et al* (2005 e 2004), em ampla revisão da literatura, sugeriram que dietas com relativa restrição de carboidratos poderiam acarretar na melhora de alguns parâmetros que caracterizam a SM, principalmente na redução das concentrações plasmáticas de insulina, peroxidação lipídica e redução da gordura abdominal. Samaha *et al* (2003), após o uso de dietas hipoglicídicas e hiperlipídicas por um período de seis meses, em 132 indivíduos obesos e com elevadas prevalências de DM e SM (39% e 43%, respectivamente), observaram melhora na sensibilidade à insulina e das concentrações plasmáticas de TG.

No nosso estudo, observamos que tanto os AGS quanto os AGMI são capazes de influenciar de forma significativa ($p < 0,05$) as concentrações séricas de insulina. Resultados semelhantes foram observados por El-Assaad *et al* (2003), os quais buscaram avaliar o efeito *in vitro* de diferentes AGL sobre as células beta pancreáticas, na presença ou ausência de elevadas concentrações de glicose, e observaram que entre os diabéticos tipo 2 havia menor número de células beta devido ao maior estímulo à apoptose, que pode ser induzida por elevadas concentrações de AGL e de glicose. Nesse estudo, observou-se que os AGL teriam diferentes efeitos sobre essas células em concentrações elevadas de glicose. O AGS palmítico e esteárico demonstraram maior toxicidade, o AGPI linoléico toxicidade moderada e o AGMI oléico pouco ou nenhum efeito tóxico. Segundo Vessby *et al* (2001) e Summers *et al* (2002), a sensibilidade à insulina é significativamente melhorada com dietas ricas em gorduras mono ou poliinsaturadas, em comparação àquelas ricas em saturadas.

É possível que no grupo com SM o tipo de carboidrato consumido seja de alto índice glicêmico, enquanto no grupo sem SM o elevado consumo de leguminosas possa ter participado para redução dos valores de carga glicêmica da refeição. Além disso, podemos considerar a hipótese de haver um consumo superior de fontes integrais no grupo sem a SM, uma vez que os cereais integrais possuem cinco vezes mais fibras que o volume similar em vegetais e 15-20 vezes mais fibras que as frutas, promovem sensação de saciedade e são alimentos com baixo índice glicêmico (Federmann *et al*, 1989).

Nosso estudo observou diferenças ($p < 0,05$) no consumo de magnésio entre os grupos, sendo maior no grupo sem SM ($359,45 \pm 141,88$ mg/dia) em relação aos indivíduos com SM ($238,18 \pm 87,57$ mg/dia). O magnésio participa de várias reações no metabolismo de carboidratos e, por isso, acredita-se que tenha papel importante na homeostase de glicose e ação insulínica, estando o baixo consumo e reduzidas concentrações plasmáticas de magnésio associadas com a presença da SM, RI e DM2 (Barbagallo *et al*, 2007). O magnésio é necessário para promover a utilização da glicose e na sinalização insulínica, sugerindo-se que ele possua a função de segundo mensageiro na ação da insulina, contribuindo, quando deficiente, para o aparecimento da RI (Takaya *et al*, 2004). A fim de investigar se a ingestão de magnésio influencia no risco de desenvolver DM2, foram avaliadas 39345 mulheres americanas com mais de 45 anos, que participaram do *Women's Health Study*. A elevada ingestão de magnésio reduziu o risco de desenvolver DM2, especialmente nas mulheres com excesso de peso. Os autores afirmaram que esses resultados foram semelhantes aos encontrados em estudos epidemiológicos americanos, como o *Nurses' Health Study*, *The Iowa Women's Health Study* e *Health Professionals Follow-up Study*. Os autores também analisaram a concentração de insulina de jejum de 349 mulheres, encontrando a associação inversa entre a ingestão de magnésio e as concentrações plasmáticas de insulina de jejum (Song *et al*, 2004; McKeown *et al*, 2004). Tais resultados evidenciam a importância de

consumir frutas, vegetais verde-escuros, grãos integrais e amêndoas, principais fontes de magnésio.

Entende-se de grande importância considerar que, o valor calórico total da dieta dos voluntários sem SM foi significativamente inferior, comparados com aqueles com SM. Da mesma forma, ao compararmos indivíduos com a SM, aqueles não resistentes apresentaram consumo de calorias/ dia inferior aos com RI, embora não significativa.

Outro micronutriente, o cromo, um mineral-traço essencial, vêm sendo relacionado com a RI. Ele participa ativamente do metabolismo de carboidratos, principalmente co-atuando com a insulina, melhorando a tolerância à glicose. Entretanto, a ação do cromo parece não se resumir à participação coadjuvante com a insulina. Este mineral parece inibir a enzima hepática hidroximetilglutaril-CoA-redutase, diminuindo a concentração plasmática de colesterol (Zima *et al.* 1998). Estudos recentes vêm demonstrando melhora da glicemia, tolerância à glicose e da RI, além da redução do acúmulo de gordura e TG hepáticos (Sreejayan *et al.*, 2008; Anderson *et al.*, 2008; Martin *et al.* 2006). Além disso, a utilização do picolinato de cromo juntamente com agentes hipoglicemiantes em diabéticos tipo 2 mostrou melhora na sensibilidade à insulina, controle glicêmico, além de atenuar do ganho ponderal e o acúmulo de gordura visceral, em relação ao grupo controle (Martin *et al.* 2006). No nosso estudo observou-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) no consumo de cromo entre os grupos. Os indivíduos sem SM apresentaram valores superiores ($238,79 \pm 83,99 \mu\text{g}/\text{dia}$), em relação ao grupo com SM ($15,55 \pm 2,70 \mu\text{g}/\text{dia}$). A deficiência do cromo nos países industrializados pode estar associada principalmente ao consumo de alimentos refinados, principalmente de açúcar, o qual agrava essa deficiência, pois além de apresentarem um teor muito baixo em cromo aumentam o consumo e as perdas do organismo. As principais fontes de cromo são o levedo de cerveja, cogumelos, aspargo, vinho, cerveja, ameixa e nozes, alimentos pouco consumidos em geral pela nossa população.

A CC é um parâmetro utilizado para definir o componente corporal que contribui para a incidência da SM (Reilly *et al*, 2003). A adiposidade central aumenta a quantidade de AGL, havendo correlação direta com a RI. Depósitos viscerais de TG possuem *turnover* mais acelerado que o de outras regiões, ou seja, maior atividade lipolítica, aumentando a oferta de AGL no sistema porta que estimulam a gliconeogênese, provocando exposição exacerbada dos tecidos hepáticos e extra-hepáticos aos AGL, contribuindo para elevar a glicemia, a insulinemia e a RI (Kissebah *et al*, 1982; Krotkiewski *et al*, 1983). Esse quadro é altamente aterogênico e causa aumento no risco de DCV nos indivíduos com RI aumentada. Um estudo realizado em um hospital universitário da cidade do Rio de Janeiro, 84% dos pacientes atendidos apresentou CC superior aos limites estabelecidos pelo NCEP/ATPIII (2001) (Santos *et al*, 2003). Em nosso estudo, a frequência de indivíduos com CC acima dos valores preconizados pelo NCEP/ATPIII (2001), foi de 90%, e observada em 94% das mulheres e 83% dos homens. Quanto ao perfil lipídico, todos os valores, com exceção do HDL-colesterol, foram significativamente maiores no grupo com SM, e a hipertrigliceridemia aumentou em 12 vezes as chances de desenvolver RI, fatores que aumentam ainda mais o risco cardiovascular do grupo estudado. Observamos diferença significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de insulina entre os grupos estudados, assim como entre os sexos, constatando maiores concentrações de insulina entre homens ($p < 0,05$) que em mulheres.

Dados do *Brazilian National Strategy for the Reorganization of Care for Arterial Hypertension and Diabetes Mellitus* (2001) apontaram a predominância das doenças cardiovasculares como principal causa de mortalidade no Brasil, correspondendo a 27% do total de óbitos registrados no ano de 2000. Um estudo desenvolvido no estado de São Paulo constatou prevalência de 43,8% de HAS, a qual aumentou de 23% no grupo com sobrepeso (IMC 25-29,9 kg/m²) para 67,1% em pacientes com obesidade grau 3 (IMC > 40 kg/m²) (Carneiro *et al*, 2003). No nosso estudo, a PA mostrou-se positivamente associada com a RI.

Recentemente, Salaroli *et al* (2007), utilizando os critérios preconizados pelo NCEP/ATPIII para o diagnóstico da SM, evidenciaram importante contribuição deste parâmetro quando observou que, em ambos os sexos, a HAS foi mais freqüente nos indivíduos com SM, comparado com os outros componentes analisados.

Na coorte do *Insulin Resistance Atherosclerosis Study* - IRAS, que teve por objetivo verificar a incidência de SM em indivíduos adultos não-diabéticos, os autores demonstraram que a CC foi a variável com maior poder de predição para o desenvolvimento da SM. Neste estudo, se observou a diferença significativa dos valores de CC entre os grupos estudados, lembrando a associação da CC com o aumento da quantidade de AGL liberados na circulação portal e sua correlação direta com a RI, a qual atua como fator coadjuvante na gênese da HAS. A hiperinsulinemia ativa o sistema nervoso central aumentando a descarga adrenérgica, promovendo a vasoconstrição da musculatura esquelética (Ribeiro Filho *et al*, 2006). Além disso, no nosso estudo, o consumo excessivo de sódio intrínseco por ambos os grupos, principalmente nos indivíduos com SM (185,33% acima do preconizado pelo *Institute of Medicine*), contribui para o agravamento deste quadro, uma vez que em estados de hiperinsulinemia há aumento da reabsorção renal de sódio. Assim, de maneira interligada, tanto a hiperinsulinemia quanto o estado de liberação adrenérgica irão promover estímulos desencadeadores de reabsorção de sódio e, conseqüentemente retenção hídrica, contribuindo para o aumento da volemia e dos níveis pressóricos (Hall *et al*, 1997).

Diversos trabalhos vêm tentando demonstrar uma associação positiva entre as concentrações de insulina e Hcy plasmática (Bosbaz *et al*, 2008; Rhee *et al*, 2007; Garcin *et al*, 2006; Bjorck *et al*, 2006; Hajer *et al*, 2006; Meigs *et al*, 2001), entretanto os resultados ainda são contraditórios. Meigs *et al* (2001) sugerem que a Hcy possa promover um quadro de hiperinsulinemia compensatória, o que poderia alterar ainda mais o metabolismo de Hcy, que se acumularia no plasma. Bjorck *et al* (2006), demonstraram associação entre as

concentrações de insulina e Hcy independente do sexo, sugerindo possível relação entre Hcy e a SM. Nosso estudo demonstrou diferença significativa entre as médias das concentrações de Hcy nos diferentes grupos estudados. Em 2005, Guven *et al*, utilizando o critério do NCEP/ATPIII para caracterizar a SM, obtiveram resultados semelhantes e sugeriram aumento do risco cardiovascular para indivíduos com SM quando comparados com indivíduos saudáveis. As concentrações médias de folato plasmático observadas por este estudo estiveram abaixo das encontradas no nosso estudo (11,8nmol/L e 14,25nmol/L), fator que pode justificar a diferença dos valores médios de Hcy (24,2nmol/L e 9,59nmol/L). No nosso estudo, aqueles que apresentavam baixas concentrações de folato plasmático apresentaram 13,7 vezes maiores chances de desenvolver Hhcy em relação àqueles com concentrações adequadas e, apesar de não haver diferença significativa, o grupo com a SM apresentou valores de folato em eritrócitos abaixo do preconizado (395 – 1585 nmol/L) e inferiores àqueles indivíduos sem SM (SM = 350,73 nmol/L; Sem SM = 426,42 nmol/L).

7 CONCLUSÕES

- . Os fatores dietéticos associaram-se aos parâmetros para SM, sendo importante para prevenção e controle da SM.
- . O conteúdo de AGPI e AGMI da dieta se associou com a redução das concentrações séricas de Hcy, e possivelmente seu consumo acarretará em benefícios à saúde cardiovascular.
- . Foi observado que os indivíduos com SM e não resistentes à insulina apresentaram maior consumo de AGMI.
- . Indivíduos com concentrações adequadas de Hcy plasmática apresentaram maior consumo de AGPI e AGMI.

- . O grupo com SM apresentou menor consumo de fibras totais e solúveis que o grupo sem SM ($p < 0,000$).
- . Os indivíduos com RI apresentaram maiores IMC, quando comparados com os não resistentes.
- . Os indivíduos com SM apresentaram maior consumo energético total (VET) ($p = 0,05$) e proteínas ($p = 0,02$) que os sem SM.
- . Os indivíduos com SM apresentaram maiores concentrações de Hcy ($p = 0,001$).
- . A homocisteinemia não se relacionou com os fatores de risco para a SM.
- . Indivíduos com concentrações inadequadas de folato plasmático, assim como consumo reduzido de cobalamina dietética, apresentaram maiores chances de apresentar Hhcy ($p < 0,001$).
- . A RI correlacionou-se com o IMC ($p = 0,05$), pressão arterial sistólica ($p = 0,032$) e com os ácidos graxos monoinsaturados ($p = 0,026$).
- . Indivíduos com concentrações inadequadas de triglicerídeos apresentaram maiores chances de apresentar RI ($p < 0,001$).

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, Bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES. The common ppargamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet.* 26(1):76-80, 2000.
2. American Diabetes Association. Conference development on insulin resistance. *Diabetes Care*, 21: 310 – 314, 1998.
3. Anderson RA. Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity. *Proc Nutr Soc.* 67(1):48-53, 2008.
4. Arai H, Yamamoto A, Matsuzawa Y, Saito Y, Yamada N, Oikawa S, Mabuchi H, Teramoto T, Sasaki J, Nakaya N, Itakura H, Ishikawa Y, Ouchi Y, Horibe H, Shirahashi N, Kita T. Prevalence of metabolic syndrome in the general Japanese population in 2000. *J Atheroscler Thromb.* 13(4): 202-208, 2006.

5. Barbagallo M, Dominguez LJ. Magnesium metabolism in type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome and insulin resistance. *Arch Biochem Biophys.* 458(1):40-47, 2007.
6. Barroso SG, Abreu VG, Francischetti EA. A participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica. Um conceito emergente. *Arq. Brás. Cardiol.* 78:318-630, 2000.
7. Berstad P, Konstantinova SV, Refsum H, Vollset SE, Tell GS, Ueland PM, Drevon CA, Ursin G. Dietary fat and plasma total homocysteine concentrations in 2 adult age groups: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr.* 85(6):1446, 2007.
8. Bjorck J, Hellgren M, Rastam L, Lindblad U. Associations between serum insulin and homocysteine in a Swedish population-a potential link between the metabolic syndrome and hyperhomocysteinemia: the Skaraborg project. *Metabolism.* 55(8):1007-1013, 2006.
9. Bonora E; Targher G; Alberiche M; Bonadonna RC; Saggiani F; Zenere MB; et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care.*23(1):57-63, 2000.
10. Bozbaş H, Yildirim A, Pirat B, Eroğlu S, Korkmaz ME, Atar I, Ulus T, Aydinalp A, Ozin B, Müderrisoğlu H. Increased lipoprotein(a) in metabolic syndrome: is it a contributing factor to premature atherosclerosis? *Anadolu Kardiyol Derg.* 8(2):111-115, 2008.
11. Brazilian National Strategy for the Reorganization of Care for Arterial Hypertension and Diabetes Mellitus. *Rev Saude Publica.* 35(6):585-588, 2001.
12. Brude IR, Finstad HS, Seljeflot I, Drevon CA, Solvoll K, Sandstad B, Hjermann I, Arnesen H, and Nenseter MS. Plasma homocysteine concentration related to diet, endothelial function and mononuclear cell gene expression among male hyperlipidaemic smokers. *Eur J Clin Invest.* 29:100-108, 1999.
13. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 33(2):351-375, 2004.
14. Carneiro G; Faria Alessandra N.; Ribeiro FFF; Guimarães A; Lerário D; Ferreira SRG. et al. Influência da distribuição da gordura corporal sobre a prevalência de hipertensão arterial e outros fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos. *Rev. Assoc. Med. Bras.*49(3):306-311, 2003.
15. Chiappe de Cingolani GE, Caldiz CI. Insulin resistance and GLUT-4 glucose transporter in adipocytes from hypertensive rats. *Metabolism.* 53:382-387, 2004.
16. Cole SA, Mitchell BD, Hsueh WC, Pineda P, Beamer BA, Shuldiner AR, Comuzzie AG, Blangero J, Hixson JE. The Pro12Ala variant of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPAR-gamma2) is associated with measures of obesity in Mexican Americans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 24(4):522-524, 2000.

17. Corry DB, Tuck ML. Obesity, hypertension, and sympathetic nervous system activity. *Curr Hypertens Rep.* 1:119-126, 1999.
18. Cui R, Moriyama Y, Koike KA, Date C, Kikuchi S, Tamakoshi A, Iso H; JACC Study group. Serum total homocysteine concentrations and risk of mortality from stroke and coronary heart disease in Japanese: The JACC study. *Atherosclerosis.* 198(2):412-418, 2008.
19. Deeb SS; Fajas L; Nemoto M; Pihlajamaki J; Mykkanen L; Kuusisto, J; Laakso, M; Fujimoto, W; Auwerx, J. A Pro12Ala substitution in ppargamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20:284-287, 1998.
20. Defronzo RA, Goldberg M, Agus ZS. The effects of glucose and insulin on renal electrolyte transport. *J Clin Invest.* 58:83-90, 1976.
21. Defronzo RA. The effect of insulin on renal sodium metabolism. *Diabetologia.* 21:165-171, 1981.
22. Defronzo, R; Tobin, J; Andrés, R; Glucose Clamp technique: A method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 237: E214-23, 1979.
23. Defronzo RA; Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care,* 14(3):173-194, 1991.
24. Dengel DR; Goldberg AP; Mayuga, RS; Kairis, GM; Weir, MR. Insulin Resistance, Elevated Glomerular Filtration Fraction, and Renal Injury. *Hypertension.* 28:127-132, 1996.
25. Dubois M, Pattou F, Kerr-Conte J, Gmyr V, Vanderwalle B, Desreumaux P, Auwerx J, Schoonjans K, Lefebvre J: Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia.* 43:1165–1169, 2000.
26. Durmin JV, Womersly J. Body fat assessed from total total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr.* 32: 77 – 94, 1974.
27. El-Assaad W, Buteau J, Peyot M, Nolan C, Roduit R, Harby S, et al. Saturated fatty acids synergize with elevated glucose to cause pancreatic beta-cell death. *Endocrinology.* 144(9):4154-63, 2003.
28. Esmailzadeh A, Mirmiran P, Azizi F. Whole-grain consumption and the metabolic syndrome: a favorable association in Tehranian adults. *Eur J Clin Nutr.* 9:353-62, 2005.
29. Federmann S. Prevenção das principais causas de morbidade e mortalidade. *Ver Brás Clin Terap.* 25(7): 273-88, 1989.

30. Fonseca V, Dicker-Brown A, Ranganathan S, Song W, Barnard RJ, Fink L, Kern PA. Effects of a high-fat-sucrose diet on enzymes in homocysteine metabolism in the rat. *Metabolism*. 49(6):736-41, 2000.
31. Fontani G, Corradeschi F, Felici A, Alfatti F, Bugarini R, Fiaschi AI, Cerretani D, Montorfano G, Rizzo AM, Berra B. Blood profiles, body fat and mood state in the healthy subjects on different diets supplemented with Omega-3 polynunsaturated fatty acids. *Eur J Clin Invest*. 35(8):499-507, 2005.
32. Ford ES; Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the Metabolic Syndrome among US adults. Findings from the third national health and nutrition examination survey. *JAMA*. 287:356-359, 2002.
33. Francis GA; Fayard E; Picard F; Auwerx J. Nuclear Receptors and the control of metabolism. *Annual Review of Physiology*. 65:261-311, 2003.
34. Freire RD, Cardoso MA, Gimeno SGA, Ferreira SRG. Dietary fat is associated with metabolic syndrome in Japanese Brazilians. *Diabetes Care* 28:1779-1785, 2005.
35. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499 – 502, 1972.
36. Fritsche A, Madaus A, Tschritter O, Ozeker M, Wulle EL, Machicao F, Häring H, Stumvoll M. Polymorphism of pro12ala in peroxisome proliferator activated receptor gamma 2 (ppagamma2): beta cell function and insulin sensitivity. *Dtsch Med Wochenschr*.126(20):580-584, 2001.
37. Garcin JM, Cremades S, Garcia-Hejl C, Bordier L, Dupuy O, Mayaudon H, Bauduceau B. Is hyperhomocysteinemia an additional risk factor of the metabolic syndrome? *Metab Syndr Relat Disord*. 4(3):185-195, 2006.
38. Garcin JM, Mayaudon H, Bauduceau B, Abouzahir A, Burnat P, Gardet V, Bordier L, Dupuy O, Baigts F; Groupe EPIMIL. Is mild hyperhomocysteinemia an additional risk factor of the metabolic syndrome? *Rev Med Interne*. 26(9):695-702, 2005.
39. Geloneze B.; Geloneze S.R.; Ermetice M.N.; Repetto E.M.; Tambascia M.A. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Research and Clinical Practice* 72(2):219-220 2005.
40. Gillum R. Distribution of serum total homocysteine and its association with diabetes and cardiovascular risk factors of the insulin resistance syndrome in Mexican American men: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Nutr J*. 5(2):6, 2003.
41. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Atherosclerosis*. 139(1):197-198, 1998.

42. Giorgino F, Laviola L, Eriksson JW. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies. *Acta Physiol Scand* 183;13-30, 2005.
43. Groop L. Genetics of the Metabolic Syndrome. *British Journal of Nutrition*. 83, suppl.1;S39-S48, 2000.
44. Grundy S.M. et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. *Circulation*. 25;112(17):2735-2752, 2005.
45. Guba SC, Fonseca V, Fink LM. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 25(3):291-309, 1999.
46. Gurnell M. et al. The Metabolic Syndrome: Peroxisome Proliferator- γ Activated Receptor and Its Therapeutic Modulation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 88(6);2412–2421, 2003.
47. Gutcho, S., Mansbach, L. Simultaneous radioassay of serum vitamin B12 and folic acid. *Clinical Chemistry*. 23(9);1609 1614, 1977.
48. Guven A, Inanc F, Kilinc M, Ekerbicer H. Plasma homocysteine and lipoprotein (a) levels in Turkish patients with Metabolic Syndrome. *Heart Vessels* 20: 290 – 295, 2005.
49. Haffner S. Relationship of Metabolic Risk Factors and Development of Cardiovascular Disease and Diabetes. *Obesity*.14;121S-127S, 2006.
50. Haffner S; Tagtmeyer H. Epidemic Obesity and Metabolic Syndrome. *Circulation*. 108;1541-1545, 2003.
51. Hajer GR, Van Der Graaf Y, Olijhoek JK, Verhaar MC, Visseren FL; SMART Study Group. Levels of homocysteine are increased in metabolic syndrome patients but are not associated with an increased cardiovascular risk, in contrast to patients without the metabolic syndrome. *Heart*. 93(2):216-220, 2007.
52. Hall JE. Mechanism of abnormal renal sodium handling in obese hypertension. *Am J Hypertens*. 10:49S-55S, 1997.
53. Hara K; Okada T; Tobe K; Yasuda Y; Mori Y et al. The Pro12Ala polymorphism in PPAR γ 2 may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 271; 212-216, 2000.
54. Heilberg IP. Polimorfismos genéticos: Implicações Clínicas. In: Schor, N; Boim, MA; Dos Santos, OFP, *Bases Moleculares da Biologia, da Genética e da Farmacologia*, São Paulo. Atheneu. 382p, 2003.
55. Hernández del Rey R, Armario P, Martín-Baranera M, Castellanos P. Clustering of cardiovascular risk factors and prevalence of metabolic syndrome in subjects with resistant hypertension. *Med Clin (Barc)*. 15;127(7):241-245, 2006.

56. Homocysteine Lowering Trialist Group: Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements. Meta-analysis of randomized trials. *Br Med J.* 316: 894-898, 1998.
57. Homocysteine Lowering with Folic Acid and Vitamins Disease. The heartoutcomes Prevention Evaluation HOPE-2 Investigators. *N Engl J Med.* 345: 1567-77, 2006.
58. Horik, M; Ikegami, H; Fujisawa, T; Kawabata, Y; Ono, M; Nishino, M; Shimamoto, K; Ogihara, T. Association of Pro12Ala polymorphism of PPAR γ gene with insulin resistance and related diseases. *Diabetes Research and Clinical Pratic* 66S:S63-S67, 2004.
59. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 77 (supl.III), 2001.
60. Ikeda, Y. Et al. Clinical significance of the insulin resistance index as assessed by homeostasis model assessment. *Endocr J.* 48(1);81-86, 2001.
61. Inoue I, Noji S, Awata T, Takahashi K, Nakajima T, Sonoda M, Komoda T, and Katayama S. Bezafibrate has an antioxidant effect: peroxisome proliferator-activated receptor is associated with Cu²⁺,Zn²⁺-superoxide dismutase in the liver. *Life Sci* 63: 135-144, 1998.
62. Jacob S, Stumvoll M, Becker R, Koch M, Nielsen M, et al. The ppargamma2 polymorphism Pro12Ala is associated with better insulin sensitivity in the offspring of type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 32:413–416, 2000.
63. Jacobs RL, House JD, Brosnan ME, Brosnan JT. Effects of streptozotocin-induced diabetes and of insulin treatment on homocysteine metabolism in the rat. *Diabetes.* 47(12):1967-1970, 1998.
64. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr.* 73(3):613-621, 2001.
65. Jermendy G, Hídvégi T, Hetyési K. Plasma homocysteine levels in hyperinsulinemic patients. *Orv Hetil.* 11;142(6):277-281, 2001.
66. Kao WH, Coresh J, Shuldiner AR, Boerwinkle E, Bray MS, Brancati FL; Atherosclerosis Risk in Communities Study. Pro12Ala of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene is associated with lower serum insulin levels in nonobese African Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes.* 52(6);1568-1572, 2003.
67. Kersten S. Peroxisome proliferator activated receptors and obesity. *European Journal of Pharmacology.*440;223– 234, 2002.
68. Kissebah A, Vydellingum N, Murray R, Evans D, Hartz A, Kalkhoff RK, et al. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 54;254-260, 1982.

69. Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Mislanova C, Valachovicova M, Paukova V, Spustova V. Nutritional determinants of plasma homocysteine. *Bratisl Lek Listy*. 108(12):510-515, 2007.
70. Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, Smith U. Impact of obesity on the metabolism in men and women: importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 72;1150-1162, 1983.
71. Lehtovirta M; Kario J; Forsblom C; Eriksson J; Tuomilehto J; Groop L. Insulin sensitivity and insulin secretion in monozygotic and dizygotic twins. *Diabetologia*. 43;285-293, 2000.
72. Lentz, S.R. Minireview: homocysteine and vascular dysfunction. *Life Sciences*, 61(13), p. 1205, 1997.
73. Lerario DDG; Gimeno SG; Franco LJ; Iunes M; Ferreira SRG. Excesso de peso e gordura abdominal para a síndrome metabólica em nipo-brasileiros. *Rev. Saúde Pública* 36(1);4-11, 2002.
74. Li L, Cheng LX, Nsenga R, He MA, Wu TC. Association between Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 and myocardial infarction in the Chinese Han population. *Clin Cardiol*. 29(7):300-304, 2006.
75. Ling Q and Hajjar KA. Inhibition of endothelial cell thromboresistance by homocysteine. *J Nutr* 130:373S–376S, 2000.
76. Liu Y. et al. Ligands to peroxisome proliferator-activated receptors as therapeutic options for metabolic syndrome. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*.2(2);2005.
77. Lucock M. Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ*. 328; 211-214, 2004.
78. Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation*. 12;117(6):754-761, 2008.
79. Martell N, Rodriguez-Cerrillo M, Grobbee DE, López-Eady MD, Fernández-Pinilla C, Avila M, Fernández-Cruz A, Luque M. High prevalence of secondary hypertension and insulin resistance in patients with refractory hypertension. *Blood Press*. 12(3):149-154, 2003.
80. Martin J, Wang ZQ, Zhang XH, Wachtel D, Volaufova J, Matthews DE, Cefalu WT. Chromium picolinate supplementation attenuates body weight gain and increases insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 29(8):1826-1832, 2006.
81. McCully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives. *Clin Chem Lab Med*. 43(10):980-986, 2005.

82. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol.*56(1):111-128, 1969.
83. McGowan MW, Artis JD, Straudberg DR, Zak B. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 29: 538 – 542, 1983.
84. Mckeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PW, Jacques PF Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care.* 27(2):538-546, 2004.
85. Medina-Gomez G. et al. The Link Between Nutritional Status and Insulin Sensitivity Is Dependent on the Adipocyte-Specific Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Isoform *Diabetes.* 54:1706-1716, 2005.
86. Meigs J, Jacques P, Selhub J, Singer D, Nathan D, Rifai N, et al. Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome: the framingham offspring study. *Diabetes Care.* 24(8):1403-1410, 2001.
87. Meirhaeghe A. et al. Impact of genetic variation of ppar γ in humans. *Molecular Genetics and Metabolism.* 83; 93–102, 2004.
88. Modan M, Halkin H & Almog S. Hyperinsulinemia, a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *Journal of Clinical Investigation,* 75: 809-817, 1985.
89. Mori H; Ikegami H; Kawaguchi Y; Seino S; Yokoi N. et al. The Pro12Ala substitution in ppar γ is associated with resistance to development of diabetes in the general population. *Diabetes* 50; 891-894, 2001.
90. Mujumdar VS, Tummalapalli CM, Aru GM, Tyagi SC. Mechanism of constrictive vascular remodeling by homocysteine: role of PPAR. *Am J Physiol Cell Physiol.* 282(5):C1009-1015, 2002.
91. Muller YL; Bogardus C; Beamer BA; Shuldiner AR; Baier LJ. A functional variant in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 promoter is associated with predictors of obesity and type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes.* 52;1864-1871, 2003.
92. Mullis KB; Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.*155; 335-350, 1987.
93. Murthy SN, Obregon DF, Chattergoon NN, Fonseca NA, Mondal D, Dunne JB, Diez JG, Jeter JR Jr, Kadowitz PJ, Agrawal KC, mcnamara DB, and Fonseca VA. Rosiglitazone reduces serum homocysteine levels, smooth muscle proliferation, and intimal hyperplasia in Sprague-Dawley rats fed a high methionine diet. *Metabolism.* 54: 645–652, 2005.
94. National cholesterol education program (NCEP). *The Journal of the American Medical Association.* 285(19);2486-2497, 2001.

95. Nerbass FB, Draibe SA, Feiten SF, Chiarello PG, Vannucchi H, Cuppari L. Homocysteine and its determinants in nondialyzed chronic kidney disease patients. *J Am Diet Assoc.* 106(2):267-270, 2006.
96. Neves MF, Endemann D, Amiri F, Viridis A, Pu Q, Rozen R, Schiffrin EL. Small artery mechanics in hyperhomocysteinemic mice: effects of angiotensin II. *J Hypertens.* 22(5):959-966, 2004.
97. Nygard O. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 337: 230-236, 1997.
98. Oliveira EP; Souza MLA; Lima MDA. Prevalência de síndrome metabólica em uma área rural do semi-árido baiano. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 50(3), 2006.
99. Omenn GS, Beresford SAA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease – B vitamins and homocysteine. *Circulation.* 97: 421-424, 1998.
100. Oron-Herman M; Rosenthal T; Sela BA. Hiperhomocysteinemia as a component of syndrome X. *Metabolism.*52(11);1491-1495, 2003.
101. Oron-Herman M; Sela BA; Rosenthal, T. Risk reduction therapy for syndrome X: comparison of several treatments. *AJH.* 18:372-378, 2005.
102. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas Y, Stefanadis C. The association between food patterns and the metabolic syndrome using principal components analysis: The ATTICA Study. *J Am Diet Assoc.* 107(6):979-987, 2007.
103. Paula Túlio Bráulio Cantalice de et al. Efeitos dos contraceptivos hormonais orais de baixa dosagem estrogênica nas taxas de folato intra-eritrocitário. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 25(7);475-479, 2003.
104. Peng Y, Liu H, Liu F, Wang H, Liu Y, Duan S. Inhibitory effect of PPAR-gamma activator on IL-6 and mpeges protein expression in PBMC induced by homocysteine. *Hemodial Int.* 9 (Suppl 1):S15-20, 2005.
105. Pereira LO, Francischi RP, Lancha Jr. AH. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab,* 47(2);111-127, 2003.
106. Philippi ST, Latterza AR, Cruz ATR, Ribeiro LC. Adapted food pyramid: a guide for a right food choice. *Rev Nutr,* 12:65-80, 1999.
107. Pihlajamäki J; Vanhala M; Vanhala P; Laakso M. The Pro12Ala polymorphism of the PPAR α gene regulates weight from birth to adulthood. *Obesity Research* 12(2):187-190, 2004.
108. Potenza MA, Marasciulo FL, Chieppa DM, Brigiani GS, Formoso G, Quon MJ, et al. Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289:H813-22, 2005.

109. Poulsen P; Andersen G; Fenger M; Hansen T; Echwald SM; Volund A; Beck-Nielsen H; Pedersen O; Vaag A. Impact of two common polymorphisms in the ppargamma gene on glucose tolerance and plasma insulin profiles in monozygotic and dizygotic twins: thrifty genotype, thrifty phenotype, or both? *Diabetes* 52;194-198, 2003.
110. Pousada JM, Britto MM, Cruz T, Lima Mde L, Lessa I, Lemaire DC, Carvalho RH, Martinez-Larrad MT, Torres EC, Serrano-Rios M. The metabolic syndrome in Spanish migrants to Brazil: unexpected results. *Diabetes Res Clin Pract.* 72(1):75-80, 2006.
111. Reaven G.M. Banting lecture: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595 – 1606, 1988.
112. Reilly M.P; Rader D.J. The Metabolic Syndrome. More than the sum of its parts? *Circulation.* 108;1546-1551, 2003.
113. Rhee EJ, Hwang ST, Lee WY, Yoon JH, Kim BJ, Kim BS, Kang JH, Lee MH, Park JR, Sung KC. Relationship between metabolic syndrome categorized by newly recommended by International Diabetes Federation criteria with plasma homocysteine concentration. *Endocr J.* 54(6):995-1002, 2007.
114. Rhee EJ; Oh KW; Lee WY; Kim SY; Oh ES; Baek KH; Kang MI; Kim SW. Effects of two common polymorphisms of peroxisome proliferator-activated receptor- α gene on metabolic syndrome. *Arch Méd Res* 37:86-94, 2006.
115. Ribeiro-Filho FF. et al . Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 50(2), 2006.
116. Richmond W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. And its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 19; 1350 – 1356, 1973.
117. Rodilla E, García L, Merino C, Costa JA, González C, Pascual JM. Impact of metabolic syndrome in the control of blood pressure and dyslipemia. *Med Clin (Barc).*123(16):601-605, 2004.
118. Rosado EL, Bressan J, Hernández JA, Martins MF, Cecon PR. Effect of diet and PPARgamma2 and beta2-adrenergic receptor genes on energy metabolism and body composition in obese women. *Nutr Hosp.* 21(3):317-31, 2006.
119. Rosolová H, Simon J, Mayer O Jr, Racek J, Dierzé T, Jacobsen DW. Unexpected inverse relationship between insulin resistance and serum homocysteine in healthy subjects. *Physiol Res.*51(1):93-98, 2002.
120. Sahyoun NR, Jacques PF, Zhang XL, Juan W, Mckeown MN. Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. *Am J Clin Nutr.* 83:124-131, 2006.

121. Salaroli LB, Barbosa GC, Mill JG, Molina MC. Prevalence of metabolic syndrome in population-based study, Vitória, ES-Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 51(7):1143-1152, 2007.
122. Samaha F, Iqbal N, Seshadri P, Chicano K, Daily D, mcgrory J, et al. A low carbohydrate as compared with a low fat diet in severe obesity. *N Engl J Med.* 348 (21): 2074-2081, 2003.
123. Santos CR, Portella ES, Avila SS, Soares EA. Identificação da síndrome metabólica em diabéticos tipo dois atendidos em Hospital Universitário do Rio de Janeiro. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 13(2 Edição Especial):98, 2003.
124. Savage D.B. et al. Human metabolic syndrome resulting from dominant-negative mutations in the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Diabetes.* 52:910-917, 2003.
125. Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Bowman BA, Gunter EW, Wright JD, Johnson CL. Serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann Intern Med.* 7;131(5):331-339, 1999.
126. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 19:217-46, 1999.
127. Setola E; Monti LD et al. Insulin resistance and endothelial function are improved after folate and vitamin B12 therapy in patients with metabolic syndrome: relationship between homocysteine levels and hyperinsulinemia. *European Journal of Endocrinology.* 151; 483–489, 2004.
128. Sharma S, Sowjanya A, Kumari M, Suryaprakash R, Cynthia G, Suresh J, Chakrabarti R. Biochemical mechanism of insulin sensitization, lipid modulation and anti-atherogenic potential of PPAR alpha/gamma dual agonist: Ragaglitazar. *Life Sci.* 23;80(3):235-244, 2006.
129. Shimidt MI; Duncan BB; Watson R; Sharrett AR; Brancati FL; Heiss G. A metabolic syndrome in whites and African-Americans. The Atherosclerosis Risk in Communities baseline study. *Diabetes Care.* 19;414 – 418, 1996.
130. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Meabólica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 84(supl. 1);1-28, 2005.
131. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol.* 77(Suppl 3): 1-48, 2001.
132. Sociedade Brasileira de Diabetes. Atualização Brasileira sobre Diabetes. Rio de Janeiro: Diagraphic, 2006. 140p.

133. Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S. A prospective study of red meat consumption and type 2 diabetes in middle-aged and elderly women: the women's health study. *Diabetes Care*. 27(9):2108-2115, 2004.
134. Sreejayan N, Dong F, Kandadi MR, Yang X, Ren J. Chromium Alleviates Glucose Intolerance, Insulin Resistance, and Hepatic ER Stress in Obese Mice. *Obesity (Silver Spring)*.16(6):1331-1337, 2008.
135. Stedman. Dicionário Médico. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 27a ed, 2003. p.1263.
136. Stefan N, Fritsche A, Häring H, Stumvoll M. Effect of experimental elevation of free fatty acids on insulin secretion and insulin sensitivity in healthy carriers of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator--activated receptor-gamma2 gene. *Diabetes*.50(5):1143-1148, 2001.
137. Stefanski A, Majkowska L, Ciechanowicz A, Frankow M, Safranow K, Parczewski M, Moleda P, Pilarska K. Association between the Pro12Ala variant of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene and increased 24-h diastolic blood pressure in obese patients with type II diabetes. *J Hum Hypertens*.20(9):684-692, 2006.
138. Stumvoll M, Wahl HG, Löblein K, Becker R, Machicao F, et al. The Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator activated receptor g2 gene is associated with increased antilipolytic insulin sensitivity. *Diabetes* 50:876–881, 2001.
139. Summers L, Fielding B, Bradshaw H, Ilic V, Beyesen C, Clark M, et al. Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity. *Diabetologia*. 45(3):369-377, 2002.
140. Takaya J, Higashino H, Kobayashi Y. Intracellular magnesium and insulin resistance. *Magnes Res*. 17(2):126-136, 2004.
141. Tavares V, Hirata RD, Rodrigues AC, Monte O, Salles JE, Scalissi N, Speranza AC, Hirata MH. Association between pro12ala polymorphism of the ppar-gamma2 gene and insulin sensitivity in brazilian patients with type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 7(5);605-611, 2005.
142. Teixeira RCMA, Molina MCB, Zandonade E, Mill JG. Risco cardiovascular em vegetarianos e onívoros: um estudo comparativo. *Arq Brás Cardiol*. 89(4): 237-244, 2007.
143. Tenenbaum A.; Motro M.; Fisman E.Z. Dual and pan-peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) co-agonism: the bezafibrate lessons. *Cardiovascular Diabetology*. 4(14), 2005.
144. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, Lee ME. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 5;91(14):6369-6373, 1994.

145. Turner R; Holman RR; Matthews D; Hockaday TR; Peto J; Insulin deficiency and insulin resistance interaction in diabetes: Estimation of their relative contribution by feed-back analysis from basal plasma insulin and glucose concentration in man. *Metabolism*. 28;1086-1096, 1979.
146. Tyagi SC. Homocysteine redox receptor and regulation of extracellular matrix components in vascular cells. *Am J Physiol*. 274(2 Pt 1):C396-405, 1998.
147. Ubbink JB; Vermaak WJ; Biissbort S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *Journal of Chromatography*.565;441, 1991.
148. Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, Pigazzi A, Keaney JF Jr, Loscalzo J. Stimulation of endothelial nitric oxide production by homocyst(e)ine. *Atherosclerosis*. 25;132(2):177-185, 1997.
149. Vessby B, Unsitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellesse A, Tapsell L, et al. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: the KANWU study. *Diabetologia*. 44(3):312-319, 2001.
150. Vidal-Puig A.J. et al. Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gene Expression in Human Tissues: Effects of Obesity, Weight Loss, and Regulation by Insulin and Glucocorticoids. *J. Clin. Invest*. 99;2416-2422, 1997.
151. Volek JS, Feinman RD. Carbohydrate restriction improves the features of Metabolic Syndrome. *Metabolic Syndrome may be defined by the response to carbohydrate restriction*. *Nutr Metab (Lond)*. 16;2:31, 2005.
152. Wagenknecht LE, Mayer EJ, Rewers M, Haffner S, Selby J, Borok GM, Henkin L, Howard G, Savage PJ, Saad MF, et al. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS), Objectives, design, and recruitment results. *Annals of Epidemiology*, 5(6):464-472, 1995.
153. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ*. 325: 1202, 2002.
154. Walsh PS; Metzger DA; Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4);506 – 513, 1991.
155. Ward M. Homocysteine, folate, and cardiovascular disease. *Int J Vitam Nutr Res*. 71(3):173-178, 2001.
156. Watson, JD; Hopkins, NH et al. *Molecular Biology of the gene*, 4th Ed., 1987. The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA.
157. Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Chen Z, Curtis Ellison R, Eckfeldt JH, Rozen R. The 1298A-->C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis*. 156(2):409-415, 2001.

158. Werman A, Hollenberg A, Solanes G, Bjorbaek C, Vidal-Puig AJ, Flier JS. Ligand-independent activation domain in the N terminus of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma). Differential activity of PPARgamma1 and -2 isoforms and influence of insulin. *J Biol Chem.* v.272(32):20230-20235, 1997.
159. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. Geneva: World Health Organization; 1995. (WHO Technical Report Series, 854).
160. Yen CJ; Beamer BA; Negri C; Silver K; Brown KA; Yarnall DP; Burns DK; Roth, J; Shuldiner AR. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hppar gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 241(2):270-274, 1997.
161. Yen CJ; Beamer BA; Negri C; Silver K; Brown KA; Yarnall DP; Burns DK; Roth J; Shuldiner AR. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 241(2):270-274, 1997.
162. Zamora-Gonzalez J; Yamamoto-Kimura L; Lerman-Garber I; Cardoso-Saldana G; Fajardo-Gutierrez A; Posadas-Romero C. Clustering of metabolic disorders and hyperinsulinemia in Mexico City. *J Obes Relat Metab Disord.* 20;311-318, 1996.
163. Zanela MT; Ribeiro AB. Obesidade e Hipertensão Arterial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 78(supl I), 2002.
164. Zima T, Mestek O, Tesar V, Tesarová P, Němecek K, Zák A, Zeman M. Chromium levels in patients with internal diseases. *Biochem Mol Biol Int.* 46(2):365-374, 1998.

9– Anexos

ANEXO 1 (TCLE do grupo com síndrome metabólica)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR COMO
VOLUNTÁRIO (A) NO ESTUDO:

Biomarcadores de padrão alimentar de indivíduos com síndrome metabólica e genótipo Pro12Pro do gene PPAR γ 2

Nome : _____

Data : _____

O Sr.(a) está convidado a participar de um estudo sobre alterações em seu corpo por causa de um excesso de peso corporal (obesidade). A obesidade aumenta a chance de uma pessoa ter vários problemas de saúde como: pressão alta, diabetes e aumento da quantidade de colesterol e triglicéridios no sangue que podem fazer mal para o coração de uma pessoa.

Este estudo está sendo realizado pela Dr^a. Glorimar Rosa e a mestrandia Andrea Lacerda, do Instituto de Nutrição Josué de Castro da UFRJ.

Ao participar deste estudo, pediremos para que o (a) Sr (a) responda um questionário com perguntas, faça uma avaliação antropométrica (medidas do seu corpo) e uma coleta de amostra de sangue.

Como participante deste estudo, o(a) Sr (a) receberá uma avaliação nutricional e os resultados do seu exame de sangue e se o (a) Sr (a) precisar, receberá orientação nutricional.

A participação neste estudo não contempla recompensa de qualquer natureza e o Sr (a) poderá desistir a qualquer momento.

A pesquisadora responsável, Dr^a. Glorimar Rosa, encontra-se à disposição para responder qualquer dúvida pelo telefone 2562 - 6596.

**EU CONCORDO EM PARTICIPAR DESTA ESTUDO E SEGUIR OS
PROCEDIMENTOS DESCRITOS PELAS PESQUISADORAS**

ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO(A)

ASSINATURA DA PESQUISADORA

ANEXO 2

Questionário para a Coleta de Informações dos Voluntários

Nome do entrevistador: _____ Data: ____/____/____

I – Dados Pessoais

- Nome: _____
- Endereço: _____ - Telefone: _____
- Data de nascimento: ____/____/____ - Idade: _____
- Sexo: () Feminino () Masculino - Etnia: _____
- Estado civil: () Solteiro(a) () Casado(a) () Divorciado(a) () Viúvo(a)
- Naturalidade: _____ - Nacionalidade: _____
- Profissão: _____ - Renda familiar: _____
- Escolaridade: () Analfabeto
() Ensino Primário () Completo () Incompleto
() Ensino Médio () Completo () Incompleto
() Ensino Superior () Completo () Incompleto

II – História da Doença Atual

- () Obesidade () Hipertensão () Dislipidemia _____ () Doença Cardiovascular _____

III – História Familiar

- () Obesidade () Diabetes Mellitus II () Hipertensão () Dislipidemia _____
- () Doenças Cardiovasculares _____

IV – História Social

- () Fuma () Não fuma () Ex-fumante () Bebe () Não bebe () Ex-etilista

V – Atividade Física: () Sim () Não Qual? _____

VI – Medicações

- a) Anti-hipertensivo () Sim () Não Nome/dosagem _____
- b) Outros: _____

VII – Pressão Arterial: _____

VIII – Avaliação Antropométrica e Laboratorial

a) Dados Antropométricos

- Peso atual (kg): _____ Estatura (m): _____
- IMC (kg/m^2): _____ Classificação do IMC: _____
- Dobra Cutânea Bicipital (mm): _____ = _____
- Dobra Cutânea Tricipital (mm): _____ = _____
- Dobra Cutânea Subescapular (mm): _____ = _____
- Dobra Cutânea Suprailíaca (mm): _____ = _____
- Circunferências: abdominal (), cintura () e quadril ()
- Relação cintura/quadril: _____

b) Dados Laboratoriais

- Glicose (mg/dl): _____
- Ácido úrico (mg/dl): _____
- Colesterol (mg/dl): _____
- Triglicerídios (mg/dl): _____
- HDL-colesterol (mg/dl): _____
- LDL-colesterol (mg/dL): _____
- Colesterol total (mg/dL): _____
- Insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}$): _____
- Folato plasmático (nmol/L): _____
- Cobalamina plasmática (pmol/L): _____
- Folato em eritrócitos (nmol/L): _____
- Hematócrito (%): _____

ANEXO 3

Questionário de Frequência Alimentar

Quais? () desjejum () Colação () Almoço () Lanche () Jantar () Ceia

Grupos de Alimentos	Nunca	Diária	Semanal	> Semanal	Quantidade
1 –Leite e derivados					
Leite () I () SD () D					
Iogurte () I () D					
Queijo () A () B					
Requeijão () I () Light					
2- Carnes e ovos					
Carne bovina () c/gord. () s/gord. Prep.;					
Carne suína – () c/gord. () s/gord Prep.:					
Frango () s/pele () c/pele Prep:					
Peixe () s/pele () c/pele Prep:					
Ovo () frito () cozido					
Vísceras e Miúdos					
3 - Leguminosas					
Feijão ()s/salgados. ()c/salgados					
4 – Cereais e Feculentos					
Arroz () I () Polido					
Macarrão					
Pão Fr () F () Dc () I ()					
Farinha					
Batata () Frita () Cozida					
Biscoito () Doce () Salgado					
5 - Hortaliças					
Legumes					
Verduras					
6 - Frutas					
7 – Açúcares e gorduras					
Açúcar refinado					
Adoçante					
Doces em geral					
Óleo vegetal					
Gordura hidrogenada					
Banha					
Margarina					
Manteiga					
Salgadinhos					
8- Bebidas					
Refrigerante () Comum () Diet					
Alcoólicas					
Café					
Chá					

- I (integral), SD (semi-desnatado), D (desnatado), A (amarelo), B (branco), Fr (francês), F (forma), Dc (doce) e Prep (preparo)

ANEXO 4 - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Coordenador:
 José Francisco Ribeiro de Oliveira
Médico - Prof. Titular

Secretário:
 Mário Teixeira Antonio
Farmacólogo - Especialista

Membros Titulares:
 Juvenal de Magalhães Marinho
Enfermeiro - Mestre
 Daniel Sarti Neto Peres
Farmac. de Grad. de Fac. de Medicina
 Eliete Regina Amorim
Assistente Social - Mestre
 Luiz Carlos Duarte de Miranda
Médico - Prof. Adjunto
 Carlos de Lourenço de A. Santos
Representante dos Usuários
 Mariana Fregas Vinces
Médico - Prof. Adjunto
 Maria Gilberto de Mendonça Guerra Neto
Médico - Prof. Assistente
 Rita Neli Chaves de Azevedo
Químico - Prof. Adjunto

Membros Suplentes:
 Cláudio Miguel Avila
Médico - Prof. Adjunto
 Denise Faramita Lopez Nascimento
Colunista - Prof. Adjunto
 Eduardo Jorge Bastos Côtes
Médico - Prof.
 Margarida Maria Santiago Rêgo
Enfermeiro - Prof. Assistente
 Maria de Fátima Gustavo Lopes
Representante dos Usuários
 Maria Teresa de Castro Nóbrega
Farmacólogo - Especialista

CEP - MEMO - n.º 208/03

Rio de Janeiro, 17 de abril de 2003.

Do : Secretário do CEP

A(o) : Sr. (a) Pesquisador(a): Prof. Glorimar Rosa

Assunto: Parecer sobre Projeto de Pesquisa

Sr.(a) Pesquisador(a)

Informo a V. S.ª que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo de pesquisa e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa n.º 017/03 - CEP

Título: "Homocisteinemia e sua possível relação com a Síndrome Metabólica".

Pesquisador responsável: Prof. Glorimar Rosa

Data de apreciação do parecer: 10.04.2003

Relator(a) do parecer: Prof. Rita Neli Chaves de Azevedo

Parecer: APROVADO

Informo ainda, que V. Sa. deverá cumprir a recomendação constante do parecer em anexo e apresentar relatório semestral, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII.13.d., da Resolução n.º 196/96 - CNS/MS).

Atenciosamente.


Mário Teixeira Antonio
Secretário do CEP

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)