



**Efeito dos Lipídios dietéticos na resistência à insulina,  
no perfil lipídico e na perda de peso de mulheres  
obesas de grau 3 genotipadas para o gene PPAR $\gamma$ 2.**

MÁRCIA FÓFANO DO LAGO

2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE  
DO BRASIL  
UFRJ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Efeito dos lipídios dietéticos na resistência à insulina, no perfil lipídico e na perda de peso de mulheres obesas de grau 3 genotipadas para o gene PPAR $\gamma$ 2.

MÁRCIA FÓFANO DO LAGO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>- Eliane Lopes Rosado.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>- Glorimar Rosa.

Rio de Janeiro  
Abril/2008

Lago, Márcia Fófano do

Efeito dos lipídios dietéticos na resistência à insulina, no perfil lipídico e na perda de peso de mulheres obesas de grau 3 genotipadas para o gene PPAR $\gamma$ 2 / Márcia Fófano do Lago. – Rio de Janeiro: UFRJ / Instituto de Nutrição Josué de Castro, 2008.

xix, 113 f. : il. ; 31 cm

Orientadores: Eliane Lopes Rosado e Glorimar Rosa

Dissertação (mestrado) -- UFRJ, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-graduação em Nutrição, 2008.

Referências bibliográficas: f. 82-93

1. Obesidade. 2. Receptores ativados por proliferador de peroxissomo. 3. Resistência à insulina. 4. Gorduras na dieta. 5. Composição corporal. 6. Perda de peso. 7. Polimorfismo genético. 8. Mulheres. 9. Nutrição - Tese. I. Rosado, Eliane Lopes. II. Rosa, Glorimar. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-graduação em Nutrição. IV. Título.

Márcia Fófano do Lago

**Efeito dos lipídios dietéticos na resistência à insulina, no  
perfil lipídico e na perda de peso de mulheres obesas de grau**

**3**

**genotipadas para o gene PPAR $\gamma$ 2**

**Rio de Janeiro, 17 de abril de 2008.**

**Aprovada por:**

---

**Presidente da Banca Examinadora - Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Eliane Lopes Rosado  
Universidade Federal do Rio de Janeiro**

---

**Revisora - Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Rejane Andréa Ramalho Nunes da Silva  
Universidade Federal do Rio de Janeiro.**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Edna Maria de Moraes Oliveira.  
Pesquisadora da Embrapa**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Avany Fernandes  
Universidade Federal do Rio de Janeiro.**

**“Siga o seu entusiasmo e o Universo abrirá portas para você onde antes só havia paredes”.**

**Joseph Campbell**

*Dedico este trabalho aos meus pais Geraldo e Fátima, ao meu marido Cristiano, a minha filha Alice, e ao meu irmão Alexandre, pois, sem eles, nada na minha vida seria possível.*

## AGRADECIMENTOS

- A Deus que, sempre atende as minhas preces.
- Aos meus pais Geraldo e Fátima pelo apoio incondicional aos meus sonhos e projetos durante a minha vida.
- Ao meu marido Cristiano pelo apoio, amor, carinho e compreensão.
- A minha filha Alice meu maior amor e alegria, obrigada pela sua existência.
- Ao meu irmão Márcio Alexandre pelo seu carinho.
- Aos meus sobrinhos Hanna e Caio que trouxeram um colorido especial à minha vida.
- Aos meus avós Maria, Alexandre (in memória) e Maria Cristina (in memória) pelo carinho e o incentivo aos estudos.
- À minha querida orientadora Eliane Lopes Rosada pelo carinho e ensinamentos na realização deste trabalho.
- À minha querida co-orientadora Glorimar Rosa pela colaboração e apoio na realização deste trabalho. Foi um privilégio tê-la como co-orientadora.
- Aos queridos amigos Vanessa Chaia, Juliana Nogueira Soeiro, Carla Dandreaia, Sofia. Kimi Uehara e Ibsen Melo dos Santos Rego pela enorme ajuda e carinho.
- As voluntárias pesquisadas que, pacientemente, permitiram a invasão do seu cotidiano.
- A todos os meus amigos e familiares que torcem por mim.



- A minha querida Chefa Maria Cristina Schneider Vianna pelo apoio e amizade, certamente sem a sua compreensão esse projeto não seria possível.
- À doutora Edna Maria Morais de Oliveira pelos ensinamentos da técnica de extração do DNA, ajuda nas análises do polimorfismo e principalmente pela paciência, compreensão e amizade.
- A todos do laboratório de Organismos geneticamente modificados da Embrapa.
- A todos do laboratório do Professor Franklin D.Rumjanek/Prof.MarceloR. Fantappiè, por permitirem a utilização do laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Schistosoma mansoni – UFRJ/CCS.
- À doutora Fátima, Giovania, Chimene e todos do laboratório da associação de Pais e amigos dos excepcionais (APAE).
- Aos amigos Cristina e Rubens pela ajuda nos ajustes finais dessa dissertação.
- A Prof. <sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Rejane Andréa Ramalho Nunes da Silva pela revisão e contribuições nesse trabalho.
- Ao CNPq pelo auxílio financeiro imprescindível para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

A obesidade é uma doença multifatorial e as interações gene-ambiente estão envolvidos na sua gênese. O gene que codifica o receptor ativado por proliferadores de peroxissomas da isoforma  $\gamma$  série 2 (PPAR $\gamma$ 2) tem sido extensivamente estudado por sua relação com reações de lipogênese e na sensibilidade à insulina (SI). Dentre os fatores ambientais destacamos os lipídios da dieta, que são capazes de modificar o perfil lipídico e a glicemia, além de serem ligantes naturais do gene avaliado, particularmente os ácidos graxos polinsaturados (AGPI). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do genótipo Pro12Pro no gene PPAR $\gamma$ 2 e dos lipídios da dieta na resistência à insulina (RI), no perfil lipídico e na perda de peso de mulheres obesas de grau 3. Foram selecionadas 18 mulheres obesas de grau 3, que foram submetidas à dieta teste (G1=8) e controle (G2=10) por um período de 45 dias. O estudo foi longitudinal com intervenção. Antes da intervenção foram realizadas avaliações antropométricas e dietéticas e coleta de sangue para análises bioquímicas e moleculares. Após a intervenção realizou-se a avaliação antropométrica e bioquímica. A glicemia e o perfil lipídico foram determinados pelo método enzimático-colorimétrico. A insulinemia foi avaliada por radioimunoensaio. Detectou-se o polimorfismo do PPAR $\gamma$ 2 por meio da reação em cadeia da polimerase e digestão com enzima de restrição BstUI. Verificou-se que 95% das mulheres não apresentaram polimorfismo no gene (Pro12Pro) (n=19) e 5% (n=1) apresentou o polimorfismo Pro12Ala, sendo a mesma excluída da avaliação. Não houve diferença ( $p>0,05$ ) nos parâmetros antropométricos e bioquímicos entre grupos, antes e após a intervenção. Verificou-se redução significativa do LDL-colesterol ( $p<0,05$ ) após a intervenção no G1. No G2, se observou redução ( $p<0,05$ ) na glicemia, na insulinemia e na RI. Considerando a ingestão dietética habitual, ambos grupos apresentaram dieta

normocalórica, hiperlipídica e com excesso de ácidos graxos saturados (AGS). A ingestão de lipídios totais e ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) foi superior ( $p < 0,05$ ) no G2. A ingestão de AGPI e AGS não diferiu entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Observou-se correlação positiva entre os lipídios totais da dieta e as concentrações séricas de HDL-colesterol, e negativa entre AGMI e as concentrações séricas de triglicerídios (TG), no G1 ( $p < 0,05$ ). No G2, observou-se correlação negativa entre lipídios totais da dieta e as concentrações séricas de TG, positiva entre lipídios totais e AGMI com as concentrações séricas de HDL-colesterol, e negativa entre lipídios totais e AGMI com RI ( $p < 0,05$ ). Considerando que o genótipo Pro12Pro está associado a menor SI, sugere-se que as mulheres que utilizaram a dieta contendo o AGPI, ligante do gene, apresentaram maior dificuldade no aumento da SI. Os AGMI foram mais efetivos no aumento da SI. A qualidade do lipídio ingerido é importante na melhora do perfil lipídico e da RI e, considerando o genótipo avaliado, sugere-se a ocorrência da interação gene-ambiente.

Palavras-chave: obesidade, PPAR $\gamma$ 2, lipídios, perfil lipídico, resistência à insulina.

## ABSTRACT

Obesity is a multifactorial disease and gene-environment interactions are involved in its genesis. The gene that encodes the receptor activated by proliferadores of Peroxysomal of isoform  $\gamma$  and serie 2 (PPAR $\gamma$ 2) has been extensively studied for its relationship with reactions of lipogenesis and insulin sensitivity (IS). Among the environmental factors emphasize the high fat diet, which are capable of modifying the lipid profile and glucose, in addition to natural ligands of the gene assessed, particularly polyunsaturated fatty acids (PUFA). The purpose of this study was evaluate the effect of genotype Pro12Pro in PPAR $\gamma$ 2 and the fat diet in insulin resistance (IR), in lipid profile and the loss weight of morbidly obese women. 19 morbidly obese women were selected, who were submitted to test (G1) and control (G2) diet for 45 days. The study was longitudinal with intervention. Before the intervention were made anthropometric and dietetic evaluations and blood collection for biochemical and molecular analysis. After intervention was realized anthropometric and biochemical evaluation. A glucose and lipid profile were determined by enzyme-colorimetric method. The insulin was measured by radioimmunoassay. This polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 was evaluated by polymerase chain reaction and digestion with restriction enzyme BstUI. It was found that 95% of women had not polymorphism in the gene (Pro12Pro) (n = 19) and 5% (n = 1%) presented the Pro12Ala polymorphism, being excluded from the assessment. There was no difference (p>0.05) in anthropometric and biochemical parameters between groups before and after the intervention. There was significant reduction of LDL-cholesterol (p<0.05) after the intervention in G1. In G2, was observed reduction (p<0.05) in blood glucose, insulin and IR. Considering the usual dietary intake, both groups presented normocaloric, high fat and high saturated fatty acids (SFA) diet. The

intake of total fat and monounsaturated fatty acids (MUFA) was higher ( $p < 0.05$ ) in G2. The intake of PUFA and AGS did not differ between groups ( $p > 0.05$ ). There was positive correlation between the total lipids and serum concentrations of HDL-cholesterol, and negative between AGMI and serum concentrations of triglycerides (TG), G1 ( $p < 0.05$ ). In G2, there was a negative correlation between total lipids and serum concentrations of TG, positive between total lipids and MUFA with serum concentrations of HDL-cholesterol, and negative between total lipids and MUFA with IR ( $p < 0.05$ ). Whereas Pro12Pro genotype is associated with lower IS, it is suggested that women who used the diet containing the PUFA, ligand of the gene, had greater difficulty in increasing SI. The MUFA were more effective in increasing IS. The quality of lipid intake is important in the improvement of the lipid profile and IR, and considering the genotype assessed, it is suggested the occurrence of gene-environment interaction.

**Key Words:** obesity, PPAR $\gamma$ 2, lipids, lipid profile, insulin resistance.

**LISTA DE FIGURAS**

	<b>Página</b>
<b>Figura 1:</b> Esquema geral de condução do estudo.	<b>45</b>
<b>Figura 2:</b> Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da amplificação por PCR da posição 267 do gene PPAR $\gamma$ 2. Linha 1: marcador (200bp) (GE/AMERSHAM), Linha 2: controle negativo, Linhas 3 a 10 : fragmentos relativos ao produto da PCR dos grupos teste e controle.	<b>60</b>
<b>Figura 3:</b> Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da digestão do segmento de DNA amplificado. Linha 1: marcador(200bp) (GE/AMERSHAM), Linha 2: controle negativo; Linha 4:Fragmento relativo ao genótipo Pro 12 Ala ; Linhas 3,5 a 11 : fragmentos relativos ao genótipo Pro12Pro.	<b>60</b>

**LISTA DE QUADROS**

	<b>Página</b>
<b>Quadro 1:</b> Condições experimentais para a detecção dos alelos Pro12Pro, Pro12Ala e Ala12Ala	<b>56</b>

**LISTA DE TABELAS**

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1:</b> Comparação (média $\pm$ desvio padrão) dos parâmetros antropométricos e bioquímicos entre os grupos teste e controle, antes da intervenção.	<b>62</b>
<b>Tabela 2:</b> Comparação (média $\pm$ desvio padrão) dos parâmetros antropométricos e bioquímicos entre os grupos teste e controle, após a intervenção.	<b>63</b>
<b>Tabela 3:</b> Comparação (média $\pm$ desvio padrão) entre as variáveis antropométrica e bioquímicas, antes e após intervenção, no grupo teste.	<b>64</b>
<b>Tabela 4:</b> Comparação (média $\pm$ desvio padrão) entre as variáveis antropométricas e bioquímicas, antes e após a intervenção no grupo controle.	<b>65</b>
<b>Tabela 5:</b> Comparação (média $\pm$ desvio padrão) dos parâmetros dietéticos, entre os grupos.	<b>66</b>
<b>Tabela 6:</b> Comparação (média $\pm$ desvio padrão) entre o valor energético total (VET) ingerido e recomendado.	<b>67</b>
<b>Tabela 7:</b> Correlação entre variáveis antropométricas e bioquímicas com variáveis dietéticas, no grupo teste.	<b>68</b>
<b>Tabela 8:</b> Correlação entre variáveis antropométricas e bioquímicas com variáveis dietéticas, no grupo controle.	<b>69</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

- AGPI - ácidos graxos polinsaturados
- AGMI - ácidos graxos monoinsaturados
- AGS - ácidos graxos saturados
- CC – circunferência da cintura
- CQ - circunferência do quadril
- CC/CQ - relação cintura quadril
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- 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*
- GLUT-1 – transportador de glicose 1
- GLUT-4 – transportador de glicose 4
- HA – hipertensão arterial
- HDL – lipoproteína de alta densidade
- HOMA - *Homeostasis Model Assessment*- Avaliação do Modelo de Homeostase
- HUCFF – Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
- ILIB A – Grupo Latino-Americano da Oficina Internacional de Informações em Lípidos
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística
- IMC –índice de massa corporal
- LDL – lipoproteína de densidade baixa
- MS – *metabolic syndrome*
- NCEP – *National Cholesterol Education Program*
- NS – não significativo
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- OR – *Odds ratio*
- PA – pressão arterial
- PCR: reação em cadeia da polimerase



pb – par de bases

RI – resistência à insulina

rpm – rotações por minuto

SI- sensibilidade à insulina

SM – síndrome metabólica

T – timina

TBE – tampão tris, ácido bórico, EDTA

Tris – tris hidroximetil aminometano

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

VET - Valor Energético Total

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

WC – *waist circumference*

WHO - World Health Organization

**SUMÁRIO**

	<b>Página</b>
<b>Resumo</b>	<b>ix</b>
<b>Abstract</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de figuras</b>	<b>xiii</b>
<b>Lista de tabelas</b>	<b>xiv</b>
<b>Lista de abreviaturas</b>	<b>xv</b>
<b>1 – Introdução</b>	<b>19</b>
<b>2- Revisão Bibliográfica</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Obesidade</b>	<b>22</b>
<b>2.1.1. Caracterização do problema e aspectos epidemiológicos</b>	<b>22</b>
<b>2.1.2. Diagnóstico da obesidade</b>	<b>24</b>
<b>2.2. Obesidade e resistência periférica a ação da insulina</b>	<b>25</b>
<b>2.3. Fatores genéticos e Obesidade</b>	<b>28</b>
<b>2.4. Receptor Ativador da Proliferação de Peroxissomas</b>	<b>29</b>
<b>2.5. Ligantes do PPAR, peso corporal e resistência à insulina</b>	<b>34</b>
<b>2.6. Lipídios dietéticos, obesidade e PPAR<math>\gamma</math>2</b>	<b>38</b>
<b>2.7. Avaliação Dietética</b>	<b>41</b>
<b>3 – Objetivos</b>	<b>44</b>
<b>3.1 – Geral</b>	<b>44</b>
<b>3.2 - Específicos</b>	<b>44</b>
<b>4 – Pacientes e métodos</b>	<b>45</b>
<b>4.1. Desenho do estudo e sujeitos da pesquisa</b>	<b>45</b>
<b>4.2. Critérios de inclusão e exclusão</b>	<b>46</b>
<b>4.3. Questões Éticas</b>	<b>46</b>

---

<b>4.4. Ensaio Clínico</b>	<b>47</b>
<b>4.5. Avaliação Antropométrica</b>	<b>48</b>
<b>4.6. - Avaliação Bioquímica</b>	<b>49</b>
<b>4.7. Determinação das concentrações séricas de glicose</b>	<b>50</b>
<b>4.8. Determinação das concentrações séricas de insulina</b>	<b>51</b>
<b>4.9. Determinação das concentrações séricas de colesterol total e frações e triglicerídeos</b>	<b>51</b>
<b>4.10. Avaliação molecular</b>	<b>53</b>
<b>4.11. Avaliação da ingestão habitual e prescrição das dietas teste e controle</b>	<b>56</b>
<b>4.12. Análises estatísticas</b>	<b>57</b>
<b>5- Resultados</b>	<b>59</b>
<b>6- Discussão</b>	<b>69</b>
<b>7- Conclusões</b>	<b>80</b>
<b>8 – Referências bibliográficas</b>	<b>82</b>
<b>9 – Anexos</b>	<b>94</b>
<b>Anexo I</b>	<b>94</b>
<b>Anexo II</b>	<b>97</b>
<b>Anexo III</b>	<b>103</b>
<b>Anexo IV</b>	<b>104</b>
<b>Anexo V</b>	<b>106</b>
<b>Anexo VI</b>	<b>107</b>
<b>Anexo VII</b>	<b>112</b>
<b>Anexo VIII</b>	<b>113</b>

## 1- INTRODUÇÃO

---

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal com potencial prejuízo a saúde, decorrente de vários fatores sejam esses genéticos ou ambientais, como padrões dietéticos e de atividade física ou ainda fatores individuais de susceptibilidade biológica, entre muitos outros, que interagem na etiologia da patologia (OMS, 1998). Mais recentemente e adaptando a definição mais curta a OMS (2003) definiu obesidade como excesso de gordura corporal acumulada no tecido adiposo, com implicações para a saúde.

O acúmulo de lipídios no tecido adiposo pode ser decorrente de um desequilíbrio no balanço energético onde a ingestão de energia é superior ao gasto energético (MONTEIRO e HALPERN, 2000). Portanto, o nível deste reservatório tecidual é dependente da ingestão alimentar e do gasto energético, o qual sofre influência de fatores genéticos e ambientais (WESTERTERP-PLANTEGA et al., 1994).

Atualmente, a obesidade tem sido considerada um dos mais graves problemas de saúde pública, e sua prevalência vêm crescendo acentuadamente nas últimas décadas, inclusive nos países em desenvolvimento, o que levou a doença ao nível de epidemia global. É considerado um fenômeno de transição nutricional, que sobrecarrega o sistema de saúde com demanda crescente de atendimento a doenças crônicas associadas, como o diabetes mellitus tipo 2, doenças coronarianas, hipertensão arterial sistêmica e diversos tipos de câncer. Supõe-se que, na América Latina, 20.000 pessoas morram anualmente em decorrência destas complicações (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE, 2007).

O recente aumento na prevalência da obesidade em várias partes do mundo está claramente associado a fatores ambientais como aumento do consumo de alimentos calóricos e redução do gasto energético tanto nas atividades de trabalho quanto no lazer. A velocidade que a “Epidemia da obesidade” tem alcançado torna cada vez mais clara a associação entre fatores ambientais e a interação genética, apontada em alguns estudos como sendo responsável por 45 a 75% dos casos de obesidade (FAROOQI E O’RAHILLY, 2007, MACHO-AZCARTE et al,2002).

De acordo com Monteiro et al (2000), a transição nutricional é caracterizada pela diminuição da desnutrição e aumento da obesidade. Tal situação pode ser atribuída, em parte, ao maior acesso aos alimentos industrializados, que acompanha a urbanização, juntamente com a falta de informação adequada que induz a erros alimentares, como o aumento no consumo de alimentos gordurosos (ESCRIVÃO et al., 2000).

O que torna a obesidade uma doença de difícil controle é exatamente o fato de ser multifatorial e, por envolver interações gene - ambiente, estudos desta natureza tornam-se relevantes devido às evidências de que o ambiente pode modificar a ação de determinados genes, assim como o polimorfismo de alguns genes poderá resultar em diferentes respostas às intervenções ambientais.

Como relatado anteriormente, a obesidade se relaciona com a ocorrência de uma série de doenças crônicas, e algumas delas são decorrentes do aumento da resistência à insulina (RI) associada com o excesso de adiposidade (CLEMENT et al., 2000). Diante disto, torna-se importante, não somente sugerir terapias que reduzam o peso corporal, mas também que influenciem no aumento da sensibilidade à insulina (SI).

Entre os vários genes que sofrem influencia ambiental e que estão associados com a obesidade, destaca-se o gene PPAR $\gamma$ 2 (receptor ativado por proliferadores de

peroxissomas), o qual se encontra relacionado ao metabolismo energético e a RI. Propõe-se que indivíduos com o variante neste gene possam apresentar efeitos diferenciados na SI, comparado com os indivíduos sem o variante (DEEB et al., 1998; MASUGI et al., 2000; BUZZETTI et al., 2004; CECIL et al., 2006; TAVARES et al., 2005).

O presente estudo visa propor uma alternativa de dieta hipocalórica com composição lipídica modificada, considerando-se os ácidos graxos polinsaturados (AGPI) como ligantes naturais do gene  $PPAR\gamma 2$ , a modulação destes na dieta hipocalórica poderia promover a melhora da SI, além de redução do peso corporal. Ressalta-se que a literatura científica apresenta poucos trabalhos avaliando a interação gene-ambiente neste grupo populacional.

## **2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

### **2.1.Obesidade**

#### **2.1.1. Caracterização do problema e aspectos epidemiológicos**

A obesidade é uma doença de prevalência crescente adquirindo proporções epidêmicas, tornando-se um dos principais problemas de saúde pública (SHETTY et al, 2006). Tem como característica o excesso de lipídios no tecido adiposo ou ainda, uma situação onde existe um desequilíbrio entre a ingestão energética e o gasto total de energia pelo organismo (HALPERN, 2003), sendo difícil estabelecer se este desequilíbrio resulta do excesso de ingestão ou alteração no padrão do gasto energético.

De acordo com a FAO (2004), aproximadamente 58% dos casos de diabetes mellitus do tipo 2, 21% da doença isquêmica do coração e de 8 a 42% de certos tipos de cânceres poderiam estar associados a um índice de massa corporal (IMC) maior que 22 kg/m<sup>2</sup>.

As alterações metabólicas envolvidas na gênese das doenças crônicas associadas com a obesidade são resultantes do excesso de adiposidade, principalmente visceral. Portanto, o aumento do número de casos de obesidade e o grau de adiposidade estão diretamente relacionados com o desenvolvimento destas doenças, tornando-se importante o estudo de indivíduos obesos de grau 3.

Atualmente, a obesidade é considerada um problema epidêmico mundial, que vem atingindo proporções cada vez maiores e com impacto econômico significativo. Cerca de 2/3 da população americana encontra-se na faixa de sobrepeso ou obesidade. A OMS (2003) estima que exista hoje 1,1 bilhão de pessoas com sobrepeso no mundo e este total subirá para 1,5 bilhão em 2015. No Brasil o aumento das taxas é alarmante, com prevalência de cerca de 40% de sobrepeso e 8,9% a 13% de obesidade na população adulta (IBGE, 2004).

Com base nesses dados a OMS (2003) desenvolveu e aprovou a Estratégia Global sobre dieta, atividade física e saúde, reconhecendo que as doenças crônicas não transmissíveis são responsáveis por aproximadamente 60% das mortes no mundo e que, desse total, aproximadamente 66% ocorrem em países em desenvolvimento, quadro causado pelas tendências demográficas e modificações no estilo de vida.

Ao se avaliar a taxa de ascensão da obesidade no Brasil, se observam que esta é de 0,36% ao ano para a população feminina e 0,20% para a população masculina, merecendo destaque os dados que mostram que o aumento da prevalência da obesidade ocorreu em quase todos os grupos sociais, tanto na população urbana

quanto na rural e em ambos os sexos, afetando 6,9% dos homens e 12,5% das mulheres (MONTEIRO et al., 2000). Estudos envolvendo mulheres se tornam necessários considerando que a obesidade é mais prevalente neste grupo.

De acordo com o estudo realizado pelo Center for Disease Control and Prevention (2004), nos últimos 30 anos, as mulheres americanas aumentaram sua ingestão calórica em 22%, comparado a 7% de aumento observado em homens. A incidência de obesidade em mulheres nos Estados Unidos é agora de 33% da população, sendo praticamente o dobro do observado na última década.

A obesidade é uma doença de difícil controle por ser de origem multifatorial resultante da interação gene-ambiente. Entretanto a identificação dos genes envolvidos no metabolismo energético e armazenamento de gorduras são bons candidatos na determinação da obesidade (MATTEVI, 2007).

Segundo Strug et al (2003) e Marques-Lopes et al (2004), o número de genes e regiões cromossômicas que têm sido associadas ao fenótipo da obesidade humana continua em expansão e já atinge aproximadamente 430 genes. Estes genes podem agir de várias formas, ou seja, alterar o controle do apetite, o gasto energético e a regulação termogênica. Os avanços científicos indicam que existe uma base genética transmissível, que influencia na manutenção do peso corporal estável, por meio dos seguintes mecanismos: variações do metabolismo basal, no efeito termogênico dos alimentos, na atividade física espontânea e na utilização metabólica dos nutrientes energéticos, para suprir as necessidades do organismo (HIRSCH et al, 1998).

Dentre os genes candidatos à obesidade, destacam o gene que codifica o PPAR $\gamma$ 2, o qual apresenta sua função alterada por influencia ambiental, particularmente pela qualidade dos lipídios ingeridos na dieta (STRUG et al, 2003).



### 2.1.2. Diagnóstico da obesidade

O diagnóstico da obesidade pode ser estabelecido quantitativa ou qualitativamente. O diagnóstico quantitativo se refere à massa de tecido adiposo, e o diagnóstico qualitativo se refere à distribuição de gordura corporal ou a presença da adiposidade visceral (BRAY et al., 1985).

Embora o IMC, na prática clínica, seja o dado mais utilizado, pois seu cálculo é simples, rápido e apresenta boa correlação com a adiposidade corporal, não há como distinguir gordura central de gordura periférica, e pode superestimar o grau de obesidade em indivíduos com maior massa muscular (BRAY et al., 1985). O IMC é obtido por meio da razão entre o peso e a altura<sup>2</sup> (Peso/Altura<sup>2</sup>), também chamado de índice de Quetelet. De acordo com a organização Mundial da Saúde (OMS, 1995; 1998), a faixa do IMC situada a partir de 40 kg/m<sup>2</sup> indica obesidade de grau 3 e extremo risco de co-morbidades.

A razão cintura-quadril (RCQ) é o indicador mais frequentemente utilizado para identificar a distribuição de gordura corporal, sendo definida pela divisão da maior circunferência da cintura entre a última costela e a crista ilíaca pela circunferência dos quadris no nível dos trocantes femorais com o indivíduo em decúbito dorsal (BRAY et al, 1985; DESPRÉS et al, 2001).

Després et al (2001), relatam que a forma pela qual a gordura está distribuída pelo corpo é mais importante do que a gordura corporal total para determinação do risco individual de doenças crônicas não transmissíveis. Portanto, é extremamente relevante identificar a distribuição de gordura, visto que a obesidade andróide (maior concentração de gordura na região abdominal) está associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas

Estudo recente recomenda a medida isolada da circunferência da cintura (CC), tendo em vista que a sua medida independente da altura, correlaciona-se fortemente com o IMC e parece predizer melhor o tecido adiposo visceral (CARVALHO et al, 2007). Utilizam-se como pontos de corte as recomendações da OMS (1998), sendo considerados como risco elevado para o sexo masculino CC maior que 94 cm e muito elevado maior que 102 cm; CC maior que 80 cm risco elevado e maior 88 cm risco muito elevado, para homens e mulheres respectivamente.

## **2.2. Obesidade e resistência periférica a ação da insulina**

A insulina é um hormônio polipeptídico originado das células beta do pâncreas que é regulado pelas reservas e produção de carboidratos. É um hormônio que regula funções vitais relacionadas à adiposidade. Sua secreção depende primeiramente da concentração plasmática de glicose e em geral, os indivíduos obesos secretam mais insulina. As concentrações elevadas deste hormônio podem aumentar a ingestão alimentar, devido à redução da glicose sanguínea. Existem receptores de insulina em regiões do cérebro, especialmente no núcleo arqueado do hipotálamo, que são importantes no controle da homeostase energética (WOODS e SEELEY, 2000).

A resistência à insulina (RI) se caracteriza pela redução da captação de glicose, provocando um mecanismo compensatório ao aumentar a produção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas, elevando assim as concentrações de insulina circulante. A insulina estimula a captação de glicose no músculo esquelético, tecido adiposo e diminui a produção hepática de glicose por reduzir a glicogenólise e gliconeogênese. Além disso, a insulina suprime a mobilização dos ácidos graxos não esterificados do tecido adiposo por suprimir a lipólise (BRADY et al., 1997). Quanto maior à sensibilidade a insulina (SI), especialmente no músculo, menor a necessidade de

secreção insulínica pelo pâncreas para manter a homeostase glicêmica. O tecido muscular tem sido considerado o maior local de captação de glicose mediada pela insulina *in vivo*, com o tecido adiposo contribuindo relativamente pouco para o equilíbrio corporal da glicose (LINDI et al., 2002; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2003).

A obesidade, principalmente o aumento da gordura abdominal, é importante na determinação da RI, a qual representa, como destacado anteriormente, fator de risco para o desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica (SM) (RICCARDI et al., 2004). Além disso, o acúmulo da gordura abdominal favorece o aumento dos ácidos graxos livres (AGL) plasmáticos desencadeando efeitos negativos na sensibilidade a insulina muscular, hepática e no tecido adiposo. Embora a CC e o IMC estejam inter-relacionados, a CC fornece uma predição de risco independente daquele observado no IMC. A relação cintura-quadril e a CC são marcadores usuais de gordura intra-abdominal. Estudos também demonstram que a obesidade do tipo andróide constitui fator de risco para hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias e intolerância a glicose ou diabetes mellitus, compondo a tríade fatal, também chamada de síndrome metabólica (LEAR et al., 2002). O marcador mais importante dessa síndrome é a RI, a qual tem implicações fisiopatológicas com os demais componentes da mesma.

Ferreira et al. (2006), diferente do proposto pela OMS (2004) mostraram que a CC não foi o melhor preditor de dislipidemias, embora tenha apresentado melhor acurácia que a relação cintura /quadril na detecção da hipertrigliceridemia. Além disso, os melhores pontos de corte definidos por meio da análise por curva ROC (Receiver Operating Characteristics), tanto para a CC, quanto para a relação cintura /quadril mostraram-se inferiores aos que a OMS preconiza.

O padrão de distribuição da gordura e a composição corporal de forma geral variam grandemente na população (LOVEJOY et al., 2001; OKOSUN et al., 2003). Nos últimos anos um grande número de publicações tem evidenciado a inadequação de se aplicar pontos de corte definidos para populações caucasianas e outros grupos raciais (LIN et al., 2002; DEURENBERG-YAP et al., 2002; ITO et al., 2003).

Embora o ambiente possa contribuir para a RI, é provável que o fator mais importante seja um perfil genético herdado. Variações na distribuição étnica e evidências de transmissão familiar sugerem que a ação insulínica possa também ser determinada geneticamente (FLORES-MARTÍNEZ et al., 2004). Existe uma considerável variação na SI na população em geral, possivelmente relacionada a mutações sutis e, ou, polimorfismo em alguns componentes genéticos. Um número crescente dessas mutações e polimorfismos vem sendo identificado tornando necessário entender como eles interagem com os fatores de risco ambientais levando a um aumento na predisposição para aterosclerose, diabetes mellitus tipo 2 e outros estados patológicos conhecidos que estão associados à RI (RICCARDI, 2004).

Em 2003, estimava-se que 194 milhões de pessoas no mundo apresentavam diabetes mellitus tipo 1 ou 2. Previsões indicam que o número de diabéticos aumentará para 300 milhões em 2025 (SEIDELL, 2000; OMS, 2003). Vale ressaltar que os casos de diabetes não insulino dependente constituem 90% de todos os diabéticos, ou seja, apenas 10% destes apresentam diabetes insulino dependente e entre os não insulino dependentes, 80% apresentam excesso de peso corporal (WESTERTERP-PLANTEGA et al., 1994).

De acordo com a OMS (2003), as sociedades com maior incremento na prevalência de diabetes mellitus são as que apresentaram maiores alterações dietéticas, com dietas de alta densidade energética, ricas em ácidos graxos saturados

(AGS) e pobres em fibras, além da redução nos níveis de atividade física e do aumento do número de casos de sobrepeso e obesidade.

### **2.3. Fatores genéticos e obesidade**

A eficiência metabólica de indivíduos obesos e eutróficos é determinada por uma mistura de formas alélicas. Vários genes modulam funções distintas e a interação destas determinariam o fenótipo. Provavelmente, as diferentes formas alélicas já existiam no passado, porém os fatores ambientais influenciaram na expressão dos mesmos.

Segundo Ruiz-Narvaéz et al (2007), as formas mais comuns de sobrepeso e obesidade observadas na população em geral são de origem poligênica e, além disso, envolvem interações complexas entre diferentes genes e entre genes e fatores ambientais, como consequência, há ocorrência de fenótipos de obesidade multifatoriais.

O gene “candidato” a uma determinada doença pode ser conceituado como um gene seqüenciado, de função previamente desconhecida que, devido a sua posição cromossômica ou a existência de outra propriedade, se torna candidato a uma determinada função, por exemplo, atuar na determinação de doenças crônicas, como a obesidade, o diabetes mellitus, a osteoporose, a hipertensão arterial, alguns tipos de câncer, entre outras (MARQUES-LOPES et al., 2004).

O mapa genético da obesidade revela que os locos que afetam os fenótipos relacionados à obesidade podem ser encontrados em todos os cromossomas, exceto no Y (PERUSSE et al., 2001).

Estudos para identificar os genes relacionados à obesidade têm sido concentrados no tecido adiposo, visto que a regulação da termogênese por meio do

sistema nervoso simpático, realizada pelo tecido adiposo marrom é mediada pelos receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Também o gene PPAR $\gamma$  apresenta papel importante na adipogênese e pode controlar 30 genes responsáveis pelos fatores ambientais ligados aos nutrientes, como por exemplo, os ácidos graxos (FROGUEL e BOUTIN, 2001).

#### **2.4. Receptor Ativador da Proliferação de Peroxissomas**

O PPAR foi o primeiro receptor nuclear clonado (KERSTEN et al., 2000). São fatores de transcrição ativados por ligantes que constituem uma sub-família de isoformas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Esses fatores de transcrição exercem funções essenciais na regulação do metabolismo lipídico, variando de acordo com tipo celular envolvido (CURI et al., 2002; GROMMES et al., 2004).

A sub-família dos receptores nucleares inclui os receptores da tireóide e esteróides, e os PPARs (HOUSEKNECHT et al., 2002).

O PPAR $\alpha$  apresenta alta expressão no fígado, nos miócitos cardíacos, nos enterócitos e no túbulo proximal do rim. O PPAR $\beta$  é expresso em vários tecidos. Já a isoforma  $\gamma_1$  é expressa em baixas concentrações em vários tecidos, a  $\gamma_2$  exclusivamente no tecido adiposo e a  $\gamma_3$  no cólon e tecido adiposo (FAJAS et al., 1997; RICOTE et al., 1998; HOUSEKNECHT et al., 2002).

O PPAR $\gamma_2$  somente se expressa em adipócitos diferenciados, enquanto que as isoformas  $\gamma_1$  e  $\gamma_3$  se expressam tanto em pré-adipócitos, quanto em adipócitos diferenciados (MEDINA et al., 2000).

O gene que codifica o PPAR $\gamma_2$  contém 30 aminoácidos adicionais na posição amino terminal, sendo o restante completamente igual ao PPAR $\gamma_1$ . Este grupo amino terminal do PPAR $\gamma$  apresenta domínio ativador transcricional independente do

ligante. A função ativadora da extensão amino terminal do PPAR $\gamma$ 2 é mais potente que o PPAR $\gamma$ 1 e sua atividade é afetada pela insulina (MUELLER et al., 2002). Ambas as proteínas podem ser expressas em níveis comparáveis, mas somente o PPAR $\gamma$ 2 é capaz de apresentar o fenótipo adipogênico (LAZAR, 2002). A isoforma  $\gamma$ 2 do PPAR $\gamma$  está relacionada com o controle do peso corporal e a homeostase lipídica em humanos, por regular a adipogênese (MEIRHAEGHE et al., 2000).

Portanto, o PPAR $\gamma$ 2, isoforma predominante nos adipócitos entre os PPAR $\gamma$ , é expresso seletivamente e em altas concentrações no tecido adiposo, estando relacionado ao diabetes tipo 2 e à obesidade, ambos fenótipos complexos determinados pela combinação de múltiplos fatores genéticos e ambientais (HOUSEKNECHT et al., 2002; CLEMENT et al., 2000).

A atuação dos PPARs como fator de transcrição depende da formação de um heterodímero com outro receptor nuclear, o receptor do ácido 9-cis retinóico (RXR). Ao completar a dimerização, o complexo gerado torna-se capaz de se ligar ao elemento responsivo ao PPAR (PPRE) que está localizado na região promotora dos genes alvos (CURI et al., 2002; ROSEN et al., 2000).

O PPAR $\gamma$  media a expressão de genes específicos de células adiposas (GREGOIRE et al., 1998; SPIEGELMAN et al., 1999) e a maior parte dos genes ativados pelo PPAR $\gamma$  codificam proteínas diretamente envolvidas nas vias lipogênicas, incluindo a lipoproteína lipase (LPL); proteínas que mediam a entrada de ácidos graxos na célula; proteína adipocitária de união do ácido graxo; acil-CoA sintase, que cataliza a ativação dos ácidos graxos, antes de sua esterificação a glicerol; fosfoenolpiruvato carboxiquinase, associada à produção de glicerol para a síntese de triacilgliceróis; Glut 4, que media a entrada de glicose nos adipócitos estimulada pela insulina (DEVERGNE e WAHLI, 1999).

Diante do exposto, verifica-se que o PPAR $\gamma$ 2 encontra-se envolvido nas reações de lipogênese, desenvolvimento da obesidade e controle glicêmico. Gregoire et al (1998) e Kersten et al (2000), verificaram que o PPAR $\gamma$ 2 influi na reserva de ácidos graxos no tecido adiposo, participando na diferenciação dos adipócitos, por meio da indução da maturação dos pré-adipócitos nas células adiposas. Atua estimulando a hidrólise dos triglicerídeos (TG) circulantes e a subsequente entrada dos ácidos graxos nas células adiposas. Também estimula a ligação e ativação dos ácidos graxos do citossol, eventos requeridos para a síntese de TG.

O acúmulo de tecido adiposo ocorre por meio de três mecanismos, a proliferação dos pré-adipócitos presentes nos depósitos de gordura, sua diferenciação em adipócitos capazes de armazenar gordura e um balanço entre lipogênese e lipólise favorável à primeira, estando todos dependentes de fatores ambientais e genéticos. Os adipócitos se derivam de células mesodérmicas pluripotentes, que durante o desenvolvimento embrionário são determinadas a diferenciar-se em miotúbulos, condrócitos ou adipócitos, dependendo dos estímulos que recebem. A adipogênese persiste ao longo da vida e pode ser influenciada pela quantidade, frequência e composição da alimentação (PALOU et al., 2001).

O PPAR $\gamma$  também está relacionado ao sistema imune, inibindo a produção de citocinas. Seus ligantes são capazes de estimular a diferenciação de monócitos pelos macrófagos e inibir a indução de enzimas relacionadas ao processo inflamatório. Sua expressão apresenta-se aumentada em placas ateroscleróticas humanas, estando envolvido na formação de células ateroscleróticas. Portanto, os ligantes deste gene apresentam papel terapêutico na prevenção e tratamento da arteriosclerose (RICOTE et al., 1998; HOUSEKNECHT et al., 2002).



Considerando os PPARs, sem diferenciar as isoformas, verificou-se que os mesmos estão envolvidos na redução dos triglicerídios, por meio dos fibratos e ácidos graxos, aumentando a lipólise e o *clearance* de partículas, devido à mudanças nas concentrações da lipoproteína lipase e apolipoproteína C-III, estimulação do aumento dos ácidos graxos celulares e sua conversão a derivados acil-CoA, indução da rota  $\beta$ -oxidativa, redução na síntese de ácidos graxos e TG e, finalmente, redução na produção de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Portanto, aumentam o catabolismo de partículas ricas em TG, além de reduzir a secreção de partículas de VLDL, mecanismo que contribui para o efeito hipolipidêmico dos fibratos e ácidos graxos livres (AGL) (SCHOONJANS et al., 1996).

O PPAR $\gamma$  encontra-se em concentrações elevadas após a ingestão alimentar e reduzidos no jejum (KERSTEN et al., 2000) e a regulação da sua atividade se mantém no período de jejum, em indivíduos obesos. Em dietas ricas em lipídios produz-se hipertrofia dos adipócitos e aumento da RI, mas em ratos que apresentam o polimorfismo do gene PPAR $\gamma$ , não se observou o mesmo efeito (KUBOTA et al., 1999).

Inúmeros variantes genéticos do PPAR $\gamma$ 2 têm sido identificados, entre estes, o polimorfismo Pro12Ala, que é altamente prevalente em populações caucasianas (BUZZETTI et al., 2004) e vem sendo largamente estudado nos últimos anos. Este polimorfismo é caracterizado pela substituição do aminoácido prolina pela alanina na posição 12 (Pro12Ala e Ala12Ala). Vários pesquisadores têm buscado elucidar os efeitos deste polimorfismo no PPAR $\gamma$ 2, entretanto, os resultados permanecem controversos.

Valve et al (1999), Meirhaeghe et al (2000) e Luan et al (2001) verificaram a associação entre o PPAR $\gamma$ 2 e a obesidade avançada, representada pelo aumento do

IMC. Porém destacaram que pesquisas realizadas com o variante Pro12Ala têm mostrado resultados controversos. Vaccaro et al (2000) concluíram que este polimorfismo não é o principal determinante da obesidade grave em caucasianos, apesar de contribuir para o surgimento da obesidade precoce. De forma semelhante, OH et al (2000) não encontraram associação entre a forma heterozigota do polimorfismo e a ocorrência de obesidade e de diabetes em coreanos.

Em humanos, o polimorfismo pode estar relacionado com o aumento do peso corporal e da CC (MEIRHAEGHE et al., 2004; DOUGLAS et al., 2001; NICKLAS et al., 2001; BEARMER et al., 1998). Em uma meta análise realizada por Masud et al (2003), a respeito do efeito do variante Pro12Ala sobre o IMC, conclui-se que a presença do alelo Ala12 encontra-se associado ao IMC significativamente mais elevado, comparados aos indivíduos não portadores deste alelo, mas esses efeitos são limitados á indivíduos com IMC igual ou maior a 27 kg/m<sup>2</sup>.

No entanto, Deeb et al (1998), relataram que o genótipo Pro12Ala está associado com menor IMC e maior SI, refletindo provavelmente uma menor atividade transcricional do PPAR $\gamma$  e, conseqüentemente, menores concentrações de acúmulo de tecido adiposo, que parece ser o fator responsável pelos efeitos positivos na SI.

Semelhantemente ao estudo de Deeb et al (1998), Masugi et al (2000) propuseram que a forma heterozigota pode estar associada com a redução da atividade transcricional, levando a um prejuízo na adipogênese, além de alterações na SI.

Em amostra composta por italianos (n=1.215), Buzzetti et al (2004) também demonstraram que o variante X12Ala (Pro12Ala ou Ala12Ala) está significativamente associado com melhora da SI, contudo, não foi observada interação significativa entre o IMC e o polimorfismo.

Cecil et al (2006) encontraram associação entre o genótipo Pro12Ala e a redução da incidência de obesidade, além de forte associação entre a variação no gene e o percentual de gordura corporal em crianças antes da puberdade. Contudo, este polimorfismo demonstrou efeitos opostos em relação a crescimento, pois estava associado à utilização energética deficiente, refletindo em crescimento reduzido.

Caramori et al (2003) também concluíram que a presença do alelo Ala pode conferir proteção para a nefropatia diabética em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. Tavares et al (2005) sugeriram que indivíduos com diabetes portadores do Ala12 poderiam ser mais sensíveis à insulina, comparados com os homozigotos Pro12Pro.

Apesar da falta de consensos nesta área, sugere-se que o alelo Ala confira efeitos protetores para o desenvolvimento da obesidade, do diabetes mellitus tipo 2 e da RI (LINDI,2002 ; DUAN,2008).

## **2.5. Ligantes do PPAR, peso corporal e resistência à insulina**

Os ácidos graxos, alguns hormônios e vitaminas são considerados ligantes ou agonistas lipofílicos, isto é, moléculas sinalizadoras extracelulares capazes de atravessar a membrana celular por difusão simples ou facilitada e se ligar a receptores intracelulares, como é o caso do PPAR. Como não necessitam da ativação de cascatas de segundos mensageiros, como ocorre com os receptores de membrana, os receptores intracelulares são considerados fatores de transcrição, pois atuam diretamente na região promotora dos genes-alvo (CURI et al., 2002).

Existem os ligantes sintéticos como drogas hipolipemiantes e antidiabéticas, destacando-se as tiazolidinedionas (TZDs) (troglitazona, ciglitazona, rosiglitazona e

pioglitazona), que possuem alta afinidade pelo PPAR $\gamma$  (CURI et al., 2002; GROMMES et al., 2004; ROSEN et al., 2000; KERSTEN et al., 2000).

Pesquisas que analisam a RI têm destacado a importância do PPAR $\gamma$ , pois este receptor é o alvo celular de drogas como TZDs, as quais são utilizadas no tratamento do diabetes por proporcionarem aumento da SI no tecido muscular (CURI et al., 2002; SCHWARTZ e KAHN,1999). São as drogas mais conhecidas, com atividade anti-diabética, melhorando a RI e reduzindo as concentrações de glicose no plasma. São potentes sensibilizadores da insulina, tendo impacto na utilização corporal da glicose, induzindo o aumento da ação da insulina, que resulta em estímulo da produção de glicose no músculo esquelético e no tecido adiposo. Também reduzem a hipertrigliceridemia e as concentrações de AGL no plasma, melhorando a função das células  $\beta$  pancreáticas. Portanto, apresentam papel importante no controle e tratamento do diabetes não insulino dependente (SPIELGELMAN, 1999). As TZDs também atuam na regulação da expressão da resistina, relacionada a redução da tolerância à glicose e a ação da insulina, a qual encontra-se induzida durante a diferenciação dos adipócitos e circulando em altas concentrações em ratos obesos (STEPPAN et al., 2001). A rosiglitazona é o agente mais potente e seletivo nesta classe (HOUSEKNECHT et al., 2002). Portanto, a ativação do gene PPAR  $\gamma$ 2 poderia melhorar a ação da insulina.

O papel do PPAR $\gamma$  difere no tecido adiposo subcutâneo e visceral, visto que a administração crônica do TZD em pacientes diabéticos resultou em maior acúmulo de gordura subcutânea e decréscimo da gordura visceral (MORI et al., 1998).

Segundo Curi et al. (2002), como o tecido muscular apresenta baixos níveis de expressão do PPAR $\gamma$ , algumas hipóteses têm sido propostas para explicar este fato. A primeira hipótese é que a ação das TZDs ocorre indiretamente, sendo mediada pelo

tecido adiposo. Este efeito ocorreria por meio da expressão de moléculas como o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e leptina que seriam capazes de afetar a SI muscular ou pelo aumento do clearance de ácidos graxos (AG) pelo tecido adiposo, induzido pela ativação do PPAR $\gamma$ , o que resultaria em uma menor concentração plasmática de AG no músculo, aumentando assim a SI. Outra explicação para este fato seria a de que as TZDs possam agir diretamente nos tecidos sensíveis à insulina, mesmo com baixa expressão do PPAR $\gamma$ , regulando a expressão de genes envolvidos com o metabolismo da glicose como o GLUT4. Contudo, são necessários estudos que avaliem se a regulação destes genes é de fato mediada pelo PPAR $\gamma$ .

Embora com benefícios, estas drogas possuem a desvantagem de contribuir para o ganho de peso corporal devido ao estímulo para a adipogênese (LENHARD e GOTTSCHALK, 2002; SOOD et al., 2000; ROSEN et al., 2000).

Alguns estudos mostram que a presença do alelo Ala proporciona efeitos benéficos em relação a SI (DEEB et al., 1998; MASUGI et al., 2000; BUZZETTI et al., 2004; CECIL et al., 2006; ALTSHULER et al., 2000). Se a ocorrência do polimorfismo está associada com menor atividade do gene, os efeitos antidiabéticos das TZDs parecem contraditórios. Contudo, diferentemente dos efeitos fisiológicos dos ligantes endógenos do PPAR $\gamma$ , o aumento da SI proporcionado por estas drogas pode não estar relacionado apenas às alterações ocorridas no metabolismo do tecido adiposo (DEEB et al, 1998).

Sendo a RI considerada importante no desenvolvimento do diabetes tipo 2 (BUZZETTI et al., 2004) e que a ativação do PPAR $\gamma$  leva ao aumento da sensibilidade a este hormônio, ligantes naturais como os lipídios dietéticos podem agir de forma semelhante às TZDs contribuindo para a prevenção desta enfermidade e, conseqüentemente, de suas complicações (GIZARD E BRUEMMER,2008).

Os ligantes endógenos ou naturais do PPAR $\gamma$  incluem AGPI de cadeia longa, derivados de eicosanóides e lipídios oxidados. Os AGPI têm sido destacados, confirmando que o fator ambiental pode efetivamente influenciar na ação do gene (TONTONNOZ et al., 1994; AZCÁRATE et al., 2000; KERSTEN et al., 2000; LUAN et al., 2001; NTAMBI e BENE, 2001; HOUSEKNECHT et al., 2002). Portanto, a regulação da expressão deste gene pode influenciar a composição corporal e a SI, dependendo do tipo de lipídio ingerido.

Os AGPI atuam como ligantes do PPAR $\gamma$  ativando a expressão genética. Forman et al (1995) e Mater et al (1998), observaram que a expressão do PPAR $\gamma$  parece ser mais influenciada pelos AGPI da série n-6 (linoleico e araquidônico) que pelos AGPI da série n-3 (linolênico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico).

Os AGPI estimulam a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na oxidação de ácidos graxos e diminuição da expressão de genes que codificam proteínas associadas com a síntese lipídica. Esses efeitos se devem ao fato dos AGPI ativarem os PPARs (CLARKE, 2001).

Os ácidos graxos que compõem os lipídios dietéticos influenciam na secreção hormonal e na modificação da composição da membrana lipídica. Os ácidos graxos dietéticos, particularmente os AGPI tem uma influência direta sobre a expressão genética molecular, e grande impacto no desenvolvimento da obesidade e da SI (CLARKE, 2001; TAI et al., 2005).

Sugere-se que a afinidade dos ácidos graxos como ligantes do PPAR $\gamma$  podem variar dependendo do comprimento da cadeia e do grau de saturação (DESVERGNE, 1999). No entanto, os resultados da interação gene-dieta são contraditórios (STUMVOLL, 2001). Luan (2001), relata maior IMC em indivíduos com o alelo Ala

que consomem dieta pobre em AGPI e AGS . Enquanto Memisoglu (2003), sugere também um aumento do IMC entre os que consomem mais AGMI e apresentam o polimorfismo Pro12Ala.

As prostaglandinas da série J são também consideradas ligantes do PPAR $\gamma$  (YU et al., 1995; STRAUS e GLASS, 2001), sendo a 15-desoxi- $\Delta^{12,14}$ -PGJ<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>) um ligante com alta afinidade (STRAUS e GLASS, 2001), capaz de ativá-lo em baixas concentrações (KERSTEN et al., 2000; ROSEN et al., 2000). Os ácidos graxos essenciais, mais especificamente o linoléico, são precursores das prostaglandinas da série J<sub>2</sub>, potentes ligantes do PPAR $\gamma$  (PALOU, 1998; KERSTEN et al., 2000).

O ácido linoléico conjugado ativa a expressão do PPAR $\gamma$ , melhorando a SI (HOUSEKNECHT et al., 1998). Certos eicosanóides também possuem grande afinidade como ligantes e ativadores do PPAR $\gamma$  (KERSTEN et al., 2000; ROSEN et al., 2001).

Porém, tem-se sugerido que um ligante específico pode não existir e que o PPAR $\gamma$  possa ser sensível a de ácidos graxos, cuja afinidade varia de acordo com o tamanho da cadeia e grau de saturação dos ácidos graxos (KLIEWER et al., 1997; DESVERGNE e WAHLI, 1999).

## **2.6. Lipídios dietéticos, obesidade e PPAR $\gamma$ 2**

Os lipídios são macronutrientes importantes da dieta, e estão fortemente associados à obesidade, pois além do fornecimento de energia, comparado aos demais macronutrientes, pode ligar-se covalentemente a proteínas, agir como precursores de moléculas sinalizadoras (prostanóides e esteróides) e até mesmo influenciar a

expressão de genes levando a alterações no metabolismo, na diferenciação e no crescimento celulares (CURI et al., 2002).

Storlien et al. (2000), em estudo que não considerou parâmetros moleculares, observaram que os ácidos graxos saturados (AGS) estão fortemente relacionados com o desenvolvimento da obesidade e da RI, o que não ocorre com os AGPI. Isso ocorre, pois os AGS são pouco oxidados para gerar energia e preferencialmente estocados; são dificilmente mobilizados por estímulo lipolítico e aumentam a expressão dos genes associados com a proliferação dos adipócitos. Por outro lado, os AGPI possuem efeitos contrários, melhorando a ação da insulina e reduzindo a adiposidade.

Neste aspecto, se considera a interação gene-ambiente, a ingestão de AGPI pode resultar em efeito diferenciados no peso corporal, dependendo do genótipo do indivíduo.

Segundo Dugan et al. (1997), a suplementação de dietas de porcos com 2% de ácido linoléico conjugado resultou na redução da ingestão alimentar e da massa de tecido adiposo com correspondente aumento da massa magra e da eficiência alimentar. Estes efeitos, presumivelmente, foram mediados pelos PPARs.

Torna-se importante salientar que as dietas ricas em lipídios promovem a diferenciação dos adipócitos (VIDAL-PUIG et al., 1997; MARGARETO et al., 2001). As baixas concentrações de ácidos graxos em animais alimentados com dietas ricas em lipídios podem ser explicadas pelo fato de que a mesma induza o acúmulo de gordura, utilizando-se dos ácidos graxos circulantes (BERRAONDO et al., 2000).

Em roedores, a dieta rica em lipídios resulta em aumento da RI, envolvendo o transporte de glicose e o GLUT4. O aumento da ingestão de gordura na dieta, sem aumento das calorias, resulta em regulação negativa da expressão da proteína GLUT4



no tecido adiposo e esta expressão está ligada aos metabólitos do ácido araquidônico, provavelmente via ativação do PPAR $\gamma$  (KAHN, 1994; LONG e PEKALA, 1996).

Os ácidos graxos da dieta influem em várias vias metabólicas, em uma variedade de órgãos. Parte desta influência provoca a alteração na ativação do mRNA. Na restrição energética intensa ou jejum, ocorre à ativação da remoção dos TG do tecido adiposo e grandes quantidades de ácidos graxos são liberadas para o fígado e os eventos ocorridos neste órgão são influenciados pelo PPAR (KERSTEN et al., 2000).

A expressão do gene PPAR $\gamma$  é regulada nutricionalmente em roedores e humanos, sendo que nos primeiros a expressão do PPAR $\gamma$  no tecido adiposo é regulada pela insulina (VIDAL-PUIG et al., 1996) e pela manipulação da dieta, por meio de dietas ricas em lipídios ou jejum (ROSSEAU et al., 1997; VIDAL-PUIG et al., 1996), mas não pela obesidade (VIDAL-PUIG et al., 1996). O jejum promove a redução do mRNA do PPAR $\gamma$ 2, em ratos (HOUSEKNECHT et al., 2002). Em tecido adiposo subcutâneo de porcos, a expressão do PPAR $\gamma$ 2 é regulada positivamente com a suplementação com o ácido graxo linoléico, mas não com o 16:0 ácido graxo palmítico, ácido graxo esteárico ou ácidos graxos da série 3 (SPURLOCK et al., 2000).

As associações entre o polimorfismo Pro12Ala e a prevalência de diabetes tipo 2, o padrão de RI e a possível interação entre os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) dietéticos e este polimorfismo foram investigadas por Soriguer et al (2006) em 538 indivíduos do sul da Espanha. Foi encontrada prevalência de 13,4% para o variante heterozigoto (Pro12Ala) e de 0,8% para a forma homozigota (Ala12Ala). Os indivíduos com o alelo Ala apresentaram menor risco para o diabetes tipo 2 e houve interação entre a ingestão de AGMI e o polimorfismo Pro12Ala, sendo que os obesos com o variante no gene que consumiam menos AGMI demonstraram maior RI,

segundo o HOMA (avaliação do modelo de homeostase). Tal fato sugere uma interação entre o polimorfismo e a obesidade dependendo da dieta.

Em outro estudo desenvolvido na Espanha (dados não publicados), observou-se relação inversa entre o IMC e a ingestão de lipídios em mulheres com o genótipo Pro12Ala/Ala12Ala. A presença do alelo Ala sugeriu aumento na oxidação lipídica, comparado com o alelo Pro, dependendo da ingestão lipídica, principalmente de AGPI. Os autores sugeriram que as mulheres com polimorfismo no gene apresentavam maior capacidade de oxidação de lipídios, auxiliando no controle da obesidade, e que a lipólise depende do tipo de ácido graxo ingerido. Também os autores observaram que as mulheres com polimorfismo com menor ingestão de AGMI e maior de AGPI apresentaram maior oxidação de lipídios em jejum, sugerindo que os AGPI apresentaram prioridade oxidativa nestas mulheres. Como abordado anteriormente por Storlien et al. (2000), o grau de saturação do ácido graxo influi na prioridade oxidativa. No entanto estes autores não avaliaram parâmetros moleculares. Mediante ao exposto, sugerimos que o AGPI tenha eficácia diferenciada dependendo do genótipo do indivíduo.

## **2.7. Avaliação Dietética**

Os estudos dietéticos têm como objetivos determinar os alimentos que constituem a dieta habitualmente ingerida por um indivíduo ou grupos, fornecendo elementos elucidativos em relação à associação entre dieta e saúde, particularmente no que se refere à determinação de diversos agravos nutricionais (FALCÃO-GOMES et al., 2006).

A avaliação do padrão do consumo alimentar desperta interesse no campo da saúde pública como mecanismo importante para fundamentar e orientar políticas de

alimentação e nutrição. Assim, constitui-se um método preditivo para determinar o estado de saúde da população (SERRA-MARJEM et al., 1993; TRIGO, 1993).

Para avaliação do consumo alimentar, a escolha do método de investigação deve ser pautada no objetivo dessa investigação (dieta total, alimentos ou grupo de alimentos, padrões e características da dieta, tipo de nutriente investigado) e nas características da população alvo (KANIMURA et al., 2002).

Os métodos para avaliação dietética podem ser classificados como retrospectivos e prospectivos. Os primeiros englobam o recordatório de 24 horas, história alimentar e o questionário de frequência de consumo alimentar que pode ser qualitativo, semiquantitativo e quantitativo. Os prospectivos incluem a pesagem direta, registro alimentar (que pode ser estimado ou pesado) e inventário (usa o estoque de todos os alimentos consumidos) sendo obtidas informações do consumo alimentar no período estudado (MENCHU, 1993; CINTRA et al., 1997).

Para avaliar o consumo energético e a distribuição dos macronutrientes devem ser empregados os inquérito alimentar, sendo os mais indicados os registros alimentares e recordatório de 24 horas. A melhor estimativa da ingestão do nutriente pelo indivíduo é dada pela média de vários dias de consumo alimentar obtido por estes métodos. Os métodos como história dietética e o questionário de frequência alimentar, que se utiliza de listas de alimentos, não são apropriados para esta finalidade. Além disso, é necessário procurar-se estabelecer o padrão habitual de consumo alimentar, reconhecendo-se que este é um grande desafio, uma vez que há variabilidade intrapessoal. Deve-se ter especial atenção ao consumo freqüente ou não de alimentos que são fontes de determinados nutrientes, o que pode sinalizar possíveis deficiências nutricionais (BEATON, 1994).

A avaliação da dieta feita por meio do recordatório de 24 horas (R24h), não tem esta propriedade. Sugere-se a utilização do registro de três ou mais dias, ou, como alternativa, a aplicação de seriados R24h. Devem-se aplicar quaisquer métodos selecionados, em dias alternados e abrangendo um dia de final de semana (WILLET, 1998). Não considerar a variação da ingestão de nutrientes devido à variabilidade do consumo alimentar pode levar à subestimação ou superestimação da ingestão habitual (SEMPOS, 1991).

Avaliar a ingestão de nutrientes de forma qualitativa e quantitativa é fundamental para se implementar mudanças no comportamento alimentar, e, com isso, colaborar para diminuir os riscos de morbidades ou para melhorar a qualidade de vida (MARCHIONI, 2004).

Não existem métodos capazes de medir a ingestão dietética com exatidão, ou seja, livre de erros. Assim, feita a escolha do método pode ocorrer erro de medição, intrínseco a qualquer método de avaliação de consumo de alimentos (ARMSTRONG, 1995; WILLETT, 1998; SLATER, 2004).

### 3- OBJETIVOS

---

#### 3.1. Geral

- Avaliar o efeito da qualidade lipídica da dieta na resistência a insulina, no perfil lipídico e na perda de peso de mulheres obesas de grau 3 com genótipo Pro12Pro no gene PPAR $\gamma$ 2.

#### 3.2. Específicos

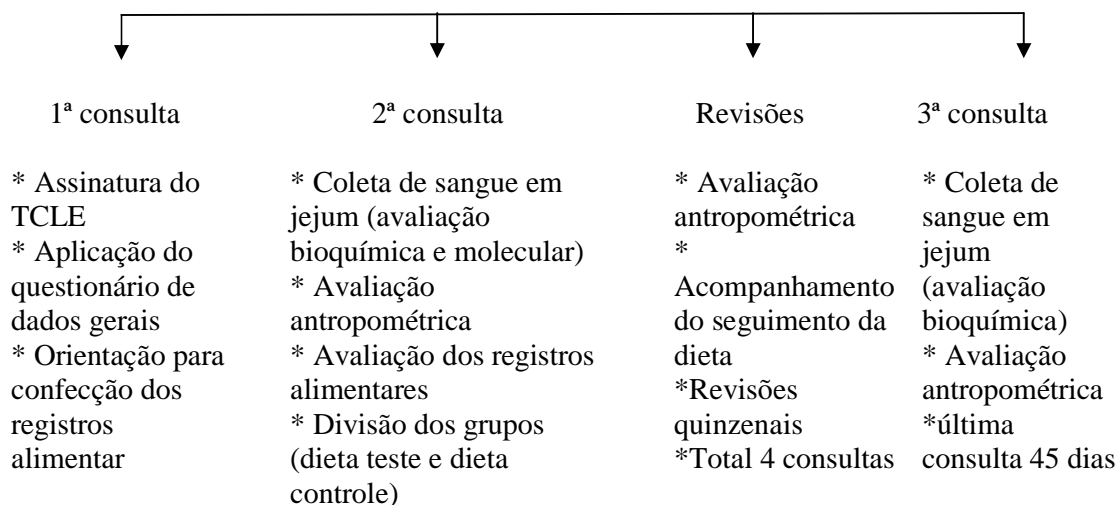
- Avaliar o genótipo do PPAR $\gamma$ 2;
- Caracterizar a população do estudo quanto aos parâmetros antropométricos e bioquímicos, antes e após a intervenção;
- Avaliar o efeito da dieta rica em ácidos graxos polinsaturados no perfil lipídico;
- Analisar o efeito da dieta rica em ácidos graxos polinsaturados na resistência a insulina;
- Relacionar o efeito da dieta rica em ácidos graxos polinsaturados com os parâmetros antropométricos;
- Analisar a ingestão dietética habitual das voluntárias;
- Correlacionar à ingestão lipídica habitual com perfil lipídico, à resistência à insulina e a perda de peso.

## 4- PACIENTES E MÉTODOS

---

### 4.1. Desenho do estudo e sujeitos da pesquisa

O presente estudo foi intervencional do tipo prospectivo longitudinal. Os grupos teste e controle foram determinados aleatoriamente, através de sorteio. As pacientes eram submetidas a dieta teste e controle por um período de 45 dias. O esquema geral de condução do estudo pode ser visualizado na figura 1.



Legenda: TCLE = Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, VET = Valor Energético Total

**Figura 1:** Esquema geral de condução do estudo.

Foram selecionadas 18 mulheres obesas de grau 3, atendidas no Laboratório de Avaliação Nutricional (LANUTRI) do Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

A divulgação da pesquisa para o recrutamento das voluntárias foi realizado por meio de cartazes afixados no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

(HUCFF) da UFRJ e no jornal da SINTUFRJ. Foram selecionadas 18 mulheres que atenderam a todos os critérios de inclusão e finalizaram o estudo.

A coleta dos dados foi realizada no período de março de 2006 a outubro de 2007.

Os resultados da pesquisa foram disponibilizados para todos os voluntários no final do estudo e entregues pessoalmente.

#### **4.2. Critérios de inclusão e exclusão**

Como critério de inclusão, as mulheres deveriam: apresentar história familiar de obesidade (pais), idade adulta (não poderiam estar no período de menopausa), IMC superior a  $40 \text{ kg/m}^2$  (WHO, 1998).

Considerou-se como critério de exclusão o tabagismo, diagnóstico prévio de doenças infecciosas, diabetes mellitus e, ou, outras doenças crônicas não transmissíveis, cirurgias restritivas e/ou dissarbsortivas ou qualquer outro tratamento cirúrgico da obesidade, gestação, lactação, uso de medicamentos para perda de peso e, ou, hipolipemiantes, pacientes em dieta especial ou que apresentaram perda de peso superior a 3 kg no último mês. Ademais, foram excluídas do estudo as voluntárias que não foram capazes de seguir o protocolo proposto.

#### **4.3. Questões Éticas**

O projeto foi aprovado em 26/09/2005 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da UFRJ (protocolo de pesquisa nº 116/05).

#### 4.4. Ensaio Clínico

- Primeira consulta:

Na primeira consulta, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo I), foi aplicado um questionário estruturado contendo informações gerais e nutricionais das voluntárias (Anexo II), e foram feitas orientações referentes à confecção dos registros alimentares de três dias (Anexo III), objetivando o conhecimento dos hábitos alimentares dos grupos estudados.

Foi realizado o questionário de frequência alimentar para avaliação da ingestão alimentar qualitativa.

- Segunda consulta:

As mulheres se apresentaram no ambulatório de Nutrição (LANUTRI) entre 07:00 e 08:00h da manhã, em jejum noturno mínimo de 12 horas, para coleta das amostras de sangue destinado às análises bioquímicas e moleculares (polimorfismo do gene PPAR $\gamma$ 2). Em seguida, foi realizada a avaliação antropométrica, utilizando-se o peso e a altura para o cálculo do IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), e circunferências da cintura e do quadril. Também foram verificados os registros alimentares solicitados na primeira consulta.

As voluntárias foram distribuídas aleatoriamente, por sorteio, em dois grupos, quais sejam: dieta teste (rica em AGPI) e dieta controle (distribuição normal). Foi realizada a prescrição dietética (Anexo IV), a qual foi utilizada no período de 45 dias.



- Consultas Subseqüentes:

As pacientes foram submetidas à avaliação antropométrica (peso corporal e circunferências). Caso houvesse perda de peso superior a quatro quilos, a dieta era recalculada de acordo com as necessidades atuais da voluntária. Todas as dúvidas referentes à dieta eram esclarecidas nestas consultas.

- Última consulta

Após 45 dias de intervenção, as mulheres retornaram ao LANUTRI, entre 07:00 e 08:00h da manhã, em jejum noturno mínimo de 12 horas, para coleta das amostras de sangue destinado às análises bioquímicas e antropométricas.

#### **4.5. Avaliação Antropométrica**

- Peso

O peso (kg) corporal foi medido utilizando-se balança tipo plataforma (Filizola), com precisão de 100g e capacidade máxima de 150 kg. As voluntárias foram pesadas com o mínimo de roupa possível e descalças.

- Altura

A altura (cm) foi determinada utilizando-se um antropômetro vertical milimetrado (GIBSON, 1990). As voluntárias foram orientadas a permanecer com os braços estendidos ao longo do corpo, calcanhares unidos, cabeça ereta e olhos fixos para a frente ou no plano horizontal de Frankfort. Em seguida foram orientadas a

respirar profundamente, até que a haste horizontal do estadiômetro fosse abaixada até o ponto mais alto de sua cabeça.

- Circunferências

Foram avaliadas as circunferências da cintura (CC) e do quadril (CQ), utilizando-se fita métrica inestensiva e inelástica e também a relação entre CC e CQ (MCARDLE et al., 2003; KOOY e SEIDELL, 1993; WEINSIER et al., 1995). A CC foi medida no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. A CQ foi aferida na maior região entre a cintura e a coxa, objetivando determinar a distribuição da gordura corporal.

#### **4.6. Avaliação Bioquímica**

As concentrações séricas de colesterol total e frações, TG e glicose foram analisadas no laboratório de análises clínicas da faculdade de farmácia (LACFAR) por profissionais especializados. Tanto os parâmetros lipídicos quanto a glicose foram analisados antes e após a intervenção dietética.

A insulina sérica foi analisada, no início e após a intervenção, pela APAE (Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais).

Após jejum noturno de 12 horas foram coletados quatro tubos com alíquotas de sangue de cada uma das voluntárias, sendo 5 mL em um tubo com anticoagulante EDTA (Vacutainer, Becton Dickinson, USA) destinado às análises moleculares, 5 mL em um tubo com anticoagulante Fluoreto (EDTA e fluoreto) para análise da glicose plasmática e dois tubos sem anticoagulante, nos volumes de 10 mL cada, para análises do perfil lipídico e insulina.

Os tubos contendo sangue foram submetidos à centrifugação a 3.500 rpm por 10 minutos (Centrífuga Excelsa Baby I - FANEM<sup>®</sup>) para a obtenção de soro (tubos sem EDTA) e plasma (tubos com EDTA). As alíquotas de soro destinadas à dosagem de colesterol total, colesterol HDL e TG, foram mantidas sob refrigeração até o momento da análise. As demais amostras de soro foram estocadas a -20°C até a análise da concentração sérica de insulina.

Após análise das concentrações séricas de glicose e insulina foi avaliada a resistência à insulina utilizando o cálculo de HOMA (avaliação do modelo de homeostase) (MATHEWS et al., 1985; SHIGETA et al., 2001), o qual possui boa correlação com o Clamp euglicêmico, considerado padrão ouro (KATZ et al., 2000). Cálculo de HOMA-IR: Resistência à insulina = concentração sérica de insulina em jejum ( $\mu\text{U/mL}$ ) x glicose em jejum ( $\text{mmol/L}$ ) / 22,5.

#### **4.7. Determinação das concentrações séricas de glicose**

A determinação da glicose foi realizada pelo método enzimático-colorimétrico (GOD-POD) (LOTT E TURNER, 1975), utilizando-se o kit comercial GLICOSE PAP Liquiform (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil, Cat. 84).

Nessa análise, a glicose da amostra, na presença de oxigênio e água, sofre ação da enzima glicose oxidase, produzindo ácido glucônico e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). O  $\text{H}_2\text{O}_2$  reage com 4-aminoantipirina e fenol, que sofre ação da enzima peroxidase, produzindo uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade da cor é proporcional à concentração de glicose presente na amostra.

#### **4.8. Determinação das concentrações séricas de insulina**

A determinação da insulina sérica foi realizada por meio da técnica de Radioimunoensaio (RIA) (VALVE et al., 1999), utilizando-se a insulina CAC da DP Lab (código 1005007 TKIN2).

Nesse método, a insulina marcada com iodo  $^{125}\text{I}$  compete, por um período fixo de tempo, com a insulina da amostra 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. A determinação da radioatividade foi feita em contador GAMMA. Os resultados da insulina sérica foram expressos como  $\mu\text{IU/mL}$  que equivale à  $\mu\text{U/mL}$ .

Para a determinação da insulina sérica foi realizada a técnica de radioimunoensaio (RIA), utilizando-se a insulina COAT-A-COUNT<sup>®</sup> (Diagnostic Products Corporation<sup>®</sup>, USA).

#### **4.9. Determinação das concentrações séricas de colesterol total e frações e triglicerídeos:**

- Colesterol total sérico

As concentrações séricas de colesterol total foram analisadas por método enzimático, por meio do *kit* comercial COLESTEROL Liquiform (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil, Cat. 76).

Na técnica empregada, 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  $H_2O_2$ . O  $H_2O_2$ , na presença de fenol e 4-aminoantipirina sofre ação da peroxidase, produzindo um composto róseo-avermelhado (antipirilquinonimina), com máximo de absorção em 500 nm.

- HDL-colesterol

As concentrações séricas de HDL-colesterol (lipoproteína de alta densidade) foram determinadas por método enzimático-colorimétrico, utilizando-se o *kit* comercial COLESTEROL HDL (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil, Cat. 13).

Nesse método, a mistura de ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio precipita as lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol) e as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-colesterol), sem alterar a solubilidade do 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.

- LDL-colesterol e VLDL-colesterol

As concentrações de LDL e de VLDL foram calculadas com base na equação de Friedwald (1972), que é utilizada em amostras cujas concentrações de TG não ultrapassem 400 mg/dL.

Equação de Friedwald:

$$\text{VLDL (mg/dL)} = \text{triglicéridios} / 5$$

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

- Triglicerídios

Os TG séricos foram determinados por sistema enzimático-colorimétrico com auxílio do kit TRIGLICÉRIDES Liquiform (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil, Cat. 87).

Os TG do soro são hidrolisados pela lipase lipoprotéica, produzindo glicerol livre que é fosforilado pela glicerolquinase. O produto da fosforilação sofre a ação da glicerol-fosfato-oxidase que, na presença de oxigênio, produz peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). O  $H_2O_2$ , sob a ação da peroxidase em presença de 4-clorofenol e 4-aminoantipirina, produz um composto róseo-avermelhado (quinoneimina), com máximo de absorção em 505 nm.

#### **4.10. Avaliação molecular**

O polimorfismo no gene  $PPAR\gamma 2$  foi analisado no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Schistosoma Mansoni da UFRJ, que está adequadamente equipado para a realização das análises.

- Extração do DNA

Para a avaliação do polimorfismo genético, foi feito o isolamento do DNA das amostras de sangue integral utilizando-se o kit “MasterPure™ Genomic DNA Purification Kit” (Cat nº MG71100) da EPICENTRE® Biotechnologies. As amostras de DNA eram armazenadas a  $-20^\circ C$  até o momento da amplificação por meio da técnica de PCR (reação em cadeia da DNA polimerase) (Anexos V e VI).

- Análise do polimorfismo

Para realização da técnica de PCR é necessário que se tenha um conhecimento prévio da seqüência de ácidos nucleicos que se deseja amplificar. A partir disso desenham-se os iniciadores ou primers, que darão início a um processo de síntese em um local específico. Para a amplificação do segmento do DNA, preparou-se uma mistura de reação para a PCR que continha 45  $\mu$ L de PCR Supermix invitrogen<sup>TM</sup> (22 mM Tris-HCL (pH 8.4), 1.65 mM MgCl<sub>2</sub>, 220  $\mu$ M dGTP, 220  $\mu$ M dGTP, 220  $\mu$ M dATP, 220 dTTP, 220  $\mu$ M dCTP, 22 U Taq DNA Polimerase recombinante/mL, estabilizadores), 2  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O Milli-Q, 1  $\mu$ L de Primer 1 (10  $\mu$ M) e 1  $\mu$ L de Primer 2 (10  $\mu$ M) e 1  $\mu$ L de amostra de DNA genômico na concentração de 50ng / $\mu$ l ,em um volume final de 50  $\mu$ L.

No termociclador (Gene Amp<sup>®</sup> PCR System 9700) o DNA isolado é aquecido brevemente para desnaturá-lo 95°C por 5 minutos, depois por mais 30 segundos, uma vez separadas as fitas a temperatura da reação é reduzida 59°C e os iniciadores ou primers se hibridizam um em cada fita nas respectivas seqüências complementares; eleva-se a temperatura 72°C por 30 segundos para que a enzima DNA polimerase posicione-se junto aos iniciadores ou primers que se anelaram anteriormente e comece a duplicação da fita. Após término deste ciclo; todo processo de desnaturação até a extensão é repetido 35 vezes, até que se obtenha uma quantidade razoável de DNA amplificado. Os fragmentos gerados foram: Pro12Pro: 267 pb e Pro12Ala: 267, 224, 43 pb.

Os fragmentos gerados na amplificação por PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% e corado com brometo de etídio (0,8  $\mu$ L de uma solução de 10 mg/mL). A eletroforese foi realizada em uma cuba horizontal

(GE/AMERSHAM) A 100V por 40 minutos, usando-se tampão para corrida TBE 1X (0,892M Tris-HCL; 0,019 M) EDTA; 0,889M ácido bórico) (Anexo VI).

Em seguida, 10  $\mu$ L do material amplificado foi adicionado a um mix preparado com 7,4  $\mu$ L de água, 2  $\mu$ L de Buffer (10x) e 0,6  $\mu$ L unidades da enzima de restrição BST UI, para digestão no termociclador (Gene Amp<sup>®</sup> PCR System 9700) por 180 minutos a 60°C. Após a digestão, os fragmentos gerados foram observados em gel de agarose a 3% e corados com brometo de etídio (0,8  $\mu$ L de uma solução de 10 mg/mL). A eletroforese foi realizada em uma cuba horizontal (GE/AMERSHAM) a 100V por 40 minutos, usando-se tampão para corrida TBE 1X (0,892M Tris-HCL; 0,019M EDTA; 0,889M ácido bórico) (Anexo VI).



**Quadro 1:** Condições experimentais para a detecção dos alelos Pro12Pro, Pro12Ala e Ala12Ala

<b>PCR</b>	<b>Digestão enzimática</b>
No de acesso no Genbank: <b>AB005520</b> <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/</a>	<b>Enzima de restrição:</b> Bst UI (New England Biolabs)
<b>Deteção do genótipo Pro12Pro:</b> Códon 12: c → G; Pro → Ala	Local da digestão: CG / CG
Iniciadores: Exon 1 Sentido 5' GCC AAT TCA AGC CCA GTC 3' Anti-sentido 5' GCC ATG TTT GCA GAC AGT GTA TCA GTG AAG GAA TCG CTT TCC* G 3'	Condições experimentais: Temperatura de digestão: 60° C Tempo: 180 minutos [Enzima]: 6 U
Condições experimentais: Temperatura e tempo de desnaturação: 94°C/5 min Temperatura de anelamento: 59° C Temperatura e tempo de extensão: 72°C/30 seg. No de ciclos: 35 [DNA]: 50ng /µl	Fragmentos gerados: Pro12Pro: 267 pb Pro12Ala: 267, 224, 43 pb Ala12Ala: 224, 43 pb.
Fragmento gerado: 267 pb	

Adaptado de Rosado et al. (2006).

#### **4.11. Avaliação da ingestão habitual e prescrição das dietas teste e controle**

O registro alimentar compreendeu dois dias típicos e um atípico, alternados, para ser representativo do consumo habitual qualitativo e quantitativo de cada voluntária, considerando o valor calórico, os macronutrientes e o perfil lipídico da dieta. Foram fornecidos formulários próprios, onde as voluntárias preencheram dados referentes ao tipo de refeição, ao horário, aos alimentos e medidas caseiras utilizadas.

Utilizou-se o programa de análises de dieta Food Processor (FOOD PROCESSOR NUTRITION ANALYSIS SYSTEM. Version 12.0. ESHA Corporation: USA, 1984) para as análises dos registros.

As dietas prescritas foram hipocalóricas, normoprotéicas, normoglicídicas e normolipídicas, variando-se somente o tipo de lipídio oferecido. A dieta teste (n=8) apresentou de 10-15% do valor calórico total (VET) de AGPI e, em torno de 10% do VET de AGMI (Anexo VII). A dieta controle (n=10) apresentou <10% do VET de AGPI e 10-15% do VET de AGMI (Anexo VIII). O percentual de AGS foi semelhante nas duas dietas (7-8% do VET). A escolha dos percentuais para dieta controle foi baseada nas recomendações para indivíduos normais (< 10% do VET de AGS, < 10% do VET de AGPI e 10 a 15 % do VET de AGMI (III DIRETRIZES BRASILEIRAS SOBRE DISLIPIDEMIAS, 2001).

O VET das pacientes foi calculado por meio da equação FAO/OMS (1998). Sobre este valor foi feita uma redução de 500 a 1.000 kcal, preservando-se a ingestão calórica mínima recomendada (taxa metabólica basal) para a determinação do valor calórico da dieta a ser prescrita (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE, 2007).

A adesão à dieta prescrita foi avaliada em consultas quinzenais. Nas consultas eram retiradas todas as dúvidas referentes à dieta e através da anamnese alimentar avaliou-se o seguimento da dieta, durante o período do estudo.

#### **4.12. Análises estatísticas**

- Teste de Normalidade

O primeiro passo da análise estatística foi verificar se os dados apresentavam distribuição normal através do teste de Shapiro-Wilk, teste mais adequado quando se trata de amostras pequenas.

- Comparação de Médias

Tendo a informação sobre a distribuição dos dados, o passo seguinte foi efetuar a comparação dos grupos (teste e controle) e comparação dos momentos (inicial e final). Para comparação dos grupos (em casos de independência entre as amostras) foi usado o teste t não pareado, cujo correspondente não paramétrico é o teste de Mann-Whitney. Na comparação de amostras onde há uma dependência (mesma amostra mais analisada em diferentes momentos) foi utilizado o teste t pareado e o teste não paramétrico de Wilcoxon. Nos momentos que foram utilizados o teste t realizou-se o teste de homogeneidade das variâncias para verificar como se assumiria a aplicação do teste t.

Para verificar se alguma diferença estatística nos três momentos da medição da glicose e insulina foi utilizado o teste de Friedman. Este teste não paramétrico compara três ou mais grupos relacionados.

- Correlação

Foram calculadas e testadas as correlações através do coeficiente não paramétrico de Spearman ( $\rho$ ), sendo consideradas as variáveis explicativas (parâmetros antropométricos e bioquímicos) e de desfecho (parâmetros dietéticos).

- Modelos Univariados

Foram ajustados modelos de regressão univariados com as variáveis que obtiveram associação nos testes da correlação. Foi verificada também a distribuição de normalidade dos resíduos através do teste de Shapiro-Wilk.

- Modelos Múltiplos

Ajustamos modelos múltiplos para encontrar fatores relacionados às variáveis respostas perda de peso, glicose, colesterol, HDL, LDL, TG, insulina e HOMA. As variáveis explicativas utilizadas foram VET, lipídios, AGS e AGMI.

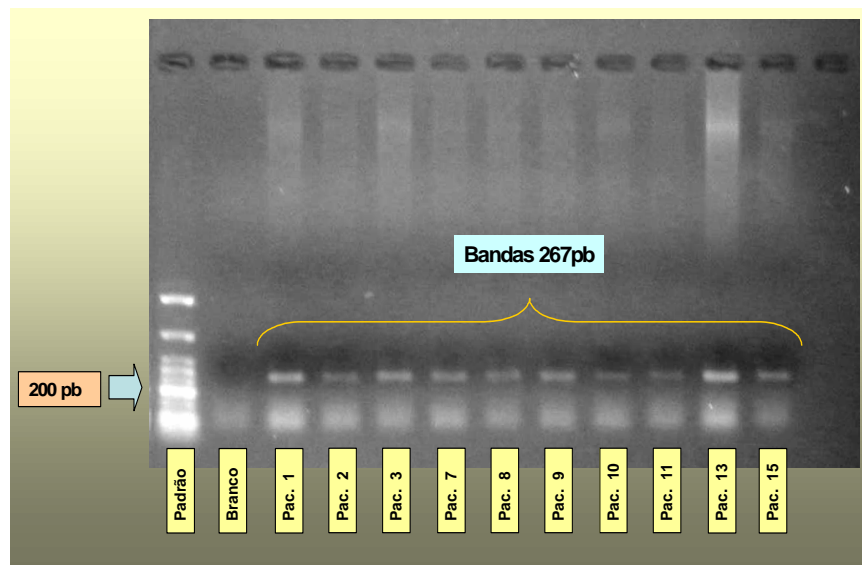
- Generalidades

Para a análise estatística, foi utilizado o programa computacional R 2.6.2. Foram considerados resultados estatisticamente significativos valores de  $p < 0,05$ .

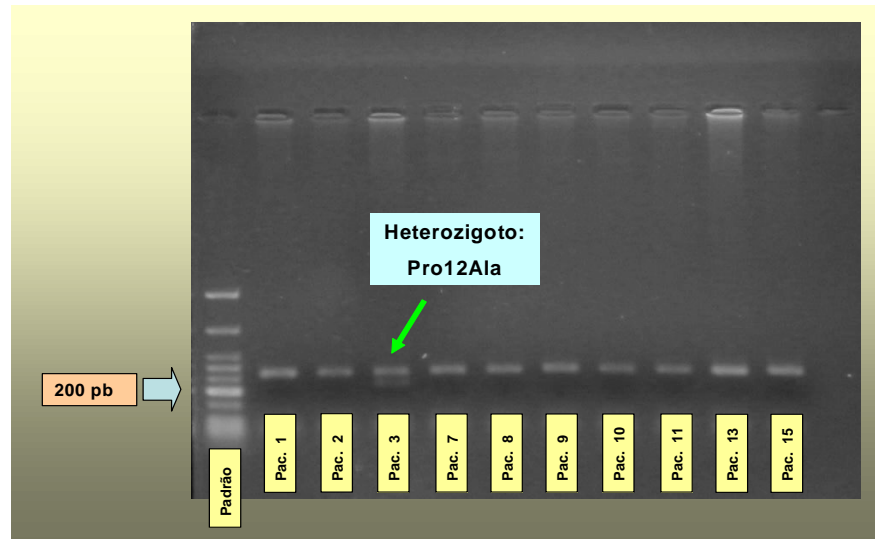
## **5 - RESULTADOS**

---

Os fragmentos gerados na amplificação por PCR e o produto da digestão pela enzima de restrição podem ser visualizados nas figuras 1 e 2, respectivamente. Foram selecionadas amostras de 10 voluntárias para confecção dos géis.



**Figura 2:** Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da amplificação por PCR na posição 267 do gene  $PPAR\gamma 2$ . Primeira coluna: marcador (200pb) (GE/AMERSHAM), segunda coluna: controle negativo, colunas 3 a 10 : fragmentos relativos ao produto da PCR.



**Figura 3:** Eletroforese em gel de agarose demonstrando os produtos da digestão do segmento de DNA amplificado. Primeira coluna: marcador (200pb) (GE/AMERSHAM), segunda coluna: controle negativo; coluna 4 (paciente 3): fragmento relativo ao genótipo Pro12Ala (267, 224 e 43pb); colunas 3, 5 a 11 : fragmentos relativos ao genótipo Pro12Pro (267pb).

Do grupo de mulheres selecionadas para o estudo, verificou-se que 95% não apresentaram o polimorfismo no gene PPAR $\gamma$ 2 (n=18) e somente 5% (n=1) apresentou o polimorfismo Pro12Ala, sendo a mesma excluída da avaliação. Portanto, 18 mulheres foram avaliadas em todas as etapas da pesquisa.

Quando se comparou os grupos (dieta teste (n=8) e dieta controle (n=10)) antes e após a intervenção (Tabela 1 e 2) não foi encontrada diferença significativa nos parâmetros: idade, índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), circunferência do quadril (CQ), relação CC/CQ, glicose, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos (TG), insulina e cálculo de HOMA.

Todas as mulheres avaliadas apresentaram o tipo de obesidade andróide (relação CC/CQ maior ou igual a 0,90) (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE, 2007).

Apesar da ausência de diferença estatística entre os grupos, destacou-se que o grupo controle apresentou cálculo de HOMA acima do ponto de corte sugerido por Defronzo et al. (1998) para RI (Tabela 1).

**Tabela 1:** Comparação (média  $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros antropométricos e bioquímicos entre os grupos teste e controle, antes da intervenção.

<b>Grupos</b>	<b>Teste</b>	<b>Controle</b>	<b>p</b>
N	8	10	
Idade (anos)	35,6 $\pm$ 6,37	37,6 $\pm$ 5,57 <sup>n.s</sup>	0,510
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	44,17 $\pm$ 2,7	44,61 $\pm$ 3,57 <sup>n.s</sup>	0,798
CC (cm)	122,8 $\pm$ 7,63	125,7 $\pm$ 10,02 <sup>n.s</sup>	0,515
CQ (cm)	142,8 $\pm$ 12,12	138,4 $\pm$ 9,44 <sup>n.s</sup>	0,418
CC/CQ	0,86 $\pm$ 0,06	0,90 $\pm$ 0,04 <sup>n.s</sup>	*1,00
Glicose (mg/dL)	86 $\pm$ 9,35	103,88 $\pm$ 27,28 <sup>n.s</sup>	0,094
Colesterol (mg/dL)	196,2 $\pm$ 27,52	192,3 $\pm$ 42,34 <sup>n.s</sup>	0,823
HDL-colesterol (mg/dL)	44,6 $\pm$ 6,90	42,3 $\pm$ 9,75 <sup>n.s</sup>	0,577
LDL-colesterol (mg/dL)	127,25 $\pm$ 23,91	127,1 $\pm$ 36,10 <sup>n.s</sup>	0,992
Colesterol total / HDL	4,49 $\pm$ 0,97	4,76 $\pm$ 1,41 <sup>n.s</sup>	0,64
LDL/HDL	2,89 $\pm$ 0,59	3,16 $\pm$ 1,10 <sup>n.s</sup>	0,53
Triglicerídeos (mg/dL)	101,12 $\pm$ 74,32	115,1 $\pm$ 63,17 <sup>n.s</sup>	*0,138
Insulina ( $\mu$ UI/L)	11,03 $\pm$ 3,64	15,87 $\pm$ 7,77 <sup>n.s</sup>	0,129
HOMA-IR	2,35 $\pm$ 0,88	4,20 $\pm$ 2,45 <sup>n.s</sup>	0,060

Legenda: IMC – índice de massa corporal, CC – circunferência da cintura, CC/CQ – relação cintura quadril, LDL-colesterol – Lipoproteínas de baixa densidade, HDL-colesterol - lipoproteína de alta densidade, HOMA – homeostasis model assesment.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo test t. \*valores encontrados no teste não paramétrico (Mann-Whitney).

**Tabela 2:** Comparação (média  $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros antropométricos e bioquímicos entre os grupos teste e controle, após a intervenção

<b>Grupos</b>	<b>Teste</b>	<b>Controle</b>	<b>P</b>
N	8	10	
Idade (anos)	35,5 $\pm$ 6	37,6 $\pm$ 5,57 <sup>n.s</sup>	0,510
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	43,08 $\pm$ 2,87	43,64 $\pm$ 3,74 <sup>n.s</sup>	0,754
CC (cm)	119,22 $\pm$ 7,83	122,82 $\pm$ 10,94 <sup>n.s</sup>	0,463
CQ (cm)	139,35 $\pm$ 13,19	136 $\pm$ 9,54 <sup>n.s</sup>	0,556
CC/CQ	0,861 $\pm$ 0,08	0,90 $\pm$ 0,04 <sup>n.s</sup>	0,192
Glicose (mg/dL)	86,37 $\pm$ 7,34	91,55 $\pm$ 19,00 <sup>n.s</sup>	0,465
Colesterol (mg/dL)	179,5 $\pm$ 26,95	184,7 $\pm$ 52,71 <sup>n.s</sup>	0,803
HDL-colesterol (mg/dL)	45,37 $\pm$ 13,24	45,7 $\pm$ 8,42 <sup>n.s</sup>	*0,419
LDL-colesterol (mg/dL)	114,8 $\pm$ 23,29	121,8 $\pm$ 41,17 <sup>n.s</sup>	0,677
Colesterol total / HDL	4,11 $\pm$ 0,73	4,21 $\pm$ 1,52 <sup>n.s</sup>	0,86
LDL/HDL	2,65 $\pm$ 0,65	2,81 $\pm$ 1,21 <sup>n.s</sup>	0,74
Triglicerídios (mg/dL)	94,37 $\pm$ 30,52	107 $\pm$ 48,43 <sup>n.s</sup>	*0,618
Insulina ( $\mu$ UI/L)	9,32 $\pm$ 4,84	7,95 $\pm$ 2,16 <sup>n.s</sup>	0,479
HOMA-IR	1,98 $\pm$ 1,03	1,76 $\pm$ 0,54 <sup>n.s</sup>	0,584

Legenda: IMC –índice de massa corporal, CC –circunferência da cintura, CC/CQ – relação cintura quadril, LDL-colesterol –Lipoproteínas de baixa densidade, HDL-colesterol - lipoproteína de alta densidade, HOMA – homeostasis model assesment.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo test t. \*valores encontrados no teste não paramétrico (Mann-Whitney).

Nas tabelas 3 e 4 estão apresentados os parâmetros antropométricos e bioquímicos antes e após a intervenção, nos grupos teste e controle. Verificou-se redução significativa do LDL-colesterol ( $p < 0,05$ ) após a intervenção no grupo teste. Para as demais variáveis não se observou diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Apesar de



não significante, foi possível observar redução em todos os parâmetros analisados (Tabela 3).

A perda de peso no grupo teste foi de  $2,67 \pm 1,47$  kg.

**Tabela 3:** Comparação (média  $\pm$  desvio padrão) entre as variáveis antropométrica e bioquímicas, antes e após intervenção, no grupo teste.

Variáveis	Antes	Depois
IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$44,17 \pm 2,79$ a	$43,08 \pm 2,87$ a
CC (cm)	$122,8 \pm 7,63$ a	$119,2 \pm 7,83$ a
Insulina ( $\mu\text{UI}/\text{L}$ )	$11,03 \pm 3,64$ a	$9,32 \pm 4,84$ a
HOMA	$2,35 \pm 0,88$ a	$1,98 \pm 1,03$ a
Glicose (mg/dL)	$86 \pm 9,35$ a	$86,37 \pm 7,34$ a
Colesterol (mg/dL)	$196,25 \pm 27,52$ a	$181,77 \pm 26,12$ a
VLDL-colesterol (mg/dL)	$20,12 \pm 14,74$ *a	$18,75 \pm 6,04$ *a
LDL-colesterol (mg/dL)	$127,25 \pm 23,91$ a	$114,87 \pm 23,29$ b
HDL-colesterol (mg/dL)	$44,62 \pm 6,90$ *a	$45,37 \pm 13,24$ *a
Colesterol total / HDL	$4,49 \pm 0,97$ a	$4,11 \pm 0,73$ a
LDL/HDL	$2,89 \pm 0,59$ a	$2,65 \pm 0,65$ a
Triglicerídios (mg/dL)	$101,12 \pm 74,32$ *a	$94,37 \pm 30,52$ *a

Legenda: HOMA – homeostasis model assesment, VLDL-colesterol - lipoproteína de muito baixa densidade, LDL-colesterol - Lipoproteínas de baixa densidade, HDL-colesterol - lipoproteína da alta densidade.

Médias seguidas pela mesma letra, nas linhas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t.

\*valores encontrados no teste não paramétrico (Wilcoxon).

No grupo controle, verificou-se redução significativa na glicose e insulina em jejum e no cálculo de HOMA ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, observou-se redução, apesar

de não significante, das demais variáveis analisadas, como ocorreu no grupo teste (Tabela 4).

A perda de peso no grupo controle foi de  $2,68 \pm 1,58$ .

**Tabela 4:** Comparação (média  $\pm$  desvio padrão) entre as variáveis antropométricas e bioquímicas, antes e após a intervenção no grupo controle.

Variáveis	Antes	Depois
IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$44,61 \pm 3,57$ a	$43,64 \pm 3,74$ a
CC (cm)	$125,77 \pm 10,02$ a	$122,82 \pm 10,94$ a
Insulina ( $\mu\text{UI}/\text{L}$ )	$15,87 \pm 7,77$ a	$7,95 \pm 2,16$ b
HOMA	$4,20 \pm 2,4$ a	$1,76 \pm 0,54$ b
Glicose (mg/dL)	$103,88 \pm 27,28$ a	$91,55 \pm 19$ b
Colesterol (mg/dL)	$192,3 \pm 42,34$ a	$184,7 \pm 52,71$ a
VLDL-colesterol (mg/dL)	$22,9 \pm 12,59$ *a	$21,3 \pm 9,51$ *a
LDL-colesterol (mg/dL)	$127,1 \pm 36,10$ a	$121,8 \pm 41,17$ a
HDL-colesterol (mg/dL)	$42,3 \pm 9,75$ a	$45,7 \pm 8,42$ a
Colesterol total / HDL	$4,76 \pm 1,41$ a	$4,21 \pm 1,52$ a
LDL/HDL	$3,17 \pm 1,1$ a	$2,81 \pm 1,21$ a
Triglicerídios (mg/dL)	$115,1 \pm 63,17$ *a	$107 \pm 48,43$ *a

Legenda: HOMA – homeostasis model assesment. VLDL-colesterol - lipoproteína de muito baixa densidade, LDL-colesterol - Lipoproteínas de baixa densidade, HDL-colesterol - lipoproteína da alta densidade.

Médias seguidas pela mesma letra, nas linhas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t.

\*valores encontrados no teste não paramétrico (Wilcoxon).

Observou-se ingestão habitual normocalórica, hiperlipídica, normo a hipoglicídica e normoprotéica. Quanto ao perfil de ácidos graxos ingeridos, a dieta apresentava distribuição normal de ácidos graxos polinsaturados (AGPI) e

monoinsaturados (AGMI) e elevada de ácido graxos saturados (AGS). A ingestão protéica ficou em 20% do VET (0,84 g/kg de peso corporal), sendo normoprotéica.

Verificou-se diferença significativa na ingestão de lipídios totais ( $p < 0,05$ ) e AGMI ( $p < 0,05$ ) entre grupos. As mulheres do grupo teste ingeriam menor quantidade (%) de lipídios e AGMI (%), comparadas com o grupo controle. A ingestão de AGPI e AGS não diferiu entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5:** Comparação (média  $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros dietéticos habituais, entre os grupos, antes da intervenção dietética.

Grupos	Teste	Controle	P
Lipídios totais (%)	31,66 $\pm$ 6,72	39,1 $\pm$ 8,71 *	0,007
AGPI (% do VET)	5,91 $\pm$ 2,32	6,26 $\pm$ 2,37 <sup>n.s</sup>	0,597
AGMI (% do VET)	11,29 $\pm$ 3,64	14,9 $\pm$ 4,69 *	0,018
AGS (% do VET)	11,41 $\pm$ 3,93	14,33 $\pm$ 4,38 <sup>n.s</sup>	0,055

Legenda: AGPI – ácidos graxos polinsaturado , AGMS - ácidos graxos monoinsaturados, AGS - ácidos graxos saturados.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t, \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t.

Na tabela 6 estão apresentadas às comparações entre os valores do VET ingerido habitualmente pelas voluntárias e o VET recomendado, segundo a Diretriz Brasileira de Obesidade (2007). Não houve diferença entre VET ingerido habitualmente e o recomendado.

**Tabela 6:** Comparação (média  $\pm$  desvio padrão) entre o valor energético total (VET) ingerido e recomendado.

	Grupo teste		Grupo controle	
	Ingerido	Recomendado	Ingerido	Recomendado
VET	1993 $\pm$ 692,91a	2012,5 $\pm$ 223,20a	2378,5 $\pm$ 812,42a	1950 $\pm$ 158,11a

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para o grupo teste e para o grupo controle, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

Também foi realizada a análise de correlação de Pearson entre variáveis dietéticas resultantes da análise da ingestão habitual com as variáveis antropométricas e bioquímicas obtidas após intervenção, as quais estão apresentadas nas tabelas 7 e 8, para o grupo teste e controle, respectivamente.

Houve correlação significativa e positiva ( $p < 0,05$ ) entre a ingestão de lipídios totais na dieta e as concentrações séricas de HDL-colesterol. No entanto, ressaltamos que a ingestão de lipídios totais apresentou correlação positiva com a ingestão de AGMI ( $r = 0,78$ ,  $p < 0,05$ ). Houve correlação significativa e negativa ( $p < 0,05$ ) entre a ingestão de AGMI e as concentrações séricas de TG (Tabela 7).

**Tabela 7:** Correlação entre variáveis antropométricas e bioquímicas com variáveis dietéticas, no grupo teste.

Variáveis explicativas	Variáveis de desfecho				
	VET	LIPÍDIOS	AGPI	AGS	AGMI
GRUPO TESTE					
Perda de peso (Kg)	0,50 <sup>n.s</sup>	-0,29 <sup>n.s</sup>	-0,07 <sup>n.s</sup>	-0,39 <sup>n.s</sup>	-0,14 <sup>n.s</sup>
Glicose (mg/dL)	-0,42 <sup>n.s</sup>	0,45 <sup>n.s</sup>	0,05 <sup>n.s</sup>	0,46 <sup>n.s</sup>	0,58 <sup>n.s</sup>
Colesterol total (mg/dL)	-0,60 <sup>n.s</sup>	0,45 <sup>n.s</sup>	0,22 <sup>n.s</sup>	0,43 <sup>n.s</sup>	0,01 <sup>n.s</sup>
HDL-colesterol (mg/dL)	0,09 <sup>n.s</sup>	<b>0,79*</b>	-0,02 <sup>n.s</sup>	0,67 <sup>n.s</sup>	0,59 <sup>n.s</sup>
LDL-colesterol (mg/dL)	0,31 <sup>n.s</sup>	0,26 <sup>n.s</sup>	0,53 <sup>n.s</sup>	-0,04 <sup>n.s</sup>	0,52 <sup>n.s</sup>
TG (mg/dL)	-0,14 <sup>n.s</sup>	-0,71 <sup>n.s</sup>	-0,34 <sup>n.s</sup>	-0,38 <sup>n.s</sup>	<b>-0,76*</b>
Insulina (μUI/L)	-0,34 <sup>n.s</sup>	0,08 <sup>n.s</sup>	-0,38 <sup>n.s</sup>	0,14 <sup>n.s</sup>	0,36 <sup>n.s</sup>
HOMA-IR	-0,26 <sup>n.s</sup>	0,11 <sup>n.s</sup>	-0,41 <sup>n.s</sup>	0,19 <sup>n.s</sup>	0,38 <sup>n.s</sup>

Legenda: HDL-colesterol - lipoproteína da alta densidade, LDL-colesterol – Lipoproteínas de baixa densidade, TG - triglicerídios , HOMA – homeostasis model assesment.

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de correlação de Spearman, <sup>n.s</sup> não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de correlação de Spearman.

Considerando o grupo controle, houve correlação significativa negativa ( $p < 0,05$ ) entre a ingestão habitual de lipídios e as concentrações séricas de glicose e TG, após a intervenção (Tabela 8). A ingestão de lipídios apresentou correlação positiva com a ingestão de AGMI ( $r = 0,84$ ,  $p < 0,05$ ) e de AGPI ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,05$ ).

Houve correlação negativa entre a ingestão de lipídios e de carboidratos ( $r = -0,81$ ,  $p < 0,05$ ).

Observou-se correlação significativa positiva ( $p < 0,05$ ) entre a ingestão de lipídios e de AGMI com as concentrações séricas de HDL-colesterol. Também se observou correlação significativa negativa ( $p < 0,05$ ) entre a ingestão de lipídios e AGMI com o cálculo de HOMA (Tabela 8). Apesar da falta de significância estatística, a ingestão de AGPI apresentou alta correlação negativa com o cálculo de HOMA ( $r = -0,84$ ).

**Tabela 8:** Correlação entre variáveis antropométricas e bioquímicas com variáveis dietéticas, no grupo controle.

Variáveis explicativas	Variáveis de desfecho				
	VET	LIPÍDIOS	AGPI	AGS	AGMI
GRUPO CONTROLE					
Perda de peso (Kg)	0,19 <sup>n.s</sup>	0,10 <sup>n.s</sup>	-0,33 <sup>n.s</sup>	0,13 <sup>n.s</sup>	0,20 <sup>n.s</sup>
Glicose (mg/dL)	-0,15 <sup>n.s</sup>	<b>-0,68*</b>	-0,38 <sup>n.s</sup>	-0,13 <sup>n.s</sup>	-0,48 <sup>n.s</sup>
Colesterol total (mg/dL)	-0,15 <sup>n.s</sup>	0,22 <sup>n.s</sup>	-0,21 <sup>n.s</sup>	0,28 <sup>n.s</sup>	0,37 <sup>n.s</sup>
HDL-colesterol (mg/dL)	0,09 <sup>n.s</sup>	<b>0,85*</b>	0,56 <sup>n.s</sup>	0,47 <sup>n.s</sup>	<b>0,65*</b>
LDL-colesterol (mg/dL)	-0,17 <sup>n.s</sup>	-0,32 <sup>n.s</sup>	-0,26 <sup>n.s</sup>	-0,38 <sup>n.s</sup>	-0,45 <sup>n.s</sup>
TG (mg/dL)	-0,34 <sup>n.s</sup>	<b>-0,65*</b>	-0,55 <sup>n.s</sup>	-0,17 <sup>n.s</sup>	-0,62 <sup>n.s</sup>
Insulina (μUI/L)	-0,46 <sup>n.s</sup>	-0,48 <sup>n.s</sup>	-0,94 <sup>n.s</sup>	-0,03 <sup>n.s</sup>	-0,36 <sup>n.s</sup>
HOMA-IR	-0,28 <sup>n.s</sup>	<b>-0,80*</b>	<b>-0,84<sup>n.s</sup></b>	-0,15 <sup>n.s</sup>	<b>-0,69*</b>

Legenda: HDL-colesterol - lipoproteína da alta densidade, LDL-colesterol – Lipoproteínas de baixa densidade, TG - triglicerídios , HOMA – homeostasis model assesment.

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de correlação de Spearman, <sup>n.s</sup> não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de correlação de Spearman

## 6- DISCUSSÃO

Pesquisas apontam à importância das interações gene-ambiente no aumento dos casos de obesidade em todo o mundo (SORIGUER et al., 2006). No entanto, existem vários genes e polimorfismos genéticos que interagem entre si e com fatores ambientais, os quais podem predispor o indivíduo à obesidade (VERDICH et al., 2004; MARTI et al., 2004; EDWARD et al., 2007). Destacou-se o gene PPAR $\gamma$ 2, o qual apresenta importância por estar relacionado com a expressão de genes envolvidos em reações lipogênicas, além de influenciar na sensibilidade à insulina e no perfil lipídico (DEEB et al., 1998; MASUGI et al., 2000; CLEMENT et al., 2000;

CURI et al., 2002; HOUSEKNECHT et al., 2002; GROMMES et al., 2004; EDWARD et al., 2007).

No presente estudo foi observado que 95% das mulheres não apresentaram o polimorfismo (Pro12Pro) no gene PPAR $\gamma$ 2; dado que vai de encontro à frequência encontrada por Mattevi et al. (2007), que estudou 335 indivíduos descendentes de europeus de ambos os sexos com IMC médio de 26,1 kg/m<sup>2</sup>, o qual encontrou distribuição de 84,5% do genótipo Pro/Pro, 14,0% Pro/Ala e 1,5% Ala/Ala. Soriguer et al. (2006) em um estudo com 538 pacientes com idade entre 18 e 65 anos, eutróficos e obesos, verificou a prevalência 85,8% para o genótipo Pro/Pro, 13,4% Pro/Ala e 0,8% Ala/Ala no gene PPAR $\gamma$ 2. Também Luan et al. (2001) em um estudo com 592 indivíduos caucasianos não diabéticos encontrou distribuição de 79,1% do genótipo Pro/Pro, 18,9% Pro/Ala e 2,0% Ala/Ala. Não foi encontrado na literatura dados de frequência de polimorfismo em mulheres obesas de grau 3. No entanto, verificamos frequência semelhante aos estudos citados acima, os quais utilizaram diferentes grupos populacionais.

Em uma meta análise realizada por Masud et al. (2003) a respeito do efeito do variante Pro12Ala sobre o IMC, concluiu-se que a presença do alelo Ala12 encontrava-se associada ao IMC significativamente mais elevado, comparados aos indivíduos não portadores deste alelo, mas esses efeitos são limitados á indivíduos com IMC igual ou maior a 27 kg/m<sup>2</sup>.

No entanto, como discutido anteriormente Cecil et al. (2006) destacaram que o alelo Ala confere efeitos protetores para o desenvolvimento da obesidade, do diabetes mellitus tipo 2 e da resistência à insulina.

Estudos apontam que o nível de RNAm do PPAR $\gamma$  não é diferente em tecido adiposo subcutâneo abdominal de pacientes magros e pacientes obesos com ou sem diabetes mellitus tipo 2 (RIEUSSET, 1999). Em contraste, observou-se correlação significativa entre o IMC desses indivíduos e a medida dos níveis de RNAm do PPAR $\gamma$ 1 e  $\gamma$ 2, sugerindo que a obesidade pode estar associada a uma expressão aumentada do PPAR $\gamma$ 2 no tecido adiposo subcutâneo. Entretanto, alguns estudos indicam que a expressão PPAR $\gamma$  pode estar aumentada no músculo esquelético durante a obesidade, de forma que até o momento, a relação entre a obesidade humana e possíveis alterações na expressão do PPAR $\gamma$  não estão claramente estabelecidas (MEIRHAEGHE e AMOUYEL, 2004).

O acúmulo de tecido adiposo ocorre por meio de três mecanismos, a proliferação dos pré-adipócitos presentes nos depósitos de gordura, sua diferenciação em adipócitos capazes de armazenar gordura e um balanço entre lipogênese e lipólise favorável à primeira, estando todos dependentes de fatores ambientais e genéticos. Os adipócitos se derivam de células mesodérmicas pluripotentes, que durante o desenvolvimento embrionário são determinadas a diferenciar-se em miotúbulos, condrócitos ou adipócitos, dependendo dos estímulos que recebem. A adipogênese persiste ao longo da vida e pode ser influenciada pelo tamanho, frequência e composição da alimentação. Existem certos fatores de transcrição adipogênicos, entre eles o PPAR $\gamma$ , que interage com proteínas reguladoras do ciclo celular, que uma vez modificado resulta em mudanças na expressão gênica ligada a adipogênese (PALOU et al., 2001).

Caramori et al. (2003) e Tavares et al. (2005) relacionaram a presença do alelo Ala como fator protetor no diabetes mellitus tipo 2.



Todas as mulheres estudadas se encontravam em idade fértil e não fumavam. Estes cuidados se devem ao fato de que estudos recentes têm demonstrado que estrógenos podem induzir a expressão de pequenos heterodímeros parceiros de um receptor nuclear que pode modular a atividade de transcrição. Vários fatores incluindo PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ . Portanto fatores hormonais podem modular potencialmente a ação do PPAR $\gamma$ . Foram também observadas que não apenas as diferenças hormonais e padrões de distribuição de gordura entre os sexos, mas também diferente estilo de vida, como hábito de fumar, atividade física, dieta e consumo de álcool, podem atuar como modificadores no efeito da variante genético na determinação do risco da obesidade (MATTEVI et al., 2007; LAGOU et al., 2008). Segundo Warwick et al. (1993), em estudo com fumantes, evidenciaram que os efeitos do número de cigarros consumidos ao longo do dia persistem durante a noite, não afetando a taxa metabólica basal medida na manhã seguinte, pois a abstinência de 12 horas pode ser suficiente para anular a elevação do gasto energético decorrente do consumo de cigarros. Considerando que alterações no metabolismo energético podem afetar o perfil lipídico e a perda de peso, considerou-se o uso do cigarro como fator de exclusão.

Quando se comparou os grupos antes e após a intervenção dietética (tabela 1 e 2) não foi encontrada diferença significativa entre os parâmetros: idade, IMC, CC, CQ, relação CC/CQ, glicose, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, TG, insulina e HOMA-IR. Considerando o período anterior a intervenção estes resultados mostram que as mulheres selecionadas para o estudo apresentavam características antropométricas e bioquímicas semelhantes, o que é importante num estudo com humanos, considerando a dificuldade de controle na coleta de dados.

Destacamos que as mulheres do grupo controle apresentaram valores de HOMA acima do ponto de corte sugerido por Defronzo et al. (1998) que é de 2,71

para RI (Tabela 1). Após a intervenção dietética houve aumento na SI nos dois grupos, mas os AGMI foram mais efetivos que os AGPI no aumento da SI, pois o grupo controle apresentou melhores resultados que o grupo teste (Tabela 1 e 2).

Destacamos que Defronzo et al. (1998) avaliou a RI na população brasileira (372 pessoas eutróficas com IMC normal). Portanto, o ponto de corte adotado no presente estudo não foi específico para o grupo de mulheres obesas de grau 3. No entanto, devido a falta de referências específicas e da impossibilidade de obtenção do ponto de corte para o grupo estudado (número de voluntários), optou-se por utilizar este ponto de corte, considerando que o valor obtido nos grupos foi discrepante o que pode resultar em diferentes alterações metabólicas entre os mesmos.

Deeb et al. (1998), relataram que o genótipo Pro12Ala está associado com menor IMC e maior SI, refletindo provavelmente uma menor atividade transcricional do PPAR $\gamma$  e, conseqüentemente, menores níveis de acúmulo de tecido adiposo, que parece ser o fator responsável pelos efeitos positivos na SI.

O variante de Ala do PPAR $\gamma$ 2 tem sido constantemente associado à diminuição risco de diabetes tipo 2 em diferentes grupos étnicos (HARA et al, 2000 e DONEY et al., 2004). Altshuler et al. (2000) em uma meta-análise encontrou diminuição de 20% no risco de diabetes tipo 2 em portadores do alelo Ala12, comparados com Pro12Pro. Além da associação protetora da variante Ala12 em relação ao diabetes tipo 2, foi proposto que este alelo também possa reduzir o risco de doença arterial coronariana (RIDKER et al , 2003). Embora alguns estudos tenham reportado que indivíduos com o variante Ala12 apresentam risco diminuído para o diabetes tipo 2 (DONEY et al., 2004), em outros estudos não foi encontrada tal associação (BLUHER et al, 2002; PISCHON et al., 2005).

Portanto, considerando que a presença do variante no gene estaria associada à maior SI, indivíduos sem o polimorfismo no gene (Pro12Pro) poderiam apresentar maior dificuldade na resposta ao aumento na SI, quando submetidos à dieta contendo o ligante do gene, no nosso caso o AGPI.

Adicionalmente, pode-se salientar que o aumento no consumo de dietas ricas em AGMI está relacionado a menor glicemia de jejum e melhora na SI (LOUHERANTA et al., 2002).

Vessby et al. (2001), verificaram que a ingestão total de lipídios e, principalmente, a composição de ácidos graxos da dieta interferem no metabolismo da glicose e especialmente sobre a SI. De acordo com o autor observamos um efeito favorável e melhora na sensibilidade a insulina quando se substitui os AGS por AGMI.

Nas tabelas 3 a 4 foi possível sugerir que os ácidos graxos insaturados da dieta, independente da quantidade total de lipídios ingeridos, podem exercer influencia importante no perfil lipídico e na glicemia sanguíneos. Este resultado pode ser respaldado no fato dos AGPI terem sido mais efetivos na alteração do perfil lipídico sanguíneo das mulheres avaliadas, com redução significativa do LDL-colesterol (Tabela 3). Novamente na Tabela 4 se observou o efeito positivo dos AGMI no aumento da SI.

Os AGPI são ligantes naturais do gene PPAR $\gamma$ 2 e considerando que todas as mulheres apresentaram o genótipo Pro12Pro e que a função do gene se encontra preservada em indivíduos sem o polimorfismo, a presença do ligante estaria estimulando a lipogênese. Como comentado anteriormente por Gregoire et al (1998) e Kersten et al (2000). Sugere-se que devido ao fato do gene estimular a lipogênese, ele

estaria promovendo a entrada de AGL nas células adiposas, o que reduziria o *pool* destes AG no sangue, podendo alterar o perfil lipídico.

Segundo Rosado et al. (2006), em mulheres com o polimorfismo no gene, a dieta rica em AGPI poderia ser utilizada num programa de perda de peso, enquanto que em mulheres sem o polimorfismo seria indicado o aumento dos AGMI como alternativa para a perda de peso corporal, mantendo-se o percentual de lipídios na dieta. Os AGS além de estarem relacionados com efeitos indesejáveis na SI e no perfil lipídico sanguíneo, apresentam baixa prioridade oxidativa, não sendo recomendados como alternativa de substituição dos AGPI.

No grupo controle, se observou redução significativa na glicose, na insulina e no HOMA ( $p < 0,05$ ). Diante dos resultados, pode-se sugerir que a dieta controle, que apresentava maior percentual de AGMI, comparada com a dieta teste, apresentou efeito positivo na sensibilidade à insulina, considerando que o único nutriente que difere nesta dieta é o AGMI (Tabela 4).

Diante destes resultados pode-se sugerir que a interação gene-ambiente (genótipo Pro12Pro – AGMI e Pro12Pro - AGPI) e/ou o fator ambiental isoladamente influenciaram na melhora do perfil lipídico e no aumento da SI, refletida pela redução do HOMA-IR encontrada no grupo controle.

Considerando a perda de peso dos grupos avaliados ( $2,67 \pm 1,47$  kg e  $2,68 \pm 1,58$  kg, nos grupos teste e controle, respectivamente). Ressaltamos que a perda de peso calculada foi de 1,90 a 3,2 kg/mês, o que corresponderia à perda de 2,85 a 4,8 kg/mês. Portanto, ambos os grupos apresentaram perda de peso satisfatória.

Em análise do banco de dados da folha de Balanço Alimentar do Brasil disponibilizado pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2004), observa-se que a quantidade de energia disponível por

pessoa para consumo humano aumentou substancialmente nas últimas décadas no Brasil, passando de aproximadamente 2.200 para 3000 kcal/habitante/dia entre 1961 e 1999, ou seja, em torno de 188 kcal diárias de acréscimo por década. Essa parece ser uma tendência mais condizente com a realidade nutricional brasileira.

Em termos do percentual de macronutrientes (lipídios, carboidratos e proteínas) em relação ao total de energia disponível, a grande modificação se deu no aumento da contribuição dos lipídios tanto de origem animal quanto vegetal (IBGE, 2004).

Verificou-se que no presente estudo a ingestão habitual de macronutrientes não foi adequada (Tabela 5), sendo verificada alta ingestão de lipídios totais no grupo controle ( $39,1\% \pm 8,71$ ) e aumento na ingestão de AGS ( $>10\%$ ) nos grupos teste e controle. A recomendação para a população saudável é abaixo de 10% do VET de AGS, abaixo de 10% do VET de AGPI e entre 10 a 15 % do VET de AGMI (GIANNINI et al., 2001). Torna-se importante ressaltar que se trata de uma população com risco aumentado para DCVs por serem obesas de grau 3. Se considerarmos as recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007) que institui como forma de prevenção das DCVs um consumo menor ou igual a 7% do VET de AGS, menor ou igual a 10% do VET de AGPI e menor ou igual a 20 % do VET de AGMI, observamos que as mulheres deste estudo apresentaram ingestão lipídica que oferece risco para DCVs.

De acordo com IBGE (2004) os brasileiros aumentaram a ingestão de lipídios de 27,77% para 30,52%, comparando-se a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 1974-1975 com a POF 2002-2003. Tal fato, associado à redução da atividade física pode explicar, em parte, o aumento da obesidade observado nos últimos anos.

O IBGE (2004) aponta tendência de crescimento na aquisição de alimentos ricos em lipídios e elevação dos carboidratos simples, acompanhada da redução dos alimentos fontes de carboidratos complexos. Houve, também, aumento na aquisição de carnes, leite e seus derivados, açúcar e refrigerantes e declínio nas compras de leguminosas, hortaliças e frutas.

As mudanças identificadas através das POFs (2002-2003) publicadas pelo IBGE (2004) indicam um incremento na aquisição de produtos industrializados e a redução de alimentos “*in natura*” por parte das famílias.

Quanto ao VET ingerido pelas pacientes (tabela 6), sugere-se que tenha ocorrido o sub-relato de ingestão alimentar. Este fato é comum na avaliação dietética de pacientes com excesso de peso corporal, quando muitas vezes o que é computado na ingestão se encontra abaixo do recomendado, situação conhecida como “*flat-slope syndrome*”. Dados encontrados na literatura sugerem que freqüentemente o grande consumidor de alimentos subestima em 39% o que é consumido de fato (ROTH et al., 2004). Também Klingbreg et al. (2007), avaliando a ingestão alimentar de homens obesos, verificou subrelatos de consumo de até 10% em indivíduos com maior IMC.

Quando os parâmetros dietéticos referentes à dieta habitual foram correlacionados com os parâmetros antropométricos e bioquímicos após a intervenção foi possível verificar que o padrão dietético pode influenciar na resposta do indivíduo frente a uma dieta teste padronizada.

No presente estudo verificou-se que a ingestão habitual de AGMI influenciou positivamente na melhora do perfil lipídico das mulheres avaliadas. Segundo Gimeno et al. (2008) o tipo de lipídio dietético consumido esta diretamente relacionado ao

desenvolvimento de DCVs e a substituição dos AGS por AGMI ou AGPI tem mostrado redução significativa nas concentrações de LDL-colesterol.

Lombardo et al. (2006) relataram que pesquisas realizadas através de estudos clínicos, por mais de duas décadas e concluíram que o aumento na ingestão de AGPI e AGMI encontra-se relacionado a uma melhora do perfil lipídico, com redução do risco de doenças crônicas.

Diniz et al. (2004) em um estudo com cobaias verificou que os animais alimentados com dieta enriquecida com AGPI reduziram as concentrações plasmáticas de TG, colesterol total e LDL-colesterol, comparados com os animais que receberam dietas ricas em AGS.

Na Tabela 7 foi possível observar que a qualidade do lipídio ingerido influenciou no aumento do HDL-colesterol e não, necessariamente, a quantidade deste macronutriente na dieta. Merecem destaque os AGMI que refletiram em redução dos TG. Como discutido anteriormente, considerando que as dietas oferecidas apresentavam a mesma composição de macronutrientes e AGS, e que a única variação entre as mesmas se refere ao conteúdo de AGPI (dieta teste) e AGMI (dieta controle), podemos sugerir a interferência do perfil lipídico da dieta nos parâmetros bioquímicos.

Na tabela 8, pode-se verificar que as mulheres que ingeriam maior quantidade de lipídios na dieta apresentaram menores concentrações de glicose e de TG. No entanto, salientamos que a ingestão de lipídios apresentou correlação negativa com a ingestão de carboidratos e a frequência de consumo mostrou claramente que as mulheres priorizavam o açúcar simples ao complexo. Portanto, a redução do carboidrato dietético resulta em redução do carboidrato simples, o que pode favorecer

a redução da glicemia. Adicionalmente, salientamos que a ingestão lipídica acompanhou a ingestão de lipídios insaturados, tanto de AGMI, quanto de AGPI, o que poderia associar estes ácidos graxos com a melhora do perfil lipídico sanguíneo. Os AGMI também foram importantes no aumento da SI, visto que os AGMI apresentaram correlação negativa ( $p < 0,05$ ) com HOMA.

Sugere-se que a utilização da dieta rica em AGPI num plano alimentar disciplinado (dieta teste) em mulheres obesas de grau 3 que apresentavam ingestão habitual rica em lipídios e AGS, pode ser efetiva no aumento do HDL-colesterol. Também se verifica que a ingestão habitual de AGMI poderá auxiliar na redução do TG, mesmo após um plano alimentar de 45 dias com dieta rica em AGPI.

Recordamos que a ingestão habitual de AGS foi semelhante entre os grupos (Tabelas 5), porém elevada. No entanto, o grupo controle recebeu dieta com percentual semelhante de AGMI, comparada com a dieta habitual, porém adequada em AGS o que sugere efeito dos AGMI no perfil lipídico.

Estudos de intervenção (VESSBY et al., 2001, 2003; GARAULET et al., 2004) têm demonstrado que a SI assim com o perfil lipídico plasmático sofrem alterações, de acordo com o tipo de ácidos graxos ingeridos. A substituição de AGS por AGMI resulta em melhora na SI (WARENSJÖ et al., 2006).

Os AGPI apresentaram tendência à significância estatística, com alta correlação entre sua ingestão e o HOMA, sugerindo que os AGPI também possam aumentar a SI (Tabela 8).

Autores enfatizam que os resultados dos estudos ainda são controversos, e isto pode ser atribuído a diferentes aspectos quanto à heterogeneidade das populações estudadas, destacando-se fenótipos clínicos como magreza e obesidade; o tipo de



estudo; a população em questão e aspectos clínicos desta (BUZZETTI et al., 2004); a composição lipídica da dieta, destacando-se a relação entre gordura polinsaturada e saturada (LUAN et al., 2001); interações gene-gene ou gene-ambiente (CECIL et al., 2006; SORIGUER et al., 2006), dentre outros. Tais fatores reforçam a idéia de que novos estudos são necessários, além de uma análise criteriosa dos resultados obtidos.

Sugere-se que a inclusão de maior número de voluntários e maior período de intervenção, podendo obter resultados mais efetivos em relação ao efeito da interação gene (PPAR $\gamma$ 2) e ambiente (AGPI) na SI. Também sugerimos a abordagem incluindo voluntários com o variante Ala no gene, além da associação de outros genes e fatores ambientais relacionados com a gênese da obesidade.

## 7- CONCLUSÕES

---

Verificou-se alta frequência do genótipo Pro12Pro entre mulheres obesas de grau 3 (95%).

Quando comparamos os grupos com dieta teste (n=8) e dieta controle (n=10), antes e após a intervenção, não foi encontrada diferença significativa nos parâmetros antropométricos e bioquímicos.

Os AGPI foram efetivos na redução do LDL-colesterol e os AGMI foram mais efetivos na melhora da SI, após 45 dias de dieta hipocalórica.

A qualidade do lipídio ingerido (AGMI) influenciou no aumento do HDL-colesterol, no grupo controle.

No grupo controle, os AGMI e os AGPI influenciaram no aumento da SI. No grupo teste, os AGMI influenciaram na redução dos triglicerídios.

Os lipídios insaturados foram diretamente associados com a melhora do perfil lipídico, glicemia e SI.

Houve diferença entre os grupos quanto à ingestão quantitativa e qualitativa dos lipídios dietéticos. A dieta ingerida habitualmente pelas voluntárias era normocalórica, hiperlipídica, normo a hipoglicídica e normoprotéica. No entanto, as mulheres do grupo teste ingeriram menor quantidade de lipídios e AGMI, comparadas com o grupo controle. A ingestão de AGPI e AGS não diferiu entre os grupos.

Não houve diferença entre VET ingerido habitualmente e o VET recomendado.

Com este estudo foi possível observar que existe interação gene-ambiente envolvida na regulação de parâmetros bioquímicos importantes na obesidade, como é o caso do perfil lipídico e da SI. É possível sugerir a existência da interação gene-ambiente (genótipo Pro12Pro – AGMI e Pro12Pro - AGPI), no entanto, o fator ambiental isoladamente pode ter influenciado na melhora do perfil lipídico e no aumento da SI, refletidas, respectivamente, pela redução do LDL-colesterol e do HOMA no grupo teste e controle.

## 8- REFERÊNCIAS

---

ALTSHULER, D. et al. The common PPAR $\gamma$  Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. **Nat Gen**, v.26, p.76-80, 2000.

ARMSTRONG, B.K. et al. Principles of exposure measurement in epidemiology. 2nd ed. Oxford: **Ox University Press**, v. 21, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SINDROME METABÓLICA. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. [S.l.]: A Associação, 2006- 2007.

AZCÁRATE, T.M. et al. Estudios genéticos de la obesidad en humanos. **Med Clin**, 115, p.103-10, 2000.

BEAMER, B. et al. Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ 2 gene with obesity in two Caucasian population. **Diab**, v.47, p.1806-8, 1998.

BEATON, G.H. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analyses and choice of methodology. **Am J Clin Nutr**, 59, Suppl:253s-61s, 1994.

BERRAONDO, B. et al. Up regulation of the muscle UCP GENE EXPRESSION BY A NEW  $\beta$ 3-adrenorreceptor agonist, trectadrine, in obese (cafeteria) rodents, but dowregulation in lean animals. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.24, p.156-64, 2000.

BLUHER, M. et al. Association between peroxisome proliferator-activated receptorgamma-2 gene variants and the occurrence of coronary heart disease in patients with diabetes mellitus. **Eur J Endocrinol**, 146, p.545-51, 2002.

BRADY. M.J.; NAIR. A.C.; SALTIEL. A.R. The regulation of glycogen synthase by protein phosphatase 1 in 3T3-L1 adipocytes. Evidence for a potential role for DARPP-32in insulin action. **J Biol Chem**, 272, p.29698-703, 1997.

BRAY, G.A. Complications of obesity. **Annals of Int med**, v.103, p.1052-62, 1985.

BUZZETTI, R.et al. The common PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity. **Eur J of Human Gen**, v.12, p.1050-4, 2004.

CARAMORI, M.L. et al. The human peroxisomeproliferator-activated receptor gamma2 (PPARgamma2)Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. **Diab**, 52, p.3010-13, 2003.

CARVALHO, O.S. et al. Cirurgia bariátrica cura síndrome metabólica? **Arq Bras Endocrinol Metab**, n.1, v.51, p.78-85, 2007.

CECIL, J.E. et al. Energy balance and food intake: The role of PPAR $\gamma$  gene polymorphisms. **Physiology & Behavior**, v.88, p.227-33, 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Trends in intake of energy and macronutrients-United States, 1971-2000. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.**, 53, p.80-2, 2004.

CINTRA, I.P. et al. Métodos de inquérito dietéticos. **Cad de Nutr**, v.13, p. 11-23, 1997.

CLARKE, S.D. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. I. Molecular mechanism for polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, 281, n.4, G865-9, Oct., 2001.

CLEMENT, K. et al. The pro115Gln and Pro12Ala PPAR gamma gene mutations in obesity and type 2 diabetes. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.24, p.391-3, 2000.

CURI, R. et al. **Entendendo a gordura – os ácidos graxos**. São Paulo: Manole, 2002. 580p.

DE FRONZO, R.A.; TOBIN, J.; ANRES, R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **Am J Physiol**, 237, p.e214-e233, 1979.

DEEB, S.S. et al. A Pro12Ala substitution in PPAR $\gamma$ 2 associated with decrease receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. **Nat Gen**, v.20, p.284-7, 1998.

DESPRÉS, J.P. Health consequences of visceral obesity. **Ann Med**, v.8, p.534-41, 2001.

DESVERGNE, B.; WAHLI, W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. **Endocr Rev**, 20, p.649–88, 1999.

DEURENBERG-YAP, et al. Elevated body fat percentage and cardiovascular risks at low body mass index levels among Singaporean Chinese, Malays and Indians. **Obes Rev**, v.3, n.3, p.209-15, Aug. 2002.

DINIZ, Y.S.A. et al. Diets Rich in Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids: Metabolic Shifting and Cardiac Health. **Nutrition**, v.20, p.230-34, 2004.

III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras de Card**, v.77, p. 1 – 48, 2001. Supl. III.

DONEY, A.S. et al. Association of the Pro12Ala and C1431T variants of PPARG and their haplotypes with susceptibility to type 2 diabetes. **Diab**, 47, p.555– 8, 2004.

- DOUGLAS, J.A. et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12A1a variant: association with type 2 diabetes and trait differences. **Diab**, 50, p.886-90, 2001.
- DUAN, S.Z. et al. PPAR- $\gamma$  in the Cardiovascular system. **PPAR Research**, 10, p.11-55, 2008.
- DUGAN, M.E.R. et al. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pings. **Can J Anim Sci**, v.77, p.723, 1997.
- EDWARD, A.R.N. et al. Ala12 variant of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene (*PPARG*) is associated with higher polyunsaturated fat in adipose tissue and attenuates the protective effect of polyunsaturated fat intake on the risk of myocardial infarction1\_3. **Am J Clin Nutr**, 86, p.1238-42, 2007.
- ESCRIVÃO, M.A. et al. Childhood and adolescent obesity. **J Pediatr**, 76, p.305-10, nov. 2000. Supl. 3
- FAJAS,L.et al. The Organization, promoter analysis,and expression of the human PPAR $\gamma$  gene. **J Bio Chem**, v.272, n.30, p.18779-789, 1997.
- FALCÃO-GOMES, R.C. et al. Caracterização dos estudos de avaliação do consumo alimentar de pré-escolares. **Rev Nutr**, v.19, n.6, p.713-27, 2006.
- FAROOQI, I.S; O'RAHILLY, S. Genetic factors in human obesity. **Obes Reviews**, v.8, p.37-40, 2007. Supl. 1
- FERREIRA, G.M. et al. Acurária da circunferência da cintura e da relação cintura / quadril como preditores de dislipidemias em estudo transversal de doadores de sangue em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n.10, p.109-18, 2006.
- FLORES-MARTÍNEZ, S.E. et al. DNA polymorphism analysis of candidate genes fot type 2 diabetes mellitus in a Mexican ethnic group. **Annales de Gen**, v.47, p.339-48, 2004.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Carbohydrates in human nutrition**. Roma: FAO/WHO,1998. (Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation)
- \_\_\_\_\_. **Human energy requirements**. Roma: FAO/WHO/UNU, 2004. (Food and Nutritional Technical Report Series, 1)
- FORMAN, B.M. et al. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. **Cell**, v.83, n.5, p.803-12, Dec. 1995.
- FROGUEL, P.; BOUTIN P. Genetics of pathways regulating body weight in the development of obesity in humans. **Exp Biol Med**, v.226, n.11, p.991-96, 2001.

GARAULET, M. et al. Site-specific differences in the fatty acid composition of abdominal adipose in an obese population from a Mediterranean area: relation with dietary fatty acids, plasma lipid profile, serum insulin, and central obesity. **Am J Clin Nutr**, 74, p.585-91, 2001.

GEN Bank DNA. AB005520. *Homo sapiens ppar [gi:2605488]*. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2003.

GIBSON, R.S. **Principles of nutritional assessment**. New York: Oxford, 1990. 691p.

GIMENO, S.G. et al. Fat and Fiber Consumption are Associated with Peripheral arterial disease in a Cross-sectional study of a Japanese-Brazilian Population. **Circ J**, v.72, p.44-50, 2008.

GIZARD, F.; BRUEMMER, D. Transcriptional Control of Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ : Therapeutic Implications for Cardiovascular Diseases. **PPAR Research**. Article ID 429123, 11, 2008.

GREGOIRE, F.M. et al. Understanding adipocyte differentiation. **Physiol Rev**, v.78, n.3, p.783-809, 1998.

GROMMES, C. et al. Antineoplastic effects of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  agonists. **Lancet Oncol**, v.5, p.419-29, 2004.

HALPEN, A. Fisiologia da obesidade. In: GARRIDO JÚNIOR, A.B.; FERRAZ, E.M; BARROSO, F.L. et al. **Cirurgia da Obesidade**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 9-12.

HARA, K.O.T. et al. The Pro12Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 may confer resistance to type 2 diabetes. **Bioch Bioph Res Commun**, 271, p.212-16, 2000.

HIRSCH, J.; LEIBEL, R.L. The genetics of obesity. **Hosp Pract**, v.3, n.33, p. 55-9, 1998.

HOUSEKNECHT, K.L. et al. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. **Biochem. Biophys. Res Commun**, v.244, n.3, p.678-82, 1998.

\_\_\_\_\_. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) and its ligands: a review. **Dom Anim End**, v.22, p.1-23, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares (POF): análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2004.

\_\_\_\_\_. **Pesquisa nacional por amostra de domicílios: pesquisa de padrões de vida (PPV) 2002-2003**[CD-ROM]. Rio de Janeiro: IBGE, 2003.

ITO, H. et al. Detection of cardiovascular risk factors by indices of obesity obtained from anthropometry and dual-energy X-ray absorptiometry in Japanese individuals. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 27, p.232-37, 2003.

KAHN, B.B. Dietary regulation of glucose transporter gene expression: tissue specific effects cells and muscle. **J Nutr**, v.124, p.1289-95, 1994. Supl.

KANIMURA, M.A. et al. Avaliação nutricional. In: CUPPARI, L. **Nutrição clínica no adulto**. São Paulo: Manole, 2002. p.91-94

KATZ, A. et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **J Clin End Metab**, v.85, n.7, p.2402-10, 2000.

KERSTEN, S. et al. Roles of PPARs in health and diseases. **Nat**, v.405, n.25, p.421-24, 2000.

KLIEWER, A.S. et al. Fatty acids and eicosanoides regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$ . **Proc Natl Acad Sci**, v.94, p.4318-23, 1997.

KLINGBERG, S. et al. Characteristics of under- and over-reporters of energy intake among 18–20-year-old males: the Gothenburg Osteoporosis and Obesity Determinants (GOOD) study. **Public Health Nutr**, p.1, 2007.

KOOY, K.V.; SEIDELL, J.C. Techniques for the measurement for visceral fat: a practical guide. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.17, n.4, p.187-96, 1993.

KUBOTA, N. et al. PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. **Mol Cell**, v.4, n.4, p.597-609, 1999.

LAGOU, V. et al. Impact of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors  $\gamma$  and  $\delta$  on adiposity in Toddlers and Preschoolers in the GENESIS Study. **Obes**, p.1, 2008.

LAZAR, M.A. Becoming fat. **Gen & Develop**, v.16, n.1, p.1-5, 2002.

LEAR, S.A. et al. The relationship between waist circumference and metabolic risk factors: cohorts of European and Chinese descent. **Metab**, v.51, n.11, p.1427-32, 2002.

LENHARD, J.M.; GOTTSCHALK, W.K. Preclinical development in type 2 diabetes. **Adv Drug Delivery Rev**, v.54, p.1199-212, 2002.

LIN, J.D. et al. Comparison of three-dimensional anthropometric body surface scanning to waist-hip ratio and body mass index in correlation with metabolic risk factors. 2002. **J Clin Epidemiol**, v.55, n.8, p.757-66, Aug. 2002.

LINDI, V.I. et al. Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR-gamma2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the Finnish Diabetes Prevention Study. **Diab**, v.51, n.8, p.2581-86, Aug. 2002.

LINDI V.I.; UUSITUPA M. I.; LINDSTROM J. "Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR—gamma2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the Finnish Diabetes Prevention Study," **Diab**, v.51, n.8, p.2581–86, 2002.

LOMBARDO, B.Y. et al. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodent and humans. **Nutr Bioch**, v.17, p.1-13, 2006.

LONG, S.D.; PEKALA, P.H. Regulation of GLUT4 gene expression by arachidonic acid. Evidence for multiple pathways, one of which requires oxidation to prostaglandin E2. **J Biol Chem**, v.271, p.1138-44, 1996.

LOTT, J.A.; TURNER, K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. **Clin Chem**, v.21, n.12, p.1754-60, 1975.

LOUHERANTA, A. et al. Association of fatty acid profile of serum lipids with glucose and insulin metabolism during 2 fat-modified diets in subjects with impaired glucose tolerance. **Am J Clin Nutr**, v.76, p.331-37, 2002.

LOVEJOY, J.C.; SMITH, S.R.; ROOD, J.C. Comparison of regional fat distribution and health risk factors in middle-aged and African American Women: The Healthy Transitions Study. **Obes Res**, 9, p.10-16, 2001.

LUAN, J. et al. Evidence for Gene-Nutrient Interaction at the PPAR $\gamma$  Locus. **Diab**, v.50, p.686-89, 2001.

MACHO-AZCARATE, T.; MARTI, A.; GONZALEZ, A. et al. Gln27Glu polymorphism in the beta2 adrenergic gene and lipid metabolism during exercise in obese women. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.26, p.1434-41, 2002.

MARCHIONI, D.M.L.; SLATER, B.; FISBERG, R.M. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Rev Nutr**, v.17, n.2, p.207-16, 2004.

MARGARETO, J. et al. Up regulation of a thermogenesis-related (UCP1) and down-regulation of PPAR $\gamma$  and  $\alpha$ 2 genes in adipose tissue: possible features of the antiobesity effects of a  $\beta$ 3-adrenergic agonist. **Biochem. Pharm**, v.61, p.1471-78, 2001.

MARQUES-LOPES, I. et al. Aspectos genéticos da obesidade. **Rev Nutr**, Campinas, v.17, n.3, p.327-38, 2004.

MARTI, A. et al. Genes, lifestyles and obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 28, p.29-36, Nov. 2004. Supl. 3.

MASUD, S. et al. Effect of the peroxisome proliferator activated receptor-gamma gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta-analysis. **J Med Genet**, 40, p.773-80, 2003.



- MASUGI, J. et al. Inhibitory effect of a proline-to-alanine substitution at codon 12 of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 on thiazolidinedione-induced adipogenesis. **Biochem Bioph Res Commun**, v.268, p.178-82, 2000.
- MATER, M.K. et al. Arachidonic acid inhibits lipogenic gene expression in 3T3-L adipocytes through a prostanoid pathway. **J of Lip Res**, 39, p;1327-34, 1998.
- MATTEVI, V.S. et al. Effects of a PPAR $\gamma$  gene variant on obesity characteristics in Brazil. **Braz J Med Biol Res**, 2007.
- MATTHEWS, D.R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diab**, v.28, p.412-19, 1985.
- MCARDLE, W.C. et al. **Fisiologia do exercício : energia, nutrição e desempenho humano**. 5.ed. Rio de Janeiro: Koogan, 2003. 1175p.
- MEDINA, G.; SEWTER, C.; VIDAL-PUIG, A.J. Revisión: PPAR $\gamma$  y tiazolidinedionas, algo más que un tratamiento contra la diabetes. **Med Clin**, 115, p.392-97, 2000.
- MEIRHAEGHE, A. et al. Impact of the peroxisome proliferator Activated Receptor  $\gamma$ 2 Pro12Ala polymorphism on adiposity lipids and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.24, p.195-99, 2000.
- MEIRHAEGHE, A.; ARMOUYEL, P. et al. Impact of genetic variation of PPAR gamma in humans. **Mol Genet Metab**, 83, p.93-102, 2004.
- MEMISOGLU, A. et al. Interaction between a peroxisome proliferator-activated receptor gene polymorphism and dietary fat intake in relation to body mass. **Hum Mol Genet**, 12, p.2923-29, 2003.
- MENCHU, M.T. **Revisión de las metodologías para estudios del consumo de alimentos**. Guatemala: OPS/INCAP, 1993.
- MONTEIRO, C.A.; HALPERN, A. Epidemiología de la obesidad en Brasil. **Nutrición y Obesidad**, v.3, n.2, p.98-105, 2000.
- MORI, Y. et al. Effect of the Pro12Ala variant of the human peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 gene on adiposity, fat distribution, and insulin sensitivity in Japanese men. **Bioch Bioph Res Comm**, 251, p.195-98, 1998.
- MUELLER, E. et al. Genetic analysis of adipogenesis through peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  isoforms. **The J of Biol Chem**, v.277, n.44, p.41925-30, 2002.
- NICKLAS, B.J. et al. Genetic variation in the peroxisome proliferator-activatedreceptor-gamma2 gene (Pro12Ala) affects metabolic responses to weight loss and subsequent weight regain. **Diab**, 50, p.2172-76, 2001.

NTAMBI, J.M.; BENE, H. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expresión. **J Mol Neurosci**, v.16, n.2-3, p.279-84, 2001.

OH, E.Y. et al. Significance of Pro12Ala mutation in peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 in Korean diabetic and obese subjects. **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, n.5, p.1801-04, 2000.

OKOSUN, I.S. et al. Trends of abdominal adiposity in white, black, and Mexican-American adults, 1988 to 2000. **Obes Res**, v.11, n.8:1010-17, Aug. 2003.

PALOU, A. Los genes de la obesidad. **Nutr y Obes**, v.1, n.6, p.280-97, 1998.

PALOU, A.; BONET, M.L.; RODRÍGUEZ, A.M. El sistema de control del peso corporal y la obesidad a la luz de la tecnología de transgénicos. **Nutr y Obes**, v.4, n.5, p.221-51. 2001.

PÉRUSSE, L. et al. Gene-diet interactions in obesity. **Am J Clin Nutr**, v.72, p.1285-90, 2001. Supl.

PISCHON, T. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 P12A polymorphism and risk of coronary heart disease in US men and women. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 25, p.1654-58, 2005.

RICARDI, G. et al. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Clin nutr**, v.23, p.447-56, 2004.

RICOTE, M. et al. Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) in human atherosclerosis and regulation in macrophages by colony stimulating factors and oxidized low density protein. **Proc Natl Acad Sci**, 95, p.7614-19, 1998.

RIDKER ,P.M. et al. Alanine for proline substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 (PPARG2) gene and the risk of incident myocardial infarction. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 23, p.859-63, 2003.

RIEUSSET, J. et al. Insulin Acutely Regulates the expression of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  in Human Adipocytes. **Diab**, v.48, n.4, p.699-705, 1999.

ROSADO, E.L. et al. Efecto de la dieta y de los genes PPAR $\gamma$ 2 y  $\beta$ <sub>2</sub>-adrenérgico en el metabolismo energético y en la composición corporal de mujeres obesas. **Nutr Hosp**, v.21, n.3, p.317-31, 2006.

ROSEN, E.D. et al. Transcriptional regulation of adipogenesis. **Gen Dev**, v.14, p.1293-307, 2000.

ROSEN, E.D.; SPIEGELMAN, B.M. PPAR $\gamma$ : a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. **J Biol Chem**, v.276, n.41, p.37731-34, 2001.

ROTH, J. et al. The obesity pandemic: where have we been and are we going? **Obes Res**, 12, p.88-100, 2004.

ROSSEAU, V. et al. Development and nutritional changes of ob and PPAR $\gamma$ 2 gene expression in rat adipose tissue. **Biochem J**, v.321, p.451-56, 1997.

RUIZ-NARVAÉZ, E.A. et al. Ala12 variant of the peroxisome proliferator-activated receptor-gene (PPARG) is associated with higher polyunsaturated fat in adipose tissue and attenuates the protective effect of polyunsaturated fat intake on the risk of myocardial infarction. **Am J Clin Nutr**, 86, p.1238-42, 2007.

SANTOS, R.D. et al. **III Diretrizes Brasileiras sobre dislipidemias e diretrizes de prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia**, 2007.

SCHEEN, A.J. From obesity to diabetes: why, when and who? **Acta Clin Belg**, v.55, n.1, p.9-15, 2000.

SCHOONJANS, K.; STAELS, B.; AUWERX, J. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. **Biochim Biophys Acta**, v.1302, n.2, p.93-109, 1996.

SCHWARTZ, M.W.; KAHN, S.E. Insulin resistance and obesity. **Nat**, v.402, n.23, p.860-61, 1999.

SEIDELL, J.C. Obesity, insulin resistance and diabetes—a worldwide epidemic. **Brit J Nutr**, v.83, p.5-8, 2000. Supl.

SEMPOS, C.T. et al. The importance of within-person variability in estimating prevalence. In: \_\_\_\_\_. **Monitoring Dietary Intakes**. New York: Springer-Verlag, 1991. p.99-109.

SERRA-MAJER, L. et al. Changing patterns of fat consumption in Spain. **Eur J Clin Nutr**, v.47, p. 3-20, 1993. Supl.1

SHETTY, P.; SHIMIDHUBER, J. Introductory lecture the epidemiology and determinants of obesity in developed and developing countries. **J Vitam Nutr Res**, v.4, n.76, p.157-162, 2006.

SHIGETA, H. et al. Lifestyle, obesity and insulin resistance. **Diab Care**, v.24, n.3, p.608, 2001.

SLATER, B.; MARCHIONI, D.L.; FISBERG, R.M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. **Rev Saúde Pública**, v.38, n.4, p.599 – 605, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Consenso brasileiro sobre diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2**. Rio de Janeiro: Diagraphic, 2003.

SOOD, V. et al. Thiazolidinediones: a comparative review of approved uses. **Diab Techn & Therap**, v.2, n.3, p.429-40, 2000.

SORIGUER, F. et al. Pro12Ala polymorphism of the PPARG2 gene is associated with type 2 diabetes mellitus and peripheral insulin sensitivity in a population with a high intake of oleic acid. **J Nutr**, v.136, p.2325-30, 2006.

SPIEGELMAN, B.M. et al. Adipogenesis and obesity: rouding out the big picture. **Cell**, v.87, p. 377-89, 1999.

SPURLOCK ,M.E. Regulation of PPAR gama but not obese expression by dietary fat supplementation. **J Nutr Biochem**, v.11, p.260-6, 2000.

STEPPAN, C.M.et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. **Nat** 409, p.307-12, 2001.

STORLIEN, L.H. et al. Diet composition and insulin action in animal models. **Brit J Nutr**, v.83, p.85-90, 2000. Supl. 1

STRAUS, D.S.; GLASS, C.K. Cyclopentenone prostaglandins: new insights on biological activities and cellular targets. **Med Res Rev**, v.21, p.185-210, 2001.

STRUG, L.; SUN, L.; COREY, M. The genetics of cross-sectional and longitudinal body mass index. **BMC Genet**, v.4, p.14. 2003. Supl.

STUMVOLL, M. et al. Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 gene is associated with increase antilipolytic insulin sensitivity. **Diab**, v.50, p.876-81, 2001.

TAI, E.S. et al. Poliunsaturated Fat Acids Interact with the PPAR-L162V Polymorphism to Affect Plasma Triglyceride and Apolipoprotein C-II Concentrations in the Framingham Heart Study. **J Nutr**, 135, p.397-403, 2005.

TAVARES, V. et al. Association between Pro12Ala polymorphism of the PPARgamma2gene and insulin sensitivity in Brazilian patients with type-2diabetes mellitus. **Diab Obes Metab**, 7, p.605-11, 2005.

TONTONOZ, P. et al. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipid-activated transcription factor. **Cell**, v.79, p.1147-56, 1994.

TRIGO, M. **Metodologia de inquérito dietético: estudo do método recordatório de 24 horas**. 1993. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.

VACARO, O. et al. Pro12Ala mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 (PPAR $\gamma$ 2) and severe obesity: a case-control study. **Int J Obes Metab Relat Disord**, v.24, p.1195-99, 2000.

VALVE, R. et al. Two polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene are associated with severe overweight among obese women. **J Clin End Metab**, v.84, n.10, p.3708-12, 1999.

VERMA, K.N. et al. PPAR- $\gamma$  expression modulates insulin sensitivity in C2C12 skeletal muscle cells. **Br J of Pharm**, v.143, p.1006-13, 2004.

VESSBY, B. Dietary fat and insulin action in humans. **Br J Nutr**, 83, p.91– 96, 2000. Supl.

VESSBY, B. Dietary fat, fatty acid composition in plasma and the metabolic syndrome. **Curr Opin Lipidol**, 14, p.15–19, 2003.

VESSBY, B. et al. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. **Diab**, 44, p.312–19, 2001.

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**, v.99, n.10, p.2416-22, 1997.

WARENSJÖ, E. et al. Factor analysis of fatty acids in serum lipids as a measure of dietary fat quality in relation to the metabolic syndrome in men 1–3. **Am J Clin Nutr**, ; 84, p.442–48, 2006.

WARWICK, P.M. et al. Prediction of twenty-four-hour energy expenditure in a respiration chamber in smokers and non- smokers. **European J of Clin Nutr**, 47, p.600-03, 1993.

WEINSIER, R.L. et al. Metabolic predictors of obesity. Contribution of resting energy expenditure, thermic effect of food, and fuel utilization to four-year weight gain of post-obese and never-obese women. **J Clin Invesr**, v.95, n.3, p.980-85, 1995.

WESTERTERP-PLANTEGA, M.S. et al. Energy intake and body weight effects of six months reduced or full fat diets, as a function of dietary restraint. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.22, n.1, p.14-22, 1998.

WESTERTERP-PLANTEGA, M.S. et al. **Food intake and energy expenditure**. Florida: CRC, 1194. 408p.

WHO. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva: WHO, 2003.

\_\_\_\_\_. **Obesity: prevention and managing the global epidemic**. Geneva: WHO, 1998.

\_\_\_\_\_. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Geneva: WHO, 1995.

WILLETT, W.C. **Nutritional Epidemiology**. 2.ed. Oxford: Oxford University Press, 1998.

WOODS, S.C.; SEELEY, R.L. Adiposity signals and the control of energy homeostasis. **Nutr**, v.16, p.894-902, 2000.

YU, K. et al. Differential activation of peroxisome proliferator-activated receptors by eicosanoides. **J. Biol Chem.**, v.270, n.41, p.23975-83, 1995.

**Anexo I**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Conselho Nacional de Saúde

**1º) Termo de Esclarecimento****Efeito do Polimorfismo no gene PPAR $\gamma$ 2 e dos lipídios da dieta na resistência à insulina e na composição corporal de indivíduos obesos de grau 3**

O Sr(a) está convidado a participar de um estudo que tem por objetivo avaliar o efeito de um gene e das gorduras da dieta na ação do hormônio chamado insulina, que está relacionado com várias complicações que ocorrem na obesidade. Também analisaremos o efeito do mesmo gene e da gordura da dieta na sua composição corporal. Os resultados fornecerão conhecimentos para avanços no tratamento dietético da obesidade.

O Sr(a) deverá responder a questionários de informações gerais e dietéticas e doar amostras de sangue em jejum e após ingerir uma dieta teste. O sangue será coletado na sua veia do antebraço, por pessoal devidamente treinado com assepsia e higiene, sendo que no início do estudo faremos uma coleta em jejum e duas coletas após a ingestão da dieta teste, e após quarenta e cinco dias de estudo faremos apenas uma coleta em jejum. Iremos avaliar seu peso, sua altura, sua circunferência da cintura e quadril.

Em seguida lhe passaremos a dieta para perda de peso, a qual será seguida durante quarenta e cinco dias. Faremos revisões quinzenais e individuais. Após quarenta e cinco dias de dieta, novamente coletaremos a amostra de sangue e avaliaremos seu peso e as circunferências.

O Sr(a) não sofrerá nenhum risco com a participação no estudo. Os desconfortos são aqueles associados com a coleta de sangue. Em raras ocasiões a

coleta de sangue poderá provocar um hematoma. Os equipamentos e materiais usados para estes procedimentos serão descartáveis. As medidas de gordura do corpo não causarão desconforto.

Qualquer problema que não seja da pesquisa e que Sr(a) tenha durante o tempo que estiver participando do estudo, deverá ser tratada pelo Sr(a), ou seja, o estudo não assume nenhum compromisso no tratamento de outras doenças, já que o mesmo não está associado a nenhum dano à saúde. Nestes casos, o Sr(a) deverá comunicar a equipe do estudo todas as informações referentes à doença e o seu tratamento. Se existir algum problema resultante da pesquisa, o Sr(a) deverá comunicar às pessoas que estão te atendendo, qualquer horário do dia.

Os resultados da pesquisa serão fornecidos somente no final do estudo, quando o Sr(a) será orientado nutricionalmente para ajudar no seu tratamento.

Em qualquer etapa do estudo, o Sr(a) terá acesso ao profissional responsável que poderá ser encontrado na Rua Brigadeiro Trompowski s/n - edifício do CCS - bloco J - 2º andar - Cidade Universitária - Ilha do Fundão - Rio de Janeiro (RJ) - CEP:21941-590. Telefones (21)2562.6601 e (21)97623859. E-mail: [elianenut@yahoo.com.br](mailto:elianenut@yahoo.com.br) ou [elianerosado@nutricao.ufrj.br](mailto:elianerosado@nutricao.ufrj.br), ou (21) 22267893/ 93021717 (Marcia) ou (24) 22354647 e 87727782 (Vanessa). E-mail: [mfofano@ig.com.br](mailto:mfofano@ig.com.br) ou [vanessachaia@uol.com.br](mailto:vanessachaia@uol.com.br). Se o Sr(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) - sala 01D-46 - 1º andar, fone 2562-2480 - e-mail: [ccp@hucff.ufrj.br](mailto:ccp@hucff.ufrj.br).

É garantida a liberdade de querer não participar do projeto de pesquisa ou de retirar o consentimento a qualquer momento, no caso da aceitação, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição.

Os resultados serão analisados em conjunto com os resultados dos outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum voluntário. Todas as amostras coletadas serão utilizadas apenas para as análises relativas a esta pesquisa. Os resultados serão apresentados em revistas e congressos científicos.

Tanto os resultados de seus exames, quanto a avaliação das fichas (prontuário) somente será realizada pelos pesquisadores deste estudo e pelos profissionais que estarão relacionados com seu atendimento e que estarão cuidando do Sr(a), e não será permitido que outras pessoas vejam seus resultados, garantindo proteção contra qualquer tipo de discriminação.



O Sr(a) poderá, em qualquer momento do estudo, pedir informações. Também não terá despesas no decorrer do projeto, não pagará pelos exames e pelas outras avaliações. Também não terá compensações financeiras durante e ao final do estudo.

Caso ocorra algum dano pessoal resultante do estudo o Sr(a) terá direito ao atendimento pelos pesquisadores ou encaminhamento na Instituição.

## 2º) Termo de Consentimento

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito do estudo apresentado acima, que lí ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com a Dra Eliane Lopes Rosado, e as Nutricionista Marcia Fófano do Lago e Vanessa Chaia, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confiabilidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento nesta instituição. Também abro mão de indenizações ou ressarcimentos neste estudo.

## 3º) Local e data, assinatura do voluntário e por cada um dos sujeitos da pesquisa

\_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
(assinatura do paciente)

Nome:

\_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Profa Dra Eliane Lopes Rosado  
(Pesquisador responsável)

\_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Nutricionista Marcia Fófano  
(Pesquisador)

\_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Nutricionista Vanessa Chaia  
(Pesquisador)

**Anexo II:**

INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO (UFRJ)

PROJETO: EFEITO DO POLIMORFISMO NO GENE PPAR $\gamma$ 2 E DOS LIPÍDIOS DA DIETA NA RESISTÊNCIA À INSULINA E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL DE INDIVÍDUOS OBESOS DE GRAU 3.

COORDENAÇÃO: PROFA. DRA. ELIANE LOPES ROSADO

1. Identificação e dados gerais:

Nome : \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Data de nascimento \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Escolaridade:

\_\_\_\_\_

Profissão:

\_\_\_\_\_

Estado civil: ( ) Casado(a) ( ) Solteiro(a) ( ) Divorciado(a) ( ) Viúvo(a)

Moradia: ( ) Sozinho ( ) Com a família Obs.: \_\_\_\_\_  
( ) Casa própria ( ) Alugada

Renda Familiar (Salários mínimos): \_\_\_\_\_

Quantos cômodos possui sua casa? \_\_\_\_\_

Possui saneamento básico? ( ) Água tratada ( ) Esgoto tratado ( ) Não

Vida social: ( ) Sim ( ) Não

Quando se sentiu gordo: \_\_\_\_\_

Início da obesidade: \_\_\_\_\_

Peso ao nascer: \_\_\_\_\_

Adolescência: ( ) Peso normal ( ) Sobrepeso ( ) Obesidade

Atividade física na adolescência: ( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_

Gravidez: N.º vezes: \_\_\_\_\_ Intercorrências: \_\_\_\_\_

Peso inicial \_\_\_\_\_ Peso total no período \_\_\_\_\_ Maior peso \_\_\_\_\_

Fumante: ( ) Sim ( ) Não

Há quanto tempo? \_\_\_\_\_ Quantos cigarros por dia? \_\_\_\_\_

Etilista: ( ) Sim ( ) Não

Há quanto tempo? \_\_\_\_\_ Freqüência: \_\_\_\_\_ Quantidade: \_\_\_\_\_

. Avaliação Clínica

Sinais e sintomas	<i>Sim</i>	Não
Queda de cabelo		
Unhas quebradiças		
Dermatite		
Edema		
Sonolência		
Dispnéia		
Constipação intestinal		
Diarréia		
Flatulência		

### 3. Atividade Física

a) Você faz alguma atividade física ?

( ) Sim ( ) Não

Que tipo ?

---

Em qual freqüência e duração ?

---

### 4. Uso de medicamentos

---



---



---

### 5. História da doença atual

Complicações relacionadas à obesidade:

( ) DM ( ) HAS ( ) D.articular ( ) Cardiopatias ( ) Dislipidemia

( ) ↑colesterol ( ) ↑TG Outra: \_\_\_\_\_

Data de início: \_\_\_\_\_ Tratamento:

---



---



---



---

#### 6. História patológica pregressa

---



---



---



---

#### 7. História familiar

##### Obesidade familiar

Pai:            Obeso ( ) Sim ( ) Não            Sobrepeso ( ) Sim ( ) Não

Mãe:           Obeso ( ) Sim ( ) Não            Sobrepeso ( ) Sim ( ) Não

Irmãos:       Obeso ( ) Sim ( ) Não            Sobrepeso ( ) Sim ( ) Não

#### 8. Avaliação Antropométrica

Parâmetros	Datas				
Peso (Kg.)					
Altura (cm.)					
IMC					
<u>Circunferências</u>					
Braço					
Antebraço					
Abdome					
Quadril					
Coxa					
Panturrilha					
Pulso					
CMB					
Relação C/Q					
Gordura corporal (%)					
Cintura					

### 9. Avaliação bioquímica

Parâmetros	Datas	

### 10. Avaliação dietética:

#### 10.1. Tabus e mitos alimentares

---

---

---

## 10.2. Anamnese Alimentar

	Alimentação / Preparação	Medida Caseira	Quantidade ( grama )
Desjejum			
Hora :			
Local :			
Colação			
Hora :			
Local:			
Almoço			
Hora :			
Local :			
Lanche :			
Hora :			
Local :			
Jantar :			
Hora :			
Local :			
Ceia :			
Hora :			
Local :			

## 10.3. Análise Química Semi - Quantitativa :

VCT = ..... Kcal

CHO :.....g ; .....% VCT

LIP :.....g ; .....% VCT

PROT :.....g ; .....% VCT ; .....g/Kg de peso

Fibra : .....g (total) ; .....g / 100 Kcal

## 10.4. Questionário de frequência alimentar :

Alimentos	Não	Sim	Diária	Semanal	Mensal	Observações
LEITE E DERIVADOS INTEGRAL						
LEITE E DERIVADOS SEMI DESNATADO						
LEITE E DERIVADOS DESNATADO						
OVOS						
CARNE BOVINA						
FRANGO						
PEIXE						
PORCO						
LEGUMINOSAS						
VEGETAIS (A/B/C)						
FRUTAS						
CEREAIS						
PAO / BISCOITO						
DOCES / BOLOS/ PUDIM						
MARGARINA / MANTEIGA						
OLEO						
BANHA						
AZEITE						
BEBIDAS ALCOÓLICAS						
REFRIGERANTES						
ÁGUA						

## 11. Evolução nutricional:

Data	Evolução

**Anexo III**

INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO (UFRJ)

PROJETO: EFEITO DO POLIMORFISMO NO GENE PPAR $\gamma$ 2 E DOS LIPÍDIOS DA DIETA NA RESISTÊNCIA À INSULINA E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL DE INDIVÍDUOS OBESOS DE GRAU 3.

COORDENAÇÃO: PROFA. DRA. ELIANE LOPES ROSADO



Registro Alimentar em 3 vias:

	Alimentação / Preparação	Medida Caseira	Quantidade (g)
Desjejum			
Hora :			
Local :			
Colação			
Hora :			
Local:			
Almoço			
Hora :			
Local :			
Lanche :			
Hora :			
Local :			
Jantar :			
Hora :			
Local :			
Ceia :			
Hora :			
Local :			



**Anexo IV**

INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO (UFRJ)

HOSPITAL GERAL DE IPANEMA

PROJETO: EFEITO DO POLIMORFISMO NO GENE PPAR $\gamma$ 2 E DOS LIPÍDIOS DA DIETA NA RESISTÊNCIA À INSULINA E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL DE INDIVÍDUOS OBESOS DE GRAU 3.

COORDENAÇÃO: PROFA. DRA. ELIANE LOPES ROSADO

**PRESCRIÇÃO DIETÉTICA**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Refeições	Alimentos	Medidas Caseiras
Desjejum		
Colação		
Almoço		
Lanche		
Jantar		
Ceia		

\_\_\_\_\_  
Nutricionista

**SUBSTITUIÇÕES PERMITIDAS:**

--	--

**ALIMENTOS PROIBIDOS**

--	--

**ORIENTAÇÕES IMPORTANTES**

--	--

## AnexoV

Protocolo para extração de DNA sangue integral

**MasterPure™ Genomic DNA Purification Kit**  
**Cat n° MG71100 EPICENTRE® Biotechnologies**

- 1** – Coletar 5 mL de sangue integral em um tubo vacutainer com EDTA (BD Vacutainer™ K<sub>3</sub>EDTA). O sangue pode ser estocado a 4°C por até 3 dias ou congelado, no entanto, o rendimento pode estar reduzido.
- 2** – Misturar o sangue integral invertendo o tubo, transferir 325µl de sangue para um tubo de microcentrifuga de 1,5 mL contendo 1 mL de Buffer Lysis 1. Inverter 3 vezes para misturar e dar um “peteleco” no fundo do tubo para suspender e não ficar nenhum material.
- 3** – Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos e misturar brevemente no vortex. Continuar incubando a temperatura ambiente por mais 5 minutos e misturar brevemente novamente.
- 4** – Peletar as células brancas por centrifugação por 25 segundos em microcentrífuga (14 x 1000 Min<sup>-1</sup>).
- 5** – Extrair a maioria do sobrenadante e descartar (cerca de 1.300 µL), deixando cerca de 25 µL de líquido. Misturar no vortex para suspender o pelete.
- 6** – Resuspender as células brancas em 500 µL de Buffer Lysis 2 pipetando as células de 5 a 7 vezes (para cima e para baixo).
- 7** – Adicionar 200 µL da Solução de Precipitação e misturar no vortex vigorosamente por no mínimo 30 segundos.
- 8** – Peletar os debris (restos celulares) por centrifugação por 10 minutos a  $\geq 10.000$  x g em microcentrífuga.
- 9** – Despejar o sobrenadante em um tubo de microcentrífuga limpo e adicionar 500 µL de Isopropanol. Inverter o tubo várias vezes (30-40); um precipitado como um barbante deve ser visível.
- 10** – Peletar o DNA por centrifugação a 4°C por 10 minutos em microcentrífuga a velocidade máxima.
- 11** – Descartar cuidadosamente o sobrenadante sem perturbar o pelete. Rinsar 2 vezes com etanol a 75% (cerca de 500 µL por vez), sendo cuidadoso para não deslocar o pelete (pelas bordas do tubo). Centrifugar brevemente se o pelete for perturbado (5 minutos). Remover todo o resíduo de etanol com uma pipeta.
- 12** – Ressuspender o DNA em 50 µL de Buffer TE e agitar no vortex por 10 segundos.
- 13** – Quantificar o DNA usando espectrofotometria.
- 14** - Armazenar o DNA purificado a -20°C.

## AnexoVI

### PROTOCOLO GERAL PESQUISA

#### Genotipagem da população estudada:

##### 1) Extração DNA

- Proceder o isolamento do DNA no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do *Schistosoma mansoni* (Prof. Franklin D. Rumjanek / Prof. Marcelo R. Fantappié) – UFRJ/CCS, bloco E, sala 22, tel: 2562-6759), conforme protocolo MasterPure™ Genomic DNA Purification Kit.
- Isolar o DNA a partir da 1ª amostra coletada (Jejum).
- Congelar as amostras de DNA isoladas em freezer a -20°C.

##### 2) Quantificação do DNA

- Proceder a quantificação do DNA isolado por espectrofotometria (Ultrospec® 3000 Pharmacia Biotech).
- Amostras: 995 µL de água Mili-Q + 5 µL do DNA extraído.
- Branco: 1.000 µL de água Mili-Q.
- Entre as amostras, rinsar a cubeta com etanol 70% e com água destilada.
- Anotar concentrações e *ratio*.
- Dividir o valor de DNA encontrado em µg por 5 para determinar a quantidade por µL e multiplicar por 1.000 para encontrar o valor de DNA da amostra em ng/µL.

##### 3) Reação em cadeia da DNA polimerase (PCR):

1 - Realizar a PCR (amplificação do DNA) – Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do *Schistosoma mansoni* (Prof. Franklin D. Rumjanek / Prof. Marcelo R. Fantappié).

- Colocar 1 µL de amostra de DNA em cada tubo. No branco acrescentar 1 µL de água.
- Iniciar o preparo do Mix. Adicionar os reagentes em um ependorf (1,5 mL), seguindo a ordem da tabela a seguir.

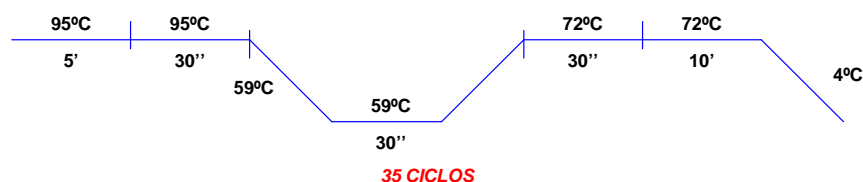
Obs: Preparar sempre o mix considerando o nº de amostras, o branco e uma margem de segurança para possíveis erros de pipetagem conforme tabela abaixo:  
O PCR Supermix invitrogen™ só deverá ser retirado do gelo no momento do uso.  
Composição: Mg<sup>++</sup>, dNTPs e Taq DNA Polimerase.

Reagentes	Estoque	[ ] Final	Vol. 1 amostra (µL)	3	4	5	6	7	8	9	10
PCR Supermix	1.1X		45	135	180	225	270	315	360	405	450
H2O Milli-Q			2	6	8	10	12	14	16	18	20
Primer 1		(10 µM)	1	3	4	5	6	7	8	9	10
Primer 2		(10 µM)	1	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Volume Final</b>			<b>49</b>	<b>147</b>	<b>196</b>	<b>245</b>	<b>294</b>	<b>343</b>	<b>392</b>	<b>441</b>	<b>490</b>

Reagentes	Estoque	[ ] Final	Vol. 1 amostra (µL)	11	12	13	14	15	16	17	18
PCR Supermix	1.1X		45	495	540	585	630	675	720	765	810
H2O Milli-Q			2	22	24	26	28	30	32	34	36
Primer 1		(10 µM)	1	11	12	13	14	15	16	17	18
Primer 2		(10 µM)	1	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>Volume Final</b>			<b>49</b>	<b>539</b>	<b>588</b>	<b>637</b>	<b>686</b>	<b>735</b>	<b>784</b>	<b>833</b>	<b>882</b>

- Adicionar 49 µL do Mix em cada tubo. Volume final: 50 µL.

Condições do Termociclador (Gene Amp® PCR System 9700):



Condições experimentais: Temperatura de anelamento: 59° C Temperatura e tempo de desnaturação: 94°C/5 min. Temperatura e tempo de extensão: 72°C/30 seg. No de ciclos: 35 [DNA]: 200ng /µl	Fragmentos gerados: Pro12Pro: 267 pb Pro12Ala: 267, 224, 43 pb Ala12Ala: 224, 43 pb.
---	---

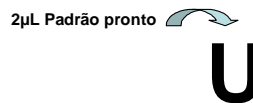
2 - Preparo do gel de agarose à 1,5%:

Gel pequeno (30 mL) ou médio (80 mL):

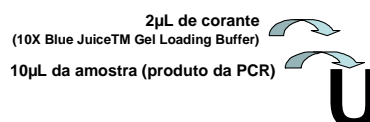
- Pesar a agarose (0,45g ou 1,2g) em balança digital.
- Colocar a agarose no erlenmeyer e adicionar 30 mL ou 80 mL de TBE (1X). Voltar um pouco para misturar.
- Levar a mistura ao microondas em potência máxima por 45 segundos. O gel precisa ficar totalmente translúcido.
- Esfriar a mistura para o gel, sob água corrente (torneira), voltando o erlenmeyer.
- Acrescentar 0,3 ou 0,8 µL de Brometo de Etídio. Descartar a ponteira utilizada em lixo especial. Cobrir o erlenmeyer com papel toalha e misturar voltando o becker.
- Preparar a cuba para o gel.
- Derramar o gel no suporte. Aguardar cerca de 15 minutos em temperatura ambiente até esfriar.

3 – Corar as amostras para corrida do gel:

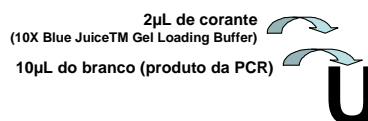
**PADRÃO:**



**AMOSTRA:**



**BRANCO:**



4 – Finalização do gel / Eletroforese:

- Com cuidado e usando luvas, retirar o pente do gel.
- Adicionar o tampão nas laterais e sobre o gel até que este fique coberto.
- Antes de colocar o conteúdo de cada tudo nos poços, homogeneizar com a pipeta para cima e para baixo (2-3X), sem fazer bolhas ou derramar material nas paredes.

**Obs: Colocar o material no gel na seguinte ordem – 1º PADRÃO (2 µL); 2º BRANCO (12 µL); e 4º AMOSTRAS (12 µL).**

- Adicionar o material cautelosamente para não perfurar o gel e não derramar o conteúdo no meio líquido.
- Encaixar a tampa do equipamento. Conectar os cabos do aparelho de eletroforese.
- Ligar o aparelho.
- Configuração:
  - V = 100v
  - T = 40 minutos
- Observar as bandas durante a corrida para evitar possíveis problemas.

Após eletroforese:

- 1) Fotografar o gel.
- 2) Descartar o gel em local apropriado.

**4) Digestão da amostra de DNA com enzima de restrição:**

- Recomenda-se centrifugar os produtos da PCR por 7 segundos antes da digestão.
- Adicionar 10µL do produto da PCR em tubos limpos.

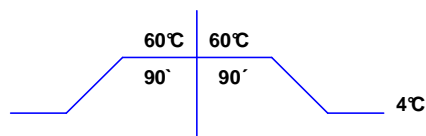
1 - Preparo da mistura para digestão:

Reagentes	Estoque	[ ] Final	Vol. 1 amostra (µL)	3	4	5	6	7	8	9	10
Água			7.4	22.2	29.6	37	44.4	51.8	59.2	66.6	74
Buffer		10 X	2	6	8	10	12	14	16	18	20
BST UI			0.6	1.8	2.4	3	3.6	4.2	4.8	5.4	6
<b>Volume Final</b>			<b>10</b>	<b>30</b>	<b>40</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	<b>70</b>	<b>80</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

Reagentes	Estoque	[ ] Final	Vol. 1 amostra (µL)	11	12	13	14	15	16	17	18
Água			7.4	22.2	88.8	96.2	103.6	111	118.4	125.8	133.2
Buffer		10 X	2	22	24	26	28	30	32	34	36
BST UI			0.6	6.6	7.2	7.8	8.4	9	9.6	10.2	10.8
<b>Volume Final</b>			<b>10</b>	<b>50.8</b>	<b>120</b>	<b>130</b>	<b>140</b>	<b>150</b>	<b>160</b>	<b>170</b>	<b>180</b>

**Volume final: Produto PCR + Mix = 20 µL.**

- Inserir as condições do termociclador:



**2 - Preparo do gel de agarose a 2%:**

Gel médio (100 mL):

- Pesar a agarose (2g) em balança digital.
- Colocar a agarose no erlenmeyer e adicionar 100 mL de TBE (1X). Voltar um pouco para misturar.
- Levar a mistura ao microondas em potência máxima por 45 segundos. O gel precisa ficar totalmente translúcido.
- Esfriar a mistura para o gel, sob água corrente (torneira), volteando o erlenmeyer.
- Acrescentar 1 µL de Brometo de Etídio. Descartar a ponteira utilizada em lixo especial. Cobrir o erlenmeyer com papel toalha e misturar volteando o becker.
- Preparar a cuba para o gel.
- Derramar o gel no suporte. Aguardar cerca de 15 minutos em temperatura ambiente até esfriar.



**3 – Corar as amostras para corrida do gel:**

**PADRÃO:**

2µL Padrão pronto 

**U**

**AMOSTRA:**

2µL de corante   
(10X Blue Juice™ Gel Loading Buffer)  
20µL do produto da digestão 

**U**

**4 – Finalização do gel / Eletroforese:**

- Com cuidado e usando luvas, retirar o pente do gel.
- Adicionar o tampão nas laterais e sobre o gel até que este fique coberto.
- Antes de colocar o conteúdo de cada tudo nos poços, homogeneizar com a pipeta para cima e para baixo (2-3X), sem fazer bolhas ou derramar material nas paredes.

- Adicionar o material cautelosamente para não perfurar o gel e não derramar o conteúdo no meio líquido.
- Encaixar a tampa do equipamento. Conectar os cabos do aparelho de eletroforese.
- Ligar o aparelho.
- Configuração:
  - V = 100v
  - T = cerca de 60 minutos
- Observar as bandas durante a corrida para evitar possíveis problemas.

Após eletroforese:

- 1) Fotografar o gel.
- 2) Descartar o gel em local apropriado.



## ANEXO VII - DIETAS TESTE

<i>Grupos Alimentos</i>	Valor calórico da Dieta rica em AGPI												
	1800	1900	2000	2100	2200	2300	2400	2500	2600	2700	2800	2900	3000
Gorduras - azeite			0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5			
Gorduras – Óleo de soja	8	9	9	9	9	9	10	10	10	10	10	11	11
Gorduras – Margarina	0,5	0,5	1	1,5	1,5	2	2	2,5	2,5	3	3,5	3,5	3,5
Lacticínios–Leite desnatado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5	1,5
Proteínas – Carne vermelha	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5
Proteínas – Frango	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Leguminosas – Feijão	1	1	1	1	1	1,5	2	2	2	2	2	2	2
Cereais – Arroz branco	7	7	8	9	10	10	10	11	11	12	13	13	13
Cereais – Pão francês	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
Cereais – Biscoito maisena											0,5	0,5	0,5
Geléia de fruta	2	2	1	2	2	1							
Vegetal A – Alface	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal A – Tomate	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal B – Cenoura cozida	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5
Vegetal B – Chuchu cozido				1	1	1	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5
Frutas – Maçã	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Frutas – Banana	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Frutas – Laranja	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2

## Porções:

Azeite – 5mL (1 colher sobremesa cheia), ½ porção – 2mL (1 colher chá cheia)

Óleo de soja – 5 mL (1 colher sobremesa cheia)

Margarina – 10g (1 colher chá cheia); ½ porção – 5g (1 colher chá rasa)

Geléia – 9,5g (1 colher chá cheia)

Leite desnatado – 240mL (1 copo requeijão cheio)

Carne vermelha: 100g (1 bife médio)

Frango – 100g (1 filé médio)

Feijão – 140g (1 concha média cheia)

Arroz branco – 25g (1 colher sopa cheia)

Pão francês – 50g (1 unidade)

Biscoito maisena – 30g (6 unidades)

Alface – 50g (5 folhas médias)

Tomate – 80g (5 fatias médias)

Cenoura cozida – 100g (4 colheres sopa cheias picadas)

Chuchu cozido – 100g (5 colheres sopa cheias picadas)

Maçã – 100g (1 unidade pequena)

Banana – 60g (1 unidade média)

Laranja – 100g (1 unidade pequena)

## ANEXO VIII - DIETAS CONTROLE

<i>Grupos Alimentos</i>	1800	1900	2000	2200	2300	2400	2500	2600	2700	2800	2900	3000
Gorduras - azeite	4	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7
Gorduras – Óleo de soja	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4	4	4
Gorduras – Margarina	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	4
Lactínicos – Leite desnatado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Proteínas – Carne vermelha	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Proteínas – Frango	1	1	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Leguminosas – Feijão	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3
Cereais – Arroz branco	8	8	9	10	10	12	12	14	14	15	15	15
Cereais – Pão francês	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	4
Cereais – Biscoito maisena										0,5	0,5	
Vegetal A – Alface	1	1	2	2	1	2	2	3	3	3	3	2
Vegetal A – Tomate	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal B – Cenoura cozida	1	1	1	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal B – Chuchu cozido	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Frutas – Maçã	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Frutas – Banana	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Frutas – Laranja	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1

## Porções:

Azeite – 5mL (1 colher sobremesa cheia)

Óleo de soja – 5 mL (1 colher sobremesa cheia)

Margarina – 8g (1 colher chá cheia)

Leite desnatado – 200mL (1 xícara chá cheia)

Leite desnatado-240ml ( 1 copo duplo cheio)

Carne vermelha: 100g (1 bife médio)

Carne vermelha: 150g (1 bife grande)

Frango – 100g (1 filé médio)

Feijão – 140g (1 concha média cheia)

Feijão –80g(1 concha média rasa)

Arroz branco – 25g (1 colher sopa cheia)

Pão francês – 50g (1 unidade)

Biscoito maisena – 30g (6 unidades)

Alface – 50g (5 folhas médias)

Tomate – 80g (5 fatias médias)

Cenoura cozida – 100g (4 colheres sopa cheias picadas)

Chuchu cozido – 100g (5 colheres sopa cheias picadas)

Maçã – 100g (1 unidade pequena)

Maçã – 130g (1 unidade MÉDIA)

Banana – 60g (1 unidade média)

Laranja – 100g (1 unidade pequena)

# 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](#)