

UFBA

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde

CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

**PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS
DOS GENES TNF (RS1800629) E IL10 (Rs1800896) E
SÍNDROME METABÓLICA EM UMA AMOSTRA
DE INDIVÍDUOS DE SALVADOR, BAHIA.**

**Salvador
2016**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

**Estudo de associação entre polimorfismos dos genes
TNF (rs1800629) e *IL10* (rs1800896) e Síndrome Metabólica
em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia.**

Salvador-Ba
2016

CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

**Estudo de associação entre polimorfismos dos genes
TNF (rs1800629) e *IL10* (rs1800896) e Síndrome Metabólica
em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pesquisa e Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Denise Lemaire

Salvador-Ba
2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Oliveira Coutinho de Lima, Claubert Radamés
Estudo de associação entre polimorfismos dos genes
TNF (rs1800629) e IL10 (rs1800896) e Síndrome
Metabólica em uma amostra de indivíduos de Salvador,
Bahia / Claubert Radamés Oliveira Coutinho de Lima. --
Salvador-BA, 2016.
69 f.

Orientador: Denise Carneiro Lemaire.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas - PIOS) --
Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências
e Saúde (ICS) ? Universidade Federal da Bahia (UFBA),
2016.

1. Síndrome Metabólica. 2. Polimorfismos de
Nucleotídeos Únicos. 3. Gene TNF. 4. Gene IL10. I.
Carneiro Lemaire, Denise. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO

CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DOS GENES *TNF* (RS1800629) E
IL10 (RS1800896) E SÍNDROME METABÓLICA EM UMA AMOSTRA DE INDIVÍDUOS DE
SALVADOR, BAHIA**

Salvador, Bahia, 12 de dezembro de 2016

COMISSÃO EXAMINADORA:

PROFA. DRA. DENISE CARNEIRO LEMAIRE (Orientador)

PROFA. DRA. MÍRIAM ROCHA VAZQUEZ (Examinador Externo)

PROFA. DRA. MARIA TERESITA BENDICHO (Examinador Externo)

*“Opte por aquilo que faz o seu coração vibrar ...
apesar das consequências”
(Osho)*

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

*À minha mãe **Izabel** (in memória), pois sei que para a senhora seria uma grande realização!*

*À minha irmã **Cintia** que me motiva em todos os segundos da minha vida! Você é e sempre será o alimento da minha alma e a minha fonte de inspiração! Obrigado por me deixar te amar e por me amar!*

*À pró **Dila** que sempre esteve presente em todos os momentos, principalmente nas etapas mais difíceis dessa jornada! Sou eternamente grato por, absolutamente, tudo! Muito obrigado por todas as oportunidades a que me foi dada! E obrigado por ser parte dessa história, desse título!*

AGRADECIMENTOS

*“E aprendi que se depende sempre
De tanta, muita, diferente gente
Toda pessoa sempre é as marcas
Das lições diárias de outras tantas pessoas
E é tão bonito quando a gente entende
Que a gente é tanta gente onde quer que a gente vá
E é tão bonito quando a gente sente
Que nunca está sozinho por mais que pense estar”
G o n z a g u i n h a*

*A todos os pacientes da pesquisa que **“deram, literalmente, o seu sangue para que ela fosse possível”**.*

A todos os voluntários (nutricionista, psicólogas, estagiários e monitores) do GENUT por todo trabalho realizado durante todos esses anos.

Ao GENUT, minha grande escola de nutrição.

A UNEB pelo apoio e financiamento e a UFBA e a APAE pela parceria.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Denise Lemaire pela oportunidade e confiança.

Ao Prof Dr. Domingos Rios por todas as contribuições.

Ao Prof Dr. Roberto Paulo e a CAPES pelo direcionamento do programa.

Aos amigos próximos e também aqueles que mesmo distantes mandaram energias positivas!

A família PIOS, minha turma do mestrado, obrigado pelo aconchego, parceria e amizade.

Aos meus irmão Mila e Charles, ao meu pai Rosival e as minha sobrinhas Laila e Isabel, obrigado pela torcida. Eu amo vocês!

Eternamente e sempre, agradeço a Deus por tudo,!

COUTINHO, Claubert Radamés. **Estudo de associação entre polimorfismos dos genes *TNF* (rs1800629) e *IL10* (rs1800896) e Síndrome Metabólica em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia.** 2016. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

RESUMO

Introdução: a síndrome metabólica corresponde a um distúrbio metabólico interligado e possui associação de fatores como: resistência à insulina; adiposidade visceral; dislipidemia aterogênica; disfunção endotelial; suscetibilidade genética; pressão arterial elevada; inflamação tecidual e estresse crônico. A inflamação crônica está fortemente associada à produção e concentração anormais de citocinas pró e anti-inflamatória. Estudos sugerem que polimorfismos de nucleotídeo único nos genes que codificam o TNF e a IL-10 (*TNF* e *IL10*, respectivamente) estão associados ao desenvolvimento de doenças. **Objetivo:** Investigar a possível associação entre síndrome metabólica ou seus cofatores associados (homa-IR, PCR, circunferência da cintura e abdominal e IMC) e os SNPs rs1800629 do *TNF* e rs1800896 do *IL10* em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia. **Material e Métodos:** estudo realizado em uma amostra de indivíduos distribuídos em dois grupos (caso e controle), de acordo com a presença ou não de síndrome metabólica. O diagnóstico da síndrome foi feito com base nos critérios da Federação Internacional de Diabetes, 2006. A genotipagem dos SNPs foi realizada usando a tecnologia de *TaqMan*. Foram analisados os seguintes SNPs: *TNF* rs1800629 (-308G>A) e *IL10* rs1800896 (-1082A>G). As frequências dos polimorfismos e outras variáveis categóricas foram comparadas utilizando o teste qui-quadrado. **Resultados:** o SNP rs1800896 do *IL10*, os valores médios mais elevados para a pressão arterial diastólica foi observado no grupo, caso, com genótipo G/A, com significância estatística ($p < 0,035$). A circunferência do quadril ($p = 0,024$); IMC ($p = 0,007$) também apresentaram associação significativa, ambos no grupo de indivíduos caso, com o genótipo A/A. Com relação ao SNP rs1800629 do *TNF*, foi observado maiores médias de circunferência da cintura no grupo de indivíduos caso com genótipo A/A ($p < 0,004$) e também associação significativa com a circunferência abdominal ($p < 0,006$) nos indivíduos com o mesmo genótipo. **Conclusão:** there was no association between all MetS parameters nor all cofactors associated with *TNF* rs1800629 SNPs and *IL10* rs1800896 in this sample of subjects. Among the SNPs surveyed, rs1800629 of *TNF* was the one that showed a greater association with the main factors described as triggers of MetS, which are associated with visceral obesity, such as waist and abdominal circumferences.

Palavras-chave: síndrome metabólica, SNPs, TNF e IL10

COUTINHO, Claubert Radamés. **Association study between gene polymorphisms *TNF* (rs1800629) and *IL10* ((rs1800896) and Metabolic Syndrome In a sample of individuals from Salvador, Bahia.** 2016. Thesis (Master) – Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, 2016.

ABSTRACT

Introduction: the metabolic syndrome corresponds to an interconnected metabolic disorder and has an association of factors such as: insulin resistance; visceral adiposity; atherogenic dyslipidemia; endothelial dysfunction; genetic susceptibility; high blood pressure; tissue inflammation and chronic stress. Chronic inflammation is strongly associated with abnormal production and concentration of pro-and anti-inflammatory cytokines. Studies suggest that single nucleotide polymorphisms in the genes encoding TNF and IL-10 (TNF and IL10, respectively) are associated with disease development. **Objective:** to investigate the possible association between metabolic syndrome or its associated cofactors (homa-IR, CRP, waist circumference and abdominal and BMI) and SNPs rs1800629 of *TNF* and rs1800896 of *IL10* in a sample of individuals from Salvador, Bahia. **Material and Methods:** a study conducted in a sample of individuals distributed in two groups (case and control), according to the presence or absence of metabolic syndrome. The diagnosis of the syndrome was made based on the criteria of the International Diabetes Federation, 2006. SNP genotyping was performed using *TaqMan* technology. The following SNPs were analyzed: *TNF* rs1800629 (-308G>A) and *IL10* rs1800896 (-1082G>A). The frequencies of the polymorphisms and other categorical variables were compared using the chi-square test. **Results:** for the IL10 rs1800896 SNP, the highest mean values for diastolic blood pressure were observed in the group, with G/A genotype, with statistical significance ($p < 0.035$). Hip circumference ($p = 0.024$); BMI ($p = 0.007$) also showed a significant association, both in the case group, with the A/A genotype. Regarding *TNF* rs1800629 SNP, we observed higher mean waist circumference in the group of individuals with A/A genotype ($p < 0.004$) and also a significant association with waist circumference ($p < 0.006$) in individuals with the same genotype. **Conclusion:** there was no association between all factors of MetS and all cofactors associated with *TNF* rs1800629 SNPs and *IL10* rs1800896 in this sample of subjects. Among the SNPs surveyed, *TNF* rs1800629 showed a greater association with the main factors described as MetS triggers associated with visceral obesity, such as waist circumference and abdominal circumference.

Keywords: Metabolic syndrome, SNPs, TNF and IL 10

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - Desenvolvimento da Resistência à Insulina..... | 28 |
| FIGURA 2 – Ativação da cascata de sinalização da insulina..... | 29 |
| FIGURA 3 - Estrutura e localização de SNPs no gene <i>IL10</i> | 33 |
| FIGURA 4 - Estrutura e localização de SNPs no gene <i>TNF</i> | 34 |
| FIGURA 5 - Fluxograma de triagem e acompanhamento dos pacientes..... | 37 |
| QUADRO 1 - Critérios de diagnóstico para Síndrome Metabólica..... | 38 |
| QUADRO 2 - Exames realizados, métodos e valores referenciais..... | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 – Definições da Síndrome Metabólica pelos órgãos Internacionais de Saúde..... | 25 |
| TABELA 2 – Caracterização da amostra segundo ser portador ou não de síndrome metabólica de acordo com os fatores da síndrome..... | 43 |
| TABELA 3 - Caracterização da amostra com os fatores associados à síndrome metabólica..... | 44 |
| TABELA 4 -Distribuição das frequências genotípica e alélica dos polimorfismos do <i>TNF</i> (rs1800629) e <i>IL10</i> (rs1800896)..... | 45 |
| TABELA 5 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipo do polimorfismo rs1800896 (<i>IL10</i>) de acordo com os fatores de risco para síndrome metabólica..... | 45 |
| TABELA 6 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipo do polimorfismo rs1800629 (<i>TNF</i>) de acordo com os fatores de risco para síndrome metabólica..... | 46 |
| TABELA 7 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipo do polimorfismo rs1800896 (<i>IL10</i>) de acordo com os fatores de riscos associados à síndrome metabólica..... | 47 |
| TABELA 8 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipo do polimorfismo rs1800629 (<i>TNF</i>) de acordo com os fatores de riscos associados à síndrome metabólica..... | 48 |

LISTA DE ABREVIATURAS

- AVC** - Acidente vascular cerebral
- CA** - Circunferência abdominal
- CC** - Circunferência da cintura
- CQ** – Circunferência do quadril
- DCNT** - Doenças crônicas não-transmissíveis
- DCV** - Doenças cardiovasculares
- DM** - Diabetes *mellitus*
- EGIR** - *European Group for the Study of Insulin Resistance*
- GLUT-4** - Proteína transportadora de glicose tipo 4
- HAS** - Hipertensão arterial sistêmica
- HDL-c** - Lipoproteína de alta densidade - colesterol
- IDF** - Federação internacional de diabetes
- IL10** – Gene IL-10
- IL-10** – Interleucina 10
- IL-6** - Interleucina 6
- IMC** - Índice de massa corporal
- IRS** - Substratos dos receptores de insulina
- OMS** - Organização mundial de saúde
- PAD** - Pressão arterial diastólica
- PAI-1** - Inibidor da ativação do plasminogênio tipo-1
- PAS** - Pressão arterial diastólica
- PCR** - Proteína-C reativa
- RI** - Resistência à insulina
- SM** - Síndrome metabólica
- SNP's** - Polimorfismos de nucleotídeo único
- TG** – Triglicerídeos
- TNF** - Fator de necrose tumoral
- TNF** – Gene do TNF

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 18 |
| 3. HIPÓTESE | 20 |
| 4. OBJETIVOS | 22 |
| 4.1 Geral: | 22 |
| 4.2 Específicos:..... | 22 |
| 5. REFERENCIAL TEÓRICO | 24 |
| 5.1 Síndrome Metabólica..... | 24 |
| 5.1.1 Fisiopatologia | 27 |
| 5.2 Fator de Necrose Tumoral (TNF)..... | 29 |
| 5.3 Interleucina 10 (IL-10) | 31 |
| 5.4 Síndrome metabólica e outras comorbidades | 32 |
| 5.5 Síndrome metabólica e estudos genéticos | 32 |
| 6. MATERIAL E MÉTODOS | 37 |
| 6.1 Desenho do Estudo | 37 |
| 6.2 Amostra populacional..... | 38 |
| 6.3 Diagnóstico de síndrome metabólica..... | 38 |
| 6.4 Classificação dos indivíduos (caso ou controle)..... | 39 |
| 6.5 Coleta de dados socioeconômicos, antropométricos e nutricionais | 39 |
| 6.6 Dados clínicos e laboratoriais..... | 40 |
| 6.7 Extração e análise do DNA genômico..... | 41 |
| 6.8 Genotipagem dos SNPs rs1800629 (TNF-308 G>A) e rs1800896 (IL10-1082 G >A) | 41 |
| 6.9 Análise estatística | 41 |
| 7. RESULTADOS | 43 |
| 8. DISCUSSÃO | 50 |
| 9. CONCLUSÃO | 58 |
| REFERÊNCIAS | 60 |

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A estimativa de prevalência de Síndrome Metabólica (SM) na população em geral é de 20 e 25% (ALI et al, 2012). A SM é considerada um problema de saúde pública emergente na sociedade brasileira (I-DBSM, 2005) e tem como principais causas: sobrepeso; aumento da circunferência da cintura (CC); sedentarismo; resistência à insulina (RI) além de fatores genéticos e ambientais (AKPALU et al, 2011; I-DBSM, 2005; SPEDM, 2006). A RI tem sido sugerida, por vários autores, como a principal causa da SM.

Estudos recentes sugerem que a RI seja o elo entre a SM e a inflamação (ALI et al, 2012; AKPALU et al, 2011). O processo inflamatório crônico induz a RI, independentemente do agente indutor, e esta, por sua vez, acentua o quadro inflamatório (VOLP et al, 2008; TIMAR et al, 2014). Segundo Dallmeier e colaboradores (2012), a maioria das doenças metabólicas tem sido caracterizada como "estado inflamatório" crônico. Ademais, a inflamação crônica está fortemente associada à produção e concentração anormais de citocinas, de proteínas de fase aguda e de outros marcadores de sinalização inflamatória, alterações também observadas na SM (SPERETTA; LEITE; DUARTE, 2014).

As citocinas que possuem ações pró ou anti-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina 10 (IL-10), respectivamente, desempenham importantes papéis no desenvolvimento e controle de inúmeros processos de doenças. O TNF é caracterizado como citocina pró-inflamatória e está relacionado com uma ampla variedade de disfunções inflamatórias, tais como: obesidade; diabetes; SM e câncer, além de doenças autoimunes, neurodegenerativas e infecciosas. Por outro lado, a IL-10 tem função anti-inflamatória e tem sido identificada como a principal molécula responsável pela inibição das alterações teciduais mediadas pelo TNF (BATISTA-JUNIOR et al, 2009; VOLP et al, 2008;).

Diversos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nos genes que codificam o TNF e a IL-10 (*TNF* e *IL10*, respectivamente) foram associados a diferentes fenótipos previstos de secreção destas citocinas (BAI et al, 2014; GUZMAN-FLORES et al, 2011). Estudos recentes sugerem que alguns destes SNPs estão associados à predisposição genética e ao desenvolvimento de doenças metabólicas devido ao estado inflamatório exacerbado (CURTI et al, 2012; DALLMEIER et al, 2012).

Em vista disso, o estudo das características antropogenéticas e sociais poderá servir de base para ações que envolvam o diagnóstico da situação alimentar e nutricional e suas

implicações na prevenção, tratamento e promoção da saúde nas diferentes populações. O foco em doenças comuns, como as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), associadas a distúrbios nutricionais como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes *mellitus* (DM), obesidade, dislipidemias, síndrome metabólica, entre outras que, relacionadas ou não, constituem uma crescente causa da morbimortalidade em todo o mundo (ALI et al, 2012).

J U S T I F I C A T I V A

2. JUSTIFICATIVA

A síndrome metabólica (SM) engloba inúmeras alterações no metabolismo que atingem um número significativo de pessoas e é a disfunção com maior taxa de crescimento de frequência em todo o mundo. Portadores desta síndrome possuem duas vezes mais chances de desenvolver um infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral que uma pessoa saudável (IDBSM, 2005; NCEP, 2002; SPEDM, 2006). A alta prevalência da SM justifica a realização de estudos que tenham como objetivos esclarecer a etiopatogênese desta doença e identificar fatores genéticos predisponentes.

Alguns fatores têm sido descritos como determinantes para o desenvolvimento da SM. A obesidade, frequentemente associada a SM, é um dos fatores de risco para o surgimento de outras doenças crônicas, como hipertensão e diabetes, além de doenças cardiovasculares que representam 72% dos óbitos, no Brasil (STEINBERGER et al., 2009).

A maioria dos estudos descreve que a principal causa da SM é a RI, mas poucos investigam as causas anteriores à RI que podem estar relacionadas a alterações genéticas, tais como, os SNPs do *TNF* (rs1800629) e do *IL10* (rs1800896). Estes e outros SNPs têm sido associados à diabetes, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia e RI, que são fatores da SM. Alguns autores investigaram a associação entre estas doenças, isoladamente com alguns SNPs destes genes, mas poucos avaliaram a associação com a SM. (AKPALU et al, 2011; TIMAR et al, 2014).

Poucos estudos foram realizados, no Brasil, com o objetivo de investigar a associação destes SNPs e SM, especialmente em população de afrodescendentes, que é o que propõe esta pesquisa (BARBOSA et al., 2008; OLIVEIRA; SOUZA; LIMA, 2006). A população da Bahia, particularmente a de Salvador, é constituída principalmente de indivíduos afrodescendentes, com cerca de 75% de pretos e pardos (IBGE, 2010), grupo populacional no qual a prevalência de hipertensão é significativamente maior do que nos demais grupos.

Tendo em vista que os registros na literatura científica indicam possível associação entre polimorfismos nos genes de citocinas, como TNF e IL10, com a inflamação e o surgimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Algumas DCNT correspondem a fatores da SM, e possui como elo central o processo inflamatório crônico e sub-clínico, como a resistência à insulina. Em vista disso, pode haver relação entre os SNPs do *TNF* (rs1800629) e do *IL10* (rs1800896) com a SM na população em estudo.

HIPÓTESE

3. HIPÓTESE

H0: Não há associação entre síndrome metabólica (SM) ou fatores associados à SM e os SNPs rs1800629 (*TNF-308 G>A*) e rs1800896 (*IL10 -1082G >A*).

H1: Há associação entre SM ou fatores associados à SM e os SNPs rs1800629 (*TNF-308 G>A*) e rs1800896 (*IL10 -1082 G>A*).

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Geral:

- Investigar a possível associação entre síndrome metabólica (SM) ou seus fatores associados e os SNPs rs1800629 do *TNF* e rs1800896 do *IL10* em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia.

4.2 Específicos:

- Descrever a prevalência do SNP rs1800629 do *TNF* em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia, portadores, ou não, da SM.
- Descrever a prevalência do SNP rs1800896 do *IL10* em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia, portadores, ou não, da SM.
- Comparar as frequências dos SNPs rs1800629 e rs1800896 entre os grupos de indivíduos portadores da SM com a frequência no grupo controle (sem SM).
- Avaliar a associação entre estes SNPs e os fatores da SM (CC, HDL, TGL, Pressão Arterial, Glicemia de jejum) nestes grupos de indivíduos.
- Verificar possível associação entre estes SNPs e Homa-IR e os níveis séricos de Proteína C reativa (PCR).
- Investigar se há associação entre estes SNPs e os parâmetros antropométricos: índice de massa corporal (IMC), circunferência abdominal (CA), circunferência do quadril (CQ).

REFERENCIAL TEÓRICO

5. REFERENCIAL TEÓRICO

5.1 Síndrome Metabólica

A síndrome metabólica (SM) é descrita como um transtorno complexo, devido aos amplos fatores envolvidos em sua conceituação, etiologia e tratamento (IDF, 2006). Também incide como o agrupamento, no mesmo indivíduo, de vários fatores de risco cardiovascular, clinicamente identificados em exames de rotina. Embora a SM tenha sido reconhecida em diferentes formas desde 1927, os componentes, a definição e a importância clínica são assuntos em debate até os dias atuais.

No ano de 1988, foi descrita, inicialmente, por Gerald Reaven, com a denominação de Síndrome “Plurimetabólica” ou “Síndrome X”. Esse conceito foi baseado em achados que mostravam uma associação de uma série de fatores de risco cardiovasculares. Em 1989 foi renomeada em “a síndrome de Quarteto Mortal” por Kaplan (1989) devido à combinação entre comorbidades, como: obesidade; intolerância à glicose; hipertrigliceridemia e hipertensão arterial. No entanto, em 1992, foi denominada como “Síndrome da Resistência à Insulina” (HAFFNER et al., 1992).

Desde sua descrição inicial, a SM recebeu inúmeras modificações que explicavam a sua gênese fisiopatológica, culminando com os conceitos mais atuais que são definidos por um aglomerado de disfunções fisiológicas, bioquímicas, clínicas e antropométricas, e, especialmente, de fatores metabólicos que aumentam diretamente o risco de surgimento de doença cardiovascular (DCV) e mortalidade (I-DBTSM, 2005; YAMAOKA, 2012). Em 1998, novas definições foram sugeridas agora pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Foram incluídos microalbuminúria e obesidade, também como critérios, e pela primeira vez foi apresentada a terminologia Síndrome Metabólica (ALBERTI e ZIMMET, 1998). Em 1999, o *European Group for the Study of Insulin Resistance* (EGIR) modificou o critério da OMS, e propôs uma nova definição que substituiu a determinação direta da resistência à insulina pela insulinemia de jejum, excluía a microalbuminúria como um dos componentes da SM, avaliava a obesidade medindo circunferência da cintura e adotava a glicemia de jejum para medir a intolerância à glicose. No ano de 2001, o *National Institute of Health* (NIH), por meio do *National Cholesterol Education Program* (NCEP), reuniu o *Adult Treatment Panel III* (ATP III) e sugeriu critérios menos complexos e mais práticos de definição para a SM que anulava a resistência à insulina como

critério obrigatório, proposto pela OMS, além da inclusão, para o diagnóstico, no mínimo de três dos componentes dos critérios (REAVEN, 2005; NCEP/ATP-III, 2001; OMS, 1999).

Até então a SM possuía várias formas e definições além de inúmeras divergências quanto ao seu diagnóstico. Assim, em meio a isso, surgiu a necessidade de uma definição global, que foi desenvolvida pela *International Diabetes Federation* (IDF, 2006) e *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute* (AHA/NHLBI), juntamente com outros órgãos internacionais de saúde conforme a tabela 1 (ALBERTI et al., 2009; JUNQUEIRA et al.2011).

Tabela 1 – Definições da Síndrome Metabólica pelos órgãos Internacionais de Saúde

| Critérios | Órgãos Internacionais de Saúde | | | | |
|-------------------|--|---|--|--|---|
| | OMS (1999) | EGIR (1999) | NCEP III (2001) | AHA (2004) | IDF (2005) |
| Obesidade central | RCQ \geq 0,9 (homens) e \geq 0,85 (mulheres) e/ou IMC $>$ 30 kg/m ² | CC \geq 94 cm (homens) e \geq 80 cm (mulheres) | CC \geq 102 cm (homens) e \geq 88 cm (mulheres) | não se aplica | CC $>$ 94 cm (homens) e $>$ 80 cm (mulheres)* |
| Pressão arterial | \geq 140/90 mm Hg | \geq 140/90 mm Hg ou em tratamento para hipertensão | $>$ 130/85 mm Hg ou em tratamento para hipertensão | \geq 130/85 mm Hg | \geq 130 mm Hg PAS ou \geq 85 mm Hg PAD ou em tratamento para hipertensão |
| Dislipidemia | TG \geq 150 mg/dl ou HDL $<$ 35 mg/dl (homens), $<$ 39 mg/dl (mulheres) | TG \geq 177 mg/dl ou HDL $<$ 39 mg/dl | TG \geq 150 mg/dl HDL $<$ 40 mg/dl (homens), $<$ 50 mg/dl (mulheres) | TG \geq 150 mg/dl HDL $<$ 40 mg/dl (homens), $<$ 50 mg/dl (mulheres) | TG \geq 150 mg/dl HDL $<$ 40 mg/dl (homens), $<$ 50 mg/dl (mulheres) |
| Hiperglicemia | Resistência à insulina obrigatória | Resistência à insulina obrigatória | Glicemia \geq 110 mg/dl Resistência à insulina não se aplica | Glicemia \geq 110 a 126 mg/dl | Glicemia \geq 100 mg/dl Resistência à insulina não se aplica |
| Outros fatores | Microalbuminúria | | | IMC \geq 25Kg/m ² | |

OMS: Organização Mundial da Saúde; EGIR: *European Group for the Study of Insulin Resistance*; NCEP – ATP III: *National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III*; AHA: *American Heart Association* IDF: *International Diabetes Federation*; RCQ: razão circunferências cintura/quadri; IMC: Índice de Massa Corporal; CC: circunferência da cintura; TG: triglicérides; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica. HDL: *High Density Lipoprotein*. *Critérios para obesidade central (CC) - específicas para cada população; valores apresentados são de homens e mulheres Europeus.

Adaptado de JUNQUEIRA et al.2011

A prevalência dessa disfunção metabólica atinge proporção epidêmica, cerca de 20 a 25% da população mundial. No Brasil ainda existem poucos estudos populacionais. Segundo as diretrizes brasileiras de SM não há dados representativos no país, mas estudos isolados já mostram resultados alarmantes, principalmente entre mulheres e afrodescendentes (BARBOSA et al., 2008; BORTOLETTO, 2016; OLIVEIRA; SOUZA; LIMA, 2006). Num estudo realizado com adultos do semiárido baiano, foi encontrado a prevalência de 30% de SM (OLIVEIRA, 2006).

Em outro estudo, Bortoletto e colaboradores (2016) encontraram prevalência de 53,7% em 958 indivíduos acima de 40 anos, avaliados na região Sul do Brasil.

De forma geral, a SM corresponde à associação de fatores como: a resistência à insulina, a adiposidade visceral, dislipidemia aterogênica, disfunção endotelial, suscetibilidade genética, pressão arterial elevada e estresse crônico. Estes fatores são decorrentes de processo inflamatório, hábitos de vida inadequados, como dieta de alto valor calórico e sedentarismo (ALKERWI, 2011; FORD et al., 2005). Está fortemente associada a DCV, além de aumentar 2 vezes o risco de morte e 3 vezes mais a chance do indivíduo ter um acidente vascular cerebral (AVC) e de desenvolver doença vascular sistêmica (PARK et al, 2013), quando comparadas a pessoas sem a síndrome (IDF, 2006).

Por ser um distúrbio metabólico interligado, o seu diagnóstico está frequentemente associado à obesidade central definida pela circunferência da cintura (CC) elevada; tolerância à glicose prejudicada, diabetes *mellitus* (DM) e/ou resistência insulínica (RI); hipertensão arterial sistêmica (HAS) ou elevação nos níveis pressóricos; hipertrigliceridemia e/ou baixas concentrações séricas de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (AHA, 2004; IDBSM, 2005; IDF, 2006; EGIR, 1999, NCEP-ATP-III, 2001, OMS, 1999). Logo, a associação de três situações clínicas, apresentadas na tabela 1, em um mesmo indivíduo, determina a presença da Síndrome (KAUR et al., 2014).

Segundo Kaur e cols (2014), a SM, corresponde a um dos principais e crescentes desafios clínicos em saúde pública mundialmente. As manifestações geralmente se iniciam na idade adulta ou na meia-idade e aumenta com o envelhecimento. O número de casos na faixa dos 50 anos é duas vezes maior do que aos 30, 40 anos. Embora acometa mais o sexo masculino, alguns grupos tem um risco aumentado de desenvolver a síndrome metabólica, como: pessoas com história familiar e/ou DM; mulheres com história pessoal de Síndrome de Ovários Policísticos (SOP); quadro de disfunção endocrinometabólico; além de pessoas com algum grau de obesidade ou sobrepeso (KAUR et al., 2014; SPOSITO et al., 2007).

Disfunções metabólicas, no geral, levam ao aumento da adiposidade que irá influenciar no aumento da síntese e liberação de substâncias pró-inflamatórias, que agem antagonicamente a ação da insulina, ocasionando alteração principalmente no metabolismo glicídico. Como consequência ocorre um quadro de RI, apontada como principal elo no surgimento da SM (CHOI, 2014).

5.1.1 Fisiopatologia

O tecido adiposo além de servir como reserva energética para o organismo, é considerado um órgão metabolicamente ativo, pois é responsável pela liberação de substâncias chamadas adipocitocinas. A hipertrofia do tecido adiposo corresponde ao principal indutor da infiltração e proliferação de macrófagos e alteração na secreção de adipocinas.

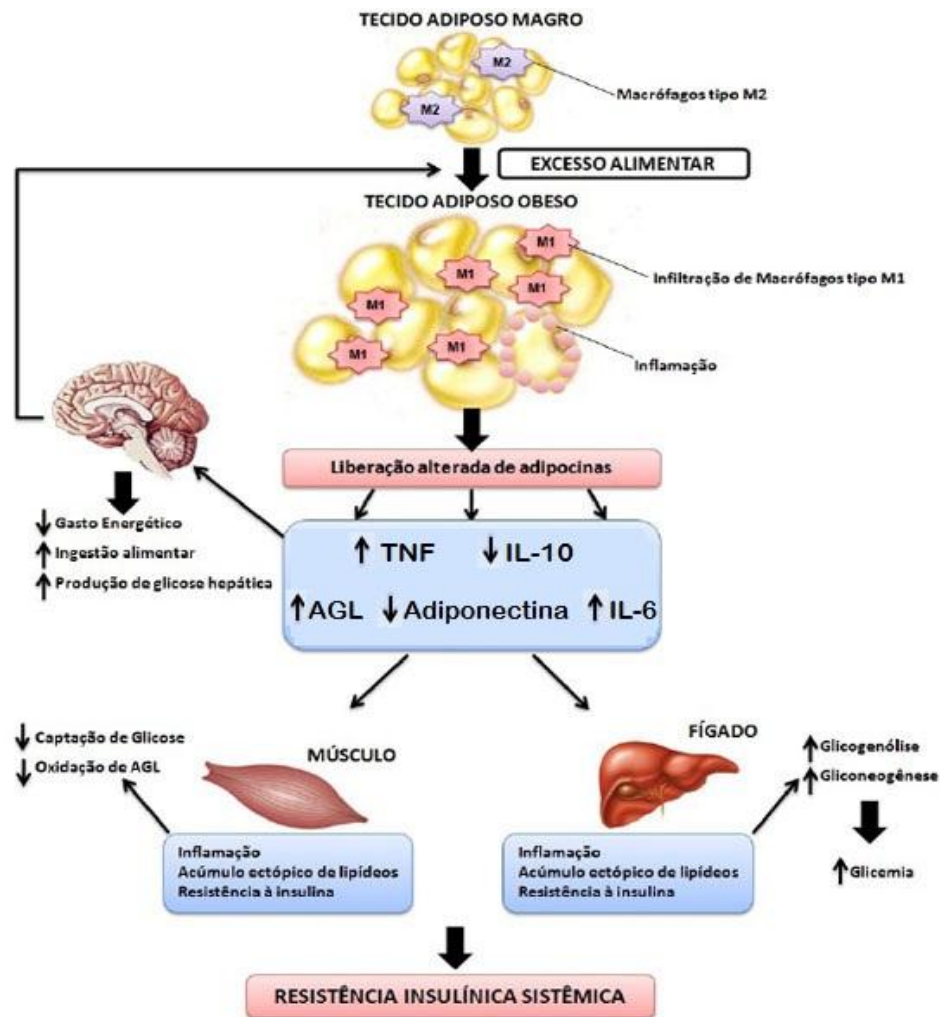
Estudos apontam que na presença de obesidade, principalmente a gordura visceral, essas adipocitocinas tenham sua produção alterada em função do acúmulo de macrófagos. Há aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral (TNF) e Interleucina 6 (IL-6) que são antagonistas a ação da insulina. Além disso, produzem maior quantidade de leptina, resistina e o inibidor da ativação do plasminogênio tipo-1 (PAI-1), bem como, reduzem a adiponectina e interleucina 10 (IL-10) que possuem atividade anti-inflamatória e aumentam a sensibilidade da captação de glicose. Esses desequilíbrios na liberação de citocinas, que podem estar associados também a fatores genéticos, contribuem para o desenvolvimento da resistência à insulina. Este quadro, relacionado ao aumento de ácidos graxos livres (AGL) circulantes, provoca aumento de ingestão alimentar, diminuição do gasto energético, alteração na homeostase de tecidos periféricos, como músculo e fígado. Também promove acúmulo ectópico de gordura, inflamação crônica de baixa intensidade e resistência à insulina em resposta a hiperinsulinemia (Figura 1) (CHOI, 2014; KAUR et al., 2014). A resistência à insulina instalada promoverá agravamento das dislipidemias e aumento da pressão arterial.

Com relação às dislipidemias, a deficiência na sinalização da insulina causa aumento da lipólise, gerando elevação dos níveis de ácidos graxos livres que são metabolicamente utilizados na síntese de triglicérides. Na hipertensão arterial, evidências descrevem que o estado de hiperglicemia e hiperinsulinemia estimulam a ativação do sistema renina-angiotensina, bem como, o sistema nervoso simpático, levando à vasoconstrição e aumento da pressão arterial (BARBALHO, et al, 2015; KAUR, 2014).

A insulina por ser um hormônio anabólico, secretado pelas células beta pancreáticas, atua nos processos de controle e regulação dos nutrientes, além de ser responsável pelos processos de diferenciação celular a depender do órgão para qual é direcionada. O aumento dos níveis de glicose circulante resulta na ação da insulina que através de uma cascata de sinalização irá promover a captação da glicose e reduzir os processos catabólicos, garantindo a homeostase de nutrientes (FERREIRA, 2012; FREITAS, 2014). Através desta cascata de sinalização ocorrerá à

entrada de glicose na célula, com o auxílio das proteínas transportadoras de glicose, os GLUT's. O processo de sinalização de insulina se inicia quando o hormônio se liga ao seu receptor, originando uma cascata de fosforilação intracelular, que irá promover a mobilização da vesícula de GLUT-4 para a membrana da célula e consequente captação da glicose, conforme demonstrado na figura 2 (CARNEIRO, 2011; FERREIRA, 2012).

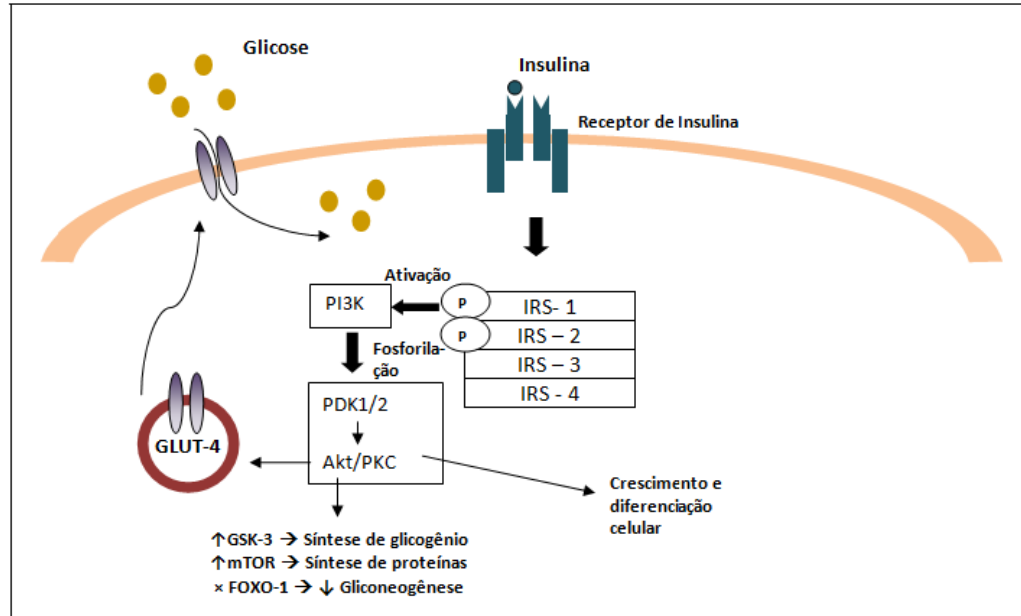
Figura 1 – Desenvolvimento da resistência à insulina.



TNF: Fator de Necrose Tumoral; IL-10: Interleucina 10; IL-6: Interleucina 6; AGL: Ácidos Graxos Livres; Adaptado de SPERETTA, LEITE, DUARTE, 2014.

A resistência à insulina ocorre quando há uma redução da resposta dos receptores de insulina em tecidos do organismo, dificultando assim a entrada da glicose na célula e estimulando um processo de hiperinsulinemia compensatório. Este processo irá afetar a homeostase de nutrientes em aspectos variados, com ênfase no metabolismo glicídico, gerando a hiperglicemia.

Figura 2 – Ativação da cascata de sinalização da insulina



IRS: substratos dos receptores de insulina; GLUT-4: proteína transportadora de glicose tipo 4;
 PI3K: fosfatidilinositol-3-cinase; PDK1/2: proteína cinase dependente de fosfoinositídeos-1/2
 Fonte: FERREIRA, 2012

A RI possui causa multifatorial, relacionada a fatores genéticos e hábitos de vida (CARNEIRO, 2011; SBD, 2016) e pode ser classificada em 3 tipos: tipo A, caracterizada pelo número reduzido ou disfunção dos receptores de insulina. Este é que possui maior relação com a obesidade e conseqüentemente, com a SM; o tipo B está associado a ação do sistema imune contra os receptores de insulina e o tipo C, corresponde a uma falha no pós-receptores (BARBATO, 2012). Entre as causas nesta falha pós receptor, desde alteração de fosforilação de tirosina, como alteração de proteínas da cascata de insulina (IRS), o TNF tem sido o mais destacado (figura 1). Sua principal atuação é como agente pró-inflamatório e que por isso, tem sido associado com doenças crônicas não transmissíveis, tal como, a SM.

5.2 Fator de Necrose Tumoral (TNF)

O TNF é uma citocina com ação autócrina, parácrina e endócrina. Atua no adipócito, regulando o acúmulo de gordura corporal, pela inibição da lipogênese, com diminuição da expressão da lipoproteína lipase (*LPL*), da proteína transportadora de glicose tipo 4 (GLUT-4) e da acetil-CoA sintetase, bem como, através do aumento da lipólise. Este efeito ocorre em razão da supressão pelo TNF da sinalização da insulina, reduzindo a fosforilação do IRS-1 e a atividade

do receptor insulina quinase (rPI3K). Isto leva a diminuição da síntese e translocação do GLUT-4 para a membrana com consequente diminuição na captação de glicose pelas células mediada pela ação da insulina. Esta redução de sensibilidade periférica à insulina ocasiona o aumento da glicogênese hepática e reduz o clearance de glicose pelo músculo esquelético e tecido adiposo, caracterizando um quadro de hiperinsulinemia (KIM et al., 2015).

A expressão de RNAm e a secreção de TNF são elevadas em obesos, correlacionando positivamente com o aumento do volume dos adipócitos, tanto no depósito visceral quanto subcutâneo. Dessa forma, sua expressão no tecido adiposo tem sido implicada como o fator causal na patogênese da obesidade ligada à RI e conseqüentemente da SM. Por causa de sua atividade biológica pleiotrópica, o TNF está envolvido no processo de inflamação, pois desempenha um papel principal na cascata das citocinas e estimula a síntese de outras citocinas (KIM et al., 2015; CHRISTIANA et al., 2016). Assim como a IL-6, o TNF é mediador central da resposta de fase aguda, pois também determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas, estimuladas pelo fígado, de fibrinogênio, proteína amiloide sérica A (SAA), inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1) além da proteína-C reativa (PCR) (CHRISTIANA et al., 2016).

O TNF é secretado por adipócitos, macrófagos, células musculares lisas e esqueléticas e células endoteliais. Induz a expressão de IL-6 no tecido adiposo e promove a expressão endotelial de moléculas de adesão, tais como, a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1) e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1). Estas moléculas, por sua vez, permitem a ativação e aderência de leucócitos à sua superfície. Estes efeitos são ainda mais exacerbados quando ocorre a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) que ativa a proteína-quinase C e o fator de transcrição nuclear (NF-kB). Logo, ocorrerá o aumento da transcrição de vários genes, como para a enzima de conversão da angiotensina II, moléculas de adesão e citocinas. Dessa forma, o aumento desta resposta inflamatória e sua posterior cronicidade conduzem a uma diferenciação das células musculares lisas vasculares e macrófagos. Como consequência ocorre o início da doença aterosclerótica (BAHIA et al., 2006;), quadro bem característico da SM (CHRISTIANA et al., 2016; GOMES et al., 2010).

Desta forma, estudos científicos têm demonstrado correlações significantes entre o TNF e os componentes da SM: triacilglicerol, HDL-colesterol e pressão arterial sistólica, além das correlações entre TNF e índice de massa corporal (IMC), sensibilidade à insulina e PCR ($p <$

0,05) (CHRISTIANA et al., 2016; KLEINBONGARD; SCHULZ; HEUSCH, 2011). Visto que o TNF está correlacionado com os componentes da SM, pode prever risco para doenças cardiovasculares e infarto. Em indivíduos com presença de doença cardíaca, seus níveis aumentaram de maneira bem expressiva (KLEINBONGARD; SCHULZ; HEUSCH, 2011; HEDAYAT et al., 2010; TAMARIZ; HARE, 2010).

A resposta inflamatória da SM leva não somente à elevação da expressão de adipocinas pró-inflamatórias, mas também à redução de adipocinas com propriedades anti-inflamatórias, como a IL-10. Todo este quadro poderá melhorar se houver uma redução do excesso de peso corporal, que ocasionará maior expressão das adipocinas anti-inflamatórias, redução das pró-inflamatórias e uma melhora na resposta à resistência à insulina (OLEVATE, et al., 2011).

5.3 Interleucina 10 (IL-10)

A IL-10 é uma citocina pleiotrópica produzida pelas células T helpers, linfócitos T, linfócitos B, monócitos e macrófagos, cuja principal função é a regulação do sistema imune, pois inibe de maneira potente a produção de citocinas pró-inflamatórias. A IL-10 é uma citocina com ações inibitórias de mecanismos inflamatórios da resposta imune inata, bem como da adaptativa. A IL-10 parece inibir de forma continuada a produção das citocinas pró-inflamatórias por meio de *feedback* negativo (CHOI, et al., 2007). A ação desta citocina no sistema vascular envolve a inibição da expressão das moléculas de adesão celular endotelial e leucocitárias (CAMs) e a síntese de quimiocinas por macrófagos ou linfócitos. Devido à importância dessa propriedade regulatória no sistema imune, alguns autores investigaram a possível associação entre os níveis séricos de IL-10 e SM. Os dados obtidos nestes estudos sugerem um papel protetor da IL-10 no desenvolvimento SM (CHOI, et al., 2007; RAJAPPA; SEM; SHARMA, 2010).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a ação inibitória da IL-10 sobre a síntese de adipocinas pró-inflamatórias. Um dos mais estudados é a inibição da ativação do fator de transcrição nuclear (NF- κ B), pela IL-10, em monócitos e células T (FERNANDES e KASKI, 2002). A inibição do NF- κ B, por sua vez, inibe de maneira potente a expressão e/ou a produção de citocinas pró-inflamatórias, como: TNF; interferon gama (IFN- γ), IL-2 e IL-12, (YOO et al., 2007). A importância da IL-10 na modulação da resposta imunoinflamatória, assim como seu papel no desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas tem sido cada vez mais destacada por vários autores. A ação desta citocina na fisiopatologia de doenças cardiovasculares parece

estar relacionada ao efeito inibitório sobre a ativação de células inflamatórias e efeito antitrombótico (RAJAPPA; SEM; SHARMA, 2010).

Segundo Nishida e cols. (2007) a IL-10 tem propriedades anti-inflamatórias multifacetadas, como a inibição da atividade de macrófagos e células T e efeito protetor contra aterogênese. A adiponectina, que é uma importante adipocina anti-inflamatória, induz a expressão de IL-10 em macrófagos humanos. Aparentemente, parte dos efeitos anti-aterogênicos da adiponectina são mediados pela IL-10 (SPERETTA; LEITE; DUARTE, 2014). O efeito protetor da IL-10 na aterogênese envolve mecanismos e propriedades como: 1) ação anti-inflamatórias; 2) inibição da síntese de metaloproteínas da matriz (MMPs) e fator tissular (FT); 3) ação anti-apoptótica; 4) efeitos sobre a polarização de macrófagos; 5) modulação do metabolismo dos lipídios (AIT-OUFELLA et al., 2011).

5.4 Síndrome metabólica e outras comorbidades

Outras comorbidades estão fortemente associadas à SM, sendo as mais comuns dislipidemias aterogênicas, RI, síndrome do ovário policístico, *Acanthosis Nigricans*, doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA), microalbuminúria (Malb), disfunção endotelial e hiperuricemia (ALMON et al., 2010; I-DBSM, 2005; NCEP ATP III, 2002). Estudos anteriores desenvolvidos no Núcleo de pesquisa e extensão em disfunções metabólicas (GENUT), em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia, revelaram associação positiva entre algumas dessas alterações e SM. Dentre os pacientes portadores da síndrome, 19% apresentavam microalbuminúria (COUTINHO et al., 2014); 62,5% DHGNA e 54,5% resistência à insulina (ARAÚJO, et al, 2014). Além destes fatores, polimorfismos genéticos em genes de citocinas também têm sido associados à etiopatogenia da SM, possivelmente por contribuírem para a desregulação das respostas imunoinflamatórias (BAI et al, 2014).

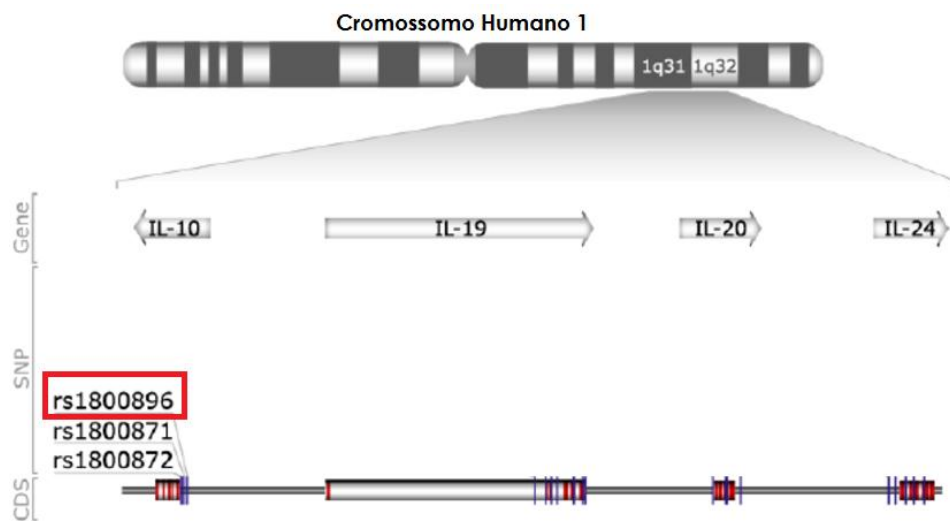
5.5 Síndrome metabólica e estudos genéticos

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular produzidas por vários tipos celulares, principalmente por linfócitos T, monócitos, macrófagos e células endoteliais. Estas moléculas exercem importantes funções biológicas, especialmente na regulação da resposta imunoinflamatória (ESKAY; GRINO; CHEN, 1990; LIPPITZ et al, 2013). Alguns polimorfismos em genes de citocinas, particularmente aqueles localizados em regiões

reguladoras, têm sido implicados como fatores associados à predisposição ao desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas, como a SM (GOUNARIS et al, 2010).

O gene que codifica a IL-10, *IL10*, está localizado no cromossomo 1 (1q31-1q32). Alguns SNPs localizados na região promotora foram descritos como associados a alterações na expressão deste gene, sendo os mais estudados: -1082A/G (rs1800896), -819T/C (rs1800871) e -592 A/C (rs1800872) (Figura 3) (ESKDALE et al, 1997).

Figura 3 - Estrutura e localização de SNPs no gene *IL10*.



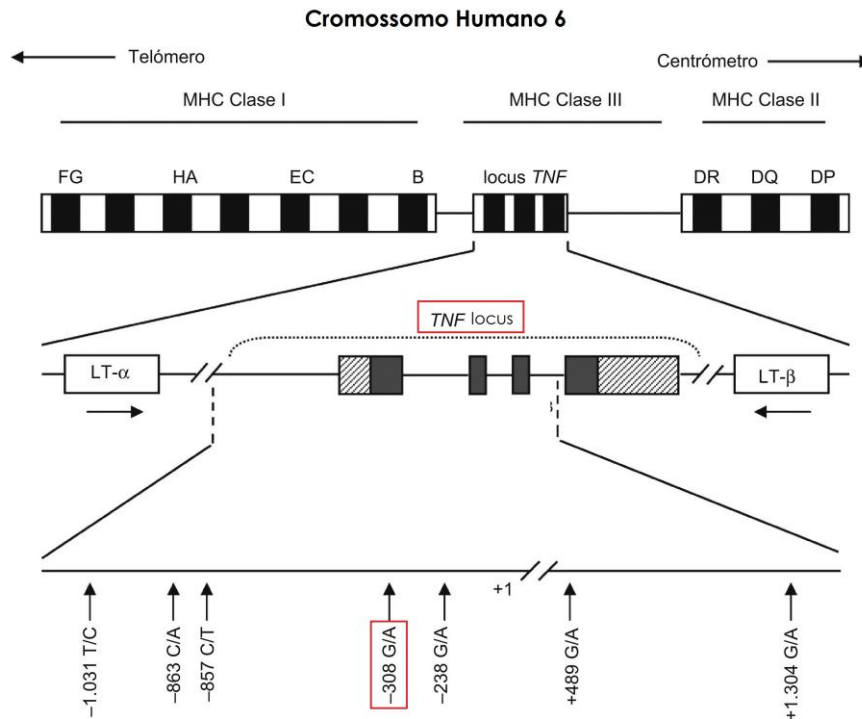
CDS: região codificadora
Adaptado de TAMBUR, 2001.

Em um estudo de meta-análise publicado recentemente foi investigada possível associação destes SNPs e Diabetes Tipo 2 (DM2), um cofator da SM. Os resultados mostraram que houve associação positiva estatisticamente significativa entre rs1800896 e DM2. Não foi observada associação com os demais SNPs investigados. No entanto, ao estratificar por cor de pele, foi observada associação entre DM2 e os SNPs rs1800872 e rs1800871, em africanos, e o rs1800896 em asiáticos. Os resultados de um estudo caso-controle, em uma amostra da população chinesa, mostraram que os genótipos -1082G/G e -592A/A estavam significativamente associados ao aumento do risco de desenvolvimento de DM2 (BAI et al, 2014). Por outro lado, Scarpelli e cols. (2006) não observaram associação entre os SNPs rs1800896 e rs1800872 e DM2, em estudo caso-controle com amostra da população italiana. Outros pesquisadores relataram associação entre os SNPs rs1518111, rs1554286 e hipertensão arterial sistêmica (PARK et al, 2013) e

doença arterial coronariana (ELSAID et al, 2014), em populações coreana e egípcia, respectivamente.

Quanto ao gene que codifica o Fator de Necrose Tumoral (*TNF*) este está localizado no cromossomo 6p21.3, na região III do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (Figura 4).

Figura 4 - Estrutura e localização de SNPs no gene *TNF*.



Fonte: REGO-PEREZ et al, 2009

Esta citocina é secretada principalmente por macrófagos infiltrados no tecido adiposo, que têm um importante papel na patogênese da obesidade e da resistência à insulina (FENG, et al, 2009). O *TNF* diminui a autofosforilação da tirosina e da atividade da tirosina quinase no receptor da insulina no músculo e tecido adiposo (GUAL et al, 2005). Recentes estudos têm revelado que polimorfismos do *TNF* estão associados com doenças infecciosas, SM, acidente vascular cerebral, hiperuricemia e outras. (LI; WANG; WANG, 2010; LIU et al, 2009; SOOKIAN et al, 2005;). Dentre os SNPs identificados na região promotora do *TNF* que estão associados à resistência à insulina, obesidade e DM2 estão: -308G/A (rs1800629), o -238G/A (rs361525) (FENG, et al, 2009) e o -863C/A (rs1800630). Estudo realizado em uma população mexicana revelou associação entre os SNPs rs1800629 e rs361525 e risco de desenvolvimento de

DM2 (GUZMAN-FLORES et al, 2011). Resultados semelhantes foram relatados por Kallel e cols. (2013), em estudo populacional na Tunísia, que observaram associação entre DM2 e o SNP rs1800630. Cho e cols. (2013) relataram associação entre o alelo *TNF*-238A (rs361525) e aumento do risco de doença arterial coronariana em coreanos. O SNP rs1800629 foi associado ao risco de SM por Gomez-Delgado e cols. (2014), que observaram que os indivíduos portadores de SM e do genótipo *TNF* -308G/G mostraram níveis séricos mais elevados de triglicérides de jejum e PCR do que os portadores dos genótipos *TNF* -308G/A ou -308A/A. Estes autores relataram que os níveis séricos de triglicérides e PCR normalizaram 12 meses após o início da dieta mediterrânea em todos os indivíduos, independentemente do genótipo. Resultados semelhantes foram observados em uma amostra da população brasileira, constituída de indivíduos com alto risco metabólico que tiveram diminuição dos níveis da glicose plasmática de jejum, após orientação nutricional, de forma independente do genótipo do *TNF* (CURTI et al, 2012).

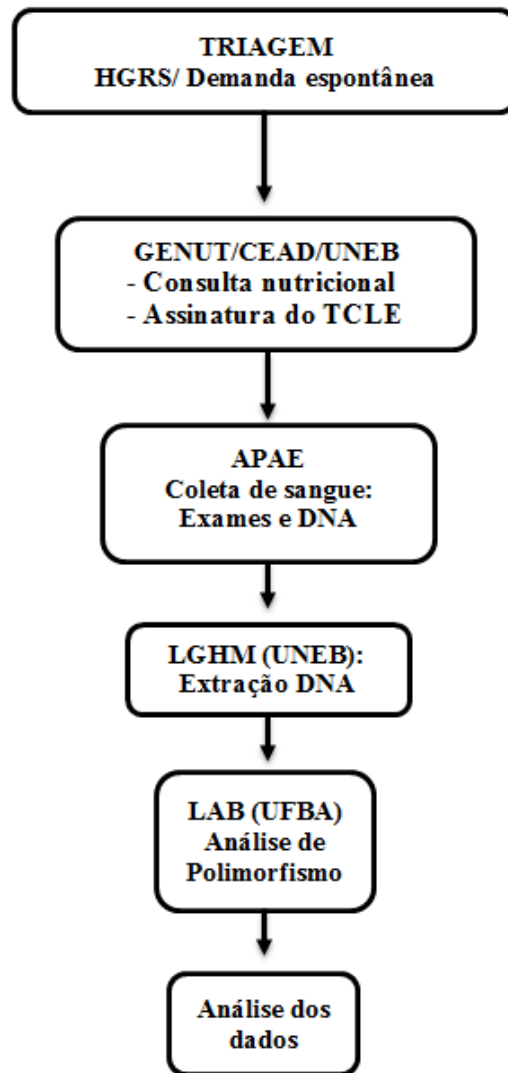
MATERIAL E MÉTODOS

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Desenho do Estudo

O estudo foi delineado conforme figura 5.

Figura 5 – Fluxograma de triagem e acompanhamento dos pacientes



HGRS: hospital geral Roberto Santos; GENUT: núcleo de pesquisa e extensão em genômica nutricional e disfunções metabólicas; CEAD: centro de estudos e atendimento dietoterápico; UNEB: Universidade do Estado da Bahia; TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido; APAE: associação de pais e amigos dos excepcionais; LGHM: laboratório de genética humana e molecular; LAB/UFBA: Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia.

Este estudo de corte transversal foi um subprojeto de um projeto mais amplo, intitulado *“INFLUÊNCIA DA DIETA SEM LACTOSE SOBRE A SÍNDROME METABÓLICA: PAPEL DE POLIMORFISMOS NOS GENES DA LACTASE, ADIPONECTINA E SEU RECEPTOR, GIP E*

RECEPTOR, TCF7L2, TNF, IL-6 E NFκ-B” desenvolvido no GENUT sob a supervisão da Prof^a Dr^a Edilene Maria Queiroz de Araújo e do Prof. Dr. Domingos Lázaro Rios. Este projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisas da UNEB, CAEE: 03409712.9.3001.5023.

6.2 Amostra populacional

A população de estudo foi composta de indivíduos portadores, ou não, de SM que preencheram os seguintes critérios de inclusão:

1. Mulheres e homens adultos acima de 20 anos.
2. Assinatura do TCLE.
3. Não ter diagnóstico de: doenças inflamatórias intestinais crônicas (história clínica de Doença Crohn, Retocolite ulcerativa, Colon Irritável e Diverticulite); insuficiência renal crônica (história clínica); doenças hepáticas crônicas com exceção de esteatose hepática; doenças autoimunes.
4. Não estar em uso de medicação para controle de apetite;
5. Não fazer uso contínuo de corticóide.
6. Não estar em período gestacional.

6.3 Diagnóstico de síndrome metabólica

O diagnóstico de SM foi realizado com base nos critérios da Federação Internacional de Diabetes (IDF, 2006), resumidos no quadro abaixo:

Quadro 1 - Critérios de diagnóstico para Síndrome Metabólica

| FATORES DE RISCO | CRITÉRIOS |
|------------------------------------|--|
| Circunferência da cintura elevada* | ≥ 94cm em homens ≥ 80cm em mulheres |
| Triglicerídeos elevados | ≥ 150mg/dL ou em tratamento medicamentoso pra hipertrigliceridemia |
| Baixos níveis de HDL-c | < 50 mg/dL em mulheres < 40 mg/dL em homens |
| Pressão arterial elevada | ≥ 130 x 85 mmHg ou em tratamento medicamentoso para hipertensão |
| Glicemia de jejum elevada | ≥ 100 mg/dL ou em tratamento medicamentoso para glicemia elevada. |

*Critério Obrigatório + dois fatores de risco; HDL-c: lipoproteína de alta densidade;
Adaptado da IDF, 2006

6.4 Classificação dos indivíduos (caso ou controle)

Os indivíduos foram distribuídos em dois grupos (Caso e Controle), de acordo com a presença ou não de SM.

O grupo CASO foi composto de 256 indivíduos portadores de SM.

O grupo CONTROLE foi composto de 210 voluntários saudáveis, sem SM, funcionários da Promédica (assistência médica), ou participantes do Fórum de Mulheres Negras da Bahia, ou participantes do grupo de acompanhamento da terceira idade da UNEB.

6.5 Coleta de dados socioeconômicos, antropométricos e nutricionais

Os pacientes foram provenientes do Núcleo de Endocrinologia do Hospital Geral Roberto Santos (HGRS) e por demanda espontânea. Após a explicação do projeto e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), os pacientes assinaram o TCLE e foram encaminhados para o Núcleo de Pesquisa e Extensão em Genômica Nutricional e Disfunções Metabólicas (GENUT), vinculado ao Centro de Estudos e Atendimento Dietoterápico (CEAD), ambos na Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Neste Centro ocorreram as consultas e acompanhamento nutricional. Nestas consultas, os pacientes responderam a uma anamnese que constava de avaliação sócio-econômica, clínica e nutricional e foram submetidos à avaliação antropométrica: peso, altura, índice de massa corporal (IMC), circunferências {cintura (CC), abdominal (CA) e quadril (CQ)}. Em seguida, foram encaminhados para coleta sanguínea na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais em Salvador - APAE/SSA para realização dos exames bioquímicos e para extração de DNA.

Em relação ao perfil antropométrico foi utilizada balança digital para coleta de peso e estadiômetro de chão para a altura. Posteriormente foi realizado o cálculo do índice de massa corporal (IMC), segundo os critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1995), sendo: eutrofia (18,5 – 24,9) sobrepeso (25 – 29,9), obesidade grau I (30 – 34,9), obesidade grau II (35 – 39,9) e obesidade grau III ($\geq 40 \text{ Kg/m}^2$). Para os idosos foram utilizados os pontos de corte estabelecidos por Lipschitz (1994), sendo: baixo peso (< 22), eutrofia (22 – 27) e obesidade (≥ 27). Os idosos obesos foram classificados na faixa de Obesidade Grau 1. Para as circunferências (CQ, CC e CA), foi utilizado fita inelástica, seguindo as recomendações da I-DBSM, 2005, para suas coletas.

6.6 Dados clínicos e laboratoriais

Para a aferição da pressão arterial sistêmica (PAS), o estetoscópio da marca (Littmann®) e tensiômetro (Bic®) foram utilizados seguindo as orientações preconizadas pela VI-DSBH, 2010 de duas aferições após 5 minutos de repouso. Quanto aos exames bioquímicos (Quadro 2), foram solicitados todos aqueles correspondentes aos fatores da SM além de Insulina de jejum e proteína-C reativa. Estes exames foram realizados na APAE de Salvador, após jejum de 12 horas.

Quadro 2 - Exames realizados, métodos e valores referenciais

| EXAME | MÉTODO | VALORES REFERENCIAIS |
|-----------------------------|--------------------|---|
| Glicemia de jejum | Enzimático | 70 à 99 mg/dL |
| Insulina de jejum | Quimiluminescência | 1,9 a 23,0 mcIU/mL |
| HDL-colesterol | Calorimétrico | > 40 mg/dL em homens ou > 50 mg/dL em mulheres |
| Triglicerídeos | Enzimático | Inferior a 150 mg/dL |
| Proteína C Reativa (PCR) | Imunoturbidimetria | < 1 mg/L para risco cardíaco baixo; 1 a 3 mg/L, risco médio e > 3 mg/L, alto. |

Para a avaliação do grau de resistência à insulina foi utilizado o índice de *Homeostasis Model Assessment* (HOMA). O HOMA-IR é um cálculo matemático de execução simples, que se fundamenta nas dosagens da insulinemia e da glicemia, ambas de jejum: HOMA-IR: Glicemia jejum x 0,0555 x Insulina jejum / 22,5 (MATTHEWS et al., 1985; OLIVEIRA; SOUZA; LIMA, 2005). A classificação de resistência insulínica foi definida de acordo com as orientações das Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016), baseado nos estudos de Stern e cols., 2005, a saber: Homa IR > 4,65 ou IMC >28,9 Kg/m² ou Homa IR > 3,6 e IMC > 27,5 Kg/m².

6.7 Extração e análise do DNA genômico

A extração de DNA genômico de ambos os grupos (caso e controle) foi realizada pela adaptação do método de extração salina de Miller, Dykes e Polesky (1988) e posteriormente foi realizada a quantificação por espectrofotometria através de aparelho Nanodrop e posterior padronização das concentrações em 15ng/μl. A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Genética Molecular Humana da UNEB e as análises dos polimorfismos no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, ICS/UFBA.

6.8 Genotipagem dos SNPs rs1800629 (TNF-308G>A) e rs1800896 (IL10-1082G >A)

A genotipagem dos SNPs foi realizada usando a tecnologia de *TaqMan* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) no aparelho QuantStudio 12K (ThermoFisher, USA). Foram analisados os seguintes SNPs: *TNF* (Cromossomo 6): rs1800629 (-308G>A) e *IL10* (Cromossomo 1) rs1800896 (-1082G>A).

6.9 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20. A adequação das frequências genotípicas dos polimorfismos estudados pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testada através do programa Arlequin ver 2000. As frequências dos polimorfismos e outras variáveis categóricas foram comparadas utilizando o teste qui-quadrado. As variáveis quantitativas foram comparadas entre os grupos utilizando o teste t ou análise de variância (ANOVA) e quando necessário foram utilizados testes não paramétricos. Os dados (Homa-IR, PCR, TG, glicemia) foram normalizados pela transformação logarítmica.

RESULTADOS

7. RESULTADOS

A amostra do estudo foi constituída de 466 voluntários, sendo 256 destes incluído no grupo caso (com síndrome metabólica) e 210 no grupo controle (sem SM). A proporção de indivíduos do sexo masculino e feminino foi a mesma em ambos os grupos, caso e controle, (84% mulheres e 16% homens; $p= 1,00$). A média de idade no grupo caso foi de 58 anos e no grupo controle foi de 41 anos.

A tabela 2 mostra as médias e desvios-padrões dos dados referentes aos fatores da SM, no grupo caso e no grupo comparação: circunferência da cintura, pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), HDL-c e triglicerídeos (TG) e glicemia. A análise estatística mostrou que há diferença estatisticamente significativa entre os grupos para todas as variáveis ($p<0,001$).

Tabela 2 – Caracterização da amostra segundo ser portador ou não de síndrome metabólica de acordo com os fatores da síndrome

| Fatores da SM | Grupo Caso | | | Grupo Controle | | | p |
|--------------------------------|------------|--------|-------|----------------|--------|-------|--------|
| | n | Média | dp | n | Média | dp | |
| Circunferência da Cintura (cm) | 255 | 102,17 | 11,10 | 207 | 80,13 | 8,32 | <0,001 |
| PA Sistólica (mmHg) | 253 | 142,40 | 19,25 | 25 | 126,40 | 10,36 | <0,001 |
| PA Diastólica (mmHg) | 253 | 88,46 | 12,56 | 25 | 76,40 | 8,10 | <0,001 |
| HDL-c (mg/dL) | 256 | 44,31 | 9,03 | 209 | 54,21 | 12,32 | <0,001 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | 255 | 161,55 | 87,83 | 205 | 92,56 | 49,71 | <0,001 |
| Glicemia (mg/dL) | 256 | 137,27 | 55,57 | 207 | 85,72 | 17,11 | <0,001 |

PA: pressão arterial; n: número de indivíduos; dp: desvio padrão.

Outros fatores associados à SM também foram avaliados neste estudo: proteína-C reativa (PCR); HOMA-IR; circunferência abdominal (CA); circunferência do quadril (CQ) e índice de massa corporal (IMC). As médias observadas no grupo caso, para todas as variáveis, foram superiores aos valores de referência (quadro 2, seção “material e métodos”). Por outro lado, os valores das médias observadas no grupo controle estavam dentro do intervalo de normalidade. Também foram observadas diferenças estatisticamente significante entre os grupos para todas as variáveis analisadas ($p<0,001$).

Tabela 3 - Caracterização da amostra com os fatores associados à síndrome metabólica.

| Fatores da SM | Grupo Caso | | | Grupo Controle | | | p |
|--------------------------------|------------|--------|-------|----------------|-------|------|--------|
| | n | Média | dp | n | Média | dp | |
| Homa-IR | 254 | 4,28 | 4,42 | 27 | 1,31 | 0,63 | <0,001 |
| Proteína-C reativa (mg/L) | 255 | 4,53 | 5,31 | 26 | 1,42 | 2,18 | <0,001 |
| Circunferência Abdominal (cm) | 253 | 104,04 | 10,94 | 207 | 84,11 | 8,24 | <0,001 |
| Circunferência do Quadril (cm) | 254 | 107,29 | 10,94 | 207 | 98,64 | 8,05 | <0,001 |
| Índice de Massa Corporal (cm) | 255 | 32,11 | 5,39 | 209 | 21,73 | 6,19 | <0,001 |

n: número de indivíduos; dp: desvio padrão.

Associação entre a SM e os SNPs no gene *IL10* (rs1800896) e *TNF* (rs1800629)

A tabela 4 mostra a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos do *TNF* e do *IL10* nos grupos caso e controle. Todos os SNPs estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Em relação ao SNP rs1800896, as frequências observadas dos genótipos *G/G*, *G/A* e *A/A* foram 12,5%, 45,5% e 42% e 13,6%, 45% e 41,4% nos grupos caso e controle, respectivamente. As diferenças das frequências entre os grupos não foram estatisticamente significativa ($p=0,948$). O alelo *A* foi o mais prevalente, em ambos os grupos: 64,75% e 63,87%, nos grupos caso e controle, respectivamente. A diferença observada entre ambos os grupos também não foi significativa ($p=0,766$). As frequências referentes ao SNP rs1800629 também estão mostrados na Tabela 4. As frequências dos genótipos *A/A*, *G/A* e *G/G* foram 1,0%, 16,2% e 82,8% e 1,1%, 13,8% e 85,2%, nos grupos caso e controle, respectivamente. Não foi observada, também para este SNP, nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,797$). O alelo *G* foi o de maior frequência em ambos os grupos: 91% e 92%, grupos caso e controle, respectivamente. A diferença observada entre os grupos não é estatisticamente significativa ($p=0,527$).

Tabela 4 – Distribuição das frequências genotípica e alélica dos polimorfismos do *IL10* (rs1800896) e *TNF* (rs1800629)

| GENE (SNP) | GRUPO | GENÓTIPO | | | P _{valor} | ALELO | | P _{valor} |
|----------------------------|----------|------------|------------|------------|--------------------|--------------|--------------|--------------------|
| | | <i>G/G</i> | <i>G/A</i> | <i>A/A</i> | | <i>G</i> | <i>A</i> | |
| <i>IL10</i> (rs1800896) | Caso | 25 (12,5%) | 91 (45,5%) | 84 (42,0%) | <0,948 | 141 (35,25%) | 259 (64,75%) | <0,766 |
| | Controle | 26 (13,6%) | 86 (45,0%) | 79 (41,4%) | | 138 (36,13%) | 244 (63,87%) | |
| | | | | | | | | |
| <i>TNF</i> (rs1800629) | Caso | | | | <0,797 | | | <0,527 |
| | Controle | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

A tabela 5 consta as frequências genotípicas do SNP rs1800896 do *IL10* nos grupos caso e controle, para cada um dos fatores da SM. No que se refere ao SNP rs1800896, os valores médios mais elevados para a pressão arterial diastólica foi observado no grupo caso para o genótipo *G/A*, ($p < 0,035$). Para as demais variáveis, no grupo de indivíduos caso e controle, não houve significância estatística para nenhum dos demais fatores da SM com SNP rs1800896 do *IL10*.

Tabela 5 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipos do polimorfismo rs1800896 (*IL10*), de acordo com os fatores de risco para síndrome metabólica.

| SNP | Variáveis | Genótipos | CASO | | | CONTROLE | | |
|--|---------------------------|------------|------|----------------|--------|---------------|---------------|--------|
| | | | n | Média (dp) | Pvalor | n | Média (dp) | Pvalor |
| rs1800896 <i>IL10</i> | Circunferência da Cintura | <i>G/G</i> | 25 | 99,23 (10,2) | <0,152 | 26 | 79,91 (7,41) | <0,946 |
| | | <i>G/A</i> | 91 | 102,5 (12,0) | | 86 | 80,21 (8,09) | |
| | | <i>A/A</i> | 81 | 104,0 (9,8) | | 77 | 79,79 (8,15) | |
| | PA Sistólica | <i>G/G</i> | 25 | 144,8 (18,7) | <0,376 | * | 122,5 (9,57) | <0,297 |
| | | <i>G/A</i> | 89 | 143,7 (19,6) | | 135,0 (10,0) | | |
| | | <i>A/A</i> | 81 | 140,1 (17,8) | | 125,71 (12,7) | | |
| | PA Diastólica | <i>G/G</i> | 25 | 90,76 (11,2) | <0,035 | * | 75,0 (5,8) | <0,753 |
| | | <i>G/A</i> | 89 | 91,42 (12,0) | | 80,0 (14,1) | | |
| | | <i>A/A</i> | 81 | 86,73 (12,2) | | 77,14 (7,5) | | |
| | HDL-c | <i>G/G</i> | 25 | 41,56 (8,25) | <0,314 | 26 | 53,43 (10,73) | <0,874 |
| | | <i>G/A</i> | 91 | 44,79 (9,8) | | 85 | 54,44 (11,47) | |
| | | <i>A/A</i> | 82 | 44,01 (9,1) | | 79 | 54,87 (13,61) | |
| | Triglicérides | <i>G/G</i> | 25 | 183,68 (99,33) | <0,275 | 26 | 96,61 (51,34) | <0,480 |
| | | <i>G/A</i> | 90 | 151,65 (73,23) | | 83 | 86,31 (40,16) | |
| | | <i>A/A</i> | 82 | 165,64 (85,48) | | 77 | 98,93 (59,01) | |
| | Glicemia | <i>G/G</i> | 25 | 135,2 (46,64) | <0,652 | 26 | 87,85 (10,94) | <0,100 |
| | | <i>G/A</i> | 91 | 132,11 (52,02) | | 85 | 86,87 (22,75) | |
| | | <i>A/A</i> | 82 | 140,28 (62,75) | | 77 | 82,48 (10,97) | |

* essa variável não foi medida em todos os controles. PA: pressão arterial; dp: desvio padrão

No que se refere à análise do SNP rs1800629 do *TNF* (tabela 6) com os fatores da SM foi observado maior nível de circunferência da cintura no grupo de indivíduos com o genótipo A/A com significância estatística ($p < 0,004$). As outras variáveis (PAS, PAD, HDL-c, TG e glicemia) não apresentaram significância estatística.

Tabela 6 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipos do polimorfismo rs1800629 (*TNF*), de acordo com os fatores de risco para síndrome metabólica.

| SNP | Variáveis | Genótipos | CASO | | | CONTROLE | | |
|----------------------|---------------------------|-----------|------|----------------|--------|---------------|---------------|--------|
| | | | n | Média (dp) | Pvalor | n | Média (dp) | Pvalor |
| rs1800629 <i>TNF</i> | Circunferência da Cintura | A/A | 2 | 123,7 (6,01) | <0,004 | 2 | 75,00 (4,24) | <0,482 |
| | | A/G | 32 | 99,0 (8,68) | | 26 | 81,06 (8,46) | |
| | | G/G | 167 | 102,8 (11,01) | | 159 | 79,58 (7,99) | |
| | PA Sistólica | A/A | 2 | 145,0 (7,07) | <0,731 | * | - (-) | <0,722 |
| | | A/G | 32 | 140,1 (19,38) | | 125,00 (7,07) | | |
| | | G/G | 164 | 142,94 (18,93) | | 128,18 (11,6) | | |
| | PA Diastólica | A/A | 2 | 100,00 (0,00) | <0,443 | * | - (-) | <0,905 |
| | | A/G | 32 | 88,48 (9,64) | | 75,0 (7,07) | | |
| | | G/G | 164 | 88,78 (12,98) | | 75,45 (9,34) | | |
| | HDL-c | A/A | 2 | 37,00 (7,07) | <0,474 | 2 | 48,55 (4,73) | <0,722 |
| | | A/G | 33 | 43,39 (8,29) | | 26 | 54,08 (10,97) | |
| | | G/G | 167 | 44,36 (9,45) | | 160 | 54,63 (12,53) | |
| | Triglicérides | A/A | 2 | 166,93 (92,05) | <0,943 | 2 | 61,00 (22,62) | <0,561 |
| | | A/G | 32 | 154,50 (10,60) | | 26 | 87,42 (40,36) | |
| | | G/G | 167 | 161,01 (86,19) | | 156 | 92,26 (45,61) | |
| | Glicemia | A/A | 2 | 190,5 (12,01) | <0,230 | 2 | 88,00 (12,72) | <0,850 |
| | | A/G | 33 | 138,88 (60,58) | | 26 | 83,18 (8,90) | |
| | | G/G | 167 | 134,87 (54,63) | | 158 | 84,92 (18,19) | |

* essa variável não foi medida em todos os controles. PA: pressão arterial; dp: desvio padrão

A tabela 7 mostra a comparação entre as frequências genotípicas do SNP rs1800896 do *IL10* nos grupos caso e controle, para cada um dos cofatores associados à SM. No que se refere ao SNP rs1800896 este não foi associado com Homa-IR, PCR e circunferência abdominal. Em relação à circunferência do quadril, o valor médio mais elevado foi observado, entre os portadores do genótipo A/A, com diferença estatisticamente significativa no grupo caso ($p = 0,024$). Os valores médios mais elevados para o IMC foi observado no grupo de indivíduos caso com o genótipo A/A e G/G para o grupo controle. Para esta avaliação, foi evidenciado significância estatística ($p = 0,007$) apenas no grupo caso.

Tabela 7 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipos do polimorfismo rs1800896 (*IL10*) de acordo com os fatores de riscos associados à síndrome metabólica.

| SNP | Variáveis | Genótipos | CASO | | | CONTROLE | | |
|-----------------------|---------------------------|------------|------|----------------|--------|----------|--------------|--------|
| | | | n | Média (dp) | Pvalor | n | Média (dp) | Pvalor |
| rs1800896 <i>IL10</i> | Homa-IR | <i>G/G</i> | 25 | 4,26 (3,55) | <0,829 | | 0,865 (0,43) | <0,203 |
| | | <i>G/A</i> | 87 | 4,01 (3,59) | | * | 1,350 (0,94) | |
| | | <i>A/A</i> | 81 | 4,55 (4,76) | | | 1,580 (0,50) | |
| | PCR | <i>G/G</i> | 25 | 4,23 (5,14) | <0,774 | | 3,28 (1,42) | <0,453 |
| | | <i>G/A</i> | 89 | 4,63 (4,76) | | * | 2,16 (1,79) | |
| | | <i>A/A</i> | 82 | 4,77 (5,75) | | | 1,02 (1,64) | |
| | Circunferência Abdominal | <i>G/G</i> | 25 | 100,89 (9,43) | <0,201 | 26 | 85,35 (6,27) | <0,493 |
| | | <i>G/A</i> | 90 | 104,84 (12,2) | | 86 | 84,36 (8,70) | |
| | | <i>A/A</i> | 80 | 105,24 (9,38) | | 77 | 83,28 (8,38) | |
| | Circunferência do Quadril | <i>G/G</i> | 25 | 102,80 (7,29) | <0,024 | 26 | 99,01 (7,43) | <0,953 |
| | | <i>G/A</i> | 89 | 107,44 (11,54) | | 86 | 98,77 (9,10) | |
| | | <i>A/A</i> | 82 | 109,28 (9,65) | | 77 | 99,16 (7,04) | |
| | Índice Massa Corporal | <i>G/G</i> | 25 | 29,51 (4,12) | <0,007 | 26 | 22,51 (5,22) | <0,577 |
| | | <i>G/A</i> | 90 | 32,23 (5,35) | | 86 | 22,45 (4,83) | |
| | | <i>A/A</i> | 82 | 33,26 (5,13) | | 79 | 21,60 (6,40) | |

* essa variável não foi medida em todos os controles; PCR: proteína-C reativa; dp: desvio padrão

No que se refere à avaliação dos genótipos do SNP rs1800629 (*TNF*) com os fatores associados a SM, (tabela 8), foi observado que o genótipo *A/A* apresentou circunferência abdominal maior no grupo caso ($p=0,006$). Com relação ao grupo controle, não foi evidenciado significância estatística em nenhum dos parâmetros analisados.

Tabela 8 – Caracterização da amostra, distribuída segundo ser portador ou não de síndrome metabólica e genótipos do polimorfismo rs1800629 (*TNF*), de acordo com os fatores de riscos associados à síndrome metabólica.

| SNP | Variáveis | Genótipos | CASO | | | CONTROLE | | |
|-----------------------------|---------------------------|------------|------|----------------|--------|-------------|--------------|--------|
| | | | n | Média (dp) | Pvalor | n | Média (dp) | Pvalor |
| rs1800629 <i>TNF</i> | Homa-IR | <i>A/A</i> | 2 | 7,99 (1,06) | <0,428 | * | - (-) | <0,485 |
| | | <i>A/G</i> | 33 | 4,10 (2,86) | | 0,98 (0,12) | | |
| | | <i>G/G</i> | 165 | 4,28 (4,29) | | 1,28 (0,71) | | |
| | PCR | <i>A/A</i> | 2 | 7,15 (5,89) | <0,583 | * | - (-) | <0,282 |
| | | <i>A/G</i> | 33 | 4,99 (5,90) | | 2,97 (4,27) | | |
| | | <i>G/G</i> | 166 | 4,34 (4,93) | | 0,87 (1,23) | | |
| | Circunferência Abdominal | <i>A/A</i> | 2 | 125,50 (9,89) | <0,006 | 2 | 88,00 (9,89) | <0,106 |
| | | <i>A/G</i> | 32 | 101,48 (8,40) | | 26 | 86,88 (9,12) | |
| | | <i>G/G</i> | 164 | 104,60 (10,95) | | 159 | 83,39 (8,02) | |
| | Circunferência do Quadril | <i>A/A</i> | 2 | 113,50 (0,70) | <0,506 | 2 | 96,50 (3,53) | <0,906 |
| | | <i>A/G</i> | 32 | 106,06 (10,18) | | 26 | 98,63 (10,0) | |
| | | <i>G/G</i> | 165 | 107,77 (10,64) | | 159 | 98,92 (7,82) | |
| | Índice Massa Corporal | <i>A/A</i> | 2 | 38,73 (0,952) | <0,136 | 2 | 23,48 (5,58) | <0,904 |
| | | <i>A/G</i> | 32 | 31,45 (4,60) | | 26 | 21,73 (6,76) | |
| | | <i>G/G</i> | 167 | 32,42 (5,29) | | 161 | 21,99 (5,27) | |

DISCUSSÃO

8. DISCUSSÃO

A síndrome metabólica (SM) é um problema de saúde pública devido a sua alta prevalência mundial. Apresenta um conjunto de fatores de risco importantes, os quais podem identificar pacientes com chances aumentadas de desenvolver doença cardiovascular aterosclerótica e diabetes tipo 2 (DM2). Estes fatores de risco são interligados através de aspectos bioquímicos, clínicos, metabólicos e por reações inflamatórias (BARBALHO et al., 2015, IDF, 2006).

De acordo com o perfil sócio demográfico (mostrado na seção “resultados”), a população deste estudo, constituída de 466 voluntários distribuídos nos grupos caso (256) e controle (210) de acordo com ser portador ou não de SM, foi composta majoritariamente por mulheres (84%). Composição semelhante também foi relatada em estudos para investigar a associação de outros fatores relacionados à SM entre grupos, caso e controle, realizados na população brasileira (PIMENTA, 2008; SÁ e MOURA, 2010; HESS; TRAMONSTINI e CANUTO, 2014). Segundo Machin e cols (2011) as mulheres procuram os serviços de saúde com maior frequência devido a certos padrões culturais e comportamentais, ainda observados na sociedade atual. Pimentel e cols (2011) descrevem que o público feminino busca os serviços médicos essencialmente por demanda espontânea, enquanto a maior parte dos homens justifica a baixa demanda aos serviços ambulatoriais por motivos de trabalho.

A média de idade observada no grupo caso foi de 58 anos, também superior à média observada no grupo controle (41 anos). Estas diferenças podem ser explicadas com base na composição dos grupos populacionais nos quais os indivíduos foram recrutados. Os voluntários do grupo caso foram selecionados a partir da triagem de pacientes portadores de SM no Centro de Endocrinologia do Hospital Geral Roberto Santos; o perfil predominante neste grupo é de indivíduos de meia idade ou idosos. Alguns autores sugerem que as condições clínicas que compõem os critérios diagnósticos da SM iniciam na idade adulta ou na meia-idade e aumentam com o envelhecimento (HESS; TRAMONSTINI e CANUTO, 2014; PENALVA, 2008; SILVA *et al.*, 2012). Por outro lado, os voluntários do grupo controle, sem SM, foram recrutados funcionários da Promédica (assistência médica), ou participantes do Fórum de Mulheres Negras da Bahia, ou participantes do grupo de acompanhamento da terceira idade da UNEB.

A caracterização da amostra segundo ser portador ou não de síndrome metabólica de acordo com os fatores de risco para esta síndrome (Tabela 2) revelou que a média de todos os parâmetros analisados eram significativamente maiores no grupo caso em comparação às médias observadas no grupo controle ($p < 0,001$). Estes dados estão de acordo com os critérios de diagnóstico da SM, tendo em vista que 100% dos voluntários do grupo caso eram sindrômicos. Por outro lado, os voluntários do grupo controle apresentavam valores normais para estes parâmetros, como esperado. Os pacientes foram triados com base nos critérios da *IDF*, 2006, e precisavam apresentar, no mínimo, três fatores, sendo que ter circunferência da cintura elevada (≥ 94 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres), é um critério obrigatório.

Os critérios definidos pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I-DBSM; 2005) sugere outros parâmetros associados, como por exemplo, proteína-C reativa (PCR) e HOMA-IR (tabela 3), dentre outros. As médias observadas dos valores destes parâmetros foram significativamente mais elevadas no grupo caso em comparação ao grupo controle (Tabela 3). Valores médios mais elevados de níveis séricos de PCR e do HOMA-IR são esperados em portadores de SM, tendo em vista que o perfil bioquímico e imunológico, neste grupo, é mais inflamatório do que em grupos de indivíduos sem SM. O excesso de tecido adiposo induz ainda mais a resposta inflamatória, potencializando as doenças inflamatórias crônicas já instaladas nestes indivíduos, portadores de um conglomerado de comorbidades. Além disso, a média de HOMA-IR elevado no grupo caso indica resistência à insulina nos indivíduos com SM. Estes resultados corroboram os dados encontrados por outros estudos, nos quais os valores médios de PCR e HOMA-IR foram mais elevados em indivíduos com comorbidades presentes na SM (DREHMER et al, 2015; GAWLIK et al., 2016).

O grupo caso também apresentou valores médios significativamente maiores para todos os fatores antropométricos avaliados, associados a SM, como mostrado na tabela 3. A circunferência do quadril (CQ) e abdominal (CA) e o índice de massa corporal (IMC) são parâmetros usados para avaliar o acúmulo de adiposidade visceral e obesidade. Por sua vez, estes fatores são bem descritos na literatura por possuírem estreita relação com o surgimento e agravamento da SM. Assim, é esperado obter valores médios significativamente elevados dos parâmetros antropométricos, circunferência abdominal, circunferência do quadril e IMC (COUTINHO et al., 2015), bem como da PCR circulante (COUTINHO et al., 2015;

SHAHARYAR et al., 2015; MIRHAFEZ et al., 2016) e dos cofatores da SM em grupo de indivíduos com SM (MIRHAFEZ et al., 2016).

A SM é uma alteração inflamatória crônica de baixo grau, que pode ser potencializado pelo aumento de TNF circulante (TUMOVA et al., 2013; SHAHARYAR et al., 2015; MIRHAFEZ et al., 2016). O aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, de radicais livres, de óxido nítrico e, por outro lado, pouca defesa antioxidante (TUMOVA et al., 2013) induzem a elevação da síntese de PCR (GAWLIK et al., 2016). Alguns autores sugerem que o aumento do número de cofatores da SM pode contribuir para a elevação da produção de PCR (MIRHAFEZ et al., 2016). As alterações metabólicas, endócrinas e imunológicas associadas à senescência podem contribuir ainda mais para o agravamento das desordens metabólicas. Estas observações estão de acordo com os dados clínicos-demográficos e antropométricos obtidos no grupo de voluntários com SM no presente estudo (LANE-CORDOVA et al., 2016).

Associação entre os SNPs no gene *TNF* e *IL10* e a SM

Neste estudo foram analisados SNPs em genes que codificam citocinas relacionados com a modulação da resposta inflamatória. O rs1800896, no gene da IL-10, citocina com ação anti-inflamatória e o rs1800629, no gene do TNF, que tem ação antagônica, com propriedades fortemente pró-inflamatórias. Estes polimorfismos foram escolhidos por terem sido os mais descritos, nestes genes, em estudos de associação com os fatores da SM e, também, de cofatores que se relacionam direto ou indiretamente a esta síndrome.

Os genótipos *IL10* -1082 *G/G*, *G/A* e *A/A* correspondem, respectivamente, aos fenótipos previstos de alto, intermediário e baixo produtor desta citocina, independente dos genótipos dos SNPs localizados nas posições -819 e -592 deste gene (TAMBUR et al., 2001).

Por outro lado, a presença do alelo *TNF* -308A (rs1800629) está associado ao fenótipo previsto de alto produtor de TNF (genótipos *A/A* e *A/G*). (LUZ, MENGARELLI, BICALHO, 2003).

Conforme mostrado na tabela 4 (seção “resultados”) não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na distribuição das frequências genotípicas ou alélicas dos SNPs avaliados entre os grupos caso e controle.

A frequência observada do genótipo *A/A* e do alelo *A* do polimorfismo *TNF*-308G>A no grupo controle foi menor do que aquela observada no grupo caso (Tabela 4), mas as diferenças não foram estatisticamente significantes. Estes dados são semelhantes aos resultados obtidos por

GUPTA e cols (2012) em um estudo no qual investigaram a associação entre o polimorfismo *TNF* -308G>A (rs1800629) e resistência à insulina, níveis séricos circulantes de leptina e TNF. A amostra deste estudo foi composta de mulheres indianas adultas com e sem síndrome metabólica. Os pesquisadores observaram frequências significativamente menores do genótipo A/A e do alelo *TNFA* no grupo controle em relação ao grupo com SM, ambos com significância estatística ($p < 0,001$).

O alelo *TNF* -308A (rs1800629) tem sido associado à obesidade, diabetes mellitus tipo 2, doença arterial coronariana, níveis séricos elevados de PCR, resistência à insulina (LI, WANG, WANG, 2010) e hipertensão essencial (GUO et al, 2009; PENG et al, 2011). No presente estudo foi observado que o grupo de indivíduos com SM portadores do genótipo A/A apresentou maiores valores médios com o parâmetro circunferência da cintura, com associação significativa ($p < 0,004$; Tabela 6). De forma semelhante, o grupo de indivíduos com SM portadores do genótipo A/A teve maiores valores médios circunferência abdominal, com associação significativa (Tabela 8). Estes resultados estão de acordo com outros estudos publicados nos quais o fenótipo previsto de alto produtor de TNF (genótipos A/A e A/G), indutor de inflamação, foi associado a doenças crônicas não transmissíveis (LI, WANG, WANG, 2010). Em um estudo com 222 iranianos, os pesquisadores investigaram a associação entre o polimorfismo *TNF* -308G>A (rs1800629) e síndrome metabólica. Foram analisados parâmetros antropométricos e bioquímicos e o critério de diagnóstico da SM foi o da Federação Internacional de Diabetes (IDF), o mesmo utilizado neste estudo. Os autores mostraram que os indivíduos com SM tinham níveis significativamente ($p < 0,05$) mais elevado de: triglicerídeos séricos em jejum; IMC; circunferência da cintura; pressão arterial e glicemia de jejum e menor nível HDL-c do que o grupo controle. Por outro lado, não observaram associação entre os genótipos A/A ou A/G e fatores da SM. No entanto, o genótipo A/A do rs1800629 foi associado a níveis mais elevados de triglicérides nos pacientes com SM, em comparação com o grupo controle (MIRHAFEZ et al, 2015). KOSTIS e colaboradores (2013) mostraram que o rs1800629 estava associado à perda de peso, ligado à estabilização da pressão arterial sistólica em idosos hipertensos.

Em 2001, Ito e colaboradores verificaram que o TNF também pode ter ação importante na modulação da pressão arterial e da lipoproteína de baixa densidade em mulheres japonesas. No entanto, em 2002, Krikovszky e colaboradores sugeriram que a presença do alelo A estaria associada à elevação da pressão diastólica, em adolescentes diabéticos na Hungria. Estudos

realizados na China por Guo e colaboradores (2009) e Peng e colaboradores (2011) mostraram associação positiva entre hipertensão essencial e o alelo *TNF* -308A. Sookoian e colaboradores, 2005, obtiveram resultados semelhantes em um estudo desenvolvido na Argentina. Em um outro estudo foi avaliada a associação entre risco de obesidade e DM2 e o SNP rs1800629 em um grupo de pacientes com SM e doença arterial coronária (DAC) (SOBTI et al., 2012). Os resultados, do estudo de Sobti e cols, 2012, mostraram forte associação entre: DAC e DM2 e o genótipo *A/G* ($p < 0,0001$); DAC e obesidade e os genótipos *A/A* ($p = 0,049$) e *A/G* ($p < 0,0001$); SM com DM2 e genótipos *A/G* ($p = 0,002$) e *A/A* ($p = 0,002$). Os genótipos *A/A* e *G/A* ($p = 0,001$), sexo masculino, mostraram 4,6 e 5,4 vezes mais riscos para a obesidade, respectivamente. Em um estudo recente foi avaliada a associação entre o polimorfismo *TNF*-308G>A e SM em pacientes asmáticos, na China. Os autores observaram níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), TNF, insulina e HOMA-IR significativamente mais altos em indivíduos com SM portadores do genótipo *A/A* ou *G/A*, quando comparados aos valores observados em indivíduos com genótipo *G/G* (YANG et al., 2015).

Em relação ao SNP do *IL10* -1082G/A (rs1800896), as tabelas 5 e 7 também mostram a frequência dos genótipos nos grupos caso e controle, de acordo com os fatores da SM e outros parâmetros associados a SM. Neste SNP, a presença do alelo *A* está associada ao aumento da atividade de transcrição do *IL10* e a níveis séricos elevados de IL-10. Alguns estudos mostraram associação entre este SNP e susceptibilidade à SM e DM2 (FORTE et al., 2010), bem como, suas complicações e comorbidades (RODRIGUES et al., 2015).

Neste estudo foi observado que no grupo de indivíduos com SM os portadores do genótipo *G/A* apresentaram média significativamente maior ($p = 0,035$) de pressão arterial diastólica em relação aos demais genótipos. Com relação aos fatores associados à SM, a diferença de frequência dos demais genótipos só foi estatisticamente significativa para a circunferência do quadril e o IMC ($p = 0,024$ e $p = 0,007$).

Forte e colaboradores (2010) relataram que o SNP rs1800896, o mesmo analisado no presente estudo, estava associado ao aumento progressivo de glicose e do número de neutrófilos e observaram que este aumento estava relacionado, proporcionalmente, à presença de determinados genótipos ($G/G < G/A < A/A$), ou seja, os indivíduos que apresentaram o genótipo *A/A* possuíam níveis mais elevados de glicose sérica nos pacientes do grupo caso, com DM2, que no grupo controle. Também observaram que estes genótipos estavam associados a complicações do DM2,

como: retinopatia; danos vasculares; alterações de parâmetros hematoquímicos que podem identificar diabéticos com mau prognóstico e que necessitam de melhores estratégias de prevenção e terapêutica (FORTE et al., 2010). Outros autores também verificaram a maior probabilidade de complicações do DM2 em portadores do alelo A no SNPs (rs1800896) do *IL10*, ($p=0,049$) (RODRIGUES et al., 2015). Nesta mesma linha de raciocínio, uma metaanálise avaliou 4 SNPs na IL-10, um posicionado bem próximo do estudado neste trabalho, o -1082G>A, rs1800896. Após análises, os autores concluíram que este SNP possuía associação com a DM2, não importando a cor da pele, porém alguns tiveram associação apenas em afrodescendentes (TARABAY et al., 2016). Em outra metaanálise, este mesmo SNP esteve associado com alguns subtipos de acidente vascular isquêmico (KUMAR et al., 2016). Os mesmos autores sugeriram, em outro artigo, que o -1082G>A, rs1800896 pode ser utilizado como marcador genético para identificar indivíduos com alto risco de desenvolver acidente vascular (KUMAR et al., 2016), bem como, para o DM2 em chineses (BAI et al., 2014).

TNF e IL10

No grupo caso, caracterizado pelo perfil inflamatório, foram observados valores médios mais elevados dos parâmetros circunferência da cintura e glicemia no grupo de indivíduos com os genótipos *IL10-1082A/A* e *TNF -308A/A* (Tabela 5 e 6). O fenótipo previsto de baixa produção de IL-10 e alta produção de TNF, nestes indivíduos, pode ser um fator predisponente ao desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas. Pereira e colaboradores (2013) mostraram que investigaram o perfil inflamatório dos SNPs rs1800629 e rs1800896, dos genes *TNF* e *IL10* (ambos investigados nesta pesquisa) além dos SNPs rs1800795 do *IL6*. Os autores notaram que as mulheres idosas que não portavam estes SNPs apresentaram melhor performance física, independente da modalidade do exercício, ao que sugeriram ser devido à interação deste perfil genético e fatores ambientais (PEREIRA et al., 2013). Desta forma, fica claro que dentre os cofatores da SM a presença destes dois genótipos *IL10-1082A/A* e *TNF -308A/A*, conjuntamente, pode estar relacionado ao aumento da circunferência da cintura e glicemia. Ao se comparar os genótipos com os outros cofatores, a presença do homocigoto *A/A* é mais frequente para o *TNF* e *G/G* para o *IL10* (Tabela 5 e 6). Apesar de não ter havido significância estatística para a maioria das comparações entre os genótipos e os fatores da SM, foi observado que o genótipo *A/A*, maior produção de TNF, foi mais prevalente que o *A/A* de menor produção de IL-10 e que talvez o TNF

tenha mais relação com a SM e seus cofatores que a interleucina 10. Já quando se faz a mesma análise na tabela 7 e 8, fatores associados à SM, os resultados encontrados foram bastantes promissores para o perfil inflamatório. Todos os fatores associados a SM tiveram os seus maiores valores médios em homozigoto *A/A* tanto para os SNPs estudados no *TNF* quanto para no *IL10* no grupo de indivíduos caso. Todos os cofatores analisados estão relacionados à etiopatogenia da SM: resistência à insulina (HOMA-IR) e obesidade (circunferência abdominal e cintura e IMC). Estes resultados reafirmam a correlação da obesidade visceral com a elevada produção de TNF, entre outras citocinas, que contribuem para a resistência à insulina, atividades pró-inflamatórias e aterogênicas, estado hipertensivo e obesidade visceral (LEAL; MAFRA, 2013; CAMPANA et al., 2014). Schmidt e cols (2015) também encontraram em seu estudo que os níveis de TNF e IL-6 estão aumentados nos adipócitos intra-abdominais, confirmando os resultados encontrados. Portanto estes SNPs, principalmente no *TNF*, podem estar envolvidos indiretamente no desenvolvimento da SM, via estas alterações, mas devido ao número de indivíduos reduzido da pesquisa, não tenha sido encontrado resultados significativos na maioria das análises.

CONCLUSÃO

9. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados, não houve associação significativa com a maior parte dos fatores da SM e os SNPs rs1800629 do *TNF* e rs1800896 do *IL10* em uma amostra de indivíduos de Salvador, Bahia. Não foi observado diferenças significativas entre as frequências genóticas e alélicas dos SNPs citados entre os grupos caso e controle, porém a presença do alelo A (mutante) do *TNF* embora seja de menor frequência na população estudada, apresentou maior associação com a SM. Quanto à associação destes SNPs com os cofatores da SM, apenas houve associação do rs1800896 do *IL10* com pressão arterial diastólica (genótipo *G/G*) e do rs1800629 do *TNF* com circunferência da cintura (genótipo *A/A*), ambos no grupo caso. Não houve nenhuma associação significativa no grupo controle. Em relação aos fatores associados a SM ocorreu associação significativa apenas no grupo casos: o rs1800896 do *IL10* com circunferência do quadril e IMC (ambos no genótipo *A/A*) e o rs1800629 do *TNF* com circunferência abdominal (genótipo *A/A*). Entre os SNPs pesquisados, o rs1800629 do *TNF* foi o que mostrou maior associação com os principais fatores descritos como desencadeadores da SM, associados à obesidade visceral, como à circunferência da cintura e abdominal. Porém devido ao número reduzido de voluntários participantes, não foi encontrado resultados significativos na maioria das análises, requerendo ampliação da amostra para análises com maior poder de detecção de associações significantes.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AFRAND M, et al. High frequency of metabolic syndrome in adult Zoroastrians in Yazd, Iran: a cross-sectional study. **Med J Islam Repub Iran.** v. n. 16, p.330-7, may, 2016.
- AIT-OUFELLA, H. et al. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 31, n. 5, p. 969-979, 2011.
- AKPALU, J. et al. The metabolic syndrome among patients with cardiovascular disease in Accra. **Ghana Medical Journal.** v. 45, n.4, p.177-180, 2011.
- ALI, N.S. et al. Retrospective analysis of metabolic syndrome: prevalence and distribution in executive population in urban Pakistan. Hindawi Publishing Corporation. **International Journal of Family Medicine**, Pakistan, p.407-414, jul. 2012.
- ARAÚJO, E.M.P.Q. et al. Association Between Acanthosis Nigricans, Insulin Resistance, The Circumferences Of The Waist And Abdominal and Risk Factors Of Metabolic Syndrome . **Nutrire: Brazilian Soc. Food Nutr.** São Paulo, v. 39, Supl., p. 52, Maio 2014.
- BAHIA, L. et al. O Endotélio na Síndrome Metabólica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 291-303, 2006.
- BAI, H. et al. Association between interleukin 10 gene polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus in a Chinese population. **Journal Of International Medical Research.** Beijing, p. 702-710. jul, 2014.
- BARBALHO, S. M., et al. Síndrome metabólica, aterosclerose e inflamação: tríade indissociável? **J. Vasc. Bras.**, v. 14, n. 4, p. 319-327, Out. 2015.
- BARBOSA, A.A.L. et al. Estrutura dos casamentos em duas comunidades negras isoladas: Bananal e Barra. **Revista Brasileira de Genética**, (supl) v.20, n.3, p.319. 1997.
- BATISTA-JUNIOR, M.L. et al. Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF- α and IL-10. **Arq. Bras. Cardiol.** v.93, n.6, p.692-700, 2009.
- BLOGOWSKI, W., et al. Clinical analysis of selected complement-derived molecules in human adipose tissue. **J Transl Med.** 11: 112013.
- BORTOLETTO, Maira Sayuri Sakay et al. Síndrome metabólica, componentes e fatores associados em adultos de 40 anos ou mais de um município da Região Sul do Brasil. **Cad. Saúde Colet**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 24, p.32-40, 2016.
- CARNEIRO, J., et al. Insulino-resistência e síndrome metabólica:: perspectiva imunológica. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, Porto, v. 2, n. 0, p.91-100, 2011.
- CHO, H.C. et al. TNF- α polymorphisms and coronary artery disease: Association study in the Korean population. **Cytokine**, South Korea, p.104-109, abr. 2013.

CHOI, K. M., et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. **Diabetes Res Clin Pract.** v. 75, p.235-40, 2007.

CHRISTIANA, U. I., et al. Plasma levels of inflammatory cytokines in adult Nigerians with the metabolic syndrome. **Niger Med J.** v. 57, n.1, p. 64-8, Jan-Feb;2016

COUTINHO, C.R. et al. Association Between C-Reactive Protein, Microalbuminuria and Risk Factors Of The Metabolic Syndrome. **Nutrire: Brazilian Soc. Food Nutr.** São Paulo. v. 39, Supl. p.19, maio, 2014.

COUTINHO, CR. et al. Associação entre Proteína C Reativa e cofatores da Síndrome Metabólica em uma amostra de afrodescendente do estado da Bahia. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 14, n. 3, p. 298-302, set./dez. 2015.

CURTI, M.L. et al. Associations of the TNF-alpha -308 G/A, IL6 -174 G/C and AdipoQ 45 T/G polymorphisms with inflammatory and metabolic responses to lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, Brazil, p.1-9, nov. 2012.

DALLMEIER, D. et al. Metabolic syndrome and inflammatory biomarkers: a community-based cross-sectional study at the Framingham Heart Study. **Diabetology & Metabolic Syndrom**, Boston, p.1-9, jun. 2012.

DREHMER, M, et al. Associations of dairy intake with glycemia and insulinemia, independent of obesity, in Brazilian adults: the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Am J Clin Nutr.** v. 101, p. 775–82, 2015.

ELSAID, A. et al. Association of polymorphisms G(-174)C in IL-6 gene and G(-1082)A in IL-10 gene with traditional cardiovascular risk factors in patients with coronary artery disease. **Indian J Biochem Biophys.** Egypt, p.282-292, ago. 2014.

ESKAY, R.L.; GRINO, M.; CHEN, H.T. Interleukins, signal transduction, and the immune system-mediated stress response. **Adv Exp Med Biol.** New York, v.274, p.331–343, 1990.

ESKDALE J, Kube D, Tesch H, et al. Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence. **Immunogenetics.** v.46, p.120–128, fev, 1997.

Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol. **JAMA**, v.285, p. 2486-2497, sep, 2002.

FENG, R. et al. Lack of association between TNF 238 G/A polymorphism and type 2 diabetes: a meta-analysis, **Acta Diabetol.** v.46, p.339–343, 2009.

FERNÁNDEZ, R. P; KASKI, J. C. Interleucina-10 y enfermedad coronaria. **Rev Esp Cardiol.;** v. 55, n. 7, p. 738-50, 2002.

- FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ A, M. E., et al. Inflammation, oxidative stress and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*. v. 12, n. 5, p. 3117-32, 2011.
- FERREIRA, Raquel et al. Hepatite C Crônica, uma doença metabólica. *Revista de Medicina e Saúde de Brasília, Brasília*, v. 2, n. 1, p.80-91, jun. 2012.
- FORD, Earl S. Prevalence of the Metabolic Syndrome Defined by the International Diabetes Federation Among Adults in the U.S. *Diabetes Care*, Atlanta, v. 28, n. 11, p.2745-2749, nov. 2005.
- FORTE, G. I, et al. Risk profiles in type 2 diabetes (metabolic syndrome): integration of IL-10 polymorphisms and laboratory parameters to identify vascular damages related complications. *Current pharmaceutical design*, v.16, n.7, p.898-903, 2010.
- FREITAS, M. C. Resistência à insulina associada à obesidade:: Efeitos anti-inflamatórios do exercício físico. *Revista Brasileira Ciência e Movimento*, São Paulo, v. 3, n. 22, p.139-147, ago. 2014.
- FREITAS, R. W. Jr., et al. Prevalence of the metabolic syndrome and its individual components in Brazilian college students. *J Clin Nurs*. n. 22, p. 9-10, may, 2013.
- GAWLIK, K; et al. Markers of Antioxidant Defense in Patients with Type 2 Diabetes. *Oxid Med Cell Longev*. p. 97-112, nov, 2016.
- GOMES, F. et al. Obesity and coronary artery disease: role of vascular inflammation. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 94, n. 2, p. 273-279, 2010.
- GOMEZ-DELGADO, F. et al. Polymorphism at the TNF-alpha gene interacts with Mediterranean diet to influence triglyceride metabolism and inflammation status in metabolic syndrome patients: From the CORDIOPREV clinical trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, Spain, v. 58, n. 7, p.1519-1527, jul. 2014.
- GOUNARIS, E. et al. T-regulatory cells shift from a protective anti-inflammatory to a cancer-promoting proinflammatory phenotype in polyposis. *Cancer Res*. Chicago, v.69, p.5490–5497, jul, 2010.
- GUAL, P, et al. Y. Le Marchand-Brustel and J.F. Tanti, Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation, *Biochimie* v.87, p.99–109, 2005.
- GUO LW, et al. Correlation between tumor necrosis factor α and β gene polymorphisms and essential hypertension. *Journal of Xinxiang Medical College*. v. 26, p.352–354, 2009.
- GUZMÁN-FLORES, J.M. et al. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter -308G/A and -238G/A polymorphisms in Mexican patients with type 2 diabetes mellitus. *Dis. Markers*, Mexican, p.19-24, abr. 2011.
- HEDAYAT, M. et al. Proinflammatory cytokines in heart failure: double-edged swords. *Heart Fail Rev.*, v. 15, n. 6, p. 543–562, 2010.

HESS, S.; TRAMONTINI, J.; CANUTO, R. Fatores associados à síndrome metabólica em adultos atendidos em um ambulatório de nutrição. **Sci Med.**, v.24, n.1, p.33-38, 2014.

I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA (I-DBSM). Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 84, suplemento I, abri. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) – Censo demográfico 2010, acessado no link: <http://cod.ibge.gov.br/23QPH>.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation (IDF). **Diabetic Medicine**. Caulfield. v.23, p.469-480, 2006.

JUNQUEIRA, C. L. C., et al. Síndrome Metabólica: o risco cardiovascular é maior que o risco dos seus componentes isoladamente? **Rev Bras Cardiol.**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 5, p.1-8, nov. 2011.

KALLEL, A. et al. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) -863C/A promoter polymorphism is associated with type 2 diabetes in Tunisian population. **Diabetes Research And Clinical Practice**, Tunisia, p.24-28, nov. 2013.

KAUR, Jaspinder. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. **Cardiology Research And Practice**, New York, v. 2014, p.1-21, mar. 2014.

KAUR, R, et al. C-reactive protein + 1059 G>C polymorphism in type 2 diabetes and coronary artery disease patients. **Meta gene**, v. 1, p. 82-92, nov. 2013.

KIM, M. J. et al, Cell lysis-free quantum dot multicolor cellular imaging-based mechanism study for TNF- α -induced insulin resistance. **Journal of Nanobiotechnology**. v. 6, p.13-24, 2015.

KLEINBONGARD, P.; SCHULZ, R.; HEUSCH, G. TNF- α in myocardial ischemia/reperfusion, remodeling and heart failure. **Heart Fail Rev.**, v. 16, p. 49–69, 2011.

KOSTIS, J. W, et al. Relationships Between Selected Gene Polymorphisms and Blood Pressure Sensitivity to Weight Loss in Elderly Persons With Hypertension. **Hypertension**, v. 61, n. 4, p. 857-863, apr. 2013.

KUMAR, P, et al. Association between Interleukin-10 -1082G/A Gene Polymorphism and Risk of Stroke in the North Indian Population: A Case-Control Study. **Journal of stroke and cerebrovascular diseases**, v. 25, n. 2, p. 461-8, feb. 2016.

KUMAR, P, et al. Role of Interleukin-10 (-1082A/G) gene polymorphism with the risk of ischemic stroke: a meta-analysis. **Neurological research**, v. 38, n.9, p. 823-30, sep. 2016.

LANE-CORDOVA, A. D, et al. AGING, not age-associated inflammation, determines blood pressure and endothelial responses to acute inflammation. **J Hypertens**. p. 3-13. aug. 2016.

LI, C.Q.; WANG F.; WANG, Y.G. The Association of the TNF- α Gene of G-308A Genotypes in Chinese hyperuricemia patients and cardiovascular risk factors. **Molecular Cardiology of China**, v.10, p.29–32, 2010.

LIPPITZ B.E. et al. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. **Lancet Oncol.** v.14, p.218-228, jun, 2013.

LIPSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. **Primary care**, v. 21, n. 1, p. 55-67, 1994.

LIU Z.W. et al. Study on TNF α -238G/A polymorphisnis in patients with cerebral infarction. **Anat Res**, v.31, p.259–262, abri 2009.

LUZ, PR; MENGARELLI, RR; BICALHO, MG. O polimorfismo no gene que codifica a linfotóxina- α poderia influenciar na predisposição à doenças renais? Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade –, **Departamento de Genética – UFPR**. Resumo do 49ºcongresso brasileiro de Genética Curitiba, 2003. Disponível em: <http://web2.sbg.org.br/congress/CongressosAnteriores/Pdf_resumos/49/gh/gh222.pdf> acesso em 09 de novembro de 2016.

MACHIN, R. Concepções de gênero, masculinidade e cuidados em saúde: estudo com profissionais de saúde da atenção básica. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 16, n. 11, p. 4503-4512, 2011.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-9, jul. 1985.

MILLER, A.S., DYKES D.D., POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**,v.16; n. 3,1988.

MIRHAFEZ S. R; et al. Serum high-sensitivity C-reactive protein as a biomarker in patients with metabolic syndrome: evidence-based study with 7284 subjects. **Eur J Clin Nutr.** p. 100-119. jul, 2016.

MIRHAFEZ, S. R, et al. Association of tumor necrosis factor- α promoter G-308A gene polymorphism with increased triglyceride level of subjects with metabolic syndrome. **Gene**, v. 568, n. 1, p. 81-4, aug. 2015.

NED, R.M, et al. Inflammation gene variants and susceptibility to albuminuria in the U.S. population: analysis in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), 1991-1994. **BMC medical genetics**, v. 11, nov. 2010.

NISHIDA, M. et al. Interleukin-10 Associates With Adiponectin Predominantly in Subjects With Metabolic Syndrome. **Circ. J.**, v. 71, p. 1234–1238, 2007.

OLEVATE, I. C., et al. Síndrome metabólica: aspectos clínicos e tratamento. **Rev. Bras.fisiol. Ex.** v.10, n.1, p. 53-60, 2011.

OLIVEIRA, E.; SOUZA, M. L. A. S.; LIMA, M. D. A. Índice HOMA (homeostasis model assessment) na prática clínica: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 4, p. 237-43, 2005.

PARINI, A, et al. Metabolic syndrome in european rural population- data from the brisghella heart study (italy) and enah study (Croatia). **J Hypertens**. v. 34, n. 2, p.87-98, sep, 2016.

PARK, H. K. et al. Association between IL10, IL10RA, and IL10RB SNPs and ischemic stroke with hypertension in Korean population. **Molecular Biology Reports**, Korea, v. 40, n. 2, p.1785-1790, fev. 2013.

PENALVA D.Q.F. Síndrome metabólica: diagnóstico e tratamento. **Revista Medicina**, São Paulo, v.87, n.4, p.245-50, out./dez. 2008.

PENG CY et al. Association of TNF- α gene -308G/A polymorphism with essential hypertension in Han racial origin in Hunan. **Chin J Clin Pharmacol Ther** v. 16, p. 57-60, 2011.

PEREIRA, D. S, et al. TNF- α , IL6, and IL10 polymorphisms and the effect of physical exercise on inflammatory parameters and physical performance in elderly women. **Age**, v. 35, n.6, p, 2455-63, dec, 2013.

PIMENTA, A. M. **Fatores associados à síndrome metabólica em área rural de Minas Gerais**. 2008. 132 f. Tese (Doutorado em Saúde e Enfermagem) - Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

PIMENTEL, I.R.S. et al. Caracterização da demanda em uma Unidade de Saúde da Família. **Rev bras med fam comunidade**, Florianópolis, v.6, n.20, p. 175-81, 2011.

RAJAPPA, M.; SEM, S. K.; SHARMA, A. Role of Pro-/Anti-Inflammatory cytokines and their correlation with established risk factors in South Indians with Coronary Artery Disease. **Angiology**, v. 60, n. 4, p. 419-426, Aug./Sept. 2009.

REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. Banting lecture. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.

REGO-PEREZ, I et al. Polimorfismos genéticos y farmacogenética en la artritis reumatoide. **Reumatol Clin**. v. 5, n.6, p. 268-79, 2009.

RODRIGUES, K. F. et al. Association of a Large Panel of Cytokine Gene Polymorphisms with Complications and Comorbidities in Type 2 Diabetes Patients. **Journal Of Diabetes Research**, 2015.

SÁ, N. N. B.; MOURA, E. C. Fatores associados à carga de doenças da síndrome metabólica entre adultos brasileiros. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 9, p. 1853-1862, Set. 2010.

SBD, Diretrizes. Classificação etiológica do diabetes *mellitus*- Métodos e critérios para o diagnóstico do diabetes mellitus. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2015-2016**, São Paulo, p.18-23, 2016.

SCARPELLI, D. et al. Variants of the interleukin-10 promoter gene are associated with obesity and insulin resistance but not type 2 diabetes in caucasian italian subjects. **Diabetes**. Italian. v.55, n.5, p.1529-33, may 2006.

SHAHARYAR S. et al. Obesity and metabolic phenotypes (metabolically healthy and unhealthy variants) are significantly associated with prevalence of elevated C-reactive protein and hepatic steatosis in a large healthy Brazilian population. **J Obes**. 180-192, mar, 2015.

SILVA, V. S. et al. Prevalência e fatores associados ao excesso de peso em adultos do Brasil: um estudo de base populacional em todo território nacional. **Rer. Bras. Ciênc. Esporte**, Florianópolis, v. 34, n. 3, p. 713-726, jul./set. 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VI Diretrizes da Sociedade Brasileira de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2010.

SOBIT, et al. Risk of obesity and DM2 with tumor necrosis factor- α 308G / A gene polymorphism in the metabolic syndrome and individuals with coronary artery disease (CAD). **Mol Cell Biochem**. v. 360: 1, p. 1-7. 2012.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA, DIABETES E METABOLISMO (SPEDM). Manual sobre Insulino-Resistência. Grupo de Estudo da Insulino-Resistência (GEIR). **Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**. n. 2, p. 39-40 2006.

SOOKOIAN, S. et al. The G-308A promoter variant of the tumor necrosis factor-alpha gene is associated with hypertension in adolescents harboring the metabolic syndrome. **Am J Hypertens**. v.18, p.1271-1275, 2005.

SPERETTA, G. F. F.; LEITE, R. D.; DUARTE, A. C. G. O. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. **Revista HUPE**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 61-69, 2014

SPOSITO AC, et al. IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis Prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology. **Arq Bras Cardiol**. v. 88, Suppl 1:2-19, 2007.

STERN, S. E. et al. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. **Diabetes**, v. 54, p. 333-9, 2005.

TAMARIZ, L.; HARE, J. M. Inflammatory cytokines in heart failure: roles in an etiology and utility as biomarkers. **Eur. Heart J.**, v. 31, p. 768-770, 2010.

TAMBUR, A. R. et al. Cytokine gene polymorphism in patients with graft-versus-host disease. **Transplantation Proceedings**. v. 33, p. 502-503, 2001.

TARABAY, MOHAMMAD.; ELSHAZIL, RAMI.; SETTIN, AHMAD. African vs. Caucasian and Asian difference for the association of interleukin-10 promotor polymorphisms with type 2 diabetes mellitus (a meta-analysis study). **Journal List**, v. 9, n. 10-17, sep. 2016.

TIMAR, R. et al. Metabolic syndrome, adiponectin and proinflammatory status in patients with type 1 diabetes mellitus. **Jour of International Medical Research**. v. 42, n. 51131-1138, 2014.

TUMOVA, E., et al. The impact of rapid weight loss on oxidative stress markers and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals. **J Obes**. 20132013:729515.

TURI B. C., et al. Low levels of physical activity and metabolic syndrome: cross-sectional study in the Brazilian public health system. **Cien Saude Colet**. v. 21, n. 4, p. 1043-50, apr, 2016.

TURNER D.M. et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *European Journal of Immunogenetics*, **Oxford**, v. 24, p. 1-8, 1997.

VOLP, A.C.P. et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.52, n.3, p.537-549, 2008.

YAMAOKA, K.; TANGO, T. Effects of lifestyle modification on metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. **BMC Medicine**, Tokyo. v. 4, n. 8, p.111-121, 2012.

YANG, YH et al. Genetic polymorphisms of the TNF- α -308G/A are associated with metabolic syndrome in asthmatic patients from Hebei province, China. **Int J Clin Exp Pathol**. v.8, n.10, p.13739-13746, 2015.

YOO, C.S. et al. Relationship between iris constitution analysis and TNF-alpha gene polymorphism in hypertensives. **Am J Chin Med**. v. 35, p. 621-629, 2007.



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>