

LUCIANA LANGE BASSANI

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO COM VARIANTES DOS GENES *GHRL*, *PLIN4*,  
*ADIPOQ* E *HSD11 $\beta$ 1* EM ADOLESCENTES OBESOS SUBMETIDOS A  
EXERCÍCIOS FÍSICOS AERÓBIOS E ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL.

CURITIBA

2014

LUCIANA LANGE BASSANI

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO COM VARIANTES DOS GENES *GHRL*, *PLIN4*,  
*ADIPOQ* E *HSD11 $\beta$ 1* EM ADOLESCENTES OBESOS SUBMETIDOS A  
EXERCÍCIOS FÍSICOS AERÓBIOS E ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL.

Dissertação de Mestrado apresentado ao curso de Pós Graduação em Genética da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lupe Furtado-Alle.

CURITIBA

2014



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



## PARECER

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **LUCIANA LANGE BASSANI**, para obtenção do título de Mestre em Genética pela Universidade Federal do Paraná, no Programa de Pós-Graduação em Genética, são de parecer que se confira à candidata o conceito "A".

Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 31 de março de 2014



**Doutora Neiva Leite**  
Dep. Educação Física – Membro Titular



**Doutor Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza**  
Dep. Genética/UFPR – Membro Titular



**Doutora Lupe Furtado Alle**  
Dep. Genética/UFPR – Orientadora e Presidente da Banca

Visto



**Prof<sup>º</sup> Dr. Ricardo Lehtonen R. de Souza**  
Coordenador do PPG - GEN - UFPR  
Matricula 176702

Professor Doutor Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora, Lupe Furtado-Alle, que me ajudou nas horas mais difíceis, sempre mostrando compreensão e humanidade, e que além de mentora mostrou-se amiga.

A professora Lygia, que me incentivou a fazer o mestrado.

Ao professor Ricardo, que esclareceu muitas dúvidas.

Aos meus pais, Karin e Irionson, que me ensinaram que o estudo é o bem mais valioso que alguém pode ter.

A minha avó Lucy, que infelizmente não está mais aqui, mas que sempre cuidou de mim, e com certeza continua cuidando.

Ao Julian, que sempre esteve lá para me acalmar e dar forças.

A amiga Luciane, que passou várias horas trabalhando em conjunto no projeto, e sempre teve paciência para me ajudar.

Aos amigos Gerusa, Fabrício, Daiane, Jéssica, Gabriele, Ana, Gleyse, Caroline, Rodrigo, André, Meire e Nalini, que me ensinaram muito e sempre me ajudaram no laboratório.

A todo o pessoal do Laboratório de Polimorfismos, que sempre foram companheiros.

“A mente que se abre a uma  
nova ideia jamais voltará ao  
seu tamanho original.”

Albert Einstein

## RESUMO

A obesidade é uma doença epidêmica que pode levar a sérias complicações como diabetes, doença cardiovascular, hipertensão e câncer. A adolescência é um período da vida em que ocorrem muitas mudanças corporais e o excesso de peso nessa fase parece estar associado a vários efeitos adversos que eram observados apenas em adultos. A interação de fatores genéticos e ambientais determinam a saúde humana e regulam várias funções metabólicas que levam a deposição de gordura corpórea. Este trabalho teve como objetivo investigar a associação entre obesidade juvenil e variantes dos genes *GHRL*, *PLIN4*, *ADIPOQ* e *HSD11B1*. Adolescentes com excesso de peso (n=117, 10-16 anos) participantes de um projeto de 3 meses de exercícios físicos aeróbios (100 min, 3 vezes por semana, totalizando 36 sessões) e orientação nutricional por meio de palestras. Todos tiveram DNA genotipados para polimorfismos relacionados com obesidade dos genes *GHRL*, *PLIN4*, *ADIPOQ* e *HSD11B1*. As variáveis massa corporal (MC), índice de massa corporal escore-Z (IMC Escore-Z), circunferência abdominal (CA), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), porcentagem de gordura corporal (% GC), massa corporal gorda (MG), massa corporal magra (MM), colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL-C), colesterol LDL (LDL-C), triglicérides (TG), glicose em jejum (GLU 0), glicose após 120 min (GLU 120), insulina em jejum (INS 0), insulina após 120 min (INS 120), Homeostasis Model Assessment (HOMA-IR), Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI), frequência cardíaca em repouso (FC REP), Frequência cardíaca máxima (FC MÁX), consumo de oxigênio de pico (VO<sub>2</sub> PICO), consumo de oxigênio absoluto (VO<sub>2</sub> ABS) foram medidas ou calculadas antes e após a intervenção de exercícios físicos aeróbios e orientação nutricional. O teste t foi utilizado para comparação entre as médias das variáveis e a análise de regressão múltipla foi utilizada para testar a hipótese de que as variáveis são fatores de risco independentes para a obesidade. Após os 3 meses, houve redução significativa (p<0,05) para as variáveis MC, IMC-escore Z, CA, %GC, MG, TG, GLU 120, INS 0, INS 120, HOMA – IR, FC REP e FC MÁX. As variáveis MM, HDL-C, QUICKI, VO<sub>2</sub> pico e VO<sub>2</sub> abs sofreram aumento significativo. Após a intervenção, o alelo T276 atuou como um fator de risco independente na redução de CA ( $\beta = 2,5 \pm 1,26$ , p = 0,04), INS 0 ( $\beta = 30,86 \pm 16,499,2$ , p = 0,0001) e HOMA-IR ( $\beta = 21,07 \pm 18,438,5$ , p = 0,02), mostrando estar associado à obesidade e sensibilidade à insulina. O alelo T do polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1* atuou como fator de risco independente na redução da PAS ( $\beta = 1,86 \pm 0,92$ , p = 0,02) e %GC ( $\beta = 1,79 \pm 0,95$ , p = 0,04), mostrando estar associado à obesidade e controle da pressão arterial. O alelo A do polimorfismo rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1* atuou como fator de risco independente na redução da INS 0 ( $\beta = -21,4 \pm 13,355,6$ , p = 0,002) e HOMA-IR ( $\beta = -21,4 \pm 13,485,1$ , p = 0,01), mostrando estar associado à sensibilidade à insulina. O alelo T do polimorfismo rs696217 do gene *GHRL* atuou como fator de risco independente na redução da PAS ( $\beta = -22 \pm 18,841,4$ , p = 0,003), mostrando estar associado ao controle da pressão arterial.

## ABSTRACT

Obesity is an epidemic disease that can lead to serious complications such as diabetes, cardiovascular disease, hypertension and cancer. Many body changes occur in adolescence, and overweight or obesity at this stage appear to be associated with various adverse effects previously observed only in adults. The interaction of genetic and environmental factors determines human health and regulates various metabolic functions that lead to fat deposition in the body. The aim of this study was to investigate the association between juvenile obesity and variants of GHRL, PLIN4, ADIPOQ and HSD11 $\beta$ 1 genes. Overweight adolescents (n = 117, 10-16 years) participated a 3 month lifestyle intervention program composed of exercise (100 min, 3 times per week, totalizing 36 sessions) and nutritional guidance. All had their DNA genotyped for polymorphisms related to obesity of GHRL, PLIN4, ADIPOQ and HSD11 $\beta$ 1 genes. Body mass index (BMI) for age, waist circumference (WC), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), body fat percentage (%BF), fat mass (FM), lean body mass (LBM), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglycerides (TG), fasting glucose (GLU 0), glucose after 120 min (GLU 120), fasting insulin (INS 0), insulin after 120 min (INS 120), Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance (HOMA-IR), Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI), resting heart rate (RHR), maximal heart rate (MHR), peak oxygen uptake (VO<sub>2</sub> peak) and absolute oxygen uptake (VO<sub>2</sub> abs) were measured or calculated before and after the lifestyle intervention program. T-test was used for comparisons between the variables means and multiple regression analysis was used to test the hypothesis that the variables are independent risk factors for obesity. After 3 months, there were a significant reduction (p <0.05) in weight, BMI Z-score, WC, RHR, %BF, FM, TG, GLU 120, INS 0, INS 120 and HOMA - IR and MHR, LBM, HDL-C, QUICKI, VO<sub>2</sub> peak and VO<sub>2</sub> abs were significantly increased. During lifestyle intervention program the T276 allele acted as an independent factor in the decrease of WC ( $\beta = 2,5 \pm 1,26$ , p = 0,04), INS 0 ( $\beta = 30,86 \pm 16.499,2$ , p = 0,0001) and HOMA-IR ( $\beta = 21,07 \pm 18.438,5$ , p = 0,02), demonstrating that this allele is associated to obesity and insulin sensitivity. T allele of rs12086634 polymorphism acted as an independent risk factor in the decrease of SBP ( $\beta = 1,86 \pm 0,92$ , p = 0,02) and %BF ( $\beta = 1,79 \pm 0,95$ , p = 0,04), demonstrating that this allele is associated to obesity and blood pressure control. A allele of rs846910 polymorphism acted as an independent risk factor in the decrease of INS 0 ( $\beta = -21,4 \pm 13.355,6$ , p = 0,002) and HOMA-IR ( $\beta = -21,4 \pm 13.485,1$ , p = 0,01), demonstrating that this allele is associated to insulin sensitivity. T allele of rs696217 polymorphism acted as an independent risk factor in the decrease of SBP ( $\beta = -22 \pm 18.841,4$ , p = 0,003), demonstrating that this allele is associated to blood pressure control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Estrutura molécula 11 $\beta$ hidroxisteróidesidrogenase.....	14
FIGURA 2 – Localização do gene HSD11B1 humano.....	15
FIGURA 3 – Gene HSD11B1 humano.....	15
FIGURA 4 – Estrutura do gene da adiponectina humana.....	18
FIGURA 5 - Estrutura da grelina humana e de roedores.....	20
FIGURA 6 – Localização do gene grelina humano.....	20
FIGURA 7 – Gene da grelina humana.....	21
FIGURA 8 – Desequilíbrio de ligação entre os genes PLIN1 e 4 (D' N0.9, r2=0.72) e PLIN 5 e 7 (D' N0.9, r2=0.85).....	23
FIGURA 9 – Localização do gene perlipina humano.....	24
FIGURA 10 – Gene da perlipina humana.....	24
GRÁFICO 1 - Gráfico de percentil do IMC para meninos de 5 a 19 anos de idade....	8
GRÁFICO 2 - Gráfico de percentil do IMC para meninas de 5 a 19 anos de idade....	8



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Índice de Massa Corporal.....	7
TABELA 2 - Valores de referência para diagnóstico do estado nutricional utilizando as curvas de IMC para idade.....	7
TABELA 3 – Frequências alélicas e genótípicas do SNP rs12086634 do gene <i>HSD11B1</i> na amostra total.....	47
TABELA 4 - Frequências genótípicas da variante intrônica rs12086634 do gene <i>HSD11B1</i> em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.....	55
TABELA 5 - Frequências alélicas do SNP rs846910 do gene <i>HSD11B1</i> na amostra total.....	55
TABELA 6 - Frequências genótípicas da variante intrônica rs846910 do gene <i>HSD11B1</i> em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.....	55
TABELA 7 - Frequências alélicas e genótípicas do SNP rs696217 (L72M) do gene <i>GHRL</i> na amostra total.....	56
TABELA 8 - Frequências genótípicas do SNP rs696217 L72M do gene <i>GHRL</i> em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.....	56
TABELA 9 - Frequências alélicas do SNP rs8887 do gene <i>PLIN4</i> na amostra total.....	57
TABELA 10 - Frequências genótípicas do SNP rs8887 do gene <i>PLIN4</i> em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.....	57
TABELA 11 - Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs 12086634 do gene <i>HSD11<math>\beta</math>1</i> .....	58
TABELA 12 - Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs846910 do gene <i>HSD11<math>\beta</math>1</i> .....	60
TABELA 13 – Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs696217 do gene <i>GHRL</i> .....	62

TABELA 14 – Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs 8887 do gene <i>PLIN4</i> .....	64
TABELA 15 – Comparação entre as médias dos genótipos usuais e portadores de mutação antes(1) e após 3 meses (3) dos cinco polimorfismos estudados.....	66
TABELA 16 – Frequências alélicas ( $\pm$ EP) acima e abaixo da mediana para o rs 12086634.....	72
TABELA 17 – Frequências ( $\pm$ EP) alélicas acima e abaixo da mediana para o rs846910 do gene <i>HSD11<math>\beta</math>1</i> e valores de p para as comparações entre estas frequências.....	73
TABELA 18 – Frequências alélicas ( $\pm$ EP) acima e abaixo da mediana para o rs696217 do gene <i>GHRL</i> e valores de p para as comparações entre estas frequências.....	74
TABELA 19– Frequências alélicas ( $\pm$ EP )acima e abaixo da mediana para o rs8887 do gene <i>PLIN4</i> e valores de p para as comparações entre estas frequências.....	75
TABELA 20 – Regressão logística das variáveis estudadas.....	76
TABELA 21 - Frequências genotípicas do SNP rs1501299 do gene <i>ADIPOQ</i> em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.....	106
TABELA 22 - Médias antes e depois da intervenção das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs1501299 do gene <i>ADIPOQ</i> .....	107
TABELA 23– Frequências alélicas acima e abaixo da mediana para o rs1501299 do gene <i>ADIPOQ</i> .....	108

## LISTA DE SIGLAS

ADIPOQ - Adiponectina  
AMPc - Adenosina Mono Fosfato Cíclico  
ANOVA - Análise de Variância One-Way  
BIA - Bioimpedância Elétrica  
CA - Circunferência Abdominal  
C/EBP $\alpha$  - Proteína  $\alpha$  de Ligação ao Intensificador CCAAT  
CRH - Hormônio Liberador de Corticotropina  
CT - Colesterol Total  
DP - Desvio Padrão  
DNA - Ácido Desoxirribonucléico  
EVS - Estilo de Vida Saudável  
FC - Frequência Cardíaca  
GC – Gordura corporal  
GHRL - Grelina  
GH - Hormônio do Crescimento  
GHS - Secretagogos do Hormônio do Crescimento  
GMR - Gasto Metabólico em Repouso  
HDL-C - Lipoproteína de Alta Densidade  
HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment  
HPA - Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal  
HSD11B1 - 11 $\beta$  hidroxisteróide desidrogenase tipo 1  
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
IMC - Índice de Massa Corporal  
LDL-C - Lipoproteína de Baixa Densidade  
LSD - Gotículas de Estoque de Lipídeo  
MG – Massa Corporal Gorda  
MM – Massa Corporal Magra  
NADP(H) - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato  
NPY - Neuropeptídeo Y  
OMS - Organização Mundial da Saúde  
OR – Odds Ratio

PAI1 - Inibidor do Ativador do Plasminogênio

PAS – Pressão Arterial Sistólica

PAD – Pressão Arterial Diastólica

PCR-SSCA - Polymerase Chain Reaction - Single Strand Conformational Analysis

PLIN4 - Perilipina 4

POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares

QUICKI – Quantitative Insulin Sensitivity Check Index

SNP - Single Nucleotide Polymorphism

TG - Triglicerídeos

TNF $\alpha$  - Fator de Necrose Tumoral

VLDL - Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

VCO<sub>2</sub> - Volume de Gás Carbônico

VE - Ventilação

VO<sub>2</sub> - Consumo de Oxigênio

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

$\beta$  - beta

$\alpha$  - alfa

® - marca registrada

C – Celsius

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
2.1 GERAL.....	3
2.2 ESPECÍFICOS .....	3
3. JUSTIFICATIVA .....	4
4. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
4.1 HISTÓRICO DA OBESIDADE .....	5
4.2 A OBESIDADE.....	6
4.2.1 Indicadores de obesidade.....	6
4.2.2 Prevalência da obesidade precoce no mundo e no Brasil .....	9
4.3 FATORES DE RISCO PARA A OBESIDADE .....	10
4.4 CONSEQUÊNCIAS DA OBESIDADE.....	11
4.5 OBESIDADE E GENÉTICA .....	13
4.5.1 Genes relacionados à obesidade.....	13
4.5.1.1 11 $\beta$ hidroxisteróides desidrogenase tipo 1 (HSD11B1).....	13
4.5.1.2 Adiponectina (ADIPOQ).....	16
4.5.1.3 Grelina .....	19
4.5.1.4 Perilipina4.....	22
5. CAPÍTULO I .....	25
ASSOCIATION BETWEEN PREMATURE OBESITY AND VARIANT OF ADIPOQ GENE IN A LIFESTYLE INTERVENTION PROGRAM* .....	25
6. CAPÍTULO II .....	43
ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE PRECOCE E VARIANTES DOS GENES HSD11B1, GHRL, PLIN4 E PROGRAMA DE INTERVENÇÃO. ....	43
7. DISCUSSÃO GERAL .....	75
8. CONCLUSÕES .....	80
REFERÊNCIAS.....	82
APÊNDICE I.....	95
MATERIAIS E MÉTODOS .....	95
Caracterização da amostra .....	95
Cuidados éticos .....	96

Avaliações físicas multidisciplinares .....	96
Avaliações clínicas e antropométricas .....	97
Avaliação da aptidão cardiorrespiratória .....	97
Determinação do gasto metabólico em repouso (GMR) .....	97
Exames bioquímicos .....	98
Extração do DNA das amostras .....	98
Genotipagem Taqman .....	98
Análises estatísticas.....	99
APÊNDICE II .....	100
ANEXO I- PROPRIEDADE DAS INFORMAÇÕES.....	103

## **1. INTRODUÇÃO**

A obesidade é caracterizada por acúmulo de gordura ou tecido adiposo (GIBNEY; VORSTER; KOK, 2005), como consequência do desequilíbrio entre a ingestão de alimentos e a energia gasta. O excesso de energia é armazenado na forma de triglicerídeos, que em algumas situações podem se multiplicar, o que depende da fase da vida e do tamanho do adipócito (BRAY, 2004).

A obesidade é uma doença epidêmica que pode levar a sérias complicações como diabetes, doença cardiovascular, hipertensão e câncer. Essas complicações resultam de dois fatores: aumento do tecido adiposo e aumento da secreção de produtos patogênicos provenientes das células de gordura aumentadas. As células adiposas aumentadas podem produzir danos ao organismo, ou por causa do peso/massa de gordura extra, ou pelo aumento da secreção de ácidos graxos livres e vários peptídeos (BRAY, 2004).

O excesso de peso em crianças e adolescentes é ainda mais preocupante. Quanto maior o tempo que uma criança permanece com excesso de gordura, maior a probabilidade de esse estado permanecer durante a adolescência e fase adulta (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

A adolescência é um período da vida em que ocorre muitas mudanças corporais no peso, estatura, composição corporal, transformações fisiológicas nos órgãos internos, desenvolvimento circulatório e respiratório e crescimento ósseo (DUARTE, 2007). O sobrepeso ou obesidade na adolescência parecem estar associado a vários efeitos adversos da saúde como doença cardíaca coronária, aterosclerose, câncer colorretal, gota e artrite (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

O sobrepeso e a obesidade eram conhecidos como problemas de saúde de países desenvolvidos. Mas cada vez mais está crescendo o número de pessoas afetadas por essa doença nos países em desenvolvimento. O motivo do surgimento dessa epidemia foi a mudança global de hábitos de vida. Os principais fatores que levaram a essa mudança são os alimentos com elevada densidade calórica, gordura, sal e açúcar, e o aumento do sedentarismo, devido ao meio de vida moderno (WHO, 2005).

A interação de fatores genéticos e ambientais determina a saúde humana, e regula várias funções metabólicas que levam a deposição de gordura corpórea, fluxo



sanguíneo alterado no sistema cardiovascular, dentre outros. A modulação do metabolismo lipídico e glicídico (e também o seu resultado, como a obesidade) envolve diferentes genes, e a interação destes com fatores ambientais, como a alimentação (RICCARDI *et al.*, 2004) e atividade física (LUSIS *et al.*, 2008).

Os genes candidatos escolhidos para esta pesquisa já foram relacionados à obesidade; gene *HSD11B1* (codificador da 11 $\beta$  hidroxisteróides desidrogenase tipo 1); gene *GHRL* (codificador da grelina); gene *PLIN4* (codificador da perilipina 4) e gene *ADIPOQ* (codificador da adiponectina).

A análise de vários polimorfismos genéticos correlacionada aos dados antropométricos e clínicos - peso, estatura, circunferência abdominal, IMC-escore Z, bioimpedância elétrica (BIA) - bioquímicos - hemograma, dosagens de glicose, insulina, colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-C), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triglicérides (TG) - aptidão cardiorrespiratória e determinação do gasto metabólico em repouso (GMR), podem elucidar questões ainda desconhecidas na obesidade. Esses dados serão ainda correlacionados com o programa de atividade física aplicado nos adolescentes.

A presente dissertação estará apresentada no formato exigido pelo Departamento de Genética da UFPR, e constará de: introdução, objetivos geral e específicos, justificativa, capítulo I (no qual será apresentado o artigo 1), capítulo II (no qual será apresentado o artigo 2), discussão geral, conclusões e referências. Materiais e métodos estão apresentados em apêndice. Desse modo, o presente estudo pretende investigar a associação entre obesidade precoce, incluindo diferenças nas respostas à atividade física, e variantes dos genes *GHRL*, *PLIN4*, *ADIPOQ* e *HSD11B1*.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 GERAL**

Investigar a associação entre obesidade juvenil e variantes dos genes *GHRL*, *PLIN4*, *ADIPOQ* e *HSD11B1*, verificando se existem diferenças na resposta terapêutica com exercícios físicos aeróbios.

### **2.2 ESPECÍFICOS**

1) Calcular frequências alélicas, genotípicas dos polimorfismos estudados (polimorfismo rs1501299 *G276T* do gene *ADIPOQ*, variantes intrônicas rs846910 e rs12086634 do gene *HSD11B1*, polimorfismos rs696217 *L72M* do gene *GHRL* e rs8887 *G11482A* do gene *PLIN4*) e compará-las com dados da literatura.

2) Investigar associação entre o perfil genético (polimorfismo rs1501299 *G276T* do gene *ADIPOQ*, variantes intrônicas rs846910 e rs12086634 do gene *HSD11B1*, polimorfismos rs696217 *L72M* do gene *GHRL* e rs8887 *G11482A* do gene *PLIN4*) e diferenças na resposta à terapêutica com exercícios físicos aeróbios no grupo de adolescentes com excesso de peso.

3) Verificar associação, em uma análise conjunta, entre os dados estudados (genes, *ADIPOQ*, *HSD11B1*, *GHRL* e *PLIN4*), obesidade precoce e resposta aos exercícios físicos aeróbios.

### **3. JUSTIFICATIVA**

A obesidade é fator de risco para várias doenças, como diabetes mellitus 2, hipertensão, doenças cardiovasculares, cálculo na vesícula e dislipidemia. Além de ser um grande problema científico e de saúde pública, ela também envolve a indústria, com o desenvolvimento de fármacos e alimentos modificados, e estratégias governamentais que estimulem hábitos alimentares saudáveis e a prática regular de exercícios físicos (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

Essa doença está presente tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, e sua prevalência aumentou substancialmente nas décadas de 1980 e 1990 (OWEN *et al.*, 2005). Na Grã-Bretanha a obesidade dobrou de 1980 a 1991 e é considerado um grande problema de saúde pública (CARNEIRO *et al.*, 2000).

Pesquisar genes relacionados à obesidade em adolescentes se faz importante, pois a adolescência representa um período crítico para desenvolver o excesso de peso. Nessa fase o indivíduo adquire aproximadamente 25% da sua altura final e 50% da sua massa corporal. O risco de um adolescente obeso continuar assim na fase adulta é cerca de 80% (CAMPOS *et al.*, 2007).

Vários estudos têm demonstrado correlação entre os polimorfismos G276T do gene *ADIPOQ*, L72M do gene *GHRL*, G11482A do gene *PLIN4*, e variantes intrônicas rs846910 e rs12086634 do gene *HSD11B1* e a obesidade (ROBITAILLE *et al.*, 2007; DERAM *et al.*, 2008, MOLERES, *et al.* 2012; GAMBINERI *et al.* 2011). Apesar disso, essas interações não estão claras e outros estudos são necessários para confirmá-las e melhor compreendê-las.

A obesidade é uma doença causada por fatores genéticos e ambientais. A análise de ambos é necessária para futuramente se descobrir um meio de prevenção e tratamento dessa doença.

O presente trabalho pretende correlacionar dados genotípicos com dados antropométricos, bioquímicos, clínicos e intervenção dietética e física, com SNPs em quatro genes já previamente relacionados com a obesidade. A investigação concomitante de vários genes possibilita analisar as interações entre eles, e seu efeito combinado sobre as variáveis acima citadas.

## **4. REVISÃO DE LITERATURA**

### **4.1 HISTÓRICO DA OBESIDADE**

A obesidade é provavelmente o distúrbio metabólico mais antigo pois existem relatos que datam da época das múmias egípcias e esculturas gregas (BLUMENKRANTZ, 1997). Existem registros de indivíduos obesos já na época paleolítica, há mais de 25.000 anos atrás (HALPERN, 1999).

Na pré-história, a comida era escassa e o esforço para conseguir alimentos, a maior exposição ao frio e a constante movimentação para conseguir um lugar para se abrigar, exigiram dos homens pré-históricos grande capacidade para estocar energia e obter proteção térmica. Existiam mecanismos que facilitavam esse estoque de energia, como genes para promover a adipogênese, processos enzimáticos, etc. A produção de gordura era constante, porém ela também era rapidamente metabolizada para prover as grandes necessidades calóricas requeridas todos os dias (HALPERN, 1999).

Há mais de 2000 anos existe informações sobre os efeitos que o excesso de peso causa em relação à morbidade em todas as faixas etárias e mortalidade no adulto e idoso. Hipócrates afirmou que a morte súbita era mais comum em pessoas com excesso de peso do que nas magras. Em 1760, o fisiologista Malcom Flamyng notou que o peso exagerado devia ser considerado uma doença, visto que ele podia obstruir as funções normais no animal e tinha uma tendência a encurtar a vida e levar a doenças perigosas (BRAY, 2004).

Segundo Eaton *et al.* (1998) a composição genética do homem mudou pouco durante os últimos 10.000 anos. Contudo, nesse período o estilo de vida mudou drasticamente, levando a genética a não ser mais compatível com o meio de vida atual.

Atualmente a obesidade é considerada uma epidemia presente em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Após a revolução industrial deu-se início a uma transição nutricional, que se acentuou na metade do século XX. A dieta passou a ser rica em gorduras, açúcares e alimentos refinados devido à entrada dos alimentos industrializados no mercado. Os carboidratos complexos e fibras diminuíram na alimentação chamada ocidental. Essa dieta com alta densidade

calórica, aliada com o aumento do sedentarismo, são um dos principais fatores para o aumento da obesidade em escala mundial (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

## 4.2 A OBESIDADE

A obesidade é definida como o acúmulo excessivo de energia corporal, na forma de gordura ou tecido adiposo. O excesso de gordura é resultante do balanço energético positivo, ou seja, quando a ingestão de alimentos é maior do que o gasto energético (GIBNEY; VORSTER; KOK, 2005).

O tecido adiposo desempenha papel de reserva energética e proteção térmica. Além disso, ele também é considerado uma estrutura endócrina, pois produz a leptina, a adipsina (o grupo em que a adiponectina está contida), o fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), o inibidor do ativador do plasminogênio (PAI1) e o angiotensinogênio (HALPERN, 1999). Assim, esse tecido controla o metabolismo energético secretando moléculas chamadas adipocitosinas, as quais são capazes de sinalizar e regular funções do próprio tecido adiposo e também de outros tecidos e órgãos (NICOLAU, 2008).

### 4.2.1 Indicadores de obesidade

A forma mais aceita para estimar o estado nutricional é o índice de massa corporal (IMC). É calculado dividindo-se o peso (em Kg) pela estatura elevada ao quadrado (em m<sup>2</sup>). O resultado é expresso em Kg/m<sup>2</sup> (GIBNEY, VORSTER; KOK, 2005). A classificação do estado nutricional em adultos está demonstrada na Tabela 1.

IMC	Classificação
< 16	Desnutrição grau 3
16 – 16,99	Desnutrição grau 2
17 – 18,49	Desnutrição grau 1
18,5 – 24,99	Normal
25 – 29,99	Sobrepeso ou Pré-obesidade
30 – 34,99	Obesidade grau 1
35 – 39,99	Obesidade grau 2
≥40	Obesidade grau 3

Tabela 1 - Índice de Massa Corporal.  
Fonte: OMS, 1995,1997.

Em adultos o sobrepeso é definido pelo IMC entre 25 e 29,99, e a obesidade pelo IMC maior que 30 (GIBNEY; VORSTER; KOK, 2005).

Em adolescentes os valores de ponto de corte estão relacionados à idade e sexo, devido ao crescimento e dimensão corporal diferenciados entre indivíduos dessa faixa etária. Essas diferenças se devem principalmente aos aspectos da composição corporal e aos hormônios relacionados à maturação sexual. O critério de IMC mais atual para classificação utilizado em crianças e adolescentes de 5 a 19 anos é o da Organização Mundial da Saúde - OMS 2007, que considera o sexo e a idade (IBGE, 2010). As curvas consideram como ponto de corte para sobrepeso e obesidade os percentis 85 e 97, respectivamente (Tabela 2, Gráfico 1 e 2) (MELO, 2011).

Valor encontrado na criança		Diagnóstico nutricional
< Percentil 0,1	< Escore z -3	Magreza acentuada
≥ Percentil 0,1 e < Percentil 3	≥ Escore z -3 e < Escore -2	Magreza
≥ Percentil 3 e < Percentil 85	≥ Escore z -2 e < Escore +1	Eutrofia
≥ Percentil 85 e < Percentil 97	≥ Escore z +1 e < Escore +2	Sobrepeso
≥ Percentil 97 e ≤ Percentil 99,9	≥ Escore z +2 e ≤ Escore +3	Obesidade
> Percentil 99,9	> Escore z +3	Obesidade grave

Tabela 2 - Valores de referência para diagnóstico do estado nutricional utilizando as curvas de IMC para idade.  
Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2007.

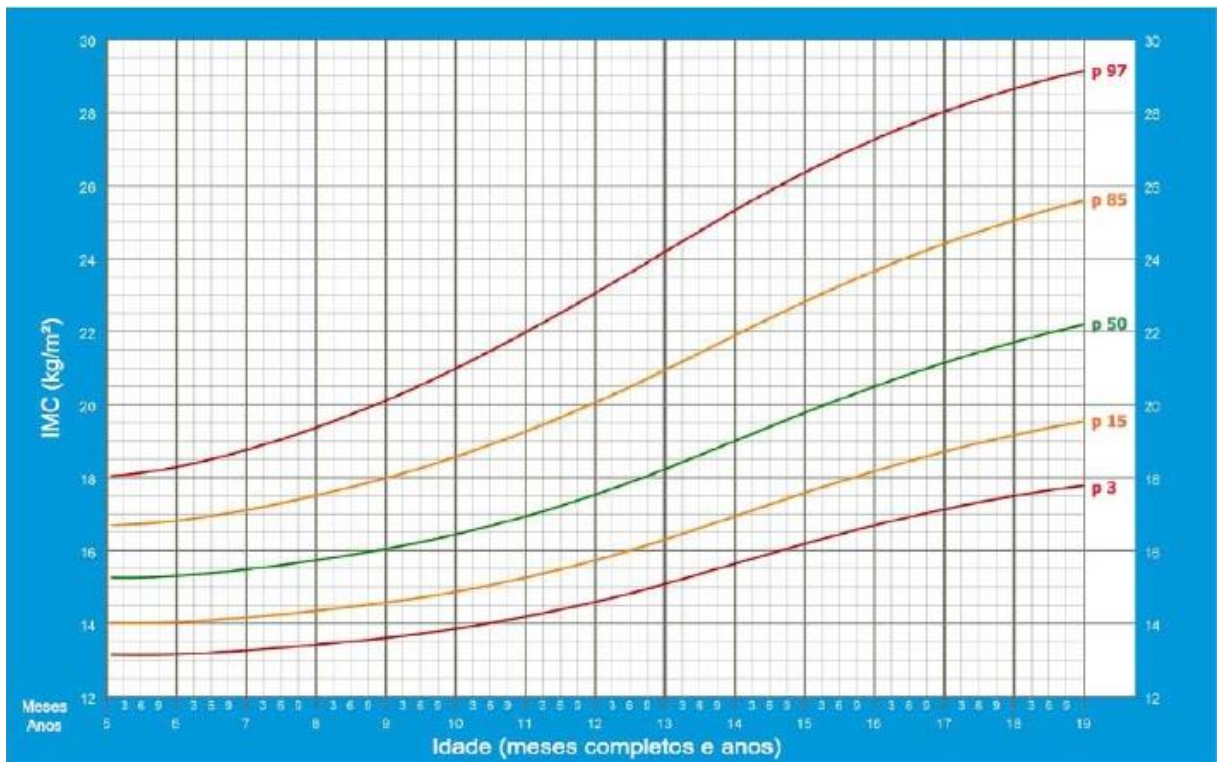


Gráfico 1 - Gráfico de percentil do IMC para meninos de 5 a 19 anos de idade.  
Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2007.

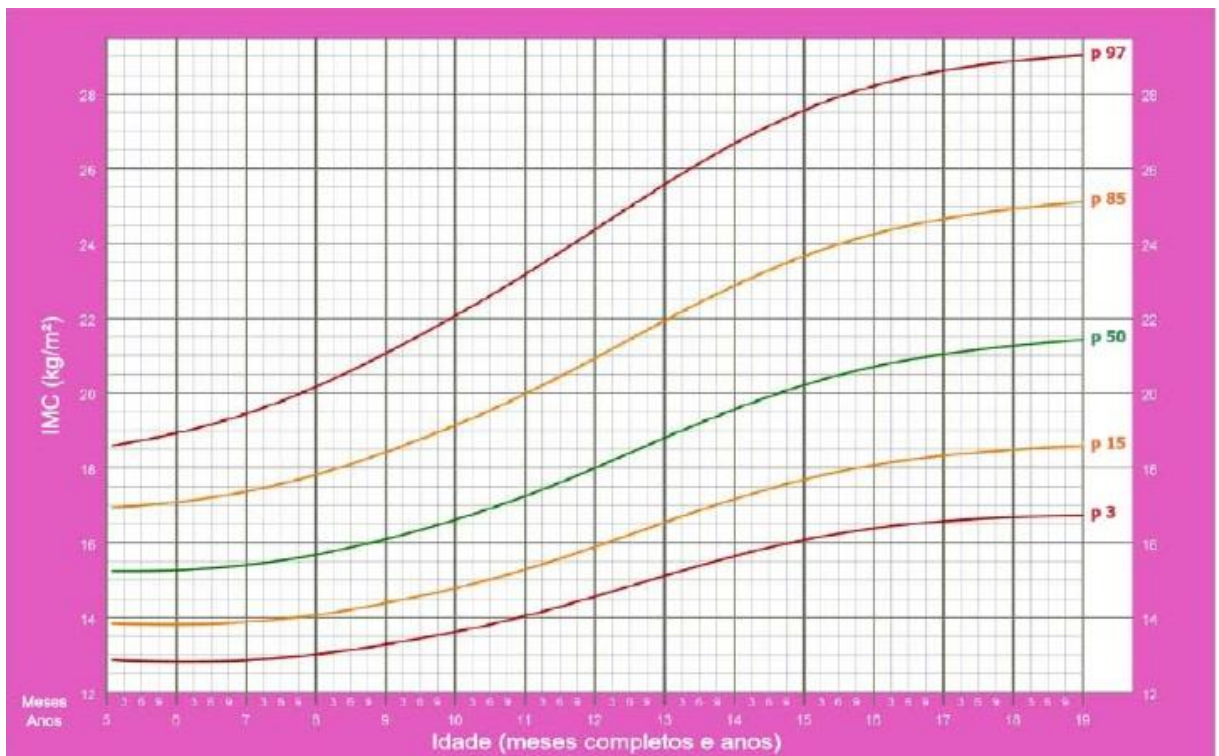


Gráfico 2 - Gráfico de percentil do IMC para meninas de 5 a 19 anos de idade.  
Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2007.

#### 4.2.2 Prevalência da obesidade precoce no mundo e no Brasil

A obesidade infantil cresce aceleradamente no mundo. Em 1990 o sobrepeso e obesidade em crianças era de 4,2%, e aumentou para 6,7% em 2010. Em 2010 a estimativa de crianças com sobrepeso e obesidade era de 43 milhões, sendo que 35 milhões dessas crianças eram de países em desenvolvimento. A tendência para os próximos anos é que a prevalência aumente, sendo a estimativa para 2020 de 9,1% (60 milhões) (ONIS, BLÖSSNER, BORGHI, 2010). Segundo a OMS (WHO, 2009), mais de 22 milhões de crianças no mundo foram classificadas acima do peso.

O sobrepeso e obesidade também se apresentam altos em países em desenvolvimento. A prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças na África foi de 8,5% em 2010, e o esperado é atingir 12,7% em 2020 (ONIS, BLÖSSNER, BORGHI, 2010). No estudo de Daigre *et al.* (2012) com 300 crianças (5-14 anos), foi estimado que a prevalência de excesso de peso era de 15,4% em Guadalupe, 17% em Martinica, 13,2% na Guiana Francesa e 17,2% na Polinésia Francesa.

A prevalência da obesidade e sobrepeso em crianças Iranianas se manteve relativamente constante nos anos 2000. Apesar disso os índices se mostraram altos, (obesidade 5,1% e sobrepeso 10,8%). Foi notado uma diferença entre sexos, sendo que meninas apresentaram menor prevalência de obesidade e maior prevalência de sobrepeso quando comparadas aos meninos (KELISHADI *et al.*, 2014).

Em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, os números são ainda mais alarmantes. Em 2007-2008 foi estimado que mais da metade dos adolescentes apresentavam sobrepeso e 19% eram obesos (OGDEN *et al.*, 2010).

O Brasil tem mostrado alta prevalência de sobrepeso e obesidade precoce. O censo do IBGE (2009) constatou que, em escolares do nono ano do ensino fundamental das capitais brasileiras, 15,4% se encontravam com sobrepeso e 6,8% com obesidade.

Segundo a última pesquisa de orçamentos familiares (POF) realizada em 2008-2009 (IBGE, 2010), tanto no sexo masculino quanto no feminino, cerca de 20% dos adolescentes (10 a 19 anos) estavam com excesso de peso, o que excedeu em seis vezes a frequência de déficit de peso. Desses 20% de excesso de peso, cerca de um quarto eram casos de obesidade.



### 4.3 FATORES DE RISCO PARA A OBESIDADE

A obesidade é uma doença complexa, e seu fenótipo deriva de múltiplas causas. A influência dos genes nessa doença pode ser atenuada ou exacerbada por fatores ambientais e interações psicossociais que atuam sobre mediadores fisiológicos de gasto e consumo energético (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

A alimentação é um dos principais fatores de risco para a obesidade. O excesso de consumo de alimentos energéticos, principalmente lipídeos, favorece o aumento da adiposidade. O número de refeições também influencia, sendo que indivíduos que consomem várias refeições pequenas tendem a ter menor peso do que os que consomem poucas refeições grandes (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

A industrialização e urbanização em várias partes do mundo estão causando a transição nutricional, com o aumento do fornecimento de energia pela dieta e redução da atividade física. Esse estilo de vida pode ser chamado de ocidental contemporâneo, e vem contribuindo para o aumento do sobrepeso e obesidade. Na população infanto-juvenil existem outros fatores agravantes, como o desmame precoce e introdução de alimentos calóricos desde os primeiros anos de vida. Crianças e adolescentes não têm mais tantas opções para atividades ao ar livre (incluindo atividade física) e as formas de lazer são sedentárias, como jogos de computador e televisão. Além disso, muitos indivíduos dessa faixa etária já precisam se alimentar fora de casa, e optam por refeições rápidas, como refrigerantes, salgadinhos, biscoitos e sanduíches. Os pratos típicos brasileiros, como arroz, feijão, carne e verduras, cada vez fazem menos parte do cardápio (TARDIDO, 2006).

Reilley *et al.* (2005) também associaram o sedentarismo com a obesidade em crianças, pois o *oddsratio* para obesidade aumentou linearmente com o número de horas/dia que as crianças assistiam televisão. De modo geral, a medida que a sociedade se torna mais moderna e desenvolvida, a prática de atividade física diminui, e com ela o gasto diário de energia (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

A obesidade na infância e adolescência é fator de risco para a continuidade da obesidade na fase adulta. Os indivíduos nessa faixa etária já apresentam diversas complicações encontradas em adultos obesos, como resistência à insulina, níveis séricos elevados de VLDL, LDL, triglicerídeos, apolipoproteína B e diminuídos de HDL colesterol e apolipoproteína A1 (CARNEIRO *et al.*, 2000).

No estudo prospectivo de Reilley *et al.* (2005), foi encontrada uma associação significativa entre o hábito das mães de fumar cigarros entre a 28ª e 32ª semana de gestação com obesidade em crianças de 7 anos.

#### 4.4 CONSEQUÊNCIAS DA OBESIDADE

A obesidade é fator de risco para várias comorbidades, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, doenças cardiovasculares e dislipidemia (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

A diabetes mellitus tipo 2 resulta da interação entre a predisposição genética e fatores comportamentais e ambientais. Existe forte evidência de que fatores como a obesidade e sedentarismo são os principais determinantes não genéticos dessa doença (TUOMILEHTO *et al.*, 2001). Além desses, fatores como cigarro, dieta com baixo consumo de fibras e alto índice glicêmico também estão correlacionados com a sua determinação (HU *et al.*, 2001).

Essa doença é composta de um grupo heterogêneo de síndromes, e caracterizada pela elevação da glicemia em jejum. O tipo 2 é resultante da resistência à insulina combinada com incapacidade das células  $\beta$  pancreáticas produzirem quantidade adequada de insulina (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006).

A terapia para a diabetes mellitus tipo 2 inclui duas mudanças principais: redução da hiperglicemia e da gordura corporal. A hiperglicemia crônica está relacionada com danos a vários órgãos, como rins, olhos, nervos, coração e vasos sanguíneos. A obesidade, principalmente a abdominal, está associada à resistência à insulina, hiperinsulinemia, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão. Para diminuir esses dois fatores as medidas incluem dieta adequada, prática de exercícios regulares e medicamentos (BOULÉ *et al.*, 2001).

A pressão arterial é resultante de dois fatores principais, o débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica (RVP). O DC depende do volume sistólico e da frequência cardíaca. Já o RVP depende do estado do tônus das pequenas artérias e arteríolas (BOGLIOLO, 2011). Quanto mais alta a pressão arterial, maior o risco de danos. Não existe um limite exato no qual a pressão arterial seja prejudicial. Mas em geral, uma pressão diastólica acima de 90 mmHg e uma pressão sistólica acima de 140 mmHg são consideradas hipertensão (KUMAR *et al.*, 2008).

A hipertensão arterial (HA) é um dos principais fatores de riscos para o desenvolvimento da aterosclerose. Além disso, pode contribuir para o desenvolvimento de acidentes vasculares cerebrais, hipertrofia e insuficiência cardíaca, e insuficiência renal. A pressão alta leva um excesso de fluxo sanguíneo aos tecidos e pode causar danos nos vasos sanguíneos e órgãos (KUMAR *et al.*, 2008).

A doença cardíaca é a principal causa de morbidade e mortalidade em países industrializados. Nos Estados Unidos ela é responsável por 40 % de todas as mortes pós-natais, o que totaliza aproximadamente 70.000 mortes/ano (quase o dobro do número de mortes causadas por todas as formas de câncer) (KUMAR *et al.*, 2008). No Brasil, as doenças cardiovasculares ocupam o primeiro lugar entre as causas de morte em adultos. Os tipos mais significativos são as doenças cerebrovasculares (DCBV) e doenças isquêmicas do coração (DIC), as quais aparecem precocemente entre adultos entre 35 e 64 anos, e tornam-nas um problema grave de saúde pública (FERREIRA; FERREIRA, 2012).

A dislipidemia é uma doença caracterizada por alterações na concentração de uma ou mais lípidos/lipoproteínas presentes na corrente sanguínea (colesterol, triglicerídeos, lipoproteínas de alta [HDL] e baixa densidade [LDL]). Alterações desse tipo no perfil lipídico são fatores importantes no desenvolvimento da aterosclerose (FERNANDES *et al.*, 2011).

A obesidade está fortemente associada com a etiologia da dislipidemia, pois as duas apresentam os mesmos fatores de risco (STADLER *et al.*, 2011). Quando o LDL-colesterol apresenta uma concentração elevada no sangue, suas moléculas começam a penetrar no espaço subendotelial. Lá elas sofrem oxidação pelas espécies reativas de oxigênio. O LDL oxidado causa danos às estruturas próximas, o que sinaliza a vinda de monócitos para eliminá-lo. O resultado da absorção do LDL oxidado pelos monócitos é a formação de células espumosas, as quais liberam substâncias tóxicas que causam lesão no endotélio celular e hipertrofia e hiperplasia da musculatura lisa vascular. Todo esse processo desencadeia a ativação e agregação de plaquetas, pela diminuição da produção e disponibilidade do óxido nítrico, o que reduz a luz do vaso e gera isquemia de tecidos e órgãos. A medida que o processo inflamatório progride, a aterosclerose se instala e atinge estágios mais avançados (FERNANDES *et al.*, 2011).

## 4.5 OBESIDADE E GENÉTICA

O aumento da obesidade tem sido atribuído em grande parte pelo estilo de vida atual, mas os fatores genéticos desempenham um papel importante tanto na predisposição de ganhar peso como na dificuldade de perda do excesso desse peso (DERAM *et al.*, 2008).

### 4.5.1 Genes relacionados à obesidade

#### 4.5.1.11 $\beta$ hidroxisteróides desidrogenase tipo 1 (HSD11B1)

A enzima 11 $\beta$  hidroxisteróides desidrogenase (11 $\beta$ -HSD1) foi descoberta há 60 anos por Amelung e colegas. O papel dessa enzima é catalisar a interconversão entre 11 hidroxigluco corticoide (cortisol e corticosterona) e formas 11 ceto (cortisona e 11 dehidrocorticosterona). A 11 $\beta$ -HSD1 é uma enzima dependente de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP(H)) e amplamente distribuída nos tecidos (SECKL *et al.*, 2004).

A 11 $\beta$ -HSD1 controla em parte a concentração de cortisol nos tecidos, pois ela converte a cortisona inativa em cortisol ativo (Figura 1). A secreção de cortisol é controlada pelo eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (ANDREWS *et al.*, 2002). Esse eixo mantém a concentração dos glucocorticóides circulantes dentro de limites fixos. A secreção do cortisol aumenta durante o dia e em situações de estresse, e rapidamente pode ser atenuada pelo mecanismo de *feedback* negativo (SECKL *et al.*, 2004).

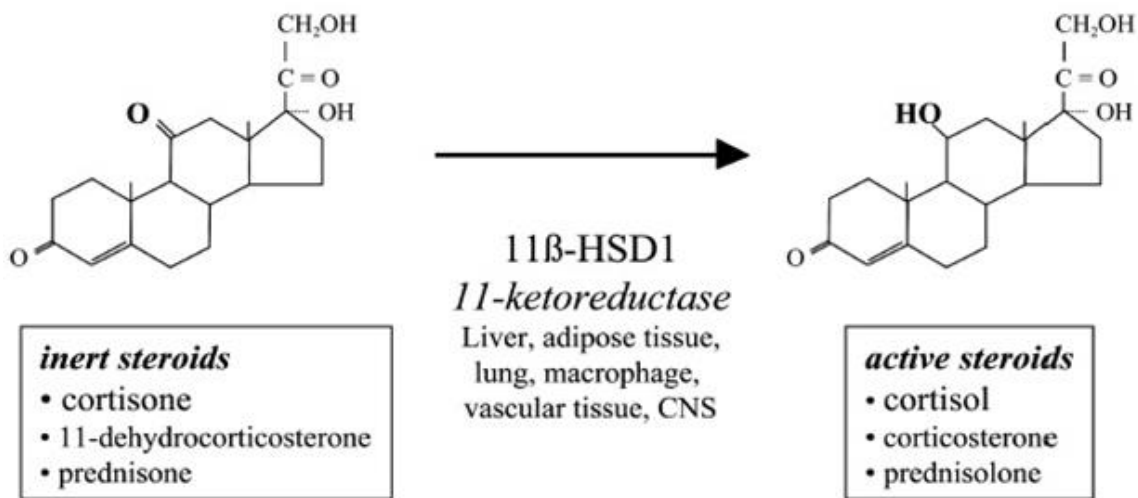


Figura 1– Conversão de cortisol inativo em ativo pela enzima *11 $\beta$ -HSD1*.  
Fonte: Secklet *et al.*, 2004, modificado.

Várias evidências têm demonstrado que a secreção elevada de cortisol, a alteração do seu metabolismo ou o aumento da sensibilidade dos tecidos a esse hormônio, podem levar à resistência a insulina, hipertensão e obesidade (ANDREWS *et al.*, 2002).

O cortisol é um hormônio glicocorticoide, que estimula a gliconeogênese pelo fígado, reduz os depósitos de proteínas em quase todas as células corporais (exceto o fígado), aumenta a concentração plasmática de proteínas e mobiliza os ácidos graxos do tecido adiposo. A mobilização de ácidos graxos eleva a concentração dos mesmos no plasma, aumentando sua utilização para gerar energia (GUYTON; HALL, 2006).

Apesar de o cortisol provocar um grau moderado de mobilização de ácidos graxos, o seu excesso leva a um tipo específico de obesidade, com deposição de gordura principalmente na face, tórax e abdome. As ações do cortisol no metabolismo lipídico são complexas. Ele aumenta o apetite e a ingestão calórica, induzindo a síntese de neuropeptídeo Y (NPY) e receptores de NPY no hipotálamo, e suprimindo liberação de hormônio liberador de corticotropina (CRH) (GUYTON, HALL; 2006; BERNE *et al.*, 2004).

A HSD11B1 protege diretamente e indiretamente os receptores mineralocorticóides. De forma direta ela limita a quantidade de glucocorticóides

disponíveis no local e, de forma indireta, bloqueia os receptores já ligados, inativando-os (BAILEY *et al.*, 2011).

O gene da enzima HSD11B1 se localiza no braço longo do cromossomo 1 humano, como mostrado em vermelho na Figura 2 (ENSEMBL, 2012).

Chromosome 1: 209,859,510-209,908,295

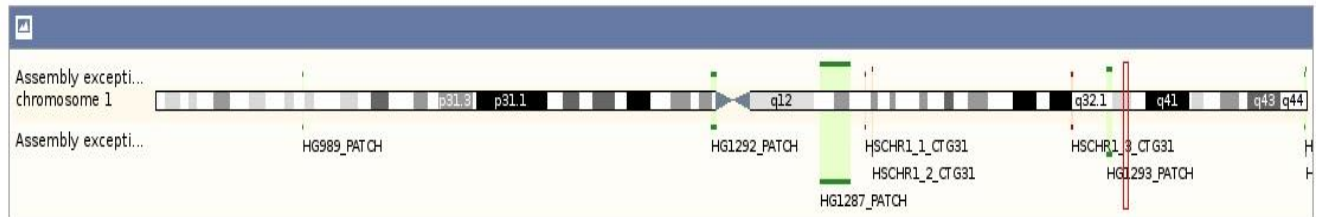


Figura 2 – Localização do gene HSD11B1 humano.  
Fonte: (ENSEMBL, 2012).

O gene é composto por 4 éxons e 3 íntrons, de acordo com a Figura 3 (ENSEMBL, 2012).

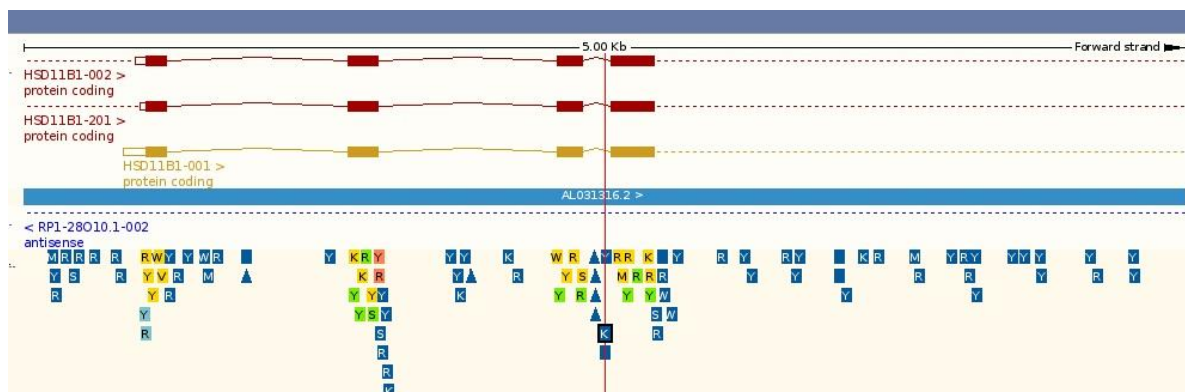


Figura 3 – Gene HSD11B1 humano.  
Fonte: (ENSEMBL, 2012).

Dois promotores são responsáveis pela transcrição do gene HSD11B1. O promotor P2 predomina no metabolismo de tecidos ativos, e é transregulado pelo fator de transcrição C/EBP $\alpha$  (proteína  $\alpha$  de ligação ao intensificador CCAAT). O promotor P1 se localiza no éxon 1A (BRULEY *et al.*, 2006).

Polimorfismos no promotor P2 (rs846910, G por A) e no intensificador intrônico (rs12086634, T por G) foram associados a diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão em três populações diferentes (FRANKS *et al.*, 2004; GAMBINERI *et al.*, 2011; NAIR *et al.*, 2004; MORALES *et al.*, 2008). Indivíduos com o alelo G do

polimorfismo rs12086634 foram associados com baixa atividade transcricional de *HSD11B1 in vitro* (DRAPER *et al.*, 2003).

Em pacientes com síndrome do ovário policístico esse polimorfismo pode ter papel protetor contra a obesidade (GAMBINERI *et al.*, 2006). Segundo estudo de Gambineri *et al.* (2011), num grupo de 40 mulheres com ovário policístico foi encontrado que indivíduos de genótipos rs846910 A e rs12086634 T estão associados com a síndrome metabólica. Além disso, encontraram que esses indivíduos estão associados com o aumento dos níveis de transcrição do *HSD11B1* no tecido adiposo e aumento da regeneração do cortisol a partir da cortisona em todo o corpo.

Dois outros polimorfismos foram descritos no gene *HSD11B1*: uma inserção de A no íntron 3 (InsA83557) e microssatélites dinucleotídicos (CA15 e CA19) localizados no íntron 4. Essas repetições tem esse nome, pois apresentam 15 e 19 repetições de CA em sua sequência (MORALES *et al.*, 2008). Tais polimorfismos são relevantes, pois parecem poder alterar a expressão gênica de *HSD11B1*. Portanto, eles podem apresentar um papel importante em enfermidades complexas, como a obesidade central e a síndrome metabólica (MASUZAKI *et al.*, 2003; MASUZAKI; FLIER, 2003).

#### 4.5.1.2 Adiponectina (ADIPOQ)

A adiponectina foi identificada pela primeira vez em 1995 por Scherer *et al.* (1995), que clonaram o cDNA da adiponectina em adipócitos murinos 3T3-L1 e chamaram a proteína de adipocyte complement-related protein of 30kD (Acrp30). É uma proteína secretória, sendo composta por 244 aminoácidos e tendo massa molecular de aproximadamente 30kDa (NICOLAU, 2008).

A adiponectina é a adipocina mais abundante secretada (compõem 0,01% das proteínas séricas totais) e é importante para a síntese da insulina (FERGUSON *et al.*, 2010; NICOLAU, 2008), aumento da sensibilidade à insulina, aumento da oxidação de ácidos graxos e redução da secreção de glicose pelo fígado. Nos músculos estimula a glicólise e acelera a oxidação de ácidos graxos. Ela também é um fator antiaterogênico, inibindo a adesão e ativação dos macrófagos ao endotélio vascular (BOGLIOLO, 2011).

É um hormônio derivado do tecido adiposo, e interações entre fatores genéticos e ambientais que levam à obesidade podem diminuir seus níveis no plasma. Isso contribui para o desenvolvimento de resistência à insulina e síndrome metabólica (NTALLA *et al.*, 2009). Ela circula no plasma em forma de trímeros de baixo peso molecular até dodecâmeros de alto peso molecular. Existem evidências que a adiponectina de alto peso molecular seja a mais ativa e principal responsável pelos efeitos no corpo (BOGLIOLO, 2011).

Em indivíduos obesos ou com diabetes tipo 2, a concentração da adiponectina circulante se encontra reduzida (FERGUSON *et al.*, 2010). Normalmente, com o aumento da expansão do tecido adiposo na obesidade, as substâncias produzidas por ele também aumentam. Contudo, no caso da adiponectina, ela diminui. O TNF $\alpha$  pode estar conectado com essa situação, pois quando o tecido adiposo aumenta, ele sinaliza a vinda de macrófagos, que liberam fatores inflamatórios (como o TNF $\alpha$ ), causando uma inflamação no tecido adiposo. Estudos tem demonstrado que o TNF $\alpha$  inibe a transcrição e secreção de adiponectina, consequentemente sendo responsável pela resistência à insulina e hipoadiponectinemia (NICOLAU, 2008).

Esse hormônio se liga preferencialmente aos receptores AdipoR1, encontrado principalmente em músculo esquelético, e AdipoR2, existente no fígado (BOGLIOLO, 2011). No estudo de Ferguson *et al.* (2010) foi encontrado uma associação de um SNP do receptor AdipoR1 (rs10920533) com a circunferência da cintura. Além disso, foi encontrada associação entre o SNP rs266729 da ADIPOQ e ácidos graxos saturados no plasma, demonstrando que esse SNP pode ser sensível a fatores dietéticos. Os dois SNPs mostraram relação com a resistência à insulina, e uma dieta controlada em ácidos graxos saturados pode ter um papel importante para melhorar a sensibilidade à insulina.

O estudo de Takahashi, *et al.* (2000) mostrou que o gene da adiponectina humano tem um tamanho de 17kb, e é formado por três exons e dois introns. Ele se localiza no cromossomo 3q27 (Figura 2) e sua estrutura se assemelha bastante com o gene do colágeno X. As extremidades dos exons e introns estavam de acordo com a regra de AG=AT. O SNP rs1501299 (uma substituição de G por T), que se localiza no intron2 do locus do ADIPOQ, é um dos mais estudados (VANKOVA *et al.*, 2011).



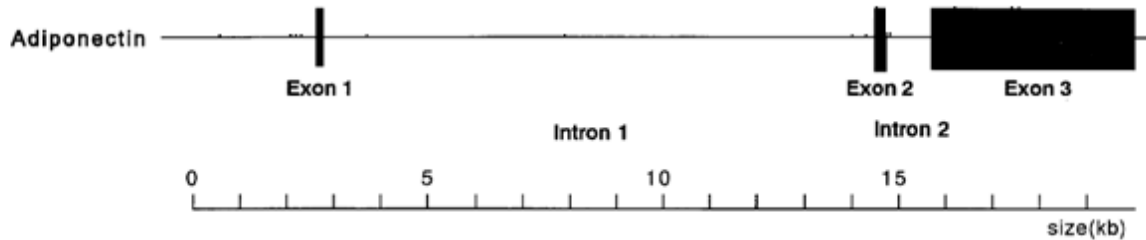


Figura 4 – Estrutura do gene da adiponectina humana.  
 Fonte: Takahashi, *et al.*, 2000.

Ntalla *et al.*(2009) encontraram que crianças em idade escolar na Grécia, (homozigotas GG para o polimorfismo do gene *ADIPOQ* rs15012999) que foram submetidas à dieta com baixa ingestão de fibras apresentaram níveis de adiponectina aumentados e, portanto, esse genótipo poderia estar associado com proteção para a obesidade e resistência à insulina. No estudo de Yamaguchi *et al.* (2010) foi encontrada uma associação significativa entre indivíduos que apresentaram o SNP *ADIPOQ* 45 T>G (rs2241766) e triglicédeos. Os níveis de triglicédeos e colesterol total em indivíduos do genótipo GG estavam significativamente mais altos do que os de genótipo TT. Já indivíduos que apresentavam o SNP 276 G>T (rs1501299) poderiam estar associados com IMC e triglicédeos, pois nos indivíduos de genótipo GG o IMC foi significativamente menor do que nos de genótipo GT. Em contrapartida, os triglicédeos dos indivíduos de genótipo GG estavam mais elevados do que os de genótipo GT.

Num estudo com crianças de 5 e 10 anos, Stefan *et al.* (2002) relatam associação significativa entre níveis de adiponectina plasmática, obesidade e hiperinsulinemia. Quanto maior a obesidade nas crianças, menores eram os níveis de adiponectina no plasma. Yang *et al.* (2001) constataram que, em 22 pacientes obesos que fizeram cirurgia bariátrica, ocorreu um aumento de 46% no níveis de adiponectina (em relação ao nível pré-cirúrgico) acompanhado por uma redução de 21% no IMC.

#### 4.5.1.3 Grelina

A grelina é um peptídeo codificado pelo gene *GHRL* (DANTAS *et al.*, 2011). O principal papel conhecido desse hormônio é o estímulo do apetite. Mas ele também desempenha papel na produção do GH e pressão sanguínea baixa, demonstra efeitos anti-apoptóticos em vários tecidos periféricos e efeitos anti-inflamatórios. Linfócitos ativados produzem grelina em resposta ao estímulo dos antígenos e em doenças com quadro inflamatório e caquético, a grelina circulante se encontra aumentada. Doenças como obesidade, hipertensão, diabetes, remoção ou atrofia gástrica e síndrome metabólica estão associadas com grelina diminuída (DEHLIN *et al.*, 2008).

O receptor dos secretagogos do hormônio do crescimento (GHs) é ativado por grelinaacilada, tendo um efeito positivo sobre o hormônio de crescimento GH (DANTAS *et al.*, 2011). Os níveis de grelina são modulados por mudanças no estado nutricional do indivíduo, como desnutrição ou dietas com alta quantidade de lipídeos (WORTLEY *etal.*, 2005).

A grelina é um neuro e gastropeptídeo altamente conservado entre as espécies, formada por 28 aminoácidos, e esterificada com ácido octanóico na Ser 3 (INUI *et al.*, 2004). Essa modificação é essencial para sua atividade. A estrutura da grelina pode ser observada na Figura 5. O seu nome é baseado numa palavra de origem proto-indoeuropéia "ghre" que significa crescimento, justamente pelo fato de estimular o GH (KOJIMA; KANGAWA, 2005).

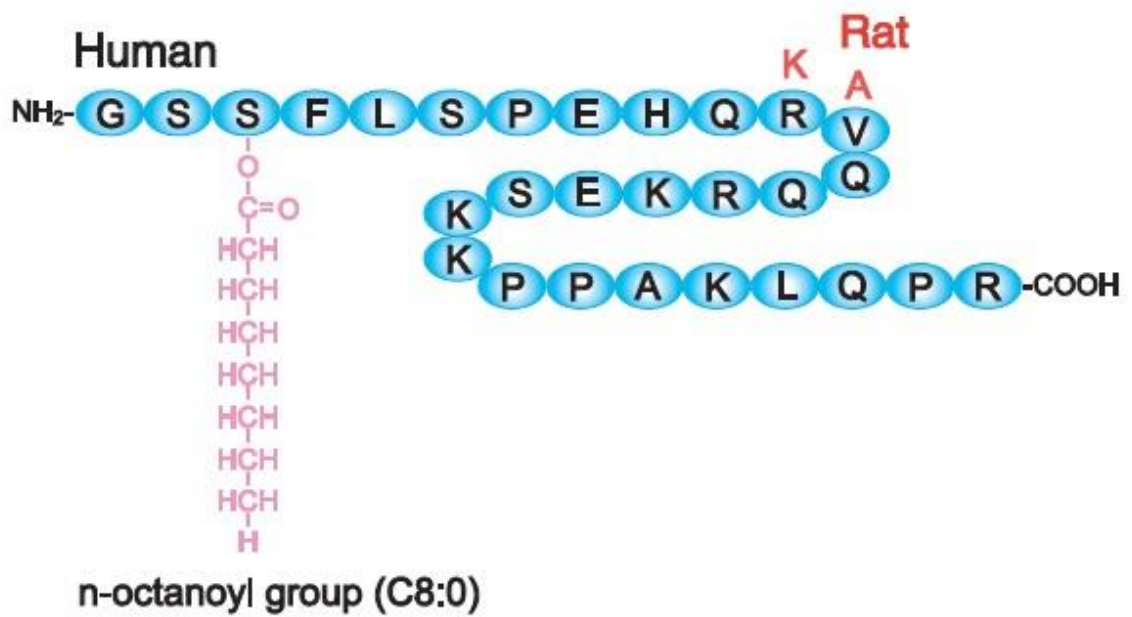


Figura 5 - Estrutura da grelina humana e de roedores.  
Fonte: KOJIMA, KANGAWA, 2005.

O gene da grelina humana se localiza no cromossomo 3(3p25-p26) (Figura 6) (KOJIMA; KANGAWA, 2005). Em humanos foi constatado que sua injeção intravenosa aumenta o apetite e o consumo de calorias, e as células que a sintetizam estão mais presentes nas glândulas oxínticas da mucosa gástrica, a qual é a maior fonte da grelina circulante (HINEY *et al.*, 2002). Apesar do estômago ser o tecido que mais produz grelina, o intestino também ajuda na sua síntese (GUYTON; HALL, 2010).

Chromosome 3: 10,327,359-10,334,631

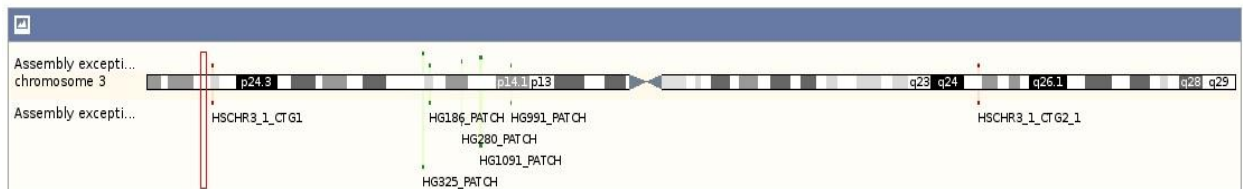


Figura 6 – Localização do gene da grelina humano.  
Fonte: (ENSEMBL, 2012).

Esse hormônio tem efeito antagônico ao da leptina, e regula a síntese e secreção de vários neuropeptídeos no hipotálamo, um dos responsáveis pelo

controle da fome (INUI *et al.*, 2004). O nível sérico desse hormônio aumenta durante períodos de jejum, atingindo o seu pico logo antes de uma refeição e caindo rapidamente após a refeição. Isso sugere que a grelina possa desempenhar um papel no estímulo da alimentação. Além disso, em estudos experimentais em animais, a administração de grelina aumentou a ingestão de comida, o que sugere que ela seja um hormônio orexígeno (GUYTON; HALL, 2010). No estudo de Wortley *et al.* (2005), a grelina estimulou a utilização de carboidratos e também aumentou a adiposidade em ratos, parecendo ser uma peça importante no balanço energético.

O gene da grelina é composto por 3 éxons e 2 introns, como mostrado na Figura 7 (ENSEMBL, 2012).

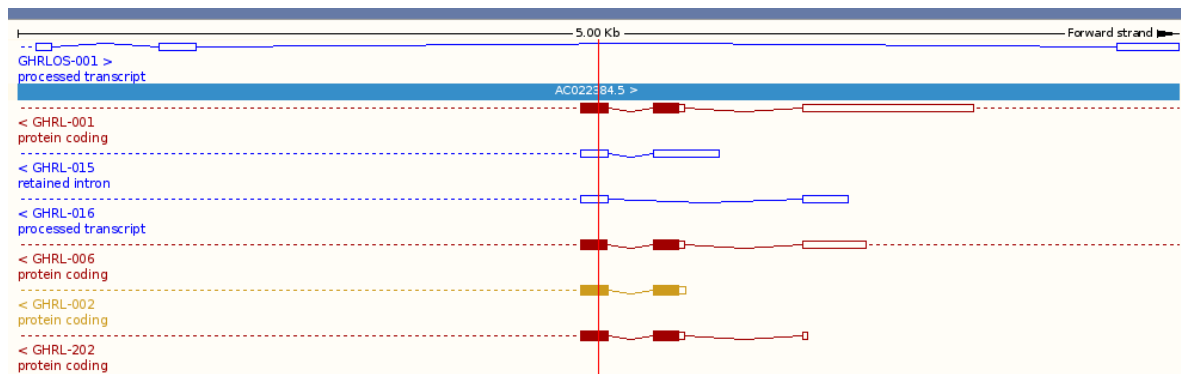


Figura 7 – Gene da grelina humana.

Fonte: (ENSEMBL, 2012).

O polimorfismo 152 G>A no gene da grelina causa uma alteração no aminoácido Arg51Gln, e já foi associado com a obesidade (GIL-CAMPOS *et al.*, 2006). Resultados contraditórios foram publicados (POYKKO *et al.*, 2003), e por isso ainda não está bem definida a associação do alelo Gln51 com a obesidade. RAVUSSIN *et al.* (2001) fizeram um estudo com 12 pares de gêmeos monozigóticos, no qual 7 deles ingeriram um excedente de 1000Kcal por dia, e os outros 7 não, e descobriram uma associação negativa entre a concentração de grelina no plasma e obesidade. Apesar disso, tal alelo está associado a um maior risco de desenvolvimento de diabetes do tipo 2 e hipertensão em finlandeses (POYKKO *et al.*, 2003).

O polimorfismo rs696217 do gene grelina causa uma mudança do aminoácido leucina para metionina (Leu72Met) (UKKOLA *et al.*, 2002). Esse

polimorfismo se localiza na região não codificante do gene, e parece estar associada a uma expressão diferenciada (UKKOLA *et al*, 2011). O alelo 72Met tem sido associado com a obesidade (KORBONITS *et al*, 2002) e com a síndrome metabólica (XU *et al*, 2008). No entanto, a associação dessa variante com a obesidade não tem sido replicada em todos os estudos (MAGER *et al*, 2006).

#### 4.5.1.4 Perilipina4

As perilipinas (PLIN) fazem parte da família PAT de proteínas que revestem a superfície das gotículas lipídicas intracelulares de armazenamento, principalmente os adipócitos e células esteroidogênicas. Essas proteínas restringem o acesso do hormônio-sensível lipase à gotícula de gordura. Também são o principal substrato da proteína quinase dependente de AMP cíclico (AMPc) em adipócitos. Estímulos hormonais ou de citocinas específicos (como catecolaminas e fator de necrose tumoral) ativam a lipólise pela fosforilação das perilipinas, permitindo que a lipase tenha acesso às gotículas de gordura e inicie a sua ação lipolítica (CASTRO-CHAVEZ *et al.*, 2003; CUSANO *et al.*, 2012).

As perilipinas permitem que as gotículas de gordura mantenham uma comunicação dinâmica com o retículo endoplasmático e a membrana plasmática. Além disso, elas desempenham um importante papel na regulação da formação das gotículas de gordura, sua morfologia e lipólise (HALL *et al.*, 2010).

As gotículas de gordura são estruturas metabolicamente ativas e desempenham um papel importante no transporte e armazenamento de lipídeos e na sinalização de cascatas. Apesar do tecido adiposo ser o principal local de armazenamento de gordura, a maioria dos tecidos têm ao menos alguma capacidade de armazenar triglicerídeos em pequenas gotículas de gordura, as quais são utilizadas como fonte imediata de energia (HALL *et al.*, 2010).

Apesar dos primeiros estudos com perilipina terem focado seu efeito no tecido adiposo, os estudos mais recentes tem demonstrado que essas proteínas desempenham um papel na regulação do metabolismo lipídico do fígado, principalmente sobre o acúmulo de gordura nesse órgão, como acontece na esteatose hepática não alcoólica. (HALL *et al.*, 2010).

O gene da perilipina1 (PLIN) codifica a proteína perilipina, a qual foi identificada no final da década de 1980, por Londos *et al.* (LONDOS *et al*, 2005). O

nome foi dado por causa da sua localização física ao redor das gotículas de gordura. O gene da perilipina4 (PLIN 4), conhecida cientificamente como S3-12, tem sequencia similar a PLIN 1. Estudos sugeriram que ela está relacionada ao armazenamento de gordura (CUSANO *et al.*, 2012). O estudo de Soene *et al.* (2009) observou existir desequilíbrio de ligação entre os genes PLIN 1 e PLIN 4 e entre os genes PLIN 5 e 7 (Figura 8, não está em escala).

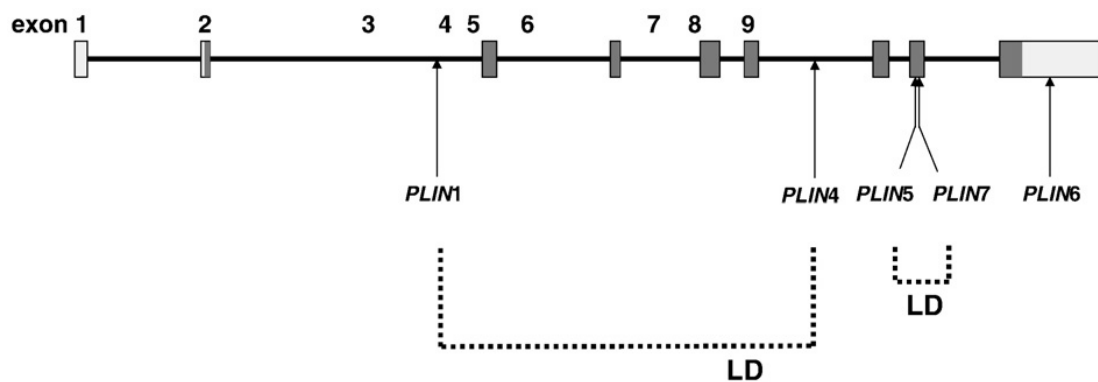


Figura 8 – Desequilíbrio de ligação entre os genes PLIN1 e 4 ( $D' N0.9, r2=0.72$ ) e PLIN 5 e 7 ( $D' N0.9, r2=0.85$ ).

A PLIN 4 é expressa principalmente nos adipócitos. Quando ela é estimulada pela insulina e oleato, realoca os lipídeos da gordura espalhada no citoplasma de células de adipócitos para formar gotículas. Após desempenhar esse papel, ela volta para a periferia da célula. Segundo Marinescu *et al.* (2005), isso sugere que a PLIN 4 facilita a absorção de ácidos graxos livres do sangue para o interior das gotículas de estoque de lipídeo (LSD) em resposta ao estado nutricional da célula.

Em humanos, o gene da perilipina se localiza em 19p13-3 (Figura 8) (MEIRHAEGUE *et al.*, 2006), e é composto por 5 exons e 4 introns (Figura 9) (ENSEMBL, 2012). A região promotora dos genes PLIN 1 E PLIN 4 possui um sítio funcional e conservado para o receptor que ativa a proliferação de peroxissomos, os quais constituem uma família de fatores transcricionais que modulam vários pontos do metabolismo lipídico (SCHOONJANS *et al.*, 1996).

No estudo de Richardson *et al.* (2011) foi demonstrado que a PLIN 4 está relacionada com a obesidade. Combinando métodos epidemiológicos e *in vitro*, esse estudo revelou mecanismos envolvendo microRNAs.

## Chromosome 19: 4,502,204-4,517,716

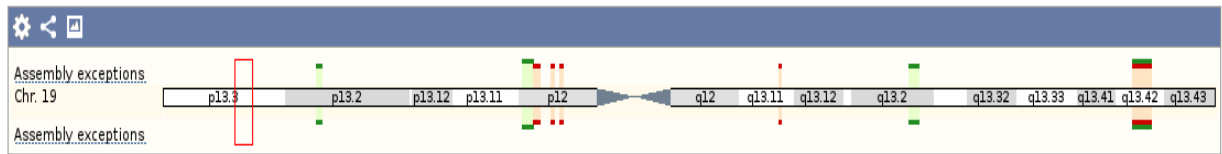


Figura 9 – Localização do gene perlipina4 humano.  
Fonte: (ENSEMBL, 2012).

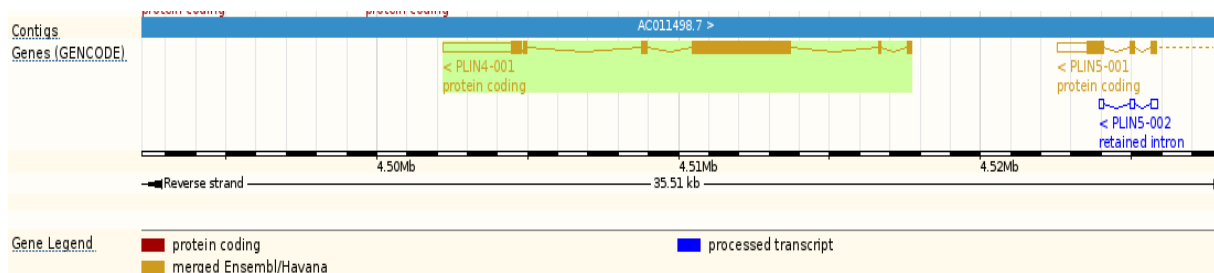


Figura 10 – Gene da perlipina humana.  
Fonte: (ENSEMBL, 2012).

Yamaguchi *et al.* (2010) encontraram associação entre o SNP PLIN 1 11482 G>A (rs894160) com o IMC e circunferência da cintura. Os indivíduos com genótipo AA apresentaram maior IMC do que os indivíduos com os outros genótipos. Além disso, os indivíduos com o genótipo AA apresentaram peso e circunferência da cintura maiores do que os indivíduos com o genótipo GG.

No estudo de Perez-Martinez *et al.* (2008) foi encontrada associação significativa entre o SNP PLIN 1 11482 G>A (rs894160) e a concentração de HDL colesterol. Indivíduos portadores do alelo A mostraram um nível maior de concentração pós-prandial de HDL colesterol e apo A1 do que os portadores do genótipo GG ( $p=0,028$ ).

Sendo assim, os fatores genéticos interferem no ganho e perda de peso, e também são importantes como os fatores ambientais.

## **5. CAPITULO I**

### **ASSOCIATION BETWEEN PREMATURE OBESITY AND VARIANT OF *ADIPOQ* GENE IN A LIFESTYLE INTERVENTION PROGRAM\***

\* Paper submitted to Journal of Pediatrics

#### ABSTRACT

**Objective(s)** Investigate the effect of a lifestyle intervention program in overweight adolescents and the influence of +276G>T SNP (single-nucleotide polymorphism) of *ADIPOQ* gene in anthropometric and biochemical variables.

**The Study design** Overweight adolescents (n=117, 10-16 years) participating of 12 weeks of physical exercise and nutritional guidance had their DNA genotyped for +276G>T SNP. T-test was used for comparisons between the variables means and multiple regression analysis was used to test the hypothesis that the variables are independent risk factors for obesity.

**The Results** Body mass index (BMI) for age, waist circumference (WC), body fat percentage (%BF), lean body mass (LBM), fat mass (FM), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), glucose after 120 min (GLU 120), fasting insulin (INS 0), insulin after 120 min (INS 120), Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance (HOMA-IR), Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI), resting heart rate (RHR), maximal heart rate (MHR) and peak oxygen uptake (VO<sub>2</sub>) presented improvement after the lifestyle intervention program. 276T allele was associated to a decrease in BMI-for-age and an increase in HDL-C. This allele was also more frequent in individuals that showed a major decrease in BMI-for-age, WC, systolic blood pressure (SBP), total cholesterol (TC), INS 0, INS 120, HOMA-IR, and major increase in HDL-C. Multiple regression analysis confirmed that 276T allele acted as an independent factor in decreasing WC and INS 0 after the lifestyle intervention program.

**The Conclusion(s)** A lifestyle intervention program showed positive and significant effects in overweight adolescents health. Also +276G>T polymorphism of *ADIPOQ* gene influenced the analyzed variables results.



Key-words: rs1501299; *ADIPOQ*; obesity; adolescents; lifestyle intervention program.

Abbreviations:

Body mass index (BMI), body fat percentage (%BF), Diastolic blood pressure (DBP), fat mass (FM), fasten glucose (GLU 0), glucose after 120 min (GLU 120), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance (HOMA-IR), fasting insulin (INS 0), insulin after 120 min (INS 120), lean body mass (LBM), low density lipoprotein (LDL-C), maximal heart rate (MHR), oxygen uptake ( $VO_2$ ), Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI), resting heart rate (RHR), systolic blood pressure (SBP), single-nucleotide polymorphism (SNP), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), waist circumference (WC).

## INTRODUCTION

Overweight in children and adolescents remain a worrying problem and may influence weight status in adulthood. It is suggested that approximately 70% of obese children and adolescents are also obese adults.<sup>1</sup> The rates of overweight and obesity in Brazilian children and adolescents showed strong growth in recent decades. In 1996 the prevalence of childhood obesity was 6.6% and in 2007 it raised to 7.3%. This index is close to the rates found in the USA (8% in 2004) and overcome the data of some European countries (Germany: 3.5% in 2006, Czech Republic: 4.4% in 2002) and some Latin America countries (Peru: 6.9% in 2010, Colombia: 4.8% in 2010).<sup>2</sup>

For a long time the causes of obesity were attributed just to environmental factors,<sup>3,4</sup> however currently it emerges as a complex etiology disease.<sup>5,6</sup> The genetic associated components have been investigated in several studies, which mostly opt for candidate genes related to lipid and glucose metabolism modulation, that directly or indirectly influence fat deposition.<sup>7-9</sup> In this context, it is important to approach all the factors together, *i.e.* alimentation, physical activity and genetics, to achieve a model that explains the mechanisms underlying obesity.

In the sense of join forces in the search for genetic components associated with this disease, the *ADIPOQ* gene (3q27.3) appears as a promising candidate.<sup>10</sup> Previous studies suggest an association of some of its variants with obesity,<sup>11-13</sup> type II diabetes<sup>14</sup> and metabolic disorders.<sup>15</sup> The protein product of *ADIPOQ* gene,

adiponectin, is expressed in adipose tissue, participating in insulin synthesis<sup>16</sup> and having anti-inflammatory and anti-diabetic function.<sup>17</sup>

The aim of the current study was to evaluate the effect of a nutritional and physical Lifestyle Intervention Program on anthropometric and biochemical variables associated with obesity in a group of 117 children and adolescents. Furthermore, will be investigated the influence of variant (rs1501299) of *ADIPOQ* gene on the baseline levels and measures (before intervention) and final (after the intervention), analyzing its possible role on the effectiveness of the intervention program.

## METHODS

### Subjects

The sample study included 117 overweight or obese children and adolescents (10-16 years, 59 boys and 58 girls, Euro-Brazilian), from Southern Brazil, from public schools of Curitiba – PR and Pediatric Endocrinology Unit of the Clinical Hospital of Paraná

Eligibility criteria for the study included: BMI-for-age > 95th percentile; stable weight in a period superior or equal than two months. The subjects were excluded if on anorectic medication or dietary treatment for weight loss, if they suffered from type I diabetes, chronic kidney disease or other uncontrolled chronic disease. The study was approved by the ethics committee of the Federal University of Paraná.

### Overview of the Protocol

Weight and height were measured with accuracy of 0.1 kg and 0.1 cm, respectively. WC was measured with a flexible non-stretchable measuring tape (cm). BMI was calculated as weight (kg)/height<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>), then, individual BMI values were converted into Z-score using age and specific cut-points according to World Health Organization (WHO) children and adolescent growth references and utilizing WHO AnthroPlus® program (Version 1.0.4).<sup>18</sup> Body composition was evaluated by bioelectrical impedance analysis method (BIA), with the Biodynamics® tetrapolar appliance.

The cardiorespiratory fitness was evaluated on a treadmill (*EcafifxEG 700X*) using the modified Balke protocol.<sup>19</sup> Heart rate (HR), oxygen uptake (VO<sub>2</sub>), carbon

dioxide volume ( $VCO_2$ ) and ventilation (VE) were measured using an ergospirometer (model *Parvo Medics MMS2400*, USA).

Resting metabolic rate (RMR) measurements were performed in the morning during 35 minutes, with Deltatrac II® equipment, in spontaneous breathing mode. To determine  $VO_2$  and  $VCO_2$  and calculate R the subjects were awake, had a 30 min rest and a 10-12 hours fast.

Overnight fasting venous blood samples were collected at morning. Glucose, insulin, total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and triglycerides (TG) were measured by standard automated methods. Venous plasma samples were obtained at 0 and 120 min for determination of plasma glucose (GLU 0, GLU120) and insulin (INS 0, INS120). HOMA-IR was used to calculate the insulin resistance.<sup>20</sup> QUICKI was used to evaluate the insulin sensitivity.<sup>21</sup>

### **DNA analysis**

DNA extraction from peripheral blood was performed by a salting-out method<sup>22</sup> and then diluted to a final concentration of 20ng/ $\mu$ L. The SNP (Single Polymorphism Nucleotide) (rs1501299, +276G>T) of ADIPOQ gene was genotyped by TaqMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems). The reactions were performed according to the following steps: (1) 50°C/2 min.; (2) 95°C/10 min., (3) repeat 50 times 95°C/15 sec., interspersed by 62°C/min. Three previously sequenced control samples, representative of each of the possible genotypes, were included in every reaction.

### **Lifestyle Intervention Program**

Nutritional counseling was done through lectures and food intake questionnaires. The physical exercise lasted for 12 weeks and was composed of aerobic activity (50 min of walking, 50 min of indoor cycling and 20 min of stretching).

### **Statistical Analysis**

Means  $\pm$  SE of anthropometric and biochemical variables were obtained and Shapiro-Wilk test was used to evaluate the normality of the variables distribution. The comparisons between means were performed by t-test (parametric variables) or by

Mann-Whitney test or Wilcoxon test (for non-parametric and independent variables and for non-parametric and dependent variables, respectively). Statistica for Windows version 6.0 (Statsoft, Inc. 2001) were used for the above statistical analyses.

A multiple regression analysis was performed to test the hypothesis that the variables are independent risk factors for obesity. SPSS 13.0 for Windows program was used (SPSS Inc. released 2004, Version 13.0, Chicago).

Allele and genotype frequencies of the SNPs genotyped were obtained by direct counting and compared between groups and literature data with  $\chi^2$  test with assistance of Clump program.<sup>23</sup> Hardy-Weinberg equilibrium was tested with assistance of Statistica for Windows software package (Statsoft, Inc. 2001, Version 6.0).

The probability value for the comparative tests were considered significant at  $p < 0.05$  (5%).

## RESULTS

The investigated variable means before and after the lifestyle intervention program are demonstrated in Table I. The means of weight, BMI-for-age, WC, body fat percentage (% BF), fat body mass (FM), TG, GLU 120, INS 0, INS 120, resting heart rate (RHR) and maximal heart rate (MHR) showed significant decrease after the lifestyle intervention program. Whereas, height, lean body mass (LBM), HDL-C, QUICKI, Peak oxygen uptake ( $VO_2$  peak) and absolute  $VO_2$  were significantly increased.

The frequency of G276 allele was 91.33%  $\pm$  2.29%; and of T276 allele was 8.66%  $\pm$  2.29%. The genotypic frequency was GG = 83.41%, GT = 15.83% e TT = 0.75% (more information in Appendix II).

To evaluate the effect of ADIPOQ SNP over the investigated variables, the variables means of the carriers of T276 allele and non-carriers before and after lifestyle intervention program were compared (Table II). No differences between carriers and non-carriers of T276 allele were found in initial means of BMI-for-age. However, after 3 months of lifestyle intervention program, carriers of T276 allele presented BMI-for-age significant lower than non-carriers of T276 allele. HDL-C means were higher in carriers of T276 allele only after lifestyle intervention program.

Initially, LBM and LDL-C means of non-carriers of *T276* allele were significantly lower than means of carriers of *T276* allele. However, after 3 months this statistical difference was no longer observed. Initial CT mean was also lower in non-carriers of *T276* allele, maintaining only a statistical trend after lifestyle intervention program.

Systolic blood pressure (SBP), FM and HOMA-IR presented a trend to be higher in carriers of *T276* allele. Nevertheless, this result was not maintained after lifestyle intervention program. Initial INS120 and MHR means have not presented statistical difference between carriers of *T276* allele and non-carriers. However, after lifestyle intervention program there was a trend suggesting that these variables showed higher means in carriers of *T276* allele.

There was a trend suggesting that initial QUICKI mean was lower in carriers of *T276* allele. However, after lifestyle intervention program no significant results were found.

To check the influence of genotype on response to intervention, the differences between the initial and post-lifestyle intervention program variables were calculated, and their median were obtained. Then, allele frequencies found in the group of subjects who had values of difference below the median were compared with allele frequencies found in the group with values of difference above the median. Significant results are demonstrated in Table III. The frequency of the *T276* allele was significantly higher in the group that presented values of difference above the median for the following variables: BMI-for-age, WC, SBP, total cholesterol (TC), INS 0, INS 120 and HOMA-IR. These results demonstrate that the *T276* allele was most frequent among individuals who presented a higher decrease in these variables after lifestyle intervention program. That is, the *T276* allele was more frequent among individuals who showed responses more effective in reducing these variables after the lifestyle intervention program. For HDL-C e GLU 0 variables, the frequency of the *T276* allele was significantly higher in the group that presented differences below the median, demonstrating that this allele was more frequent among individuals who had a more effective increase in these variables after the lifestyle intervention program.

Since the frequency of the *T276* allele was significantly higher in the group above the median for the variables previously discussed, a multiple regression analysis was conducted, considering each variable as the dependent variable; and sex, age, and variants of the SNP (rs1501299) as independent variables. This result

confirmed that the *T276* allele acted as an independent factor in the decrease of WC ( $\beta = 2.5 \pm 1.26$ ;  $p = 0.04$ ), INS 0 ( $\beta = 30.86 \pm 16,499.2$ ;  $p = 0.0001$ ) and HOMA-IR ( $\beta = 21.07 \pm 18,438.5$ ;  $p = 0.02$ ) during lifestyle intervention program.

## DISCUSSION

The present study observed a significant decrease in adiposity after 12 weeks of intervention, as demonstrated by reduction of BMI-for-age, WC and %BF. Several studies also demonstrate decrease in these variables after programmed exercise allied with a balanced diet and caloric restriction.<sup>24-26</sup> The increase in height observed in the individuals of our study was already expected in adolescents, and was also observed in a previous study that had a lifestyle intervention program.<sup>27</sup> Furthermore, a previous study observed that a lifestyle intervention program did not decrease the growth rate in children and adolescents.<sup>25</sup>

Although TC and LDL-C levels have not presented significant decrease, the lifestyle intervention program leads to changes in the metabolic variables, as shown by the significant increase in HDL-C and decrease in TG, both representing an improvement in energy homeostasis, since high levels of TG have been associated with stroke and atherosclerosis,<sup>28-30</sup> and adequate HDL-C levels have shown cardio protective properties.<sup>31-33</sup> The increase in 1 mg/dl in HDL-C levels corresponds to 3.7% and 4.7% decrease in cardiovascular disease mortality rate in men and women respectively.<sup>34</sup> Considering that after the lifestyle program there was an average increase of 4.8 mg/dl in HDL-C levels, we suggest that the exercise program and nutritional guidance were effective in reducing cardiovascular risk factors. Probably no decrease in TC and LDL-C levels were obtained because there was not a fully adherence of adolescents to the nutritional guidance offered.

After the lifestyle intervention program the cardiorespiratory fitness of the overweight adolescents has also improved. This is similar to a previous study data, which demonstrated significant increase in  $VO_2$ max mL:kg:min values after 10 weeks of a lifestyle intervention program.<sup>25</sup> Different results were found in another study, where after 8 weeks of a lifestyle intervention program  $VO_2$  peak decreased in the obese group, but not in the control group (that was not submitted to exercise program).<sup>27</sup> However, this study had just 20 participants, what may have influenced the results.

The adipose tissue is an important endocrine organ that secretes a variety of biologically active molecules known as adipokines or adipocytokines. Many of them are proinflammatory and proatherogenic factors,<sup>35</sup> and also modulate the energetic metabolism, oxidative stress and vascular integrity.<sup>36,37</sup>

Normally with the expansion of adipose tissue in obesity, substances produced by it also increase. Nevertheless, in obesity, adiponectin decreases.<sup>17,38</sup> Adiponectin acts, among other functions, in decreasing glucose, increasing fatty acids  $\beta$ -oxidation, improving insulin sensitivity<sup>35</sup> and as an antiatherogenic agent. Hypoadiponectinemia was already associated to obesity, cardiovascular disease, type 2 diabetes and multiple metabolic risk factors.<sup>39-42</sup>

In the present study, despite the GLU 0 level have not shown a significant decrease after the 12 weeks, GLU 120, INS 0, INS 120, HOMA-IR and QUICKI showed positive results. A previous study also described significant decrease in insulin in adolescents submitted to an exercise and nutritional program,<sup>24</sup> what demonstrates the positive effects of exercise in glucose metabolism. The relationship between exercise and adiponectin levels have also been studied, nevertheless controversial results have been found, and intensity, duration and human subject diversity seem to directly influence these results.<sup>43</sup> Studies with healthy individuals submitted to light and moderate exercise did not showed changes in adiponectin levels.<sup>44,45</sup> Obese individuals submitted to submaximal aerobic exercise also not demonstrated correlation with adiponectin levels.<sup>46</sup> However, another study found an increase in plasmatic adiponectin in obese men submitted to an acute and short term aerobic training.<sup>47</sup> Adiponectin acts on glucose metabolism and insulin sensitivity by binding to its receptors (AdipoR1 and AdipoR2). In the liver AdipoR1 phosphorylates an AMP-activated protein kinase (AMPk) and AdipoR2 activate an peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ ), what leads to an increase in insulin sensitivity, fatty acid oxidation and glucose uptake.<sup>17</sup>

Due to the important role of adiponectin in this context, our study also investigated the +276G>T SNP influence (localized in intron 2 of *ADIPOQ* gene) on biochemical and anthropometric variables in response of the lifestyle intervention program. Previous studies have associated this SNP with adiponectin levels,<sup>48,49</sup> being the 276T allele one of the factors responsible for the increased levels of this protein.<sup>50-54</sup> +276G>T SNP also was investigated in case-control studies, which

in its majority reported a protective effect of the *T276T* allele on metabolic risk factors associated with obesity and metabolic syndrome.<sup>55-57</sup>

Altogether, our study suggests that *T276* allele has a protective and/or potentiating role of beneficial effects associated with adiponectin in response of the lifestyle intervention program, in some obesity related variables that we have studied. The decrease in BMI-for-age and increase in HDL-C in carriers of *T276* allele compared to non-carriers confirm this hypothesis. Furthermore, LDL-C, TC, LBM, FM, HOMA-IR and SBP levels, that were initially higher in carriers of *T276* allele, after the lifestyle intervention program did not maintain this statistical difference, what demonstrates a better impact of the lifestyle intervention program among carriers of the *T276* allele. A previous meta-analysis also discovered a protective effect of *T276* allele. They found that individuals with type 2 diabetes (which were homozygous for *T276* allele), presented lower risk of developing cardiovascular disease when compared to individuals carriers of *G276* allele.<sup>58</sup>

Increasing the statistical power, and corroborating with the results described above, we found, by means of multiple regression analysis, that *T276* allele acted as an independent factor in decreasing WC, INS0 and HOMA-IR in response to the lifestyle intervention program.

We conclude that a 12 week lifestyle intervention program composed of physical exercise and nutritional guidance was effective in improving biochemical and anthropometric variables in overweight adolescents. Considering the potential effect of adiponectin in obesity, relevant findings were presented in our study, suggesting a positive effect of *T276* allele in response of the lifestyle intervention program. Due to our study restrictions, we believe that further studies with larger number of participants, or independent samples, may find statistical significance for other analyses related to the subject.



## REFERENCES

1. Reilly JJ. Childhood obesity: an overview. *Child.Soc* 2007;21(5):390–96.
2. WHO, World Health Organization.[homepage on the Internet]. Child malnutrition country estimates (WHO global database): Children aged <5 years overweight by country [updated 2014 Mar 06; cited 2014 Mar 08]. Available from <http://apps.who.int/gho/data/node.main.1096?lang=en>.
3. Komlos J, Brabec M. The trend of BMI values of US adults by deciles, birth cohorts 1882–1986 stratified by gender and ethnicity. *Econ Hum Biol* 2011;9(3):234–50.
4. Phuong Do D, Dubowitz T, Bird EC, Lurie N, Escarce JJ, Finch, KB. Neighborhood context and ethnicity differences in body mass index: a multilevel analysis using the NHANES III survey (1988–1994). *Econ Hum Biol* 2007;5(2):179–203.
5. Riccardi G, Giacob RAA. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr* 2004;23:447–56.
6. Lusis AJ, Attie AD, Reue K. Metabolic Syndrome: from epidemiology to systems biology. *Nat Rev Genet* 2008;9:819–30.
7. Mir AA, Myakishev MV, Poleskaya OO, Moitra J, Petersen D, Miller L, et al. A search for candidate genes for lipodystrophy, obesity and diabetes via gene expression analysis of A-ZIP/F-1 mice. *Genomics* 2003;81(4):378–90.
8. Duran-Gonzalez J, Ortiz I, Gonzales E, Ruiz N, Ortiz M, Gonzalez A, et al. Association Study of Candidate Gene Polymorphisms and Obesity in a Young Mexican-American Population from South Texas. *Arch Med Res* 2011; 42:523–31.
9. Turcot V, Groom A, McConnell JC, Pearce MS, Potter C, Embleton ND, et al. Bioinformatic selection of putative epigenetically regulated loci associated with obesity using gene expression data. *Gene* 2012;499(1):99–107.
10. OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man: An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders[homepage on the Internet][updated 2014 Mar 03; cited 2014 Mar 07]. Available from <http://www.omim.org/entry/605441?search=ADIPOQ&highlight=adipoq>
11. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996;271(18):10697–703.

12. Ramya K, AshokAyyappa K, Ghosh S, Mohan V, Radha V. Genetic association of ADIPOQ gene variants with type 2 diabetes, obesity and serum adiponectin levels in south Indian population. *Gene* 2013;532:253–62.
13. Arnaiz-Villena A, Fernandez-Honrado M, Rey D, Enriquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Arribas I, et al. Amerindians show association to obesity with adiponectin gene SNP45 and SNP276: population genetics of a food intake control and “thrifty” gene. *Mol Biol Rep* 2013;40:1819–26.
14. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Molec Genet* 2002;11:2607-14.
15. Menzaghi C, Salvemini L, Paroni G, De Bonis C, Mangiacotti D, Fini G, et al. Circulating high molecular weight adiponectin isoform is heritable and shares a common genetic background with insulin resistance in nondiabetic white Caucasians from Italy: evidence from a family-based study. *J Int Med* 2010;267:287-94.
16. Ferguson JF, Phillips CM, Tierney AC, Perez-Martinez P, Defoort C, Helal O, et al. Gene-nutrient interactions in the metabolic syndrome: single nucleotide polymorphisms in ADIPOQ and ADIPOR1 interact with plasma saturated fatty acids to modulate insulin resistance<sup>1–3</sup>. *Am J Clin Nutr* 2010;91:794-801.
17. Yamauchi T, Kadowaki T. Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases. *Cell Metab* 2013;17(2):185–196.
18. WHO World Health Organization. [homepage on the Internet]Geneva: 2006 [updated 2014 jan 23; cited 2014 jan 28].Multicentre Growth Reference Study Group. child growth standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Available from: <http://www.who.int/growthref/tools/en/>.
19. Rowland TW. Exercise and Children's Health. Champaign, Ill: Human Kinetics Books; 1990.
20. Matthews DR, Hosker JR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-19.

21. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(7):2402-10.
22. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991;19:5444.
23. Sham PC, Curtis D. Monte Carlo tests for associations between disease and alleles at highly loci. *Ann Hum Genet* 1995;59:97-105.
24. Molerés A, Rendo-Urteaga T, Zulet MA, Campoy C, Garagorri JM, Martínez A, et al. Obesity susceptibility loci on body mass index and weight loss in Spanish adolescents after a lifestyle intervention. *J Pediatr* 2012;161(3):466-70.
25. Suskind RM, Blecker U, Udall Jr JN, Von Almen TK, Schumacher HD, Carlisle L, et al. Recent advances in the treatment of childhood obesity. *Pediatr Diabetes* 2000;1:23–33.
26. Lee K, Kang H, Shin Y. Exercise improves adiponectin concentrations irrespective of the adiponectin gene polymorphisms SNP45 and the SNP276 in obese Korean women. *Gene* 2013;516:271–6.
27. Kelly AS, Wetzsteon RJ, Kaiser DR, Steinberger J, Bank AJ, Dengel DR. Inflammation, insulin, and endothelial function in overweight children and adolescents: the role of exercise. *J Pediatr* 2004;145(6):731-6.
28. Labreuche J, Touboul PJ, Amarenco P. Plasma triglyceride levels and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review of the epidemiological studies. *Atherosclerosis* 2009;203:331–45.
29. Boullart ACI, De Graaf J, Stalenhoef AF. Serum triglycerides and risk of cardiovascular disease. *Biochim Biophys Acta* 2012;1821:867–75.
30. Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *Br Heart J* 1993;69:S 30-7.
31. Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein — the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989;321:1311–16.
32. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, the Framingham Study. *Am J Med* 1977;62:707–14.
33. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady SA, Heiss G, Sorlie PD, Catellier D, et al. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides,

- lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2001;104:1108–1113.
34. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-Density Lipoprotein Cholesterol and Cardiovascular Disease Four Prospective American Studies. *Circulation* 1989;79(1):8-15.
35. Di Chiara T, Argano C, Corrao S, Scaglione R, Licata G. Hypoadiponectinemia: A Link between Visceral Obesity and Metabolic Syndrome. *J Nutr Metab* 2012;2012:1-7.
36. Zhang H, Cui J, Zhang C. Emerging role of adipokines as mediators in atherosclerosis. *World J Cardiol* 2010; 2(11):370–6.
37. Scaglione R, Di Chiara T, Cariello T, Licata G. Visceral obesity and metabolic syndrome: two faces of the same medal?. *Intern Emerg Med* 2010; 5(2):111–9.
38. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11:85–97.
39. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Comm* 1999;257:79–83.
40. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in Obesity and Type 2 Diabetes: Close Association with Insulin Resistance and Hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(5):1930-5.
41. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(1)85–9.
42. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004;291(14):1730–7.
43. Golbidi S, Laher I. Exercise Induced Adipokine Changes and the Metabolic Syndrome. *J Diabetes Res* 2014;2014:1-16.
44. Ferguson MA, White LJ, McCoy S, Kim HW, Petty T, Wilsey J. Plasma adiponectin response to acute exercise in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol* 2004;91:324–329.
45. Bobbert T, Wegewitz U, Brechtel L, Freudenberg M, Mai K, Möhlig M, Diederich S, et al. Adiponectin oligomers in human serum during acute and chronic exercise: relation to lipid metabolism and insulin sensitivity. *Int J Sports Med* 2007;28(1)1–8.

46. Jamurtas AZ, Theocharis V, Koukoulis G, Stakias N, Fatouros IG, Kouretas D, et al. The effects of acute exercise on serum adiponectin and resistin levels and their relation to insulin sensitivity in overweight males. *Eur J Appl Physiol* 2006;97(1):122–126.
47. Saunders TJ, Palombella A, McGuire KA, Janiszewski PM, Després JP, Ross R. Acute exercise increases adiponectin levels in abdominally obese men,” *J Nutr Metab* 2012;2012:1-6.
48. Heid IM, Wagner SA, Gohlke H, Iglseder B, Mueller JC, Cip P, et al. Genetic architecture of the APM1 gene and its influence on adiponectin plasma levels and parameters of the metabolic syndrome in 1,727 healthy Caucasians. *Diabetes* 2006;55:375–84.
49. Pollin TI, Tanner K, O’Connell JR, Ott SH, Damcott CM, Shuldiner AR, McLenithan JC, Mitchell BD. Linkage of plasma adiponectin levels to 3q27 explained by association with variation in the ADIPOQ gene. *Diabetes* 2005; 54:268–74.
50. Kyriakou T, Collins LJ, Spencer-Jones NJ, Malcolm C, Wang X, Snieder H, et al. Adiponectin gene ADIPOQ SNP associations with serum adiponectin in two female populations and effects of SNPs on promoter activity. *J Hum Genet* 2008;53(8):718–27.
51. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the ADIPOQ gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet.* 2002;11:2607–14.
52. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002;51:2306–12.
53. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 2002; 51:536–40.
54. Qi L, Li T, Rimm E, Zhang C, Rifai N, Hunter D, et al. The +276 polymorphism of the ADIPOQ gene, plasma adiponectin concentration, and cardiovascular risk in diabetic men. *Diabetes* 2005; 54:1607–10.

55. Filippi E, Sentinelli F, Trischitta V, Romeo S, Arca M, Leonetti F, et al. Association of the human adiponectin gene and insulin resistance. *Eur J Hum Genet.* 2004;12:199–205.
56. Melistas L, Mantzoros CS, Kontogianni M, Antonopoulou S, Ordovas JM, Yiannakouris N. Association of the +45T>G and +276G>T polymorphisms in the adiponectin gene with insulin resistance in nondiabetic Greek women. *Eur J Endocrinol* 2009;161(6):845-52.
57. Arikoglu H, Ozdemir H, Kaya DE, Ipekci SH, Arslan A, Kayis SA, Gonen MS. The Adiponectin variants contribute to the genetic background of type 2 diabetes in Turkish population. *Gene* 2014;534(1):10-6.
58. Sun K, Li Y, Wei C, Tong Y, Zheng Y, Guo Y. Recessive protective effect of ADIPOQ rs1501299 on cardiovascular diseases with type 2 diabetes: A meta-analysis. *Mol Cell Endocrinol* 2012;(349):162–9.

Table I – Means  $\pm$  SE of the variables of the study before and after the lifestyle intervention program and values of p for comparison between them.

Variables	Initial mean $\pm$ SE	Mean after 3 months $\pm$ SE	p
Weight	75.4 $\pm$ 16.1	74.6 $\pm$ 16.2	0.01*
Height	1.5 $\pm$ 0.09	1.6 $\pm$ 0.09	1.93 X 10 <sup>-14</sup> *
BMI-for-Age	2.7 $\pm$ 0.6	2.5 $\pm$ 0.7	0.000000*
WC	96.3 $\pm$ 10.9	94.4 $\pm$ 11.4	7.06 X 10 <sup>-5</sup> *
SBP	109.7 $\pm$ 15.2	107.4 $\pm$ 13.5	0.1
DBP	70.3 $\pm$ 11.0	69.9 $\pm$ 10.6	0.71
% BF	37.9 $\pm$ 6.5	35.0 $\pm$ 7.4	3.84 X 10 <sup>-12</sup> *
FM	27.6 $\pm$ 8.3	25.9 $\pm$ 8.7	6.91 X 10 <sup>-6</sup> *
LBM	44.9 $\pm$ 9.0	47.1 $\pm$ 9.5	1.73 X 10 <sup>-5</sup> *
TC	156.5 $\pm$ 34.27	155.5 $\pm$ 31.4	0.58
HDL-C	43.1 $\pm$ 11.9	47.9 $\pm$ 12.8	1.60 X 10 <sup>-7</sup> *
LDL-C	92.2 $\pm$ 27.2	90.7 $\pm$ 25.1	0.42
TG	114.8 $\pm$ 60.5	93.0 $\pm$ 49.9	6.4 X 10 <sup>-5</sup> *
GLU 0	101.3 $\pm$ 118.9	87.3 $\pm$ 12.7	0.28
GLU 120	100.5 $\pm$ 18.0	91.4 $\pm$ 14.9	2 X 10 <sup>-7</sup> *
INS 0	16.3 $\pm$ 11.7	13.4 $\pm$ 9.0	0.001*
INS 120	57.8 $\pm$ 47.1	39.4 $\pm$ 28.4	3.72 X 10 <sup>-6</sup> *
HOMA-IR	2.4 $\pm$ 3.8	1.7 $\pm$ 1.2	0.06**
QUICKI	0.32 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.03	6.94 X 10 <sup>-6</sup> *
RHR	81.7 $\pm$ 11.7	75.4 $\pm$ 10.7	6.484 x 10 <sup>-8</sup> *
MHR	192.2 $\pm$ 11.5	188.7 $\pm$ 11.7	0.0003*
VO2 peak	32.4 $\pm$ 5.1	36.0 $\pm$ 6.6	1.061 X 10 <sup>-7</sup> *
Absolute VO2	2.4 $\pm$ 0.57	2.5 $\pm$ 0.7	0.0007*

\* significant p value (<0.05).

\*\* p values in the interval (0.05 $\leq$ p<0.10) represent a statistical trend.

Table II – Comparisons between the means ( $\pm$ SE) of the investigated variables between mutant allele carriers (GT +TT) and homozygotes for the usual allele (GG) before and after the intervention.

VARIABLES	BEFORE		p	AFTER		p
	GT+TT (n=10)	GG (n = 65)		GT+TT (n = 10)	GG (n = 65)	
BMI-for-age	2.2 $\pm$ 0.5	2.5 $\pm$ 0.7	0.5	2 $\pm$ 0.7	2.7 $\pm$ 0.7	0.01*
WC	100.8 $\pm$ 11.4	95.4 $\pm$ 10.7	0.2	98.1 $\pm$ 10.7	95.4 $\pm$ 11.5	0.57
SBP	120.1 $\pm$ 8.7	111.2 $\pm$ 15.0	0.05**	106.2 $\pm$ 14.0	111.5 $\pm$ 12.4	0.2
DBP	77.7 $\pm$ 9.0	70.2 $\pm$ 11.2	0.13	68.5 $\pm$ 9.2	72.7 $\pm$ 9.5	0.26
% BF	38.7 $\pm$ 8.6	38.1 $\pm$ 7.6	0.87	35.3 $\pm$ 6.9	35.4 $\pm$ 8.8	0.98
FM	33.6 $\pm$ 10.8	26.7 $\pm$ 8.3	0.08**	29.2 $\pm$ 11.6	25.7 $\pm$ 9.1	0.44
LBM	54.8 $\pm$ 6.4	43.1 $\pm$ 8.9	0.007*	52.0 $\pm$ 6.2	46.2 $\pm$ 10.2	0.23
TC	191.6 $\pm$ 31.1	159.6 $\pm$ 37.9	0.02*	178.7 $\pm$ 42.4	153.8 $\pm$ 32.9	0.07**
HDL-C	47.1 $\pm$ 7.5	43.2 $\pm$ 15.7	0.2	53.7 $\pm$ 10.4	45.1 $\pm$ 15.5	0.01*
LDL-C	119.1 $\pm$ 30.9	92.3 $\pm$ 28.4	0.01*	104.4 $\pm$ 31.2	91.6 $\pm$ 26.9	0.25
TG	127.6 $\pm$ 43.5	124.5 $\pm$ 61.4	0.66	102.8 $\pm$ 55.6	101.5 $\pm$ 54.8	0.88
GLU 0	86.2 $\pm$ 4.3	107.7 $\pm$ 165.4	0.34	89.8 $\pm$ 7.1	84.2 $\pm$ 15.2	0.34
GLU 120	95.2 $\pm$ 8.4	100 $\pm$ 20.8	0.53	92.5 $\pm$ 10.3	91.5 $\pm$ 14.3	0.9
INS 0	25.3 $\pm$ 15.7	16 $\pm$ 13.4	0.11	15.5 $\pm$ 12.5	13.3 $\pm$ 9.8	0.62
INS 120	56 $\pm$ 27.7	51 $\pm$ 54.4	0.8	50.9 $\pm$ 19.0	33.0 $\pm$ 27.3	0.06**
HOMA-IR	3.2 $\pm$ 1.8	2.7 $\pm$ 5.3	0.08**	1.9 $\pm$ 1.4	1.8 $\pm$ 1.4	0.73
QUICKI	0.2 $\pm$ 0.03	0.3 $\pm$ 0.03	0.07**	0.3 $\pm$ 0.03	0.3 $\pm$ 0.04	0.4
RHR	82.8 $\pm$ 13.4	83 $\pm$ 12.8	0.97	79.7 $\pm$ 8.6	76.3 $\pm$ 11.8	0.37
MHR	196.0 $\pm$ 14.8	188.2 $\pm$ 10.9	0.1	194.7 $\pm$ 14.4	182.6 $\pm$ 12.6	0.08**
VO <sub>2</sub> peak	30.5 $\pm$ 2.3	30.4 $\pm$ 6.1	0.96	34.6 $\pm$ 9.6	34.7 $\pm$ 7.8	0.99
Absolute VO <sub>2</sub>	2.6 $\pm$ 0.4	2.2 $\pm$ 0.6	0.17	2.7 $\pm$ 0.8	2.4 $\pm$ 0.8	0.45

\* significant p value (<0.05).

\*\* p values in the interval (0.05 $\leq$ p<0.10) represent a statistical trend.



Table III – Allele frequencies of G276 and T276 (%  $\pm$  SE), and their comparisons (p), in the group with differences (before - after intervention) below and above the median for the analyzed variables.

Variables	BELOW MEDIAN		ABOVE MEDIAN		p
	Freq $\pm$ SE G276 allele	Freq $\pm$ SE T276 allele	Freq $\pm$ SE G276 allele	Freq $\pm$ SE T276 allele	
Weight	0.98 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.8 $\pm$ 0.05	0.19 $\pm$ 0.05	0.0005
BMI-for-age	0.96 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.02	0.83 $\pm$ 0.04	0.16 $\pm$ 0.04	0.01
WC	0.97 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.78 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.06	0.0006
SBP	0.96 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.02	0.87 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.04	0.08*
TC	0.94 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.03	0.85 $\pm$ 0.04	0.14 $\pm$ 0.04	0.09*
HDL-C	0.81 $\pm$ 0.05	0.18 $\pm$ 0.05	0.95 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02	0.02
GLU 0	0.83 $\pm$ 0.05	0.16 $\pm$ 0.05	0.95 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02	0.03
INS 0	0.98 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.82 $\pm$ 0.05	0.17 $\pm$ 0.05	0.003
INS 120	1.0	0	0.81 $\pm$ 0.06	0.18 $\pm$ 0.06	0.03
HOMA-IR	0.94 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.03	0.85 $\pm$ 0.04	0.14 $\pm$ 0.04	0.09*

\* significant p value (<0.05).

\*\* p value represents trend ( $0.05 \leq p < 0.10$ ).

## **6. CAPÍTULO II**

### **ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE PRECOCE E VARIANTES DOS GENES *HSD11B1*, *GHRL*, *PLIN4* E PROGRAMA DE INTERVENÇÃO.**

#### **RESUMO**

**Objetivos** Investigar a associação entre obesidade e variantes dos genes *HSD11 $\beta$ 1*, *GHRL* e *PLIN4* antes e após intervenção de exercícios e orientação nutricional.

**Metodologia** Adolescentes com excesso de peso (n=117, 10-16 anos) participantes de um projeto de 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional tiveram o DNA genotipados para os polimorfismos rs12086634 e rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1*, rs696217 (L72M) do gene *GHRL* e rs8887 do gene *PLIN4*, previamente relacionados com obesidade.

**Resultados** A regressão logística mostrou-se significativa para as variáveis PAS e %GC (polimorfismo rs12086634), INS 0 e HOMA-IR (polimorfismo rs846910) e PAS (polimorfismo rs696217).

**Conclusões** Em uma amostra de adolescentes caucasianos com excesso de peso, o polimorfismo rs12086634 mostrou estar associado à obesidade, o polimorfismo rs846910 mostrou estar associado à sensibilidade à insulina e o polimorfismo rs696217 mostrou estar associado ao controle da pressão arterial.

#### **INTRODUÇÃO**

A obesidade é causada pelo desequilíbrio entre a ingestão de alimentos e a energia gasta, e se desenvolve quando há um acúmulo de gordura ou tecido adiposo<sup>1,2</sup>.

A infância e adolescência são períodos críticos para o desenvolvimento do sobrepeso e obesidade, e parecem estar associados com obesidade em adultos, além de trazer vários efeitos adversos à saúde, como doença cardíaca, câncer colo-retal, gota, aterosclerose e artrite<sup>3,4</sup>.

A modulação do metabolismo lipídico e glicídico envolve diferentes genes, e a interação destes com fatores ambientais, como a alimentação<sup>5</sup> e atividade física<sup>6</sup>.

Os genes escolhidos para esse estudo já foram anteriormente correlacionados com a obesidade. A enzima 11 $\beta$  hidroxisteróidesidrogenase tipo 1 (HSD11B1) controla em parte a concentração de cortisol nos tecidos, pois ela converte a cortisona inativa em cortisol ativo. A secreção elevada de cortisol tem sido associada com a obesidade<sup>7</sup>.

A grelina é um hormônio proteico conhecido por estimular o apetite<sup>8</sup>, e é produzida principalmente pelas glândulas oxínticas da mucosa gástrica<sup>9</sup>.

As perilipinas são proteínas que revestem a superfície das gotículas lipídicas intracelulares de armazenamento, principalmente os adipócitos e células esteroidogênicas. Essas proteínas restringem o acesso do hormônio-sensível lipase à gotícula de gordura<sup>10,11</sup> e desempenham um papel importante na regulação da formação das gotículas de gordura, sua morfologia e lipólise<sup>12</sup>.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Amostra**

O estudo foi desenvolvida em crianças e adolescentes de 10 a 16 anos de idade, de ambos os gêneros. A amostra foi composta por 117 crianças e adolescentes, dentre esses 59 meninos e 58 meninas. Os critérios de inclusão foram índice de massa corporal (IMC) acima do percentil 95; peso estável em um período maior ou igual há dois meses; ausência da utilização de medicamentos anorexígenos ou outros que possam interferir no controle de peso e na hiperinsulinemia.

As amostras foram coletadas no período de 2004 a 2012, após a obtenção do Termo de Consentimento dos pais ou responsáveis aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e de aplicação de questionários de anamnese.

## **Dados antropométricos e bioquímicos**

Avaliou-se o peso (Kg), estatura (cm) e circunferência abdominal (CA) (cm). Calculou-se o IMC-escore Z segundo o sexo, tomando-se como base o padrão de referência da World Health Organization (WHO). A composição corporal foi avaliada pelo método de bioimpedância elétrica (BIA), com o aparelho Biodynamics®tetrapolar.

O condicionamento cardiorrespiratório foi avaliado em esteira (marca *EcafifxEG 700X*) utilizando o protocolo de Balke modificado<sup>13</sup>. Mensurou-se frequência cardíaca (FC), consumo de oxigênio ( $VO_2$ ), volume de gás carbônico ( $VCO_2$ ) e ventilação (VE), utilizando ergoespirômetro (*Parvo Medics MMS2400*, USA).

As mensurações do gasto metabólico em repouso (GMR) foram realizadas pela manhã, durante 35 minutos, com o aparelho Deltatrac II®, no modo canópia (respiração espontânea), no indivíduo acordado após jejum de 10 - 12 horas e repouso de 30 minutos, determinados o  $VO_2$  e o  $VCO_2$  e calculado o R.

As amostras sanguíneas foram coletadas no período da manhã, após 12 horas de jejum, para realização de hemograma e dosagens de glicose, insulina, colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-C), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triglicérides (TG). Para o cálculo da resistência a insulina foi utilizada Homeostasis Model Assessment (HOMA-IR)<sup>14</sup>. Para avaliação da sensibilidade a insulina foi utilizada o Quantitative Insulin Sensivity Check Index (QUICKI)<sup>15</sup>.

As amostras de sangue coletadas foram submetidas à extração do DNA genômico utilizando-se o método de *Salting-out*<sup>16</sup>. Ao final do procedimento, a amostra foi ressuspendida em 50  $\mu$ l de água ultra-pura e armazenada a -20 C no Laboratório de Polimorfismos e Ligação.

Para genotipagem dos polimorfismos foi utilizado o kit TaqMan SNP da AppliedBiosystems.

## **Intervenção de exercícios físicos e orientação nutricional**

As crianças e adolescentes foram submetidos à prática de exercícios físicos e orientação nutricional. A prática de exercícios físicos ocorreu durante 12 semanas

e constou de atividades aeróbias (50 minutos de caminhada, 50 minutos de ciclismo *indoor* e 20 minutos de alongamento), 3x/semana, totalizando 36 sessões.

A orientação nutricional foi feita por meio de palestras de educação nutricional e um recordatório de 24h. Os indivíduos participaram de dois encontros durante as 12 semanas. No primeiro encontro (em grupo), discutiu-se a aplicação prática da pirâmide alimentar quanto à distribuição e porcionamento dos alimentos. No segundo encontro (individual), discutiu-se sobre as mudanças ocorridas na alimentação diária de cada participante durante o período do projeto, bem como a adaptação individual à dieta prescrita.

### **Análise estatística**

As médias  $\pm$  DP das variáveis antropométricas e bioquímicas foram obtidas com auxílio do programa Statistica para Windows (Statsoft, Inc. 1996).

Para testar a normalidade da distribuição das variáveis foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre as médias das variáveis foi utilizado teste t para variáveis paramétricas e o teste de Mann-Whitney para as não paramétricas, com auxílio do programa Statistica para Windows (Statsoft, Inc. 1996).

Após os testes básicos de estatística, foi calculada a diferença entre os resultados das variáveis iniciais e após 3 meses. Logo em seguida foi calculada a mediana dessa diferença, e o número 0 (zero) foi atribuído para valores abaixo da mediana e o número 1 (um) foi atribuído para valores acima da mediana, tornando cada variável em uma distribuição binomial. Frequências alélicas foram calculadas para os indivíduos abaixo e acima da mediana.

A análise de regressão múltipla foi utilizada para testar a hipótese de que as variáveis são fatores de risco independentes para a obesidade. Foi utilizado o programa SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc.).

As frequências alélicas e genótípicas dos SNPs genotipados foram obtidas por contagem direta, e comparadas entre os grupos e com dados da literatura através do teste do qui-quadrado, com o auxílio do programa Clump<sup>17</sup>. O equilíbrio de Hardy e Weinberg, referente às frequências genótípicas dos SNPs encontrados na amostra, foi testado com o auxílio do programa Statistica para Windows (Statsoft, Inc. 1996).

O valor da probabilidade para os testes comparativos considerados significativos foi de  $p < 0.05$  (5%).

## RESULTADOS

### Frequências alélicas e genotípicas

As frequências alélicas e genotípicas na amostra total dos SNPs rs12086634 e rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1*, rs696217 (L72M) do gene *GHRL* e rs8887 do gene *PLIN4* estão apresentadas nas Tabelas 3, 5, 7 e 9.

Os genótipos para o sítio da variante intrônica rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1* estão distribuídos de acordo com o equilíbrio de Hardy e Weinberg ( $X^2 = 0,8951$  e  $p = 0,344$ ).

Tabela 3 - Frequências alélicas e genotípicas do SNP rs12086634 do gene *HSD11B1* na amostra total.

Alelos	Freq% $\pm$ EP	Genótipo	Freq%
G	23,39% $\pm$ 2,86%	GG	5,47%
T	76,6% $\pm$ 2,86%	GT	35,84%
		TT	58,68%

As frequências genotípicas da variante intrônica rs12086634 do gene *HSD11B1* foram comparadas com frequências de outros estudos, demonstradas na tabela 4. A frequência no presente estudo foi semelhante com uma população caucasiana não obesa e uma população de adultos sul indianos obesos. Quando comparada com uma população de adultos indianos não obesos, foi constatada diferença significativa entre essas populações.

Tabela 4 – Frequências genotípicas da variante intrônica rs12086634 do gene *HSD11B1* em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.

	Nosso estudo	1000 Genomes Project <sup>18</sup>	GANDHI et al. (2013) <sup>19</sup>	GANDHI et al. (2013) <sup>19</sup>
	Adolescentes caucasianos com excesso de peso	População caucasiana não obesa	Adultos sul indianos com síndrome metabólica	Adultos sul indianos sem síndrome metabólica
	Freq%	Freq%	Freq%	Freq%
Não portadores de mutação(TT)	58,68%	62,41%	67%	93%
Portadores de mutação (GT+GG)	41,31%	37,59	33%	7%
p	---	0,791	0,3527	< 0,0001

A frequência genotípica da variante intrônica rs846910 do gene *HSD11β1* não encontra-se em equilíbrio de Hardy e Weinberg ( $X^2 = 10,5329$  e  $p = 0,0011$ ).

Tabela 5 - Frequências alélicas do SNP rs846910 do gene *HSD11B1* na amostra total.

Alelos	Freq%± EP	Genótipo	Freq%
G	86,44% ± 3,15%	GG	74,71%
A	13,55% ± 3,15%	GA	23,44%
		AA	1,83%

As frequências genotípicas da variante intrônica rs846910 do gene *HSD11B1* foram comparadas com frequências de outros estudos, demonstradas na tabela 6. A frequência no presente estudo é semelhante a uma população de adolescentes mexicanos obesos e uma população caucasiana não obesa.

Tabela 6 – Frequências genotípicas da variante intrônica rs846910 do gene *HSD11B1* em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.

	Nosso estudo	HapMap Project <sup>20</sup>	Duran-Gonzalez et al. (2011) <sup>21</sup>
	Adolescentes caucasianos com excesso de peso	População caucasiana não obesa	Adolescentes mexicanos obesos
	Freq%	Freq%	Freq%
Não portadores de mutação(GG)	74,71%	84,60%	74,30%
Portadores de mutação (GA+AA)	25,27%	15,40%	25,70%
p	---	0,5374	0,2214

Os genótipos do SNP rs696217 (L72M) do gene *GHRL* encontram-se distribuídos de acordo com o equilíbrio de Hardy e Weinberg ( $X^2 = 2,4423$  e  $p = 0,1181$ ).

Tabela 7 - Frequências alélicas e genotípicas do SNP rs696217 (L72M) do gene *GHRL* na amostra total.

Alelos	Freq%± EP	Genótipo	Freq%
G(L72)	90,74% ± 1,97%	GG	84,24%
T(M72)	9,25% ± 1,97%	GT	12,96%
		TT	2,77%

As frequências genotípicas do SNP rs696217 (L72M) do gene *GHRL* foram comparadas com frequências de outros estudos, demonstradas na tabela 8. A frequência no presente estudo foi semelhante à população caucasiana não obesa, e diferente de uma população de adultos japoneses obesos, coreanos obesos e coreanos com diabetes mellitus tipo 2. Isso pode significar que a população esteja interferindo mais na frequência genotípica do que a obesidade.

Tabela 8 – Frequências genotípicas do SNP rs696217 L72M do gene *GHRL* em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.

	Nosso estudo	HapMap Project 20	Takezawa et al. (2009) <sup>22</sup>	Choi et al. (2006) <sup>23</sup>	Choi et al. (2006) <sup>23</sup>
	Adolescentes caucasianos com excesso de peso	População caucasiana não obesa	Adultos obesos japoneses	Adultos não obesos coreanos	Adultos com diabetes tipo 2 coreanos
	Freq%	Freq%	Freq%	Freq%	Freq%
Não portadores de mutação(GG)	84,24%	84,10%	64,10%	67,50%	68,30%
Portadores de mutação (GT+TT)	15,73%	16%	40,30%	32,60%	31,70%
p	---	0,9748	< 0,0001	0,0004	0,0007

Os genótipos do SNP rs8887 do gene *PLIN4* encontram-se de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $X^2 = 3,5657$  e  $p = 0,0589$ ).



Tabela 9 - Frequências alélicas do SNP rs8887 do gene *PLIN4* na amostra total.

Alelos	Freq%±EP	Genótipo	Freq%
C (G11482)	66,41% ± 4,07%	CC	49,25%
T (A11482)	33,58% ± 4,07%	CT	34,32%
		TT	16,41%

As frequências genotípicas do SNP rs8887 do gene *PLIN4* foram comparadas com frequências de outros estudos, demonstradas na tabela 10. A frequência no presente estudo foi semelhante a de duas populações de adultos caucasianos não obesos.

Tabela 10 – Frequências genotípicas do SNP rs8887 do gene *PLIN4* em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.

	Nosso estudo	HapMap Project <sup>20</sup>	1000 Genomes Project <sup>18</sup>
	Adolescentes caucasianos com excesso de peso	População caucasiana não obesa	População caucasiana não obesa
	Freq%	Freq%	Freq%
Não portadores de mutação (CC)	49,25%	34,50%	34,10%
Portadores de mutação (CT+TT)	50,73%	65,50%	65,90%
p	---	0,1124	0,0594

### Comparação das variáveis dentro de cada genótipo

Para analisar a diferença entre as variáveis em estudo antes e depois da intervenção, dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação, foi utilizado o teste t de Student para variáveis paramétricas e o teste de Wilcoxon para variáveis não paramétricas. Nas tabelas 11, 12, 13 e 14 estão representadas as variáveis com o respectivo valor de p para os genótipos relativos a cada um dos polimorfismos estudados.

Tabela 11 – Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs12086634 do gene *HSD11β1*.

Variáveis	Genótipo usual TT			Portadores de mutação GT+GG		
	Média inicial	Média após 3 meses	p	Média inicial	Média após 3 meses	p
ESCORE Z	2,6	2,4	0,0000*	2,9	2,7	0,000008*
CA	95,3	93,0	0,00002*	98,7	97,2	0,1
PAS	105,2	103,9	0,65	116,5	112,6	0,06**
PAD	68,5	68,3	0,96	73,4	73,1	0,87
% GC	38,4	36,4	0,000002*	38,1	34,1	0,000001*
MG	27,0	26,0	0,03*	29,5	26,9	0,0002*
MM	43,1	44,9	0,008*	47,5	50,1	0,0006*
CT	152,6	152,4	0,93	160,6	157,2	0,35
HDL-C	44,7	49,8	0,00006*	41,6	46,2	0,008*
LDL-C	88,4	87,5	0,72	95,3	92,4	0,39
TG	114,4	92,7	0,0002*	116,6	87,2	0,0003*
GLU 0	111,0	87,8	0,6	88,5	86,3	0,15
GLU 120	100,0	91,8	0,0002*	101,4	88,9	0,0002*
INS 0	17,3	13,7	0,0004*	15,8	13,5	0,13
INS 120	57,6	42,2	0,002*	61,4	34,8	0,00003*
HOMA-IR	2,7	1,8	0,002*	2,0	1,7	0,13
QUICKI	0,3	0,3	0,00001*	0,3	0,3	0,02*
FC REPOUSO	83,4	77,0	0,0001*	80,1	72,9	0,002*
FC MÁX	190,9	187,4	0,009*	197,0	193,3	0,01*
VO2 PICO	32,2	35,8	0,00004*	32,4	36,2	0,001*
VO2 ABS	2,3	2,5	0,01*	2,6	2,8	0,02*

\* valor de p significativo (<0,05).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

Para o polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11β1* houve uma resposta semelhante para os indivíduos não portadores de mutação (TT) e portadores (GT+GG). Os indivíduos de genótipo usual (TT) obtiveram uma diminuição significativa apenas para as variáveis CA, INS 0, e HOMA – IR, enquanto os indivíduos portadores da mutação não.

O IMC-escore Z apresentou diminuição significativa para indivíduos de ambos os genótipos. A CA apresentou diminuição significativa apenas para o genótipo usual (TT). Enquanto isso a % GC e a MG diminuíram para ambos os genótipos, e a massa corporal magra aumentou significativamente para ambos os genótipos. Pode-se concluir que a adiposidade diminuiu significativamente para os

indivíduos dos dois genótipos. Lee, Kang, Shin (2013), analisando mulheres coreanas adultas com excesso de peso submetidas a 3 meses de exercícios, constataram uma redução significativa do IMC e CA para todos os genótipos. Apesar disso, só ocorreu diminuição significativa da % GC nos indivíduos de genótipo GG.

O CT e o LDL-C não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos genótipos. Contudo o HDL-C aumentou significativamente para os dois genótipos, o que levou a uma melhora na qualidade do colesterol. Os níveis de TG diminuíram significativamente para os dois genótipos. De uma maneira geral, houve uma melhora no perfil lipídico após os 3 meses dos indivíduos de ambos os genótipos. Ainda no estudo de Lee, Kang, Shin (2013), foi constatada um aumento significativo de HDL-C nos indivíduos de genótipos GG e GT, mas não para os de genótipo TT.

A GLU 0 não mostrou diferença significativa para nenhum dos genótipos. Já a GLU 120 e INS 120 diminuíram significativamente para indivíduos de ambos os genótipos. A INS 0 diminuiu significativamente apenas para os indivíduos do genótipo usual. O mesmo ocorreu para o índice HOMA-IR, o que representa uma melhora na resistência à insulina em indivíduos de genótipo usual. O índice QUICKI apresentou aumento significativo para indivíduos de ambos os genótipos, o que representa uma melhora na sensibilidade à insulina para esses grupos.

As variáveis PAS e PAD não apresentaram nenhuma diferença significativa após os 3 meses de intervenção.

A FC REP e a FC MÁX diminuíram significativamente em ambos os genótipos. Enquanto isso as variáveis  $VO_2$  pico e  $VO_2$  abs aumentaram significativamente em ambos os genótipos. Isso demonstra uma melhora na aptidão cardiorrespiratória para os dois grupos.

Tabela 12 – Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs846910 do gene *HSD11β1*.

Variáveis	Genótipo usual GG			Portadores de mutação GA+AA		
	Média inicial	Média após 3 meses	p	Média inicial	Média após 3 meses	p
ESCORE Z	2,8	2,8	0,0001*	2,9	2,8	0,49
CA	94,2	95,3	0,08**	96,1	98,0	0,36
PAS	115,1	113,1	0,25	108,3	113,5	0,71
PAD	71,5	71,4	0,92	71,0	74,0	0,52
% GC	38,5	34,4	0,000006*	38,2	35,0	0,04*
MG	27,1	24,7	0,0007*	29,0	29,8	0,66
MM	42,5	47,1	0,0007*	46,2	50,0	0,05**
CT	160,9	162,2	0,74	169,4	158,4	0,07**
HDL-C	43,3	42,7	0,58	40,6	44,7	0,24
LDL-C	93,9	96,7	0,57	106,0	94,3	0,11
TG	117,1	117,6	0,71	108,2	88,1	0,04*
GLU 0	86,5	83,5	0,03*	87,0	86,0	0,67
GLU 120	97,1	87,5	0,02*	95,3	90,6	0,45
INS 0	14,6	10,3	0,002*	10,4	10,4	0,91
INS 120	31,7	23,2	0,04*	48,5	44,8	0,59
HOMA-IR	2,0	1,4	0,004*	1,5	1,3	0,65
QUICKI	0,3	0,3	0,0002*	0,3	0,3	0,89
FC REPOUSO	83,7	76,7	0,003*	88,5	81,2	0,07**
FC MÁX	180,6	181,4	0,91	185,6	170,0	0,08**
VO2 PICO	28,2	29,7	0,14	27,7	33,1	0,22
VO2 ABS	1,7	1,6	0,62	1,9	2,3	0,13

\* valor de p significativo (<0,05).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

Para o polimorfismo rs846910 do gene *HSD11β1* houve uma predominância de associação significativa com os indivíduos de genótipo usual (GG), o que não pôde ser visto com tanta frequência nos indivíduos de portadores da mutação (GA+AA). Ou seja, os indivíduos de genótipo usual obtiveram melhores resultados após a intervenção do que os de genótipo mutante.

Para o IMC-escore Z houve uma diminuição significativa no grupo de indivíduos com genótipo usual (GG), o que não aconteceu com o grupo de indivíduos com genótipo mutante (GA+AA). Concordante a isso, na CA houve uma diminuição significativa dos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu para os indivíduos de genótipo mutante.

Quando analisada a % GC, houve uma diminuição significativa para os dois genótipos. Apesar disso, a MG só apresentou diminuição para os indivíduos de genótipo usual e não para os portadores da mutação. Já a massa corporal magra apresentou um aumento significativo por parte dos indivíduos de genótipo usual e uma tendência de aumento por parte dos indivíduos de portadores da mutação. Essa desavença de informação pode ser explicada pelo fato de a diminuição da % de gordura no grupo portador da mutação ter sido perto do limiar ( $p = 0,0498$ ) e o aumento da MM no genótipo mutante ter apresentado uma tendência ( $p = 0,0515$ ).

A variável TG apresentou uma diminuição significativa nos indivíduos portadores da mutação e não nos de genótipo usual. Essa foi a única variável em que o genótipo mutante mostrou diminuição enquanto que o genótipo usual não.

Quando analisada a variável GLU 0 apareceu uma diminuição significativa nos indivíduos de genótipo usual, e não nos de genótipo mutante. O mesmo ocorreu para a GLU 120. Corroborando esses resultados a INS 0 e a INS 120 também apresentaram uma diminuição significativa nos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu para os de genótipo mutante.

O índice HOMA-IR diminuiu significativamente nos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu nos portadores da mutação. Isso demonstra que a intervenção diminuiu a resistência a insulina nos indivíduos de genótipo usual. Ratificando esse resultado, o índice QUICKI aumentou significativamente nos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu nos portadores da mutação. Isso demonstra que a sensibilidade à insulina pelos indivíduos de genótipo usual melhorou. Ou seja, indivíduos do genótipo usual obtiveram um melhor aproveitamento da insulina após os 3 meses de exercícios físicos e orientação nutricional.

Levando em consideração a FC em repouso houve uma diminuição significativa para os indivíduos de genótipo usual, e ocorreu apenas uma tendência para os indivíduos de genótipo mutante.

As variáveis PAS, PAD, CT, HDL, LDL, FC MÁX,  $VO_2$  pico e  $VO_2$  abs não apresentaram nenhuma associação significativa nem com o genótipo usual nem com a presença da mutação.

Tabela 13 – Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs696217 do gene *GHRL*.

Variáveis	Genótipo usual GG			Portadores de mutação GT+TT		
	Média inicial	Média após 3 meses	p	Média inicial	Média após 3 meses	p
ESCORE Z	2,7	2,4	0,00000*	2,7	2,7	0,79
CA	97,0	94,7	0,000008*	94,0	95,0	0,49
PAS	109,1	106,1	0,07**	108,5	111,8	0,33
PAD	70,6	69,8	0,61	68,5	71,7	0,32
% GC	38,7	36,1	0,00000*	36,2	33,1	0,003*
MG	28,5	27,0	0,0005*	26,7	24,8	0,05**
MM	45,1	46,5	0,0004*	46,0	52,2	0,04*
CT	154,3	153,3	0,65	155,0	154,5	0,91
HDL-C	44,3	49,5	0,000007*	38,7	41,6	0,15
LDL-C	90,5	88,5	0,4	89,3	90,6	0,78
TG	109,7	88,8	0,00003*	134,1	105,3	0,12
GLU 0	104,9	87,7	0,49	88,4	85,5	0,06**
GLU 120	100,3	89,5	0,00000*	95,2	93,6	0,58
INS 0	17,8	14,0	0,00006*	12,1	12,1	0,79
INS 120	64,7	42,6	0,000002*	27,7	21,7	0,2
HOMA-IR	2,6	1,8	0,0004*	1,7	1,6	0,57
QUICKI	0,3	0,3	0,00000*	0,3	0,3	0,44
FC REP	82,6	76,6	0,00001*	80,8	73,0	0,06**
FC MÁX	192,6	189,2	0,001*	193,0	187,5	0,22
VO2 PICO	32,3	35,8	0,000002*	32,2	36,6	0,08**
VO2 ABS	2,4	2,5	0,003*	2,4	2,6	0,08**

\* valor de p significativo (<0,05).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

Para o polimorfismo rs696217 do gene *GHRL* também ocorreu uma melhor resposta dos indivíduos do genótipo usual (GG) em comparação aos portadores da mutação (GT+TT).

O IMC-escore Z e a CA diminuíram significativamente nos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu nos portadores da mutação. Os dois grupos de genótipos apresentaram uma diminuição significativa em relação a variável % de gordura. Para a MG apenas o genótipo usual mostrou uma diminuição significativa, pois nos portadores da mutação apareceu apenas uma tendência a diminuição. A MM apresentou aumento significativo nos dois grupos de genótipos, o que explica o resultado da variável % GC.

O CT e o LDL-C não apresentaram nenhuma alteração significativa, mas o HDL-C aumentou significativamente no grupo de genótipo usual, o que não ocorreu no grupo de genótipo mutante. Pelo fato de o HDL-C ser uma lipoproteína que carrega o colesterol para ser catabolizado pelo fígado<sup>24</sup>, houve uma melhora na qualidade do colesterol dos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu para os de genótipo mutante. Os TG apresentaram uma diminuição significativa nos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu nos de genótipo mutante. De modo geral, houve uma melhora no perfil lipídico dos indivíduos de genótipo usual após a intervenção, o que não ocorreu para os portadores da mutação.

As variáveis GLU 120, INS 0 e INS 120 apresentaram uma diminuição significativa nos indivíduos de genótipo usual, mas não nos de genótipo mutante. Junto a esse fato, o índice HOMA-IR diminuiu significativamente e o índice QUICKI aumentou significativamente nos indivíduos de genótipo usual, o que não ocorreu para os de genótipo mutante. Com a diminuição da glucose, insulina e índice HOMA-IR, e aumento do índice QUICKI, os indivíduos de genótipo usual obtiveram uma melhora no quadro geral de glucose sanguínea, resistência e sensibilidade à insulina em comparação aos indivíduos portadores da mutação.

Levando em consideração a variável FC REP, houve uma diminuição significativa para os indivíduos de genótipo usual e apenas uma tendência de diminuição nos indivíduos portadores da mutação. Para a FC MÁX ocorreu uma diminuição significativa apenas para os indivíduos de genótipo usual e as variáveis VO<sub>2</sub> pico e VO<sub>2</sub> abs aumentaram significativamente apenas nos indivíduos de genótipo usual. Desse modo, houve uma melhora significativa na aptidão cardiorrespiratória dos indivíduos de genótipo usual (GG), o que não pode ser verificado nos portadores da mutação (GT+TT).

As variáveis PAS, PAD, GLU 0 não apresentaram nenhuma associação significativa com o genótipo usual ou com a presença da mutação.

Tabela 14 – Médias antes e depois das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs 8887 do gene *PLIN4*.

Variáveis	Genótipo usual CC			Portadores de mutação CT+TT		
	Média inicial	Média após 3 meses	p	Média inicial	Média após 3 meses	P
ESCORE Z	2,8	2,6	0,007*	2,8	2,7	0,001*
CA	96,4	96,4	0,98	94,9	94,7	0,76
PAS	112,9	113,2	0,88	113,7	109,6	0,14
PAD	73,2	74,0	0,98	70,9	70,2	0,83
% GC	37,8	34,6	0,0006*	39,6	36,0	0,0004*
MG	26,5	25,6	0,48	27,3	25,3	0,01*
MM	44,2	46,8	0,005*	41,4	45,9	0,009*
CT	153,3	149,4	0,45	160,5	163,9	0,31
HDL-C	47,3	48,4	0,3	44,7	46,5	0,51
LDL-C	90,2	87,7	0,64	95,6	98,0	0,55
TG	116,7	98,2	0,27	100,0	98,0	0,08**
GLU 0	135,3	82,8	0,8	88,1	85,9	0,22
GLU 120	92,1	85,3	0,04*	101,2	92,5	0,06**
INS 0	15,9	13,8	0,46	15,6	10,6	0,05**
INS 120	36,3	25,3	0,01*	43,6	32,5	0,09**
HOMA-IR	3,5	2,0	0,27	2,0	1,4	0,1
QUICKI	0,3	0,3	0,32	0,3	0,3	0,003*
FC REPOUSO	83,1	78,4	0,04*	83,7	76,8	0,01*
FC MÁX	192,1	190,6	0,7	189,7	184,7	0,02*
VO2 PICO	31,6	37,3	0,01*	31,5	34,4	0,01*
VO2 ABS	2,4	2,8	0,01*	2,0	2,0	0,86

\* valor de p significativo (<0,05).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

Para o polimorfismo rs8887 do gene *PLIN 4* houve uma melhor resposta ao exercício e orientação nutricional por parte dos indivíduos de genótipo usual. Esse fato seguiu o padrão de todos os outros polimorfismos discutidos até então.

Para a variável IMC-escore Z ocorreu uma diminuição significativa nos indivíduos de ambos os genótipos. Apesar disso, a CA não sofreu alteração significativa em nenhum dos genótipos.

A % GC diminuiu significativamente em indivíduos de ambos os genótipos, sendo que a massa corporal gorda não diminuiu significativamente em nenhum dos genótipos. Apesar disso, a MM aumentou significativamente em indivíduos de ambos os genótipos, o que explica a diminuição da % GC.



Não houve alteração significativa para o CT, HDL-C, LDL-C e TG.

A variável GLU 120 diminuiu significativamente em indivíduos de genótipo usual, enquanto os portadores da mutação apresentaram uma tendência de diminuição ( $p = 0,06$ ). Concordando com esse achado, a INS 120 também diminuiu em indivíduos de genótipo usual, e apresentou apenas uma tendência de diminuição nos indivíduos portadores da mutação. A GLU 0 não apresentou alteração significativa. Na INS 0 apareceu apenas uma tendência de diminuição nos indivíduos de genótipo mutante. O HOMA-IR também não apresentou alteração significativa em nenhum dos genótipos, indicando que não houve melhora na resistência à insulina. Apesar disso o índice QUICKI apresentou um aumento significativo apenas nos indivíduos portadores da mutação, mostrando que esses obtiveram uma melhora significativa na sensibilidade à insulina. Provavelmente esse resultado se deve ao fato de ocorrerem tendências de diminuição na GLU 120, INS 0 e INS 120.

Na FC REP apareceu uma diminuição significativa para ambos os genótipos. Apesar disso, na FC MÁX, a diminuição significativa apareceu apenas em indivíduos portadores da mutação, que, de um modo geral, obtiveram uma resposta de aptidão cardíaca melhor do que os indivíduos de genótipo usual.

Já no  $VO_2$  pico houve um aumento significativo para indivíduos de ambos os genótipos, e no  $VO_2$  abs, apenas um aumento significativo nos indivíduos de genótipo usual. De um modo geral, os indivíduos de genótipo usual obtiveram uma resposta de aptidão respiratória melhor do que os indivíduos de portadores da mutação.

As variáveis PAS e PAD não apresentaram alteração significativa para nenhum dos genótipos.

## Comparação das variáveis entre os genótipos

Para comparar as respostas dos grupos de indivíduos com genótipo usual e os portadores da mutação nas variáveis do estudo após a intervenção de 3 meses, foi utilizado o teste t de Student para variáveis paramétricas e o teste de Mann Whitney para variáveis não paramétricas. Na tabela 15 estão representadas as variáveis com o respectivo valor de p.

Tabela 15 –Comparação entre as médias dos genótipos usuais e portadores de mutação antes(1) e após 3 meses (3) dos cinco polimorfismos estudados.

Variáveis	HSD11β1 rs12086634			HSD11β1 rs846910			GRELINA			PLIN 4		
	Média TT Usual	Média GT+GG portadores	p	Média GG usual	Média GA+AA portadores	p	Média GG Usual	Média GT+TT portadores	p	Média CC Usual	Média CT+TT portadores	p
ESC Z 1	2,6	2,4	0,26	2,3	2,5	0,69	2,6	2,4	0,35	2,3	2,7	0,22
ESC Z 3	2,7	2,4	0,03*	2,7	2,8	0,75	2,4	2,7	0,36	2,6	2,7	0,71
CA 1	98,2	95,5	0,25	94,4	97,7	0,44	97,3	93,6	0,25	95,9	95,8	0,97
CA3	97,2	93,1	0,10	95,5	98,0	0,61	94,7	95,0	0,93	96,6	94,7	0,53
PAS 1	115,8	105,9	0,002*	115,8	105,9	0,76	115,8	105,9	0,88	113,0	113,8	0,64
PAS 3	112,6	104,0	0,006*	112,6	104,0	0,69	112,6	104,0	0,08**	113,2	109,6	0,32
PAD 1	72,3	68,1	0,15	72,3	68,1	0,41	72,3	68,1	0,21	71,3	70,5	0,92
PAD 3	73,1	68,5	0,02*	73,1	68,5	0,35	73,1	68,5	0,30	74,0	70,6	0,23
% G 1	38,1	38,1	0,97	38,3	38,2	0,97	38,5	36,2	0,26	37,7	39,1	0,56
% G 3	34,1	36,6	0,11	34,5	36,2	0,63	36,3	33,1	0,17	34,5	36,4	0,48
G Kg 1	30,0	26,8	0,07**	26,9	29,0	0,62	28,6	26,7	0,48	27,3	27,0	0,90
G Kg 3	26,9	26,3	0,78	24,5	30,7	0,15	27,2	24,8	0,41	25,1	25,8	0,79
MM1	48,2	43,4	0,01*	42,7	46,2	0,44	45,6	46,0	0,90	45,6	42,0	0,26
MM3	50,1	45,0	0,01*	46,4	49,6	0,54	46,5	52,2	0,07**	46,0	45,8	0,96
CT 1	161,4	155,8	0,45	165,6	163,8	0,90	158,4	152,2	0,54	156,7	164,6	0,44
CT3	157,2	152,4	0,50	162,2	158,4	0,74	153,3	154,5	0,91	149,4	163,9	0,11

Variáveis	HSD11β1 rs12086634			HSD11β1 rs846910			GRELINA			PLIN 4		
	Média TT Usual	Média GT+GG portadores	p	Média GG usual	Média GA+AA portadores	p	Média GG Usual	Média GT+TT portadores	p	Média CC Usual	Média CT+TT portadores	p
HDL 1	42,6	44,1	0,57	42,6	44,1	0,29	42,6	44,1	0,15	45,8	44,8	0,54
HDL 3	46,2	49,8	0,24	46,2	49,8	0,78	46,2	49,8	0,03*	48,4	46,5	0,55
LDL 1	93,2	90,0	0,56	93,9	100,4	0,59	91,5	88,4	0,68	91,2	94,4	0,68
LDL 3	92,4	87,5	0,39	96,7	94,3	0,82	88,5	90,6	0,80	87,7	98,0	0,15
TG 1	113,6	123,2	0,90	113,6	123,2	0,96	113,6	123,2	0,93	126,1	108,5	0,69
TG 3	87,2	91,9	0,72	87,2	91,9	0,23	87,2	91,9	0,22	98,2	98,0	0,57
GLU 0 1	88,1	107,9	0,79	88,1	107,9	0,70	88,1	107,9	0,56	125,0	87,4	0,25
GLU 0 3	86,3	87,8	0,23	86,3	87,8	0,84	86,3	87,8	0,29	82,8	85,9	0,76
GLU 120 1	100,0	99,6	0,92	96,4	98,4	0,82	100,0	99,6	0,37	95,5	97,6	0,67
GLU 120 3	88,9	91,8	0,42	87,5	90,6	0,67	88,9	91,8	0,45	85,3	92,5	0,11
INS 0 1	15,7	17,2	0,37	15,7	17,2	0,34	15,7	17,2	0,08**	15,3	16,1	0,22
INS 0 3	13,5	13,7	0,54	13,5	13,7	0,68	13,5	13,7	0,51	13,8	10,6	0,66
INS 120 1	63,0	55,1	0,44	63,0	55,1	0,23	63,0	55,1	0,03*	38,0	50,8	0,69
INS 120 3	34,5	40,6	0,52	34,5	40,6	0,06**	34,5	40,6	0,12	26,4	32,1	0,71
HOMA-IR 1	2,0	2,7	0,25	2,0	2,7	0,55	2,0	2,7	0,15	3,4	2,0	1,0
HOMA-IR 3	1,7	1,8	0,67	1,7	1,8	0,78	1,7	1,8	0,71	1,9	1,4	0,51
QUICKI 1	0,3	0,3	0,28	0,3	0,3	0,18	0,3	0,3	0,06**	0,3	0,3	0,37
QUICKI 3	0,3	0,3	0,49	0,3	0,3	1,0	0,3	0,3	0,41	0,3	0,3	0,58
FC rep 1	81,4	83,6	0,40	81,4	83,6	0,63	81,4	83,6	0,55	84,5	83,7	0,85
FC rep 3	72,9	77,7	0,02*	72,9	77,7	0,38	72,9	77,7	0,28	78,4	76,8	0,74
FC MAX 1	194,5	190,8	0,19	186,5	185,6	0,89	191,9	192,8	0,82	191,5	189,0	0,56
FC MAX 3	192,9	187,4	0,09**	182,0	170,0	0,12	189,2	187,5	0,74	190,6	184,7	0,39
VO2 PICO 1	31,3	31,6	0,77	28,1	27,7	0,88	31,5	31,7	0,89	30,9	29,4	0,46
VO2 PICO 3	36,2	35,8	0,83	29,7	33,1	0,21	35,8	36,6	0,78	37,3	34,4	0,42
VO2 ABS 1	2,6	2,2	0,02*	2,0	1,9	0,82	2,4	2,2	0,51	2,4	2,0	0,14
VO2 ABS 3	2,8	2,5	0,11	1,6	2,3	0,18	2,5	2,6	0,73	2,8	2,0	0,06**

1 = inicial

3 = após 3 meses

\* valor de p significativo ( $<0,05$ ).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

Levando em consideração o polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1*, foram encontradas algumas associações significativas, discutidas abaixo.

O IMC-escore Z inicial era igual nos indivíduos de ambos os genótipos. Mas após a intervenção, os indivíduos de genótipo usual apresentaram um IMC-escore Z significativamente maior do que os portadores de mutação, mostrando que obtiveram uma pior resposta aos exercícios e orientação nutricional.

A FC REP inicial era igual nos indivíduos de ambos os genótipos. Apesar disso, após a intervenção houve uma melhor resposta por parte dos indivíduos de genótipo usual, que apresentaram um valor significativamente menor que os portadores da mutação.

A PAS inicial e após a intervenção apresentou-se significativamente menor nos portadores da mutação (GA+AA). Isso demonstra que esse genótipo normalmente (sem exercício físico) apresenta um valor menor do que o do genótipo usual, apesar de ambos terem respondido similarmente à intervenção. No estudo de Gandhi *et al.*<sup>21</sup>, em uma população sul indiana, em que 105 indivíduos com síndrome metabólica foram comparados com 100 controles, foi encontrado que em pacientes com a síndrome metabólica com o genótipo heterozigoto (do polimorfismo rs12806634 do gene *HSD11 $\beta$ 1*) apresentaram maiores valores de PAS e também maiores valores de CT comparados aos homozigotos.

Já a PAD inicial era igual nos indivíduos de ambos os genótipos. Mas após a intervenção, os indivíduos de genótipo mutante apresentaram valor significativamente menor do que os indivíduos de genótipo usual. Ou seja, os portadores da mutação obtiveram uma melhor resposta à intervenção do que os de genótipo usual.

Os valores de MM inicial e final foram significativamente menores nos portadores da mutação. Isso demonstra que o genótipo usual apresenta maior MM do que os de genótipo mutante, independente da intervenção.

O VO<sub>2</sub> abs inicial era maior nos indivíduos de genótipo usual. Mas após a intervenção os valores dos dois genótipos não revelaram diferença significativa. Isso provavelmente demonstra que os indivíduos de genótipo usual têm normalmente melhores valores de VO<sub>2</sub> abs, mas praticando atividades físicas, os dois genótipos tem o mesmo desempenho.

Para o polimorfismo rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1* não foi encontrada nenhuma associação significativa antes ou após a intervenção. Já no estudo de

Duran-Gonzalez *et al.*<sup>21</sup>, com adolescentes mexicanos obesos, foi encontrada associação entre o alelo A desse polimorfismo e as variáveis HOMA-IR ( $p = 0,04$ ) e TG ( $P = 0,03$ ).

Levando em consideração o polimorfismo do gene *GHRL*, foram encontradas algumas associações significativas, discutidas abaixo.

O HDL-C inicial não demonstrou nenhuma diferença significativa entre os indivíduos de genótipo usual e os portadores da mutação. Mas após a intervenção, os portadores da mutação apresentaram valores significativamente maiores do que os de genótipo usual. Como não houve diferenças antes nem após a intervenção para o CT e LDL-C, considera-se que houve uma melhora na qualidade do colesterol, após os exercícios, para os portadores da mutação.

No estudo de Takezawa *et al.*<sup>24</sup>, em que foram avaliados adultos japoneses, foram encontradas maiores concentrações de GLU 0 para indivíduos do genótipo TT. Quando analisadas as variáveis CT, LDL-C e HDL-C, as concentrações eram menores em indivíduos desse mesmo genótipo.

Não foi encontrada diferença significativa de IMC-escore z entre indivíduos de genótipo usual e portadores da mutação no presente estudo. Resultados similares foram encontrados por Dantas *et al.*<sup>8</sup> num estudo com adultos obesos numa população caucasiana de Curitiba, PR.

Para a INS 120 inicial, havia um valor significativamente menor nos indivíduos portadores da mutação. Mas após a intervenção, essa diferença significativa desapareceu.

Para o polimorfismo do gene *PLIN 4* não foi encontrada nenhuma associação significativa antes ou após a intervenção. Levando em conta que existe um desequilíbrio de ligação entre os genes *PLIN 1* e *PLIN 4*<sup>25</sup>, o achado no presente estudo contraria os resultados de Deram *et al.*<sup>26</sup> que encontraram diferença significativa entre os dois genótipos do polimorfismo rs894160 do gene *PLIN 1*, antes de uma intervenção de exercícios físicos de 5 meses. Foi encontrada maior quantidade de TG ( $p = 0,003$ ) e menor quantidade de HDL-C ( $p = 0,003$ ) para o alelo A (mutante). Além disso, também foi encontrado que o mesmo alelo estava associado com concentrações maiores de insulina ( $p = 0,034$ ) e o índice HOMA-IR ( $p = 0,015$ ). Confirmando o presente estudo, Deram *et al.* (2008) também não encontraram associação significativa entre glucose, CT e composição corporal e o polimorfismo do gene *PLIN1*.

Soenen *et al.*<sup>25</sup> estudaram 118 adultos (mulheres e homens de 20-65 anos) que passaram por uma dieta de baixa caloria por 6 semanas, e mais um ano de controle do peso. Nesse estudo, para os homens, foram encontrados valores significativamente menores de peso, IMC, CA, massa gorda para o alelo mutante (alelo menor) antes da intervenção, o que se manteve durante todo o período da intervenção nutricional. Já para mulheres, ocorreu uma maior perda de peso e massa gorda nos indivíduos portadores da mutação ao longo de todo estudo. Soenen *et al.*<sup>25</sup> concluíram que pelas mulheres perderem mais peso e massa gorda ao longo do tempo, elas apresentam mais flexibilidade e responsividade para intervenções de perda de peso.

### **Frequências alélicas abaixo e acima da mediana**

Após os testes básicos de estatística, foi calculada a diferença entre os resultados das variáveis iniciais e após 3 meses. Logo em seguida foi calculada a mediana dessa diferença, e o número 0 (zero) foi atribuído para valores abaixo da mediana e o número 1 (um) foi atribuído para valores acima da mediana, tornando cada variável em uma distribuição binomial. Frequências alélicas foram calculadas para os indivíduos abaixo e acima da mediana. Esses valores estão demonstrados nas tabelas a seguir (Tabela 16, 17, 18 e 19), junto com o respectivo valor de p (de qui-quadrado). As frequências que obtiveram um valor de p significativo ( $< 0,05$ ) sugerem a influência do alelo em questão na resposta das variáveis.

Tabela 16 – Frequências alélicas ( $\pm$  EP) acima e abaixo da mediana para o rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1* e valores de p para as comparações entre estas frequências.

Variáveis	ABAIXO		ACIMA		p
	Freq + EP alelo G	Freq + EP alelo T	Freq + EP alelo G	Freq + EP alelo T	
Peso	0,16 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,04	0,75 $\pm$ 0,04	0,18
Escore-z	0,19 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,04	0,55
CA	0,22 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,04	0,18 $\pm$ 0,04	0,81 $\pm$ 0,04	0,46
PAS	0,15 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04	0,25 $\pm$ 0,04	0,74 $\pm$ 0,04	0,27
PAD	0,20 $\pm$ 0,04	0,79 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	0,84
% GC	0,13 $\pm$ 0,03	0,86 $\pm$ 0,03	0,30 $\pm$ 0,05	0,70 $\pm$ 0,05	0,01*
MG	0,16 $\pm$ 0,04	0,83 $\pm$ 0,04	0,26 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,04	0,10
MM	0,31 $\pm$ 0,05	0,68 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,03	0,87 $\pm$ 0,03	0,003*
CT	0,22 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	0,87
HDL-C	0,16 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,03	0,28 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,04	0,06**
LDL-C	0,21 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	1,00
TG	0,26 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,04	0,18 $\pm$ 0,03	0,81 $\pm$ 0,03	0,19
TSH	0,15 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04	0,25 $\pm$ 0,04	0,74 $\pm$ 0,04	0,11
GLU 0	0,14 $\pm$ 0,03	0,85 $\pm$ 0,03	0,28 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,04	0,02*
GLU 120	0,18 $\pm$ 0,04	0,81 $\pm$ 0,04	0,26 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,04	0,22
INS 0	0,25 $\pm$ 0,04	0,74 $\pm$ 0,04	0,17 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,04	0,20
INS 120	0,19 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,05	0,72 $\pm$ 0,05	0,26
HOMA-IR	0,28 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,03	0,85 $\pm$ 0,03	0,02*
QUICKI	0,19 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	0,78
FC REP	0,19 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,04	0,64
FC MÁX	0,19 $\pm$ 0,05	0,80 $\pm$ 0,05	0,15 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04	0,56
VO2 PICO	0,20 $\pm$ 0,05	0,79 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,04	0,39
VO2 ABS	0,16 $\pm$ 0,04	0,83 $\pm$ 0,04	0,17 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,04	0,87

\* valor de p significativo ( $<0,05$ )

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ )

No polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1* apareceram diferenças entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana para as variáveis % GC, MM, GLU 0 e HOMA-IR. Desse modo, é possível que o polimorfismo em questão esteja influenciando na resposta dessas variáveis.



Tabela 17 – Frequências ( $\pm$  EP) alélicas acima e abaixo da mediana para o rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1* e valores de p para as comparações entre estas frequências.

Variáveis	ABAIXO		ACIMA		p
	Freq + EP alelo G	Freq + EP alelo A	Freq + EP alelo G	Freq + EP alelo A	
Peso	0,91 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,85 $\pm$ 0,07	0,15 $\pm$ 0,07	0,36
Escore-z	0,90 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,04	0,88 $\pm$ 0,06	0,11 $\pm$ 0,06	0,79
CA	0,89 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03	0,90 $\pm$ 0,06	0,10 $\pm$ 0,06	0,96
PAS	0,88 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	0,92 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,04	0,55
PAD	0,88 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	0,92 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,04	0,55
% GC	0,91 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,05	0,90 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,04	0,87
MG	0,88 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,05	0,93 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,04	0,43
MM	0,88 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	0,95 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,04	0,36
CT	0,97 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,02	0,71 $\pm$ 0,07	0,28 $\pm$ 0,07	0,002*
HDL-C	0,81 $\pm$ 0,09	0,18 $\pm$ 0,09	0,86 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,04	0,60
LDL-C	0,97 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,02	0,73 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,07	0,004*
TG	0,90 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,07	0,21 $\pm$ 0,07	0,16
TSH	0,90 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,07	0,20 $\pm$ 0,07	0,23
GLU 0	0,90 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,05	0,83 $\pm$ 0,05	0,16 $\pm$ 0,05	0,36
GLU 120	0,85 $\pm$ 0,06	0,14 $\pm$ 0,06	0,79 $\pm$ 0,08	0,20 $\pm$ 0,08	0,53
INS 0	0,80 $\pm$ 0,06	0,20 $\pm$ 0,06	0,94 $\pm$ 0,04	0,05 $\pm$ 0,04	0,07**
INS 120	0,80 $\pm$ 0,07	0,19 $\pm$ 0,07	0,75 $\pm$ 0,15	0,25 $\pm$ 0,15	0,72
HOMA-IR	0,84 $\pm$ 0,06	0,15 $\pm$ 0,06	0,94 $\pm$ 0,04	0,05 $\pm$ 0,04	0,19
QUICKI	0,92 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,04	0,89 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,05	0,64
FC REP	0,94 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,03	0,86 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,05	0,23
FC MÁX	1,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,70 $\pm$ 0,14	0,30 $\pm$ 0,14	0,13
VO2 PICO	0,80 $\pm$ 0,12	0,20 $\pm$ 0,12	0,91 $\pm$ 0,07	0,08 $\pm$ 0,07	0,42
VO2 ABS	0,75 $\pm$ 0,12	0,25 $\pm$ 0,12	1,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,06**

\* valor de p significativo (<0,05)

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ )

No polimorfismo rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1* foram encontradas diferenças significativas entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana nas variáveis CT e LDL. Portanto, é possível que haja uma influência, por parte do polimorfismo em questão, na resposta dessas variáveis.

Tabela 18 – Frequências alélicas ( $\pm$  EP) acima e abaixo da mediana para o rs696217 do gene *GHRL* e valores de p para as comparações entre estas frequências.

Variáveis	ABAIXO		ACIMA		p
	Freq + EP alelo G (L72)	Freq + EP alelo T (M72)	Freq + EP alelo G (L72)	Freq + EP alelo T (M72)	
Peso	0,90 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03	0,95 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,13
Escore-z	0,87 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,03	0,97 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,008*
CA	0,88 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,03	0,96 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,04*
PAS	0,87 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,03	0,96 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,01*
PAD	0,92 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	0,93 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,77
% GC	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,88 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,03	0,24
MG	0,90 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03	0,93 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,43
MM	0,88 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,03	0,95 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,12
CT	0,92 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	0,93 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,96
HDL-C	0,95 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,90 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03	0,17
LDL-C	0,91 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,57
TG	0,93 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,92 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	0,66
TSH	0,95 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,41
GLU 0	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,46
GLU 120	0,85 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,04	0,98 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,01	0,002*
INS 0	0,91 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,32
INS 120	0,88 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	0,95 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,12
HOMA-IR	0,91 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,52
QUICKI	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,90 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,03	0,36
FC REP	0,94 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,43
FC MÁX	0,92 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,03	0,95 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,5
VO2 PICO	0,96 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,22
VO2 ABS	0,95 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,93 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,03	0,63

\* valor de p significativo ( $<0,05$ ).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

Para o polimorfismo do gene *GHRL* foram encontradas diferenças significativas entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana nas variáveis IMC- escore Z, PAS e GLU 120. Ou seja, existe a possibilidade do polimorfismo estar influenciando na resposta dessas variáveis.

Tabela 19 – Frequências alélicas ( $\pm$  EP ) acima e abaixo da mediana para o rs8887 do gene *PLIN4* e valores de p para as comparações entre estas frequências.

Variáveis	ABAIXO		ACIMA		p
	Freq + EP alelo G276	Freq + EP alelo T276	Freq + EP alelo G276	Freq + EP alelo T276	
Peso	0,69 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,05	0,61 $\pm$ 0,08	0,38 $\pm$ 0,08	0,41
Escore-z	0,70 $\pm$ 0,05	0,29 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,07	0,39 $\pm$ 0,07	0,31
CA	0,69 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,07	0,39 $\pm$ 0,07	0,36
PAS	0,72 $\pm$ 0,06	0,27 $\pm$ 0,06	0,61 $\pm$ 0,06	0,38 $\pm$ 0,06	0,20
PAD	0,60 $\pm$ 0,06	0,40 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,06	0,26 $\pm$ 0,06	0,16
% GC	0,75 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,07	0,60 $\pm$ 0,06	0,40 $\pm$ 0,06	0,16
MG	0,71 $\pm$ 0,06	0,28 $\pm$ 0,06	0,60 $\pm$ 0,07	0,40 $\pm$ 0,07	0,27
MM	0,69 $\pm$ 0,06	0,30 $\pm$ 0,06	0,60 $\pm$ 0,08	0,40 $\pm$ 0,08	0,39
CT	0,65 $\pm$ 0,06	0,34 $\pm$ 0,06	0,71 $\pm$ 0,07	0,28 $\pm$ 0,07	0,56
HDL-C	0,60 $\pm$ 0,09	0,39 $\pm$ 0,09	0,70 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,05	0,38
LDL-C	0,66 $\pm$ 0,06	0,34 $\pm$ 0,06	0,70 $\pm$ 0,07	0,30 $\pm$ 0,07	0,68
TG	0,63 $\pm$ 0,06	0,36 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,07	0,30
TSH	0,70 $\pm$ 0,06	0,29 $\pm$ 0,06	0,63 $\pm$ 0,07	0,36 $\pm$ 0,07	0,49
GLU 0	0,68 $\pm$ 0,06	0,32 $\pm$ 0,06	0,68 $\pm$ 0,07	0,31 $\pm$ 0,07	0,98
GLU 120	0,69 $\pm$ 0,07	0,30 $\pm$ 0,07	0,66 $\pm$ 0,08	0,33 $\pm$ 0,08	0,83
INS 0	0,73 $\pm$ 0,06	0,26 $\pm$ 0,06	0,61 $\pm$ 0,07	0,38 $\pm$ 0,07	0,24
INS 120	0,75 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,07	0,50 $\pm$ 0,11	0,50 $\pm$ 0,11	0,06**
HOMA-IR	0,71 $\pm$ 0,06	0,28 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,07	0,40 $\pm$ 0,07	0,22
QUICKI	0,65 $\pm$ 0,07	0,34 $\pm$ 0,07	0,69 $\pm$ 0,07	0,30 $\pm$ 0,07	0,70
FC REP	0,62 $\pm$ 0,06	0,37 $\pm$ 0,06	0,70 $\pm$ 0,06	0,29 $\pm$ 0,06	0,39
FC MÁX	0,72 $\pm$ 0,09	0,27 $\pm$ 0,09	0,62 $\pm$ 0,12	0,37 $\pm$ 0,12	0,50
VO2 PICO	0,68 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,09	0,54 $\pm$ 0,10	0,45 $\pm$ 0,10	0,35
VO2 ABS	0,65 $\pm$ 0,09	0,34 $\pm$ 0,09	0,55 $\pm$ 0,11	0,45 $\pm$ 0,11	0,47

\* valor de p significativo ( $<0,05$ )

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ )

Para o polimorfismo do gene *PLIN4* não ocorreram diferenças significativas entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana nas variáveis do estudo. Desse modo, não foi encontrado nenhum indício de que o polimorfismo em questão influencie a resposta das variáveis estudadas.

### Regressão logística

Finalmente, para ratificar os resultados das frequências alélicas abaixo e acima da mediana, foi calculada a regressão logística de cada variável. Para isso, a resposta (acima e abaixo da mediana) de cada variável antropométrica e bioquímica foi considerada como variável dependente, e para as variáveis independentes foram

utilizados os cinco polimorfismos estudados (genótipo usual e portadores da mutação), sexo e idade. As variáveis que deram significativas estão demonstradas na tabela 20 abaixo, demonstrando que nessas variáveis, os genótipos atuam como fatores independentes de influência. Ou seja, não existe distorção na análise estatística decorrente de outros fatores analisados.

Tabela 20 – Regressão logística das variáveis estudadas.

Variáveis	HSD11 $\beta$ 1rs 12086634		HSD11 $\beta$ 1 rs846910		GHRL	
	$\beta \pm EP$	p	$\beta \pm EP$	p	$\beta \pm EP$	p
PAS	1,861 $\pm$ 0,924	0,02*	---	---	-22,029 $\pm$ 18.841,48	0,003*
% GC	1,792 $\pm$ 0,95	0,04*	---	---	---	---
CT	---	---	2,27 $\pm$ 1,24	0,06**	---	---
LDL-C	---	---	2,27 $\pm$ 1,24	0,06**	---	---
TG	-0,526	0,09**	---	---	---	---
INS 0	---	---	-21,407 $\pm$ 13.355,61	0,002*	---	---
HOMA-IR	---	---	-21,455 $\pm$ 13.485,17	0,01*	---	---
FC MÁX	---	---	---	0,09**	---	---
VO2 PICO	---	0,07**	---	---	---	---

\* p significativo (<0,05).

\*\* p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

O polimorfismo do gene *PLIN 4* não apresentou valores significativos de regressão. Como também não foi encontrada nenhuma significância entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana, esse estudo sugere que o polimorfismo rs8887 não atua como um fator de risco para as variáveis estudadas.

Para a variável PAS, dois polimorfismos apresentaram valores significativos de regressão: o polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1* e o polimorfismo do gene *GHRL*. Para o polimorfismo do gene *GHRL* as frequências alélicas acima e abaixo da mediana também apresentaram valor significativo ( $p = 0,0183$ ), o que corrobora a regressão, indicando que esse polimorfismo é um fator de risco independente para a PAS. Além disso, após a intervenção, apareceu uma tendência de menor PAS nos portadores de mutação. Já no polimorfismo do gene *HSD11 $\beta$ 1* não ocorreu valor significativo ( $p = 0,2733$ ) para as frequências alélicas acima e abaixo da média, o que pode significar que a resposta pode estar mascarada por outra co-variável nas frequências alélicas, o que foi neutralizado na regressão logística. O tamanho da amostra também pode estar interferindo, ou pode ser um

efeito do genótipo e não do alelo. Apesar disso, tanto antes e quanto após a intervenção, a PAS foi menor em portadores da mutação.

Segundo Nagaya *et al.*<sup>27</sup> a grelina é um hormônio que interfere na pressão arterial, pois após injeção intravenosa de grelina em ratos ocorreu uma diminuição significativa na média da pressão arterial (-12mmHg,  $p < 0,05$ ) sem mudança significativa na frequência cardíaca ( $p=0,39$ ). Isso pode ser devido ao fato da grelina apresentar um efeito vasodilatador sistêmico que independe do endotélio<sup>28, 29</sup>.

No estudo de Choiet *al.*<sup>23</sup>, no qual foi analisada uma população adulta coreana, também não foram encontradas associações entre as variáveis GLU 0, índice HOMA-IR e HDL-C com o polimorfismo rs696217 do gene *GHRL*.

No cálculo de regressão da variável % GC apareceu que o polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1* apresentou valor significativo. Esse resultado confirma o resultado das diferentes frequências alélicas acima e abaixo da mediana ( $p = 0,0103$ ), demonstrando que o polimorfismo desse gene é um fator de risco independente para a % GC. Não houve diferença entre os portadores e não portadores de mutação antes nem após a intervenção para essa variável. Talvez outras co-variáveis interferiram, o que não acontece na regressão.

Analisando a variável TG apareceu um valor significativo da regressão para o polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1*. Apesar disso, não foi encontrada diferença significativa ( $p = 0,1938$ ) entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana. Isso pode sugerir que a resposta pode estar mascarada por outra co-variável nas frequências alélicas, o que foi neutralizado na regressão logística.

Para o índice HOMA-IR a regressão apresentou valor significativo para o polimorfismo rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1*. Apesar disso, não foi encontrada diferença significativa ( $p = 0,1989$ ) entre as frequências alélicas acima e abaixo da mediana para esse polimorfismo. O que poderia explicar essa situação é a resposta da frequência alélica estar sendo mascarada por outra co-variável, e na regressão logística essa co-variável ter sido neutralizada. Também pode ser um efeito apenas do genótipo, e não do alelo.

Algumas diferenças entre frequências alélicas acima e abaixo da mediana foram significativas, apesar de não aparecerem valores significativos na regressão logística. Provavelmente isso se deve ao fato de que a amostra é pequena, e na frequência alélica o N é maior (devido aos alelos), enquanto na regressão são levados em conta genótipo usual versus mutante, em que o n é menor.

## REFERÊNCIAS

1. GIBNEY, M.J.; VORSTER, H.H.; KOK, F.J. **Introdução à nutrição humana**. 1ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.39.
  
2. BRAY, G.A. Medical consequences of obesity. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**. v.89, p.2583-2589, 2004.
  
3. DUARTE, A.C.G. **Avaliação Nutricional: aspectos clínicos e laboratoriais**. 1ª edição. São Paulo: Atheneu. 2007.
  
4. MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9ª edição. São Paulo: Roca. 1998.
  
5. RICCARDI, G.; GIACCOB, R. A. A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Rivellesea Clinical Nutrition**. v..23, p. 447–456, 2004.
  
6. LUSIS, A.J; ATTIE, A.D.; REUE, K. Metabolic Syndrome: from epidemiology to systems biology. **Nature review genetic**. v.9, p. 819–830, 2008.
  
7. ANDREWS, R.C.; HERLIHY, O.; LIVINGSTONE, D.E.W.; ANDREW, R.; WALKER, B.R. Abnormal cortisol metabolism and tissue sensitivity to cortisol in patients with glucose intolerance. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v.87, n.12, p. 5587–5593, 2002.
  
8. DANTAS, V.G.L.; FURTADO-ALLE, L. SOUZA, R.L.R.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Obesity and variants of the GHRL (ghrelin) and BCHE (butyrylcholinesterase) genes. **Genetics and Molecular Biology**. v. 34, n.2, p.205-207, 2011.
  
9. HINEY, A.; HOCH, A.; GELLER, F.; SCHÄFER, H.; SIEGFRIED, W.; GOLDSCHMIT, H.; REMSCHMIDT, H.; HEBEBRAND, J. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 87, n.6, p. 2.716-2.719, 2002.

10. CASTRO-CHAVEZ, F.; YECHOOR, K.; SAHA, P.K.; MARTINEZ-BTAS, J.; WOOTEN, E.C.; SHARMA, S.; O'CONNEL, P.; TAEGTMEYER, H.; CHAN, L. Coordinated upregulation of oxidative pathways and downregulation of lipid biosynthesis underlie obesity resistance in perilipin knockout mice: a microarray gene expression profile. **American Diabetes Association**. v. 52, p. 2666 - 2674, nov., 2003.
11. CUSANO, N.E.; KIEL, D.P.; DEMISSIE, S.; KARASIK, D.; CUPPLES, L.A.; CORELLA, D.; GAO, Q.; RICHARDSON, K.; YIANNAKOURIS, N.; ORDOVAS, J.M. A polymorphism in a gene encoding perilipin 4 is associated with height but not with bone measures in individuals from the framingham osteoporosis study. **Calcified Tissue International**. v.90, p. 96 - 107, 2012.
12. HALL, A.M.; BRUNT, E.M.; CHEN, Z.; VISWAKARMA, N.; REDDY, J.K.; WOLINS, N.E.; FINCK, B.N. Dynamic and differential regulation of proteins that coat lipid droplets in fatty liver dystrophic mice. **Journal of Lipid Research**. v. 51, p. 554-563, 2010.
13. ROWLAND, TW. **Exercise and Children's Health**. Champaign, Ill: Human Kinetics Books; 1990.
14. MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. R.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A. ; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**. v. 28, p. 412-419, 1985.
15. KATZ, A.; NAMBI, S.S.; MATHER, K.; BARON, A.D.; FOLLMANN, D.A.; SULLIVAN, G.; QUON, M.J. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 85, n. 7, p. 2402-2410, 2000.
16. BIGNON, J.; FERNANDEZ-VIÑA, M. Protocols of the 12th International Histocompatibility Workshop for typing of HLA class II alleles by DNA amplification by the polymerase chain reaction (PCR) and hybridization with sequence specific oligonucleotide probes (SSOP). In: Charron D (ed) Genetic Diversity of HLA. Functional and Medical Implications. **Medical and Scientific International Publisher**, Sèvres, p. 584-595, 1997.
17. SHAM, P.C.; CURTIS, D. Monte Carlo tests for associations between disease and alleles at highly loci. **Annals of Human Genetics**. v. 59, p. 97-105, 1995.

18. 1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM. Abecasis, G.R.; Auton, A.; Brooks, L.D.; DePristo, M.A.; Durbin, R.M.; Handsaker, R.E.; Kang, H.M.; Marth, G.T.; Mcvean, G.A. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. **Nature**. v. 491, p. 56–65, 2012.
19. GANDHI, K.; ADHIKARI, P.; BASU, A.; ACHAPPA MBBS, B. Association Between a 11b-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Gene Polymorphism and Metabolic Syndrome in a South Indian Population. **Metabolic Syndrome And Related Disorders**. v. X, n. X, p.1-6, 2013.
20. INTERNATIONAL HAPMAP PROJECT. HapMap Genome Browser release #28 ( Phases 1, 2 & 3 – merged genotypes & frequencies). Disponível em <<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>>, acessado dia 14 de fevereiro de 2014.
21. DURAN-GONZALEZ, J.; ORTIZ, I.; GONZALES, E.; RUIZ, N.; ORTIZ, M.; GONZALEZ, A.; SANCHEZ, E.K.; CURET, E.; FISHER-HOCH, S.; RENTFRO, A.; QU, H.; NAIR, S. Association Study of Candidate Gene Polymorphisms and Obesity in a Young Mexican-American Population from South Texas. **Archives of Medical Research**. v. 42, p. 523 – 531, 2011.
22. TAKEZAWA, J.; YAMADA, K.; MORITA, A.; AIBA, N.; WATANABE, S. Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese: Association with diabetes mellitus in men and with metabolic syndrome parameters in women. **Obesity Research & Clinical Practice**. v. 3, p. 179 – 191, 2009.
23. CHOI, H.J.; CHO, Y.M.; MOON, M.K.; CHOI, H.H.; SHIN, H.D.; JANG, H.C.; KIM, S.Y.; LEE, H.K.; PARK, H.S. Polymorphisms in the Ghrelin Gene Are Associated with Serum High-Density Lipoprotein Cholesterol Level and not with Type 2 Diabetes Mellitus in Koreans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 91, n. 11, p. 4657–4663, 2006.
24. FIELDING, C.J.; FIELDING, P.E. Molecular transport physiology of reverse cholesterol. **Journal of Lipid Research**. v. 36, p.211- 228, 1995.
25. SOENEN, S.; MARIMAN, E.C.M.; VOGELS, N.; BOUWMAN, F.G.; DEN HOED, M.; BROWN, L.; WESTERTERP-PLANTENGA, M.S. Relationship between perilipin gene polymorphisms and body weight and body composition during weight loss and weight maintenance. **Physiology & Behavior**. v. 96, p 723–728, 2009.
26. DERAM, S.; NICOLAU, C.Y.; PEREZ-MARTINEZ, P.; GUAZZELLI, I.; HALPERN, A.; WAJCHENBERG, B.L.; ORDOVAS, J.M.; VILLARES, S.M. Effects of perilipin (*plin*) gene variation on metabolic syndrome risk and weight loss in obese



children and adolescents. **J Clin Endocrinol Metab.** V. 93, n. 12, p.4933–4940, 2008.

27. NAGAYA, N.; KOJIMA, M.; UEMATSU, M.; YAMAGISHI, M.; HOSODA, H.; OYA, H.; HAYASHI, Y.; KANGAWA, K. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.** v. 280, p. 1483–1487, 2001.

28. KLEINZ, M.J.; MAGUIRE, J.J.; SKEPPER, J.N.; DAVENPORT, A.P. Functional and immunocytochemical evidence for a role of ghrelin and des-octanoyl ghrelin in the regulation of vascular tone in man. **Cardiovascular Research.** v. 69, p. 227–235, 2006.

29. LIN, Y. MATSUMURA, K.; FUKUHARA, M.; KAGIYAMA, S.; FUJII, K.; IIDA, M. Ghrelin acts at the nucleus of the solitary tract to decrease arterial pressure in rats. **Hypertension.** v. 43, p. 977–982, 2004.

## **7. DISCUSSÃO GERAL**

Para o gene *ADIPOQ* as variáveis IMC score-Z, MM, CT, HDL e LDL mostraram significância quando comparado as médias antes e após os 3 meses entre os portadores e não portadores de mutação.

No início o IMC score-z não apresentava diferença entre os indivíduos portadores e não portadores de mutação, mas após as doze semanas os indivíduos portadores de mutação obtiveram uma diminuição significativa em relação aos não portadores, mostrando que os portadores de mutação responderam melhor à intervenção.

No tempo inicial, os portadores de mutação apresentaram a variável MM significativamente mais elevada do que os indivíduos não portadores. Mas após as 12 semanas essa diferença não apareceu mais. Como houve um aumento significativo apenas para os não portadores, esses indivíduos com o exercício físico conseguiram alcançar a maior MM que os portadores apresentavam inicialmente, mostrando que os não portadores obtiveram uma melhor resposta ao exercício em relação a MM.

O CT inicial era significativamente mais elevado em portadores da mutação em relação aos não portadores. Após as 12 semanas, apareceu apenas uma tendência de diferença significativa entre os indivíduos portadores e não portadores de mutação. Quando comparado dentro dos indivíduos portadores e não portadores de mutação não apareceu diminuição do CT, mostrando que os indivíduos não portadores de mutação aparentam ter uma proteção em relação ao CT, e que esse CT mais baixo não é influenciado pela prática regular de exercícios físicos.

O HDL inicial não mostrava diferença significativa entre os indivíduos portadores e não portadores. Após os exercícios físicos, os indivíduos não portadores de mutação aumentaram seu HDL significativamente, o que não aconteceu para os indivíduos portadores. Isso demonstra que os indivíduos não portadores obtiveram uma melhora no colesterol considerado bom, enquanto que os indivíduos não portadores não apresentaram essa resposta à intervenção.

Inicialmente, os indivíduos não portadores de mutação apresentavam LDL significativamente menor do que os portadores. Mas após as 12 semanas essa diferença desapareceu, por que os indivíduos portadores de mutação diminuiram

significativamente seu LDL, enquanto que os indivíduos não portadores não responderam à intervenção. Isso demonstra que apesar dos indivíduos não portadores apresentarem uma proteção em relação ao LDL, quando submetidos à prática regular de exercícios, indivíduos portadores e não de mutação tem resultados parecidos.

No gene *ADIPOQ*, a regressão logística apresentou-se significativa para as variáveis CA, INS 0 E HOMA-IR. Para a variável CA foi encontrada uma diminuição significativa apenas para os indivíduos não portadores de mutação após 12 semanas.

A variável INS 0 inicialmente não apresentava diferença entre indivíduos portadores e não portadores, mas após as 12 semanas ocorreu uma diminuição significativa por parte dos indivíduos não portadores de mutação, o que resultou em uma tendência ( $p = 0,06$ ) de diferença entre os indivíduos portadores e não portadores.

Para a variável HOMA-IR existia inicialmente uma tendência de maior HOMA-IR por parte dos indivíduos portadores de mutação. Mas após as 12 semanas essa tendência desapareceu.

A regressão logística demonstra que o alelo T276 atuou como um fator de risco independente na redução de CA, INS 0 e HOMA-IR. O fato de não aparecer significância entre os indivíduos portadores e não portadores de mutação antes e após a intervenção pode ser devido ao fato da amostra deste estudo ser pequena.

Em estudo com ratos foi demonstrado que o aumento da expressão da adiponectina foi associado com aumento de sensibilidade à insulina. Após administração de dieta rica em gorduras, foi observada diminuição da adiponectina no plasma. Quando se injetou adiponectina nesses ratos, ocorreu uma melhora na resistência à insulina e hipertrigliceridemia, que havia sido desenvolvida em resposta a dieta rica em gordura (YAMAUCHI *et al.*, 2001).

Os receptores da adiponectina chamam se Adipor 1 e Adipor 2, e ajudam na regulação do metabolismo da glucose e sensibilidade à insulina. No fígado, o receptor Adipor1 fosforila uma proteína quinase ativada por AMP (AMPk) e o Adipor2 ativa os receptores ativados por proliferador de peroxissomo (PPAR $\alpha$ ), levando ao aumento da sensibilidade à insulina, a oxidação de ácidos graxos e captação de glucose (YAMAUCHI *et al.*, 2013).

Para o polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11β1* as variáveis IMC escore-Z, FC rep, PAS, PAD, MM e VO<sub>2</sub> abs mostraram significância quando comparado as médias antes e após os 3 meses entre os portadores e não portadores de mutação.

Inicialmente não existia diferença significativa no IMC escore-Z entre portadores e não portadores de mutação. Após as 12 semanas ambos indivíduos baixaram significativamente o IMC escore-Z, mas os indivíduos portadores apresentaram uma melhor resposta à intervenção.

Antes da intervenção, não existia diferença significativa entre indivíduos portadores e não de mutação para a variável FC rep. Após as 12 semanas, ambos os indivíduos apresentaram diminuição significativa, mostrando que a intervenção obteve efeito, mas também apresentaram uma diferença significativa entre os indivíduos, sendo que os não portadores apresentaram menor FC rep após a intervenção.

No início, a MM era significativamente maior em não portadores da mutação. Após as 12 semanas, portadores e não aumentaram igualmente sua MM, pois os portadores de mutação continuavam com uma MM menor. Isso demonstra que os indivíduos não portadores apresentam uma melhor MM do que os portadores, mesmo após praticar exercícios.

Inicialmente o VO<sub>2</sub> abs era significativamente maior em não portadores. Após as 12 semanas, tanto indivíduos portadores como não portadores aumentaram significativamente seus valores de VO<sub>2</sub> abs, mas os indivíduos portadores aumentaram mais, fazendo com que não existisse mais diferença estatística entre portadores e não portadores após a intervenção. Ou seja, os indivíduos não portadores, sem prática regular de exercícios tem melhor valor de VO<sub>2</sub> abs, mas quando ambos praticam exercícios regulares, o valor de VO<sub>2</sub> abs é equivalente.

Inicialmente a PAS era significativamente maior em indivíduos não portadores de mutação. Mas após os exercícios essa diferença não pode mais ser averiguada. A regressão logística apresentou-se significativa para a variável PAS, demonstrando que o alelo T do polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11β1* é um fator de risco independente para essa variável.

Antes da intervenção não existia diferença no valor de PAD entre portadores e não da mutação. Apesar disso, após as 12 semanas, os indivíduos portadores de

mutação apresentaram menor PAD, mostrando que eles responderam melhor à intervenção.

No polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1*, a regressão logística apresentou-se significativa para a variável % GC. Tanto indivíduos portadores como não portadores diminuíram significativamente essa variável após a intervenção, mas não houve diferença significativa entre portadores e não portadores. De qualquer forma, a regressão demonstra que o alelo T do polimorfismo em questão é um fator de risco independente para a %GC.

A expressão da enzima 11 $\beta$ -HSD1 no tecido adiposo de indivíduos obesos aumenta o risco de síndrome metabólica, caracterizada por obesidade central, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão (SLANOVIC-KUZMANOVIĆ, KOS, DOMIJA, 2013). Um estudo prévio estabeleceu correlação entre os polimorfismos rs846910 e rs12086634 do gene *HSD11 $\beta$ 1*, diabetes tipo 2 e hipertensão em mulheres com síndrome do ovário policístico. Independentemente se as mulheres tinham ou não a síndrome, foi descoberto que os alelos rs846910 A e rs12086634 T aumentavam a expressão e atividade da enzima 11 $\beta$ -HSD1, pois foram observados maiores níveis de mRNA de 11 $\beta$ -HSD1 no tecido adiposo e maiores taxas de aparecimento de cortisol ativo durante infusão de cortisol estável (GAMBINERI *et al.*, 2011).

O polimorfismo rs846910 do gene *HSD11 $\beta$ 1* apresentou valor de regressão logística significativa para as variáveis INS 0 e HOMA-IR, mostrando que o alelo A desse polimorfismo atua como fator de risco independente para essas duas variáveis. Apesar disso, não foi encontrada nenhuma diferença entre portadores e não de mutação antes e após o exercício físico. Esse resultado controverso pode ser devido ao fato da amostra do presente estudo ser pequena.

Para o polimorfismo do gene *GHRL* as variáveis HDL-C e INS 120 mostraram significância quando comparado as médias antes e após os 3 meses entre os portadores e não portadores de mutação.

Inicialmente não havia diferença entre portadores e não portadores para o HDL-C. Após a intervenção apareceu diferença significativa entre portadores e não de mutação, sendo que os portadores apresentaram maior HDL, mostrando que esses indivíduos obtiveram melhor resposta aos exercícios físicos para essa variável.

A INS 120 inicial era significativamente maior em não portadores de mutação. Após as 12 semanas, apenas os não portadores diminuíram essa variável, de modo que ao final da intervenção não havia diferença entre portadores e não de mutação. Isso demonstra que os indivíduos não portadores tinham maior valor de INS 120 antes da intervenção, mas com a prática de exercícios conseguiram chegar ao mesmo patamar dos portadores de mutação.

A regressão foi significativa para a variável PAS, mostrando que o alelo T (M72) do polimorfismo do gene *GHRL* é um fator de risco independente para essa variável. Inicialmente não havia diferença significativa entre portadores e não portadores, mas após as 12 semanas os indivíduos não portadores mostraram uma tendência de valores maiores de PAS. Se a amostra do presente estudo fosse maior talvez essa tendência pudesse ser confirmada.

A administração de grelina em modelos animais foi correlacionada a diminuição da pressão arterial (SHINDE *et al.*, 2005). No estudo de Mager *et al.* (2006) foram encontrados dados que confirmam o presente estudo, pois foi estipulada uma associação significativa entre o polimorfismo rs696217 e pressão arterial em 507 adultos com tolerância a glicose diminuída e excesso de peso.

No estudo de Shimizu *et al.* (2003) foi demonstrado que a grelina causa vasodilatação em ratos pelo aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). No estudo de Kawczynska-Drozd *et al.* (2006) foi medido a produção de superóxido e atividade da NADPH oxidase em aortas de ratos hipertensos e controles. Foi encontrado que essas substâncias eram maiores nos ratos hipertensos, e após a administração endovenosa de grelina a produção de superóxido diminuiu tanto no grupo hipertenso quanto no controle. Foi concluído que a grelina inibe o estresse oxidativo vascular em ratos hipertensos.

O polimorfismo do gene *PLIN4* não apresentou diferenças significativas antes e após a intervenção entre portadores e não de mutação. Também não foi encontrada nenhuma significância para a regressão logística.

## **8. CONCLUSÕES**

A frequência alélica e genotípica do polimorfismo rs1501299 G276T do gene *ADIPOQ* não foi significativamente parecida com nenhuma das populações correlacionadas (mais informações no apêndice II).

Para os polimorfismos rs12086634 do gene *HSD11B1* e rs696217 do gene *GHRL*, nem a população nem a obesidade parecem estar relacionados às frequências alélicas e genotípicas. Já na frequência alélica e genotípica do polimorfismo rs846910 do gene *HSD11B1* a população parece interferir mais na frequência do que a obesidade. A frequência alélica e genotípica do polimorfismo rs8887 do gene *PLIN4* foi semelhante a de outras populações previamente estudadas.

O alelo T276 do polimorfismo rs1501299 do gene *ADIPOQ* atuou como fator de risco independente na redução de CA, INS 0 e HOMA-IR, mostrando que esse polimorfismo está associado com a obesidade e variáveis relacionadas.

O alelo T do polimorfismo rs12086634 do gene *HSD11β1* atuou como fator de risco independente na redução da PAS e %GC, mostrando que esse polimorfismo está associado com a obesidade e controle da pressão arterial.

O alelo A do polimorfismo rs846910 do gene *HSD11β1* atuou como fator de risco independente na redução da INS 0 e HOMA-IR, mostrando que esse polimorfismo está associado à sensibilidade a insulina.

O alelo T do polimorfismo rs696217 do gene *GHRL* atuou como fator de risco independente na redução da PAS, mostrando que esse polimorfismo está associado com o controle da pressão arterial.

O polimorfismo rs8887 do gene *PLIN4* não demonstrou ser um fator de risco independente para as variáveis estudadas.

Apesar de fatores genéticos influenciarem no desenvolvimento da obesidade nos grupos de portadores e não de mutação, em várias situações a atividade física conseguiu auxiliar na redução da obesidade, o que demonstra que 12 semanas de atividade física aeróbia e orientação nutricional constituem um meio eficiente para combate à obesidade.

Devido às restrições do presente estudo, acredita-se que outros trabalhos com amostras maiores possam encontrar significância estatística para outras análises relacionadas ao assunto. Do mesmo modo, um estudo com amostra

independente pode confirmar os achados do presente estudo e reforçar o papel de polimorfismos em genes candidatos no desenvolvimento e no tratamento da obesidade.



## REFÊRENCIAS

- ABRANTES, M.M.; LAMOUNIER, J.; COLOSIMO, E.A. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões Sudeste e Nordeste. **Jornal de Pediatria**. v. 78, n.4, p. 335-340, 2002.
- ANDREWS, R.C.; HERLIHY, O.; LIVINGSTONE, D.E.W.; ANDREW, R.; WALKER, B.R. Abnormal cortisol metabolism and tissue sensitivity to cortisol in patients with glucose intolerance. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v.87, n.12, p. 5587–5593, 2002.
- BAILEY, M.A.; CRAIGIE, E.; LIVINGSTONE, D.E.W.; KOTELEVTSSEV, Y.V.; AL-DUJAILI, E.A.S.; KENYON, C.J.; MULLINS, J.J. HSD11B2 haploinsufficiency in mice causes salt sensitivity of blood pressure. **Journal of the American Heart Association**. v. 57, p. 515-520, 2011.
- BARROS, V. G., REIS, R.S. Análise de dados em atividade física e saúde. Demonstrando a utilização do SPSS. Londrina, Midiograf, 2003.
- BERNE, R.M.; LEVY, M.N.; KOEPPEN, B.M.; STANTON, B.A. **Fisiologia**. 5ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.
- BLUMENKRANTZ, M. **Obesity: the world's metabolic disorder** [online]. Beverly Hills, 1997.
- BOGLIOLO, L. **Patologia**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2011.
- BOULÉ, N.G.; HADDAD, E.; KENNY, G.P.; WELLS, G.A.; SIGAL, R.J. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. **The Journal of the American Medical Association**. v. 285, n.10, p. 1218 - 1227, set., 2001.
- BRAY, G.A. Medical consequences of obesity. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**. v.89, p.2583-2589, 2004.
- BRULEY, C.; LYONS, V.; WORSLEY, A.G.; WILDE, M.D.; DARLINGTON, G.D.; MORTON, N.M.; SECKL, J.R.; CHAPMAN, K.E. A novel promoter for the 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene is active in lung and is C/EBP $\beta$ -independent. **Endocrinology**, v.147, p.2879–2885, 2006.

CAMPOS, L. de A.; LEITE, A.J.M.; de ALMEIDA, P.C. Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes escolares do município de Fortaleza, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. Recife. v. 7, n. 2, p. 183-190, abr./jun., 2007.

CARNEIRO, J.R.I.; KUSHNIR, M.C.; CLEMENTE, E.L.S.; BRANDÃO, M.G.; GOMES, M.B. Obesidade na adolescência: fator de risco para complicações clínico-metabólicas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**.v. 44, n. 5, p. 390 - 396, out., 2000.

CASTRO-CHAVEZ, F.; YECHOOR, K.; SAHA, P.K.; MARTINEZ-BTAS, J.; WOOTEN, E.C.; SHARMA, S.; O'CONNEL, P.; TAEGTMEYER, H.; CHAN, L. Coordinated upregulation of oxidative pathways and downregulation of lipid biosynthesis underlie obesity resistance in perilipin knockout mice: a microarray gene expression profile. **American Diabetes Association**. v. 52, p. 2666 - 2674, nov., 2003.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. FERRIER, D.R. **Bioquímica ilustrada**. 3ª Ed. Artes Médicas, 2006.

CONDE, W.L.; MONTEIRO, C.A. Valores críticos do índice de massa corporal para classificação do estado nutricional de crianças e adolescentes brasileiros. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p.266-272, 2006.

CUSANO, N.E.; KIEL, D.P.; DEMISSIE, S.; KARASIK, D.; CUPPLES, L.A.; CORELLA, D.; GAO, Q.; RICHARDSON, K.; YIANNAKOURIS, N.; ORDOVAS, J.M. A polymorphism in a gene encoding perilipin 4 is associated with height but not with bone measures in individuals from the framingham osteoporosis study. **Calcified Tissue International**.v.90, p. 96 - 107, 2012.

DAIGRE, J.L.; ATALLAH, A.; BOISSIN, J.L.; JEAN-BAPTISTE, G.; KANGAMBEGA, P.; CHAVALIER, H.; BALKAU, B.; SMADJA, D.; INAMO, J. The prevalence of overweight and obesity, and distribution of waist circumference, in adults and children in the French overseas territories: the PODIUM survey. *Diabetes & Metabolism*. v. 38, n. 5, p. 404–411, 2012.

DANTAS, V.G.L.; FURTADO-ALLE, L. SOUZA, R.L.R.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Obesity and variants of the GHRL (ghrelin) and BCHE (butyrylcholinesterase) genes. **Genetics and Molecular Biology**. v. 34, n.2, p.205-207, 2011.

DEHLIN, E.; LIU, J.; YUN, S.H.; FOX, E.; SNYDER, S.; GINESTE, C.; WILLINGHAM, L.; GEYSEN, M.; GAYLINN, B.D.; SANDO, J.J. Regulation of ghrelin structure and membrane binding by phosphorylation. **Peptides**. v. 29, p. 904-911, 2008.

DERAM, S.; NICOLAU, C.Y.; PEREZ-MARTINEZ, P.; GUAZZELLI, I.; HALPERN, A.; WAJCHENBERG, B.L.; ORDOVAS, J.M.; VILLARES, S.M. Effects of perilipin (*plin*) gene variation on metabolic syndrome risk and weight loss in obese children and adolescents. **J ClinEndocrinolMetab.** V. 93, n. 12, p.4933–4940, 2008.

DRAPER, N.; WALKER, E.A.; BUJALSKA, I.J.; TOMLINSON, J.W.; CHALDER, S.M.; ARLT, W.; LAVERY, G.G.; BEDENDO, O.; RAYDW, LAING, I.; MALUNOWICZ, E.; WHITE, P.C.; HEWISON, M.; MASON, P.J.; CONNELL, J.M.; SHACKLETON, C.H.; STEWART, P.M. Mutations in the genes encoding 11 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase interact to cause cortisone reductase deficiency. **NatureGenetic.**v.34, p.434–439, 2003.

DUARTE, A.C.G. **Avaliação Nutricional: aspectos clínicos e laboratoriais.** 1<sup>a</sup> edição. São Paulo: Atheneu. 2007.

EATON, S.B.; KONNER, M.; SHOSTAK, M. Stone agers in the fast lane: chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. **The American Journal of Medicine.** v. 84, p. 739-749, abr., 1998.

ENSEMBEL, genome browser. Disponível em <http://www.ensembl.org> , acesso em 7 de dezembro de 2012.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE P. E.; QUATTRO J. M. Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. **Genetics**, v.131, p. 479-491, 1992.

FERGUSON, J.F.; PHILLIPS, C.M.; TIERNEY, A.C.; PEREZ-MARTINEZ, P.; DEFOORT, C.; HELAL, O.; LAIRON, D.; PLANELLS, R.; SHAW, D.I.; LOVEGROVE, J.A.; GJELSTAD, I.M.F.; DREVON, C.A.; BLAAK, E.E.; SARISW.H.M.; BEK, I.L.S.G.; KIEK-WILK,B.; RISERUS, U.; KALSTRÖM, B.;LOPEZ-MIRANDA,J.; ROCHE, H.M. Gene-nutrient interactions in the metabolic syndrome: single nucleotide polymorphisms in ADIPOQ and ADIPOR1 interact with plasma saturated fatty acids to modulate insulin resistance<sup>1–3</sup>. **The American JournalofClinicalNutrition.** v. 91, p. 794-801, 2010.

FERNANDES, R.A.; CHRISTOFARO, D.G.D.; CASONATTO, J.; CODOGNO, J.S.; RODRIGUES, E.Q.; CARDOSO, M.L.; KAWAGUTI, S.S.; ZANESCO, A. Prevalência de Dislipidemia em Indivíduos Fisicamente Ativos durante a Infância, Adolescência e Idade Adulta. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** v.97, n. 4, p.317-323, 2011.

FERREIRA, A.I.S.; FERREIRA, G. Prevalência de Mortalidade por Doenças Cardiovasculares em uma Cidade do Sul de Minas Gerais nos Anos de 1999 a 2008. **Revista Ciências em Saúde**. v.2, n.2, p. 1-10, abr., 2012.

FLEGAL, K. M., M. D. CARROLL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. **The Journal of the American Medical Association**. v. 303, n. 3, p. 235-241, 2010.

FRANCISCHI, R.P.P.; PEREIRA, L.O.; FREITAS, C.S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, P.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**. v. 13, n. 1, p. 17-28, jan./abr., 2000.

FRANKS, P.W.; KNOWLER, W.C.; NAIR, S.; KOSKA, J.; LEE, Y.H.; LINDSAY, R.S.; WALKER, B.R.; LOOKER, H.C.; PERMANA, P.A.; TATARANNI, P.A.; HANSON, R.L. Interaction between an 11\_HSD1 gene variant and birth era modifies the risk of hypertension in Pima Indians. **Hypertension**. v. 44, p.681–688, 2004.

FROGUEL, P.; GUY-GRAND, B. E CLEMENT, K. Genetics of obesity: towards the understanding of a complex syndrome. **La Presse Médicale**. v. 29, p. 564-571, 2000.

GAMBINERI, A.; VICENNATI, V.; GENGHINI, S.; TOMASSONI, F.; PAGOTTO, U.; PASQUALI, R.; WALKER, B.R. Genetic variation in 11\_-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 predicts adrenal hyperandrogenism among lean women with polycystic ovary syndrome. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**.v.91, p.2295–2302, 2006.

GAMBINERI, A.; TOMASSONI, F.; MUNARINI, A.; STIMSON, R.H.; MIONI, R.; PAGOTTO, U.; CHAPMAN, K.E.; ANDREW, R.; MANTOVANI, V.; PASQUALI, R.; WALKER, B.R. A combination of polymorphisms in HSD11B1 associates within vivo 11b-HSD1 activity and metabolic syndrome in women with and without polycystic ovary syndrome. **European Journal of Endocrinology**, v. 165, p. 283–292, 2011.

GIBNEY, M.J.; VORSTER, H.H.; KOK, F.J. **Introdução à nutrição humana**. 1ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.39.

GIL-CAMPOS, M.; AGUILERA, C.M.; CAÑETE, R.; GIL, A. Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. **British Journal of Nutrition**. v. 96, n. 2, p. 201–226, aug., 2006.

GUYTON, A.C. HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 11ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

GUYTON, A.C. HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 12ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

HALL, A.M.; BRUNT, E.M.; CHEN, Z.; VISWAKARMA, N.; REDDY, J.K.; WOLINS, N.E.; FINCK, B.N. Dynamic and differential regulation of proteins that coat lipid droplets in fatty liver dystrophic mice. **Journal of Lipid Research**. v.51, p. 554-563, 2010.

HALPERN, A. A epidemia de obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v. 43, n. 3, jun., 1999.

HINEY, A.; HOCH, A.; GELLER, F.; SCHÄFER, H.; SIEGFRIED, W.; GOLDSCHMIT, H.; REMSCHMIDT, H.; HEBEBRAND, J. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 87, n.6, p. 2.716-2.719, 2002.

HU, F.B.; MANSON, J.A.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.; LIU, S.; SOLOMON, C.G.; WILLET, W.C. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. **The New England Journal of Medicine**. v. 345, n. 11, set., 2001.

INUI, A.; ASAKAWA, A.; BOWERS, C.Y.; MANTOVANI, G.; LAVIANO, A.; MEGUID, M.M.; FUJIMIYA, M. Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. **The FASEB Journal**. v. 18, p. 439-456, mar., 2004 March 2004.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Diretoria de pesquisas. Coordenação de população e indicadores sociais. Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar, 2009. Disponível no site [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/pense\\_avaliacao\\_nutricional\\_2009/defaulttab.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/pense_avaliacao_nutricional_2009/defaulttab.shtm) acessado no dia 15 de agosto de 2012.

JANSSEN, I.; KATZMARZYK P. ; BOYCE, C.; VEREECKEN, C.; MULVIHILL, C.; ROBERTS, C.; CURRIE, W.; PICKETT, W. Comparison of overweight and obesity prevalence in school-age youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary patterns. **Obesity Reviews**, v. 6, p. 123-132, 2005.

KATZ, A.; NAMBI, S.S.; MATHER, K.; BARON, A.D.; FOLLMANN, D.A.; SULLIVAN, G.; QUON, M.J. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 85, n. 7, p. 2402-2410, 2000.

KAUFMAN, C.; KELLY, A.S.; KAISER, D.R.; STEINBERGER, J.; DENGEL, D.R. Aerobic-exercise training improves ventilator efficiency in overweight children. **Pediatric Exercise Science**. v. 19, p. 82-92, 2007.

KAWCZYNSKA-DROZDZ, A.; OLSZANECKI, R.; JAWIEN, J.; BRZOZOWSKI, T.; PAWLIK, W.W.; KORBUT, R.; GUZIK, T.J. Ghrelin inhibits vascular superoxide production in spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Hypertension**. v. 19, l. 7, p. 764–767, Jul., 2006.

KELISHADI, R.; HAGHDOOST, A.; SADEGHIRAD, B., KHAJEHKAZEMI, R. Trend in the prevalence of obesity and overweight among Iranian children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. **Nutrition**. v. 30, n. 4, p 393–400, 2014.

KOJIMA, M.; KANGAWA, K. Ghrelin: structure and function. **Physiological Reviews**. v.85, n. 2, p. 495-522, 2005.

KORBONITS, M.; GUEORGUIEV, M.; O'GRADY, E.; LECOEUR, S.; SWAN, D.C.; MEIN, C.A. et al. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v.87, p.4005–4008, 2002.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; MITCHELL, R.N. **Robbins: patologiabásica**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier. 2008.

LAHIRI, D.K.; NURNBERGER JR, J.I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**. v. 19, p. 5444, 1991.

LONDOS, C.; SZTALRYD, C.; TANSEY, J.T.; KIMMEL, A.R. Role of PAT proteins in lipid metabolism. **Biochimie**. v.87, p. 45–49, 2005.

LUSIS, A.J; ATTIE, A.D.; REUE, K. Metabolic Syndrome: from epidemiology to systems biology. **Nature review genetic**.v.9, p. 819–830, 2008.

MAGER, U.; KOLEHMAINEN, M.; LINDSTRÖM, J.; ERIKSSON, J.G.; VALLE, T.T.; HÄMÄLÄINEN, H.; ILANNE-PARIKKA, P.; KEINÄNEN-KIUKAANNIEMI, S.; TUOMILEHTO, J.O.; PULKKINEN, L.; UUSITUPA, M.I. Association between ghrelin gene variations and blood pressure in subjects with impaired glucose tolerance  
**American Journal of Hypertension**. v. 19, l. 9, p. 920–926, Set., 2006.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**.9ª edição. São Paulo: Roca. 1998.

MARINESCU, V.D.; KOHANE, I.S.; RIVA, A. MAPPER.A search engine for the computational identification of putative transcription factor binding sites in multiple genomes.**BMC Bioinformatics**.v.6, p.79, 2005.

MASUZAKI, H.; YAMAMOTO, H.; KENYON, C.J.; ELMQUIST, J.K.; MORTON, N.M.; PATERSON, J.M. ET AL. Transgenic amplification of glucocorticoid action in adipose tissue causes high blood pressure in mice. **Journal of Clinical Investigation**.v.112, p.83-90, 2003.

MASUZAKI, H.; FLIER, J.S. Tissue-specific glucocorticoid reactivating enzyme, 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 beta-HSD1)—a promising drug target for the treatment of metabolic syndrome.**Current Drug Targets: Immune, Endocrine and Metabolic Disorders**.v.4, p.255-262, 2003.

MATTHEWS,D. R.; HOSKER, J. R.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR,B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C.Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.  
**Diabetologia**. v. 28, p. 412-419, 1985.

MEIRHAEGHE, A.; THOMAS, S.; ANCOT, F.; COTTEL, D.; ARVEILER, D.; FERRIERES, J.; AMOUYEL, P. Study of the impact of perilipin polymorphisms in a French population. **Journal Negative ResultsBiomedicine**, v.5, p.10, 2006.

MELO, M.E. Diagnóstico da obesidade infantil. **Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica - ABESO**. Fev, 2011.

MOLERES, A.; RENDO-URTEAGA, T.; ZULET, M.A.; CAMPOY, C.; GARAGORRI, J.M.; MARTINEZ, A.; AZCONA-SANJULIAN, M.C.; MARTI, A. Obesity susceptibility loci on body mass index and weight loss in spanish adolescents after a lifestyle intervention **The Journal of Pediatrics**. V. 161, N. 3, p. 466-470, 2012.

MORALES, M.A.; CARVAJAL, C.A.; ORTIZ, E.; MOSSO, L.M.; ARTIGAS, R.A.; FARDELLA, C.E. Possible pathogenetic role of 11 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 $\alpha$ -HSD1) gene polymorphisms in arterial hypertension. **Revista Médica de Chile**.v.136, p.701–71, 2008.

NAIR, S.; LEE, Y.H.; LINDSAY, R.S.; WALKER, B.R.; TATARANNI, P.A.; BOGARDUS, C.; BAIER, L.J.; PERMANA, P.A. 11 $\alpha$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1: genetic polymorphisms are associated with type 2 diabetes in Pima Indians independently of obesity and expression in adipocyte and muscle. **Diabetologia**.v. 47, p.1088–1095, 2004.

NICOLAU, C.Y.M. Associação das variantes no ADIPOQ e concentrações séricas de adiponectina com alterações metabólicas em crianças e adolescentes obesos. Tese de doutorado. Faculdade de medicina. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

NTALLA, I.; DEDOISSIS, G.; YANNAKOULIA, M., SMART, M.C.; LOUIZOU, E.; SAKKA, S.D.; PAPOUTSAKIS, C.; TALMUD, P.J. ADIPOQ gene polymorphism rs1501299 interacts with fibre intake to affect adiponectin concentration in children: the GENE–Diet Attica Investigation on childhood obesity. **European Journal of Nutrition**. v. 48, p.493-497, 2009.

OGDEN, C.L.; CARROLL, M.D.; CURTIN, L.R.; LAMB, M.M.; FLEGAL, K.M. Prevalence of high body mass index in US children and adolescents, 2007–2008. **The Journal of the American Medical Association**. v. 303, n.3, p 242–249, 2010.

ONIS, M.; BLÖSSNER, M.; BORGHI, E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. **92**, p. 1257–64, 2010.

OWEN, C.G.; MARTIN, R.M.; WHINCUP, P.H.; SMITH, G.D.; COOK, D.G. Effect of infant feeding on the risk of obesity across the life course: a quantitative review of published evidence. **Pediatrics**. v. 115, n. 5, p. 1367 - 1377, mai., 2005.



PEREZ-MARTINEZ, P.; YIANNAKOURIS, N.; LOPEZ-MIRANDA, J.; ARNETT, D.; TSAI, M.; GALAN, E.; STRAKA, R.; DELGADO-LISTA, J.; PROVINCE, M.; RUANO, J.; BORECKI, I.; HIXSON, J.; GARCIA-BAILO, B.; PEREZ-JIMENEZ, F.; ORDOVAS, J.M. Postprandial triacylglycerol metabolism is modified by the presence of genetic variation at the perilipin (PLIN) locus in 2 white populations. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.87, p. 744 – 752, 2008.

PINHO, R. A.; PETROSKI, E. L. Nível de atividade física em crianças. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, Londrina, v. 2, n. 3, p. 67-79, 1997.

PÖYKKÖ, S.M.; KELLOKOSKI, E.; HÖRKKÖ, S.; KAUMA, H.; KESÄNIEMI Y.A.; UKKOLA, O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. **Diabetes**, v.52, p.2546–2553, 2003a.

RAVUSSIN, E.; TSCHÖP, M.; MORALES, S.; BOUCHARD, C.; HEIMAN, M.L. Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**.v.86, n.9, p.4547–4551, 2001.

REILLY, J.J.; ARMSTRONG, J.; DOROSTY, A.R.; EMMET, P.M.; NESS, A.; ROGERS, I.; STEER, C.; SHERRIFF, A. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. **British Medical Journal**. v. 330, n. 7504, p. 1357-1363, jun., 2005.

RICCARDI, G.; GIACCOB, R. A. A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Rivellesea Clinical Nutrition**.v..23, p. 447–456, 2004.

RICHARDSON, K.; LOUIE-GAO, Q.; ARNETT, D.K. The PLIN4 variant rs8887 modulates obesity related phenotypes in humans through creation of a novel miR-522 seed site. **PLoS ONE**. 2011.

ROBITAILLE, J.; PE´RUSSE, L.; BOUCHARD, C.; VOHL, M.C. Genes, fat intake, and cardiovascular disease risk factors in the quebec family study. **Obesity**.V. 15 N. 9, p. 2336-2347, 2007.

ROWLAND, TW. **Exercise and Children's Health**. Champaign, Ill: Human Kinetics Books; 1990.

SCHERER, P.E.; WILLIAMS, S.; FOGLIANO, M.; BALDINI, G.; LODISH, H.F. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **The Journal Of Biological Chemistry**. v. 270, n. 45, p. 26746–26749, 1995.

SCHOONJANS, K.; STAELS, B.; AUWERX, J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. **Journal of lipid research**. v. 37, p.907–925, 1996.

SECKL, J.R.; MORTON, N.M.; CHAPMAN, K.E.; WALKER, B.R. Glucocorticoids and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in adipose tissue. **The Endocrine Society**. p. 359 - 393, 2004.

SHAM, P.C.; CURTIS, D. Monte Carlo tests for associations between disease and alleles at highly loci. **Annals of Human Genetics**. v. 59, p. 97-105, 1995.

SHIMIZU, Y., NAGAYA, N.; TERANISHI, Y.; IMAZU, M.; YAMAMOTO, H.; SHOKAWA, T.; KANGAWA, K.; KOHNO, N.; YOSHIZUMI, M. Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 310, p. 830–835, 2003.

SHINDE, U.A., DESAI, K.M.; YU, C.; GOPALAKRISHNAN, V. Nitric oxide synthase inhibition exaggerates the hypotensive response to ghrelin: role of calcium-activated potassium channels. **Journal of Hypertension**. v. 23, p. 779–784, 2005.

SLANOVIC-KUZMANOVIĆ, Z.; KOS, I.; DOMIJAN, A.M. Endocrine, lifestyle, and genetic factors in the development of metabolic syndrome. **Arh Hig Rada Toksikol**. v. 64, p. 581-591, 2013.

SOENEN, S.; MARIMAN, E.C.M.; VOGELS, N.; BOUWMAN, F.G.; DEN HOED, M.; BROWN, L.; WESTERTEP-PLANTENGA, M.S. Relationship between perilipin gene polymorphisms and body weight and body composition during weight loss and weight maintenance. **Physiology & Behavior**. V. 96, p. 723–728, 2009.

STADLER, T.A.C.; MORETTI, M.; MORETTI, M.P.; SAKAE, T.M.; ARAUJO, D. Associação dos níveis de dislipidemia entre obesidade tipo I, II e III. **Arquivos Catarinenses de Medicina**. v. 40, n. 3, p.21-24, 2011.

STEFAN, N.; BUNT, J.C.; SALBE, A.D.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; TATARANNI, P.A. Plasma adiponectin concentrations in children: relationships with obesity and insulinemia. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 87, n. 10, p. 4652–4656, 2002.

SWINBURN, B.A.; CATERSON, I.; SEIDELL, J.C.; JAMES, W.P.T. Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. **Public Health Nutrition**.v.7, n.1A, p. 123–146, 2004.

TAKAHASHI, M.; ARITA, Y.; YAMAGATA, K.; MATSUKAWA, Y.; OKUTOMI, K.; HORIE, M.; SHIMOMURA, I.; HOTTA, K.; KURIYAMA, H.; KIHARA, S.; NAKAMURA, T.; YAMASHITA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. **International Journal of Obesity**. n. 24, p. 861-868, 2000.

TANNER, J. M. Normal growth and techniques of growth assessment. **Clinics in Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 411-451, 1986.

TARDIDO, A.P.; FALCÃO, M.C. O impacto da modernização na transição nutricional e obesidade. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. v. 21, n. 2, p.117-124, 2006.

TUOMILEHTO, J.; LINDSTRÖM, J.; ERIKSSON, J.G.; VALLE, T.T.; HAMÄLÄINEN, H.; ILLANE-PARIKKA, P.; KEINÄNEN-KIUKKANNIEMI, S.; LAKSO, M.; LOUHERANTA, A.; RASTAS, M.; SALMINEN, V.; UUSITUPA, M. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **The New England Journal of Medicine**. v. 344, n.18, mai., 2001.

UKKOLA, O.; RAVUSSIN, E.; JACOBSON, P.; PÉRUSSE, L.; RANKINEN, T.; TSCHÖP, M. et al. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. **Obesity Research**.v.10, p. 782–791, 2002.

UKKOLA, O.; RAVUSSIN, E.; JACOBSON, P.; SNYDER, E.E.; CHAGNON, M.; SJÖSTRÖM, L. et al. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**.v.86, p. 3996–3999, 2011.

VANKOVA, D.; RADANOVA, M.; KISELOVA-KANEVA, Y.; MADJOVA, V.; IVANOVA, D. The rs9939609, adiponectin rs1501299, rs822391, and adiponectin rs16928662 polymorphisms relationship to obesity and metabolic syndrome in a Bulgarian sample. **Medical Biotechnology**.v.26, p.65-71, 2011.

WHO. World Health Organization. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Technical Report Series 854. 1995, 1997.

WHO, World Health Organization. **The World Health Organization warns of the rising threat of heart disease and stroke as overweight and obesity rapidly increase.** Geneva: set. 2005. Disponível no site [http://www.who.int/mediacentre/events/meetings/childhood\\_obesity\\_20091215/en/#](http://www.who.int/mediacentre/events/meetings/childhood_obesity_20091215/en/#) acessado no dia 15 de agosto de 2012.

WHO, World Health Organization. **Child Growth Standards.**2007. Disponível em <http://www.who.int/childgrowth/standards/en/> acessado em 17 de setembro de 2012.

WHO, World Health Organization. Nutrition Landscape Information System. Country Profile, 2008. Disponível em <http://apps.who.int/nutrition/landscape/report.aspx?iso=BRA&rid=161&template=nutrition&goButton=Go> acessado em 15 de agosto de 2012.

WHO, World Health Organization. **World health organization forum and technical meeting on population-based prevention strategies for childhood obesity.** Geneva, Switzerland, 15-17 , dezembro, 2009. Disponível no site [http://www.who.int/mediacentre/events/meetings/childhood\\_obesity\\_20091215/en/#](http://www.who.int/mediacentre/events/meetings/childhood_obesity_20091215/en/#) acessado no dia 15 de agosto de 2012.

WOOLF, B. On estimating the relation between blood group and disease. **Ann Human Genet.** v.19, p. 251–253, 1955.

WORTLEY, K.E.; RINCON, J.P.; MURRAY, J.D.; GARCIA, K.; LIDA, K.; THORNER, M.O.; SLEEMAN, M.W. Absence of ghrelin protects against early-onset obesity. **The Journal of Clinical Investigation.** v. 115, n. 12, p. 3573-3578, dez., 2005.

YAMAGUCHI, Y.S.; FUJIWARA, K.; KIDO, T.; KAWAHARA, K.; ISHIWAKI, A.; KONDO, K.; MORITA, Y.; TOMINAGA, N.; OTSUKA, Y. Association of lifestyle factors, polymorphisms in adiponectin, perilipin, and hormone sensitive lipase, and clinical markers in Japanese males. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology.** v. 56, P. 123-131, 2010.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; WAKI, H., et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. **Nature Medicine.** v. 7, p. 941–946, 2001.

YAMAUCHI, T.; IWABU, M.; OKADA-IWABU, M.; KADOWAKI, T. Adiponectin receptors: A review of their structure, function and how they work. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.** v.30, p.1–9, 2013.

YANG, W.; LEE, W.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; MATSUZAWA, Y.; CHAO, C.; CHEN, C.; TAI, O.; CHUANG, L. Weight reduction increases plasma levels of adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**.v.86, n.8, p. 3815–3819, 2001.

## **APÊNDICE I**

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo faz parte do projeto “Efeito de polimorfismos genéticos nas respostas ao treinamento com exercícios físicos”. Nele foram utilizadas amostras coletadas anteriormente, as quais passaram pelos passos descritos abaixo. Logo em seguida, serão descritos os passos que foram realizados nesse estudo. Esses envolvem a genotipagem dos genes *GHRL*, *PLIN4*, *ADIPOQ* e *HSD11B1*, todos previamente relacionados com obesidade.

#### **Caracterização da amostra**

O estudo foi desenvolvido em crianças e adolescentes de 10 a 16 anos de idade, de ambos os gêneros, provenientes de escolas municipais e estaduais de Curitiba – PR e da Unidade de Endocrinologia Pediátrica (UEP) do Hospital de Clínicas do Paraná.

A amostra foi composta por 117 crianças e adolescentes com excesso de peso, dentre esses 59 meninos e 58 meninas, de origem caucasiana européia. Em 52 amostras de adolescentes obesos foram utilizados DNA extraído do plasma e em 65 o DNA leucocitário. As amostras foram coletadas no período de 2004 a 2012, após a obtenção do Termo de Consentimento dos pais ou responsáveis aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Alguns critérios pré-estabelecidos (ver ANEXO I para mais informações) foram necessários para determinação das amostras e envolveram: índice de massa corporal (IMC) acima do percentil 95; peso estável em um período maior ou igual há dois meses; ausência da utilização de medicamentos anorexígenos ou outros que possam interferir no controle de peso e na hiperinsulinemia.

Os indivíduos selecionados foram previamente avaliados por uma equipe composta de médica pediatra, nutricionista, professor de educação física e psicólogo e foram encaminhados a sessões de exercícios físicos e de orientação nutricional.

Os adolescentes obesos selecionados para participar do estudo foram submetidos a duas coletas de sangue, uma inicial e outra após 12 semanas do programa multidisciplinar de exercício.

### **Cuidados éticos**

O estudo buscou produzir e acumular conhecimento científico a ser compartilhado e utilizado pelo bem-estar dos indivíduos e da humanidade. Sendo assim, foi considerada a necessidade de serem observados os riscos potenciais à saúde e à proteção dos direitos humanos, das liberdades fundamentais e do respeito à dignidade humana na coleta, processamento, uso e armazenamento dos dados e materiais genéticos humanos.

Os dados, tanto de conteúdo genético quanto aqueles provenientes de avaliações funcionais, mediante aprovação de cada indivíduo, foram armazenados no banco de dados do projeto “Efeito de polimorfismos genéticos nas respostas ao treinamento com exercícios físicos”, para fim exclusivo de pesquisas, com sigilo de identidade. À cada indivíduo participante no estudo foi fornecida a opção de escolher entre ser ou não informado dos resultados de seus exames. Portanto, o acesso aos dados genéticos e outros exames foi livre ao indivíduo participante da pesquisa, assim como o direito de retirá-los a qualquer momento do banco de dados onde se encontram armazenados.

### **Avaliações físicas multidisciplinares**

As coletas e as avaliações multidisciplinares foram realizadas pelo Núcleo de Pesquisa em Qualidade de Vida do departamento de Educação Física da Universidade Federal do Paraná.

As avaliações envolveram Aspectos Clínicos e Antropométricos, Aptidão Cardiorrespiratória, Determinação do Gasto Metabólico em Repouso (GMR), Exames Laboratoriais e Avaliações Nutricionais. Após estas avaliações foram realizadas orientação para Estilo de Vida Saudável (EVS) a qual envolveu a prática de exercícios físicos e orientação nutricional. A prática de exercícios físicos ocorreu durante 12 semanas e constou de atividades aeróbias (50 minutos de caminhada, 50 minutos de ciclismo *indoor* e 20 minutos de alongamento), 3x/semana, totalizando

36 sessões. A orientação nutricional foi feita por meio de palestras de educação nutricional e um recordatório de 24h.

Os indivíduos também participaram de dois encontros durante as 12 semanas. No primeiro encontro (em grupo), discutiu-se a aplicação prática da pirâmide alimentar quanto à distribuição e porcionamento dos alimentos. No segundo encontro (individual), discutiu-se sobre as mudanças ocorridas na alimentação diária de cada participante durante o período do projeto, bem como a adaptação individual à dieta prescrita.

### **Avaliações clínicas e antropométricas**

As avaliações clínicas e puberal (TANNER, 1986) foram realizadas por médico pediatra. Avaliou-se o peso, estatura e circunferência abdominal (CA). Calculou-se o IMC-escore Z. A composição corporal foi avaliada pelo método de bioimpedância elétrica (BIA), com o aparelho Biodynamics®tetrapolar.

### **Avaliação da aptidão cardiorrespiratória**

O condicionamento cardiorrespiratório foi avaliado em esteira (marca *EcafifxEG 700X*) utilizando o protocolo de Balke modificado (ROWLAND, 1990). Mensurou-se: frequência cardíaca (FC), consumo de oxigênio ( $VO_2$ ), volume de gás carbônico ( $VCO_2$ ) e ventilação (VE), utilizando ergoespirômetro (*Parvo Medics MMS2400*, USA).

### **Determinação do gasto metabólico em repouso (GMR)**

As mensurações do GMR foram realizadas pela manhã, durante 35 minutos, com o aparelho Deltatrac II®, no modo canópia (respiração espontânea), no indivíduo acordado após jejum de 10 - 12 horas e repouso de 30 minutos, determinados o  $VO_2$  e o  $VCO_2$  e calculado o R.



## Exames bioquímicos

As amostras sanguíneas foram coletadas no período da manhã, após 12 horas de jejum, para realização de hemograma e dosagens de glicose, insulina, colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-C), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triglicérides (TG). Para o cálculo da resistência a insulina foi utilizada Homeostasis Model Assessment (HOMA-IR) descrito por Matthews *et al.* (1985). Para avaliação da sensibilidade a insulina foi utilizada o Quantitative Insulin Sensivity Check Index (QUICKI) descrito por KATZ *et al.*, (2000).

## Extração do DNA das amostras

As amostras de sangue coletadas foram submetidas à extração do DNA genômico utilizando-se o método de *Salting-out* segundo Lahiri e Nurnberger (1991), com modificações. Ao final do procedimento, a amostra foi ressuspensa em 50 µl de água ultra-pura e armazenada a -20 C no Laboratório de Polimorfismos e Ligaçãõ.Em 64 amostras de adolescentes obesos foram utilizados o DNA do plasma que foi extraído através do *Mini Kit DNAmp* da Quiagen conforme seu protocolo para extração, e armazenados em freezers do Laboratório de Polimorfismos e Ligaçãõ.

## Genotipagem Taqman

Para todos os polimorfismos foi utilizado o kit TaqMan SNP da Applied Biosystems. Na amplificação do DNA, o uso do equipamento para este protocolo de genotipagem foi realizado em 3 etapas: na primeira etapa ocorreu a pré-leitura, na qual foi lida a fluorescência basal da placa antes do processo de amplificação; seguida da amplificação, realizada para todos os segmentos dentro dos seguintes padrões de PCR: 1º passo de 2 minutos a 50°C; 2º passo de 10 minutos a 95°C; 3º passo repetido 50 vezes de 15 segundos a 95°C intercalados por 60 segundos a 62°C. A terceira etapa, a pós-leitura, consistiu na análise dos dados gerados antes, durante e após a amplificação, resultando no genótipo de cada indivíduo analisado e

seu registro em um gráfico representativo.

Das 117 amostras, 75 foram genotipadas para o gene *ADIPOQ*, 109 para o gene *HSD11 $\beta$ 1* (variante intrônica 12086634), 56 para o gene *HSD11 $\beta$ 1* (variante intrônica rs846910), 108 para o gene *GHRL* e 67 para o gene *PLIN4*. Não foram genotipadas mais amostras pois o material foi insuficiente.

### **Análises estatísticas**

As médias  $\pm$  DP das variáveis antropométricas e bioquímicas foram obtidas com auxílio do programa Statistica para Windows (Statsoft, Inc. 1996).

Para testar a normalidade da distribuição das variáveis foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre as médias das variáveis foi utilizado teste t para variáveis paramétricas e o teste de Mann-Whitney para as variáveis não paramétricas independentes, e para as dependentes Wilcoxon, com auxílio do programa Statistica para Windows (Statsoft, Inc. 1996).

Após os testes básicos de estatística, foi calculada a diferença entre os resultados das variáveis iniciais e após 3 meses. Logo em seguida foi calculada a mediana dessa diferença, e o número 0 (zero) foi atribuído para valores abaixo da mediana e o número 1 (um) foi atribuído para valores acima da mediana, tornando cada variável em uma distribuição binomial. Frequências alélicas foram calculadas para os indivíduos abaixo e acima da mediana.

A análise de regressão múltipla foi utilizada para testar a hipótese de que as variáveis são fatores de risco independentes para a obesidade. Foi utilizado o programa SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc.).

As frequências alélicas e genotípicas dos SNPs genotipados foram obtidas por contagem direta, e comparadas entre os grupos e com dados da literatura através do teste do qui-quadrado, com o auxílio do programa Clump (SHAM, CURTIS, 1995). O equilíbrio de Hardy e Weinberg, referente às frequências genotípicas dos SNPs encontrados na amostra, foi testado com o auxílio do programa Statistica para Windows (Statsoft, Inc. 1996).

O valor da probabilidade para os testes comparativos considerados significativos foi de  $p < 0.05$  (5%).

## APÊNDICE II

A seguir estão apresentadas as tabelas com dados que não foram apresentadas no artigo “Association between premature obesity and variant of *ADIPOQ* gene in a lifestyle intervention program” (Tabelas 21, 22 e 23).

Tabela 21 - Frequências genótípicas do SNP rs1501299 do gene *ADIPOQ* em outros estudos e valores de p para comparações com o presente estudo.

	Nosso estudo	HapMap Project	Lee, Kang, Shin (2013)	Duran-Gonzalez et al. (2011)	Park et al. (2014)
Adipoq	Adolescentes caucasianos com excesso de peso	População caucasiana não obesa	Mulheres obesas coreanas	Adolescentes mexicanos-americanos obesos	Crianças com excesso de peso
	Nº indivíduos	Nº indivíduos	Nº indivíduos	Nº indivíduos	Nº indivíduos
Usual GG	65	59	46	207	64
Portadores GT+TT	10	54	44	110	71
$\chi^2$	---	23,83	23,49	13,03	31,36
p	---	0,000001	0,000001	0,0003	0,00000002

A seguir estão representadas as médias antes e depois da intervenção para o SNP rs1501299 do gene *ADIPOQ* (Tabela 22).

Tabela 22 - Médias antes e depois da intervenção das variáveis em estudo dentro dos grupos de genótipo usual e de portadores da mutação para o sítio do rs1501299 do gene *ADIPOQ*.

Variables	Portadores do alelo mutante GT+TT (n = 10)			Genótipo usual GG (n = 65)		
	Média inicial ± DP	Média após 3 meses ± DP	p	Média inicial ± DP	Média após 3 meses ± DP	p
IMC score- Z	2,3 ± 0,7	2 ± 0,5	0,02*	2,9 ± 1,3	2,7 ± 0,7	0,000002*
CA	102,2 ± 11,3	98,1 ± 11,4	0,14	95,3 ± 11,5	95,3 ± 10,7	0,99
PAS	120,1 ± 8,1	106,2 ± 14,0	0,02*	111,3 ± 14,4	111,5 ± 12,3	1,00
PAD	78,8 ± 8,9	68,5 ± 9,2	0,02*	71,0 ± 11,2	72,6 ± 9,5	0,31
% GC	38,7 ± 7,4	34,1 ± 6,5	0,09**	38,4 ± 7,5	35,1 ± 8,7	0,00000*
MG	32,2 ± 9,9	29,5 ± 10,1	0,15	26,7 ± 8,1	25,3 ± 9,5	0,02*
MM	52,9 ± 7,0	54,4 ± 7,6	0,40	42,4 ± 9,0	46,2 ± 10,4	0,00002*
CT	190,7 ± 28,9	178,7 ± 42,4	0,13	155,0 ± 38,9	153,8 ± 32,9	0,41
HDL-C	47,0 ± 6,9	53,7 ± 10,4	0,24	43,0 ± 14,6	45,1 ± 15,5	0,02*
LDL-C	118,2 ± 28,8	104,4 ± 31,2	0,03*	91,9 ± 28,5	91,6 ± 26,9	0,93
TG	128,7 ± 40,4	102,8 ± 55,6	0,31	117,1 ± 68,6	101,5 ± 54,8	0,007*
GLU 0	87,7 ± 5,7	89,8 ± 7,1	0,35	112,5 ± 149,6	84,2 ± 15,2	0,01*
GLU 120	109,7 ± 18,4	92,5 ± 10,3	0,04*	100,0 ± 20,4	91,5 ± 14,3	0,0006*
INS 0	26,6 ± 15,0	15,5 ± 12,5	0,12	16,2 ± 12,9	13,3 ± 9,8	0,004*
INS 120	83,4 ± 40,2	50,9 ± 19,0	0,06**	47,1 ± 54,8	33,1 ± 25,0	0,005*
HOMA-IR	3,2 ± 1,8	1,9 ± 1,4	0,09**	2,8 ± 5,0	1,8 ± 1,4	0,006*
QUICKI	0,29 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,02*	0,32 ± 0,03	0,34 ± 0,04	0,0004*
FC REP	83,7 ± 11,8	79,7 ± 8,6	0,49	82,7 ± 12,6	76,3 ± 11,8	0,0001*
FC MÁX	196,0 ± 12,8	194,7 ± 14,4	0,70	188,5 ± 10,2	182,5 ± 12,3	0,001*
VO2 PICO	28,8 ± 4,0	34,6 ± 9,6	0,15	32,1 ± 6,2	34,7 ± 7,8	0,02*
VO2 absoluto	2,4 ± 0,5	2,7 ± 0,8	0,19	2,3 ± 0,6	2,4 ± 0,8	0,38

\* valor de p significativo (<0,05).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

A seguir estão representados os dados completos das frequências alélicas acima e abaixo da mediana do rs1501299 do gene *ADIPOQ* (Tabela 23).

Tabela 23– Frequências alélicas acima e abaixo da mediana para o rs1501299 do gene ADIPOQ.

Variáveis	ABAIXO		ACIMA		p
	Freq + EP alelo G276	Freq + EP alelo T276	Freq + EP alelo G276	Freq + EP alelo T276	
IMC Escore-z	0,96 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,83 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,01*
CA	0,97 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,78 ± 0,06	0,21 ± 0,06	0,0006*
PAS	0,96 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,87 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,08**
PAD	0,95 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,86 ± 0,04	0,13 ± 0,04	0,10
% GC	0,95 ± 0,03	0,91 ± 0,03	0,04 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,45
MG	0,96 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,89 ± 0,04	0,10 ± 0,04	0,19
MM	0,92 ± 0,03	0,07 ± 0,03	0,94 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,67
CT	0,94 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,85 ± 0,04	0,14 ± 0,04	0,09**
HDL-C	0,81 ± 0,05	0,18 ± 0,05	0,95 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,02*
LDL-C	0,92 ± 0,03	0,07 ± 0,03	0,87 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,44
TG	0,91 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,88 ± 0,04	0,11 ± 0,04	0,61
GLU 0	0,83 ± 0,05	0,16 ± 0,05	0,95 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,03*
GLU 120	0,97 ± 0,02	0,02 ± 0,02	0,89 ± 0,04	0,10 ± 0,04	0,11
INS 0	0,98 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,82 ± 0,05	0,17 ± 0,05	0,003*
INS 120	1,00	0,00	0,81 ± 0,06	0,18 ± 0,06	0,03*
HOMA-IR	0,94 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,85 ± 0,04	0,14 ± 0,04	0,09**
QUICKI	0,87 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,92 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,44
FC REP	0,90 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,91 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,79
FC MÁX	0,85 ± 0,07	0,15 ± 0,07	0,93 ± 0,04	0,06 ± 0,04	0,29
VO2 PICO	0,80 ± 0,07	0,19 ± 0,07	0,93 ± 0,04	0,06 ± 0,04	0,13
VO2 ABS	0,89 ± 0,05	0,10 ± 0,05	0,93 ± 0,04	0,06 ± 0,04	0,53

\* valor de p significativo (<0,05).

\*\* valor de p representa tendência ( $0,05 \leq p < 0,10$ ).

## **ANEXO I- PROPRIEDADE DAS INFORMAÇÕES**

### **CONFIDENCIALIDADE**

Eu, Lupe Furtado Alle asseguro que o caráter anônimo dos pacientes será mantido e que suas identidades serão protegidas de terceiros não autorizados. As fichas clínicas ou outros documentos submetidos ao patrocinador, se houver, não serão identificados pelo nome, mas por um código. O pesquisador manterá um registro de inclusão dos pacientes mostrando códigos, nomes e endereços para uso próprio. Bem como os formulários de Termo de Consentimento assinados pelos pacientes serão mantidos pelo pesquisador em confidência estrita, juntos em um único arquivo. Asseguramos que o paciente receberá uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Informado.

### **INFORMAÇÕES RELATIVAS AO SUJEITO DA PESQUISA**

A pesquisa será realizada em adolescentes com idades entre 10 e 16 anos, obesos e não-obesos, conforme a classificação de índice de Massa Corporal (IMC) proposta por Conde e Monteiro (2006), sendo ambos os grupos com o mesmo estágio maturacional.

### **GRUPOS VULNERÁVEIS**

A prevalência de sobrepeso e obesidade aumentou nesta última década em todas as faixas etárias. Esse aumento é diagnosticado em muitos países Americanos e Europeus (JANSSEN, *et al.*, 2005), assim como em países Latino Americanos (ABRANTES; LAMOURNIER; COLOSIMO, 2002).

A mudança no estilo de vida tem sido uma das causas do aumento na prevalência do excesso de peso. Antigamente as brincadeiras ocorriam nas ruas e parques, hoje, por questões de segurança e/ou comodidade, os pais optaram por deixar seus filhos um período maior em casa com jogos eletrônicos e na abundância de alimentos hipercalóricos, o que acarreta em uma redução no gasto energético e no aumento da quantidade de gordura corporal. Os aparelhos tecnológicos se tornam cada vez mais atrativos, existe uma maior dificuldade na adesão de crianças nas atividades físicas e/ou programáticas (PINHO; PETROSKI, 1997).

Com a redução da atividade física houve o aumento do sobrepeso e obesidade, um fator que influencia o nível de condicionamento físico de indivíduos obesos, pois a redução do gasto energético pode refletir em um menor nível de condicionamento. A obesidade está freqüentemente associada com a diminuição da capacidade física e a fadiga prematura. Presume-se que esta diminuição da capacidade física em crianças obesas está relacionada a uma limitação na função ventilatória que não deve ser atribuída somente ao excesso de peso mas também a uma inatividade física (KAUFMAN *et al.*, 2007).

## **RECRUTAMENTO DO SUJEITO DA PESQUISA**

Serão recrutadas alunos de colégios estaduais e municipais de Curitiba, pacientes da Unidade de Saúde do Cajuru.

## **CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

- Grupo obeso: não ter nenhuma restrição e estar com valores de Índice de Massa Corporal (IMC) acima do percentil 90º segundo o gráfico do CDC.
- Grupo não-obeso: não ter nenhuma restrição e estar com valores de Índice de Massa Corporal (IMC) entre o percentil 15º e 85º segundo o gráfico do CDC.

## **CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

- Serão excluídos os avaliados que não apresentarem o termo de consentimento e assentimento;
- Apresentar alguma alteração cardiorrespiratória diagnosticada na avaliação clínica;

## **COMO A PESQUISA AFETARÁ O INDIVÍDUO**

Como em qualquer tratamento o avaliado poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados ao uso de máscara na calorimetria, ao utilizar o bucal e o clamp nasal para respiração exclusivamente oral e dores musculares e articulares após os testes ergométricos máximos.