

JOSÉ LUIZ MARQUES ROCHA

**BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E DETERMINANTES DA
SÍNDROME METABÓLICA EM ADULTOS JOVENS SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

R672b
2012

Rocha, José Luiz Marques, 1986-

Biomarcadores inflamatórios e determinantes da síndrome metabólica em adultos jovens saudáveis / José Luiz Marques Rocha. – Viçosa, MG, 2012.

xiv, 138f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexo.

Orientador: Josefina Bressan.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Síndrome metabólica. 2. Inflamação - Dietoterapia.
3. Composição corporal. 4. Genes. 5. Biologia molecular.
6. Fator de necrose de tumor. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 616.39

JOSÉ LUIZ MARQUES ROCHA

**BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E DETERMINANTES DA
SÍNDROME METABÓLICA EM ADULTOS JOVENS SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 03 de fevereiro de 2012.

Kiriaque Barra Ferreira Barbosa

Leandro Licursi de Oliveira
(Coorientador)

Josefina Bressan
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus, ou qualquer outro codinome que queiram sugerir, por me dar força para cruzar esta jornada magnífica que é a minha vida!

Aos meus pais, Creuza e Edson, que com muito esforço, me deram todo o suporte possível para que pudesse crescer e ser um homem de valores na sociedade. À minha querida irmãzinha, Jozielle, a qual sou fã, por partilhar comigo todos os prazeres e as dificuldades de ser um humano. A vocês e a toda família, minha eterna gratidão por me dedicarem boa parte dos seus dias. Não tenho dúvidas de que os aplausos mais sinceros sempre vieram de vocês!

À Prof^a. Andréia Carvalho Alzamora, minha primeira orientadora de iniciação científica, com quem aprendi os primeiros passos da vida científica e importantes ensinamentos de vida. Meu sincero obrigado à Prof^a. Míriam do Carmo Rodrigues, que sempre me encoraja, a encarar tudo com a cabeça erguida, sem desespero; além de me demonstrar a importância de entender “quem realmente somos”. Agradeço também, à Prof^a. Raquel do Pilar Machado, que com seu profissionalismo e exemplo de superação, sempre foram para mim, fonte de entusiasmo para seguir em frente. Saibam que vocês foram importantíssimas em minha vida!

À Prof^a. Josefina Bressan, minha orientadora neste mais recente projeto, pelo impressionante exemplo de dedicação e competência. Obrigado por acreditar no meu trabalho e na minha integridade. Saiba que muito me orgulho da oportunidade de aprender com você a cada dia;

À Dra. Denise Machado Mourão, que me co-orientou, mesmo que não oficialmente. Agradeço por sempre me incentivar e por ter me inserido na vida de sua família, a qual eu muito estimo. À Dra. Caroline Müller que não mediu esforços para me ensinar as técnicas de expressão gênica, apenas pelo prazer em ensinar. Gostaria de ressaltar que, sem vocês, não sei o que seria de mim!

À Elisiara, do laboratório de imunovirologia, que mesmo com muito trabalho a ser feito, não me negou ajuda, encaixando um tempo para disponibilizar seu conhecimento, com muita paciência e destreza. O meu muito obrigado! Aproveito para agradecer a disponibilidade do Prof. Leandro Licursi de Oliveira, pela co-orientação e por ter aberto um espaço para mim em seu laboratório, me acolhendo como um dos seus orientados;

À Dra. Kiriaque Barra e Dra. Carolina Volp pela disponibilidade e por gentilmente ter cedido seu banco de dados para realização deste estudo;

À Prof^a. Regiane Lopes de Sales pelo carinho e por não negar sua valorosa contribuição, revisando e melhorando a qualidade deste trabalho;

Ao Prof. Moysés Nascimento, pela co-orientação e pela paciência frente a minha correria dos últimos meses;

Aos meus verdadeiros amigos, que se fazem presentes no meu cotidiano, mesmo que às vezes, a muitos quilômetros distância. Não vou nomeá-los, pois o coração de cada um sabe reconhecer o enorme carinho que tenho por nossa amizade; Apenas quero citar Charles Chaplin, que sabiamente disse que: "Conhecemos pessoas que vem e que ficam; Outras que, vem e passam. Existem aquelas que, vem, ficam e depois de algum tempo se vão. Mas existem aquelas que vêm e se vão com uma enorme vontade de ficar...". Vocês são parte da minha família e possuem uma importância indescritível!

Aos antigos e novos alunos do Laboratório de Metabolismo Energético e de Composição Corporal (LAMECC) do Departamento de Nutrição e Saúde, pela amizade e enriquecedora experiência compartilhada com cada um. Aqui, amplio meu agradecimento, a outros alunos do programa de pós-graduação em Ciência da Nutrição, que a vida me deu a feliz oportunidade de conhecer! A todos vocês obrigado pelo sincero carinho, respeito e confiança. Nunca os esquecerei!

Aos antigos e atuais moradores da República Amnésia, local onde fui recebido como muito carinho e onde passei por agradáveis momentos nestes últimos dois anos. Não posso também deixar de me lembrar dos ex-alunos e moradores da República

Tigrada de Ouro Preto, que foram muito importantes no decorrer da minha jornada. Agradeço especialmente ao Mamona, por ter me oferecido abrigo nos primeiros meses em Viçosa!

Aos funcionários e professores do Departamento de Nutrição e Saúde pela sempre boa vontade em auxiliar nas tarefas e pelo agradável convívio. Quero agradecer especialmente às Prof^{as}. Rita de Cássia Alfenas, Maria do Carmo Pelúzio, Neuza Brunoro, Sônia Machado e Giana Longo pelos ensinamentos, pelos bons momentos de alegria e ainda, por me ensinarem que é preciso ter vida fora da UFV. Gostaria de agradecer também, às queridas Rita Lopes e Mimorina que sempre estiveram solícitas a todos meus pedidos para solucionar problemas, fossem meus ou não;

Ainda não posso deixar de agradecer enormemente, ao povo brasileiro por ter custeado minha educação desde que nasci. Obrigado por me proporcionar ensino gratuito e de qualidade, que me tem possibilitado o descobrimento de um mundo de realizações e de sonhos jamais imaginados;

Às instituições CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado, fundamental para minha sobrevivência e FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, por custear este projeto.

A todos os demais que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho, sintam-se abraçados e recebam com carinho o meu muito obrigado!!!

Sonho que se sonha só
É só um sonho que se sonha só
Mas sonho que se sonha junto é realidade

Raul Seixas

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1. Biomarcadores Inflamatórios	4
2.1.1. Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)	4
2.1.1.1. TNF- α e comorbidades associadas	6
2.1.2. Interleucina seis (IL-6)	10
2.1.2.1. IL-6 e comorbidades associadas	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1. ETAPAS PREVIAMENTE CUMPRIDAS	16
3.1.1. Seleção dos Voluntários.....	16
3.1.2. Parâmetros antropométricos e de composição corporal	17
3.1.3. Pressão arterial	18
3.1.4. Consumo alimentar e variáveis de estilo de vida	18
3.1.5. Obtenção das amostras biológicas.....	19
3.1.6. Análises das amostras biológicas.....	20
3.2. ETAPAS EMPREGADAS NA EXECUÇÃO DO PRESENTE TRABALHO	21
3.2.1. Dosagem plasmática de biomarcadores inflamatórios.....	21
3.2.2. Análises da expressão gênica de marcadores inflamatórios	23
3.2.2.1. Extração, quantificação e análises da integridade do RNA	23
3.2.2.2. Síntese da fita de Dna Complementar (cDNA)	24
3.2.2.3. <i>Primers</i>	25
3.2.2.4. PCR em tempo real (qPCR)	26
3.2.3. Análises Estatísticas	27
4. RESULTADOS	29
4.1. CAPÍTULO 1: Associação da expressão gênica e dos níveis plasmáticos de	

TNF- α com os componentes da síndrome metabólica em adultos jovens.....	29
Introdução.....	29
Voluntários e métodos.....	30
Voluntários.....	30
Parâmetros antropométricos e de composição corporal.....	31
Pressão arterial	32
Análise de amostras biológicas	32
Consumo alimentar e variáveis de estilo de vida	34
Análise estatística	35
Resultados.....	36
Discussão.....	42
Referências bibliográficas.....	53
4.2. CAPÍTULO 2: Associação entre a expressão gênica e os níveis plasmáticos de IL-6 e os determinantes da síndrome metabólica em adultos jovens.....	75
Introdução	75
Voluntários e métodos.....	76
Voluntários	76
Parâmetros antropométricos e de composição corporal	77
Pressão arterial	77
Análise de amostras biológicas	78
Consumo alimentar e variáveis de estilo de vida	80
Análise estatística	80
Resultados	81
Discussão	87
Referências bibliográficas	96
5. CONCLUSÕES	106
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	106
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
8. ANEXOS.....	124

LISTA DE QUADROS E TABELAS

INTRODUÇÃO

Quadro 1: Funções mais relevantes de alguns biomarcadores inflamatórios	5
---	---

MATERIAIS E MÉTODOS

Quadro 2: Características dos genes selecionados para o estudo do estado inflamatório de adultos saudáveis, mediante expressão gênica	23
Quadro 3. Características dos primers utilizados.....	24
Tabela 1. Características dos primers utilizados.....	24

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Características antropométricas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos separadas por gênero	37
Tabela 2. Parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos (média ± DP) categorizados pelo valor da mediana (4,27 pg/mL) da concentração plasmática da TNF- α	38
Tabela 3. Variáveis de estilo de vida e ingestão dietética diária (média ± DP) categorizadas pelo valor da mediana (4,27 pg/mL para variáveis de estilo de vida e 4,20 pg/mL para ingestão dietética diária) da concentração plasmática da TNF- α	40
Tabela 4. Preditores da concentração plasmática da TNF- α (pg/mL)	41
Tabela 5. Análise de Regressão Logística: razão de chances (OR) e IC 95% para os componentes da síndrome metabólica de acordo com as concentrações plasmáticas do TNF- α (n=160).....	42

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Características antropométricas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos separadas por gênero	82
Tabela 2. Parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos (média ± DP) categorizados pelo valor da mediana (4,06 pg/mL) da IL-6	83

Tabela 3. Variáveis de estilo de vida e ingestão dietética diária (média ± DP) categorizadas pelo valor da mediana (4.06 pg/mL para variáveis de estilo de vida e 4,00 pg/mL para ingestão dietética diária) da IL-6	85
Tabela 4. Preditores da concentração plasmática da IL-6 (pg/mL)	86
Tabela 5. Análise de Regressão Logística: razão de chances (OR) e IC 95% para os componentes da síndrome metabólica de acordo com as concentrações plasmáticas da IL-6 (n=160).....	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosine trifosfato
β -Act	Beta actina
DM1	Diabetes tipo 1
DM2	Diabetes tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EROs	Espécies reativas de oxigênio
g	Força gravitacional
GPx	Glutathione peroxidase
GPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	Modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina
IMC	Índice de massa corporal
ICAM1	Molécula de adesão intercelular-1
IL1R1	Receptor tipo-1 de interleucina-1
IL-6	Interleucina seis
IL-18	Interleucina dezoito
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
LHS	Lipase hormônio sensível
LPL	Lipase lipoprotéica
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos 1
MDA	Malondialdeído
MET	Índice metabólico equivalente
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADP+	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidado
NCEP-ATPIII	Third report of the national cholesterol education program (NCEP) - expert panel on detection, evaluation, and areatment of high blood

	cholesterol in adults (<i>Adult Treatment Panel III</i>)
OR	<i>Odds ratio</i> , Razão de chances
P	Nível de probabilidade
r	Coefficiente de correlação de Spearman
r ²	Coefficiente de determinação da regressão linear simples
RI	Resistência Insulínica
RTNF	Receptor de Membrana de TNF- α
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SM	Síndrome Metabólica
TACE	Metaloproteinase Conversora de TNF- α
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
WHO	World Health Organization, Organização mundial de saúde
β	Coefficiente da regressão linear simples
18S	Subunidade ribossomal 18S
95% IC	Intervalo de confiança de 95%

RESUMO

ROCHA, José Luiz Marques, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2012. **Biomarcadores inflamatórios e determinantes da síndrome metabólica em adultos jovens saudáveis.** Orientadora: Josefina Bressan. Coorientadores: Leandro Licursi de Oliveira e Moysés Nascimento.

Várias doenças crônicas são acompanhadas por processos inflamatórios e evidências continuam a se acumular sobre a relevância clínica dos preditores laboratoriais destes eventos fisiopatológicos. Neste contexto, o presente estudo se propôs a avaliar, em indivíduos jovens e clinicamente saudáveis, as concentrações plasmáticas de TNF- α e IL-6 e a expressão de genes relacionados ao processo inflamatório (TNF- α , IL-6, ICAM1, IL1R1 e IL-18) e suas possíveis associações com fatores de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica (SM). Foram avaliados 161 indivíduos quanto à antropometria, composição corporal, ingestão dietética, além de dados bioquímicos e clínicos. A dosagem plasmática de TNF- α e IL-6 foi realizada por ensaio imunológico (ELISA) em plasma EDTA. A expressão gênica (EG) relativa foi feita em células mononucleares (PBMC) utilizando-se PCR em tempo real. As comparações entre grupos foram feitas mediante os testes de *Mann-Whitney-U* ou *Student-t*, de acordo com a distribuição das variáveis. Foram utilizados a correlação de *Spearman* e modelos de regressão linear e logística rastrear associações e fatores preditivos relativos aos biomarcadores e aos componentes da SM. Os resultados foram apresentados como média \pm DP com intervalo de confiança de 95% e nível de significância estatística de $P < 0,05$. Os resultados revelaram que as concentrações plasmáticas de TNF- α e IL-6 foram superiores nos indivíduos do sexo masculino ($P < 0,001$), contrariamente aos valores de EG que não se diferenciaram entre os gêneros. Os indivíduos com maiores níveis circulantes (MNC) de TNF- α também apresentaram maiores valores de peso corporal, perímetro da cintura, relação cintura/quadril, massa livre de gordura, pressão arterial sistólica e diastólica, glicose e ácido úrico sanguíneos e por outro lado, menores valores da % de gordura total, colesterol total e frações HDL-c e LDL-c ($P < 0,05$). Já os indivíduos com MNC de IL-6 demonstraram maiores valores de peso corporal, IMC, gordura troncular, massa livre de gordura, pressão arterial sistólica e diastólica, fração HDL-c e ácido úrico, por outro lado, menores valores de % de gordura total, pregas

cutâneas tricípital e bicípital, triacilgliceróis, colesterol total e fração LDL-c ($P < 0,05$). A EG desta citocina se apresentou de forma inversa às concentrações plasmáticas de IL-6 ($P = 0,03$). Indivíduos com MNC de TNF- α consumiam mais calorias, proteínas, cobre e fibras, no entanto menos ferro na dieta ($P < 0,05$). Já aqueles com MNC de IL-6 consumiam mais calorias, macronutrientes, fibras, ferro e cobre ($P < 0,05$). Mediante análise de regressão simples, observou-se que a EG de ICAM1, do IL1R1 e da IL-18 tiveram efeito preditivo positivo sobre os níveis circulantes de TNF- α ($P < 0,05$). Os indivíduos que se posicionaram nos dois maiores tercís (3,48 a 5,08 pg/mL e $\geq 5,09$ pg/mL) da distribuição dos níveis circulantes do TNF- α , quando comparados àqueles no menor tercil, demonstraram aumento importante nas chances de apresentar obesidade abdominal ($P < 0,05$). Da mesma forma, aqueles que se posicionaram no maior tercil, quando comparados àqueles no menor, demonstraram aumento importante nas chances de apresentar níveis reduzidos de HDL-c. Quando a mesma análise foi feita para IL-6, verificou-se que os indivíduos que se posicionaram nos dois maiores tercís (3,43 a 4,86 pg/mL e $\geq 4,87$ pg/mL) da distribuição dos níveis circulantes desta citocina, quando comparados àqueles no menor tercil, mostraram aumento importante nas chances de apresentar concentrações séricas diminuídas de HDL-c. Este estudo contribuiu para o melhor entendimento das associações entre os marcadores de interesse e os fatores de risco para a ocorrência das doenças associadas à SM. E ainda, evidenciou a associação da EG de alguns marcadores inflamatórios em PBMC com variáveis importantes no contexto das doenças metabólicas, mesmo em adultos saudáveis.

ABSTRACT

ROCHA, José Luiz Marques, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2012.
Inflammatory biomarkers and metabolic syndrome in healthy young adults.
Advisor: Josefina Bressan. Co-Advisers: Leandro Licursi de Oliveira and Moysés Nascimento.

Several chronic diseases are accompanied by inflammatory processes and evidence continues to accumulate on the clinical relevance of these laboratory predictors of pathophysiological events. In this context, the present study was to evaluate, in young and clinically healthy individuals, plasma concentrations of TNF- α and IL-6 and the expression of genes related to inflammation (TNF- α , IL-6, ICAM1, IL1R1 and IL-18) and their possible association with risk factors for the development of metabolic syndrome (MS). 161 individuals were evaluated about the anthropometry, body composition, dietary intake, and biochemical and clinical data. The plasma level of TNF- α and IL-6 was conducted by immunoassay (ELISA) in EDTA plasma. Gene expression (GE) was performed on peripheral blood mononuclear cells (PBMC) using real time PCR. Comparisons between groups were performed by the Mann-Whitney-U or Student-t in accordance with the distribution of variables. We used Spearman correlation, the linear regression model and the logistic regression. The results were presented as mean \pm SD, interval of 95% and significance level of $P < 0.05$. The results showed that plasma concentrations of TNF- α and IL-6 were higher in males ($P < 0.001$), contrary to the values of GE was not different between genders. Individuals with higher circulating levels of TNF- α also showed higher body weight, waist circumference, waist/hip ratio, fat-free mass, systolic and diastolic blood pressure, glucose and uric acid levels, and on the other hand, smaller values of percentage of total fat, total cholesterol and HDL-c and LDL-c ($P < 0.05$). Individuals with higher circulating levels of IL-6 showed higher values of body weight, BMI, truncal fat, fat-free mass, systolic and diastolic blood pressure, HDL-c and uric acid, on the other hand, lower values of percentage of total fat, biceps and triceps skinfold, triglycerides, total cholesterol and LDL-c ($P < 0.05$). The GE of this cytokine presented inverse concentrations of IL-6 in the plasma ($P = 0.03$). Individuals with higher TNF- α consumed more calories, protein, copper and fiber, but less iron in the diet ($P < 0.05$). Those with higher IL-6 consumed more calories, macronutrients, fiber, iron and

copper ($P < 0.05$). By simple regression analysis, we found that the GE of ICAM1, the R1IL-1 and IL-18 had a positive predictive effect on circulating levels of TNF- α ($P < 0.05$). As for IL-6, body weight, fat-free mass, truncal adiposity, the systolic and diastolic blood pressure, levels of uric acid, glucose and LDL-c had a positive predictive effect, unlike percentage of total fat, circulating levels of total cholesterol and LDL-c and HDL-c, besides the concentration of selenium in nails, which had a negative predictive effect. Individuals who are positioned in the two last tertiles (3.48 to 5.08 pg / mL and ≥ 5.9 pg / mL) of the distribution of circulating levels of TNF- α , compared with those in the lowest tertile (< 3.48 pg/mL) showed a significant increase the chances of having abdominal obesity ($P < 0.05$). In the same way, those who werw in the last tertile, compared with those in smaller, showed a significant increase in the chances of having low levels of HDL-c. When the same analysis was performed for IL-6, it was found that individuals who were in the two largest tertiles (3.43 to 4.86 pg / mL and ≥ 4.87 pg / mL) of the distribution of circulating levels of this cytokine, compared with those in lowest tertile (< 3.43 pg / mL) showed significant increase in serum concentrations likely to have decreased HDL-c. This study contributes to better understanding of associations between markers of interest (TNF- α and IL-6) and the risk factors for the occurrence of diseases associated with MS. Moreover, this study revealed the association of mRNA expression of some inflammatory markers in PBMC with important variables in the surrounding context of metabolic diseases, even in healthy adults.

1. INTRODUÇÃO

Embora alguns autores atribuam a resistência insulínica (RI) como o principal fator que relaciona a obesidade às adversas alterações metabólicas, há indícios que a fisiopatologia da síndrome metabólica (SM) não pode ser explicada pela RI isoladamente (MEIGS *et al.*, 1997). Além de distúrbios da homeostase da glicose, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica (HAS), muitos outros eventos fisiopatológicos têm sido caracterizados em indivíduos com SM. Entre estes, a inflamação crônica sistêmica é a evidência mais consistente (FESTA *et al.*, 2000) pois muitos marcadores inflamatórios estão altamente correlacionados com o grau de obesidade e RI (FORD *et al.*, 2005; PICKUP & CROOK, 1998), e ainda, estes têm sido considerados potentes preditores do risco para doenças cardiovasculares (RADER, 2000).

A inflamação é fundamentalmente uma resposta de natureza protetora, cujo objetivo principal é defender o corpo da lesão celular iniciada por microrganismos, toxinas, alérgenos e outros (GIL, 2005), entretanto, o processo inflamatório e de reparação podem se tornar nocivos e prejudiciais se adquirirem um caráter crônico (FERNANDEZ-REAL LEMOS, 2002; GIL, 2005). Neste contexto, indivíduos obesos podem ser caracterizados por um estado crônico de inflamação de baixa intensidade, incluindo níveis ligeiramente elevados de alguns marcadores inflamatórios, como do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e da interleucina seis (IL-6), resultado da aumentada produção e liberação destas citocinas pelos adipócitos (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1993) e macrófagos presentes no tecido adiposo (WEISBERG *et al.*, 2003). A capacidade deste tecido, principalmente o visceral, em secretar vários fatores com atividades biológicas importantes como as adipocinas, o torna não somente provedor e armazenador de energia, mas também, um órgão dinâmico com papel endócrino relevante, participando direta ou indiretamente de mecanismos que culminam em alterações metabólicas associadas aos processos que em conjunto caracterizam a SM (HERMSDORFF & MONTEIRO, 2004; QATANANI & LAZAR, 2007; VAN GAAL *et al.*, 2006).

Pesquisas têm atribuído aos níveis elevados de mediadores da inflamação, a origem das alterações orgânicas observadas na HAS, no diabetes (DM), nas dislipidemias, infecções e câncer (FANTUZZI, 2005; MORENO-ALIAGA *et al.*, 2005). Ademais, há muitas evidências científicas mostrando que a inflamação está diretamente associada à SM, assim, deriva-se a importância de se conhecer melhor os mecanismos implicados na etiologia de tal associação (CERIELLO, 2008; DAI *et al.*, 2009; FURUKAWA *et al.*, 2004; GREEN *et al.*, 2004; KEANEY *et al.*, 2003; MAIESE *et al.*, 2007; SCHIFFRIN, 2008; WADSWORTH, 2008).

Com o aumento da incidência de síndrome metabólica, especialmente em indivíduos jovens, o esclarecimento do papel dos diversos biomarcadores do estado inflamatório se tornou muito importante para o maior entendimento deste processo crônico. Assim, esforços têm sido realizados no sentido de identificar marcadores para a avaliação de tais processos, com o objetivo de sistematizar sua utilização no diagnóstico e controle dos efeitos adversos dos mesmos.

Doenças associadas a reações imunes e a distúrbios metabólicos levam a alterações nos componentes celulares sanguíneo, sendo que essas mudanças também se refletem em diferentes padrões de expressão genética durante o desenvolvimento patológico (FRANK & HARGREAVES, 2003). Por isso, as células mononucleares do sangue periférico (PBMC), tais como macrófagos e monócitos, têm sido utilizadas para estudar o estado pró-inflamatório de adipócitos (GHANIM, H. *et al.*, 2004; GOYENECHEA, E. *et al.*, 2005; VIGUERIE *et al.*, 2005). Este método é considerado uma ferramenta acessível e pouco invasiva para se determinar os mecanismos que envolvem a obesidade e doenças relacionadas (DEBEY-PASCHER *et al.*, 2008), em contraste com as dificuldades óbvias para a obtenção de amostras de biópsias de tecido adiposo, muscular e hepático (MULLER *et al.*, 2002).

As PBMC têm sido usadas para estudar perfis de doenças como o transcriptoma no lúpus eritematoso sistêmico (SPOTO, 2007) e a leucemia mieloide aguda (GOYENECHEA *et al.*, 2009). Adicionalmente, evidências em humanos indicam que o acúmulo excessivo de gordura está associado com a ativação das PBMC e um aumento da expressão de uma série de citocinas relacionadas com a inflamação e resposta

imune (GHANIM, HUSAM *et al.*, 2004; O'ROURKE *et al.*, 2006). Da mesma forma, estudos de intervenção nutricional demonstraram efeitos pertinentes de nutrientes específicos e da restrição calórica sobre a expressão gênica em PBMC (CRUJEIRAS *et al.*, 2008; GOYENECHEA *et al.*, 2009). Mais recentemente, Hermsdorff *et al.*, (2010) mostrou associações entre a distribuição da gordura corporal com a expressão de genes pró-inflamatórios em PBMC de uma população espanhola (n=136), mesmo com perfil jovem e clinicamente saudável.

Desta forma, as análises do transcriptoma em sangue periférico despontam como uma abordagem muito promissora para a determinação de doenças e o resultado do tratamento das mesmas (RAWAL, 1995). Os perfis de expressão gênica de leucócitos circulantes, como as células mononucleares citadas, podem ser utilizados como marcadores para as doenças que não são associadas primariamente ao sangue periférico. Assim, a utilização padronizada de perfis de expressão gênica de PBMC, revela-se extremamente útil para o diagnóstico de desordens do metabolismo, e ainda, predizer desfechos clínicos (FRANK & HARGREAVES, 2003).

Como visto, as doenças crônicas são acompanhadas pelo processo inflamatório e que a presença de inflamação pode preceder o futuro desenvolvimento destas doenças (BLAKE & RIDKER, 2001; DARVALL *et al.*, 2007; FESTA *et al.*, 2000; FRANCISCO *et al.*, 2006; KOH *et al.*, 2005; PEARSON *et al.*, 2003; YUDKIN *et al.*, 2004). No entanto, existem controvérsias a este respeito na literatura científica e há pouca informação sobre as concentrações destes marcadores em indivíduos clinicamente saudáveis, e ainda, como os fatores ambientais influenciam nestes níveis. Além do mais, não se tem estabelecido pontos de corte ou valores de referência que indiquem a interface entre a homeostase corporal e o prognóstico ruim de saúde promovido pela inflamação e seus processos associados; Assim, faz-se necessário o entendimento do papel destes biomarcadores e suas associações com outros possíveis determinantes destas comorbidades, tais aquelas envolvidas com a SM, em indivíduos que ainda não as desenvolveram.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Biomarcadores inflamatórios

Evidências continuam a se acumular durante as últimas duas décadas sobre a relevância clínica dos preditores laboratoriais de eventos fisiopatológicos (FISMAN & TENENBAUM, 2010). Estes indicadores são moléculas, geralmente da ordem dos picogramas (pg), chamados biomarcadores. Novos e mais biomarcadores específicos estão sendo isolados e empregados em abordagens sofisticadas de bioinformática (GERSZTEN & WANG, 2008; STEINBRICH-ZOLLNER *et al.*, 2008).

O que diferencia um biomarcador é sua característica bioquímica de poder ser objetivamente quantificado e avaliado como um indicador de processos biológicos normais, de eventos patogênicos ou respostas farmacológicas, ou ainda, de outras intervenções terapêuticas. Eles podem ser classificados em 3 tipos: tipo 0, que estima a criação ou o avanço de uma doença, tipo 1, que mede as respostas às intervenções terapêuticas, e o tipo 2, que pode ser empregado como sucedâneo de desfechos clínicos (AZUAJE *et al.*, 2009; BDWG, 2001).

Neste contexto, vários biomarcadores inflamatórios tem sido descobertos e suas funções averiguadas, entretanto, ainda pouco se sabe sobre estes. Entre as citocinas inflamatórias, destacam-se o TNF- α e a IL-6, pois têm sido amplamente estudadas e fortes evidências as colocam intimamente ligadas ao processo de desenvolvimento e manu da obesidade e suas comorbidades associadas. Os principais biomarcadores inflamatórios bem como suas funções mais relevantes estão listados no Quadro 1.

2.1.1 Fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α)

O TNF- α foi descrito em 1975 e inicialmente foi nomeado como caquexina, devido a seu potente efeito na perda de peso (ANKER *et al.*, 2004). É um polipeptídeo trimérico (17,5 kDa), composto por 157 aminoácidos, produzido principalmente por monócitos e macrófagos ativados, além de outras células, como linfócitos, fibroblastos, neutrófilos, músculo liso e mastócitos (ADAMOPOULOS *et al.*, 2001). Essa citocina

pode atuar em quase todo o tipo de célula nucleada, por meio de dois tipos de receptores de membrana, tipo I (RTNF-I) e tipo II (RTNF-II), ou como molécula solúvel, ambos ativos biologicamente (ANKER & VON HAEHLING, 2004).

Quadro 1. Características mais relevantes de alguns biomarcadores inflamatórios.

Biomarcador	Características
TNF-α	Citocina mediadora da resposta imune e inflamatória. Indutor da síntese de TGF- β .
IL-6, IL-18	Citocinas Proinflamatórias.
TGF-β	Regulação do crescimento e diferenciação dos vários tipos celulares. Indutor da síntese de PAI-1 no tecido adiposo humano.
PAI-1	Fator pró-trombótico; Hipercoagulante.
PCR e SAA	Proteínas hepáticas mais produzidas em resposta à inflamação.
Fibrinógeno	Reagente hepático de fase aguda. Fator de risco cardiovascular.
C3 e ASP	A ativação das três vias do sistema complemento. Reagente hepático de fase aguda. ASP aumenta a eficiência da síntese de triacilgliceróis nos adipócitos e inibe a atividade da lipase hormônio sensível.

Abreviaturas: TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL:interleucina; TGF- β : fator de crescimento beta; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio 1; PCR:proteína C reativa; SAA: amilóide A; C3: fator 3 do sistema de complemento; ASP: proteína estimuladora de acilação. Adaptado de ZULET et al., (2007).

Após a translocação, similarmente ao próprio TNF- α , ambos receptores são inseridos na membrana celular. Na clivagem proteolítica, realizada por uma metaloproteinase conversora de TNF- α (TACE), os RTNF, bem como o próprio TNF- α , são liberados em sua forma solúvel. Dessa maneira, os fragmentos dos domínios extracelulares de ambos os receptores de TNF- α (tipo I e II) podem ser liberados da membrana celular e quantificados em sua forma solúvel (RTNF-I e RTNF-II), na urina e no plasma, tendo sido apontados como reguladores da atividade biológica desta citocina (ADERKA *et al.*, 1992).

Em concentrações fisiológicas, os RTNF podem atuar como um “reservatório de liberação lenta”, aumentando dessa forma, a meia vida desta citocina (BEYAERT, 1999; VALGIMIGLI *et al.*, 2005). Quando presente em concentrações elevadas, como em pacientes com insuficiência cardíaca grave (classe III e IV, NYHA), os RTNF podem inibir o aumento patológico da atividade do TNF- α , atuando dessa forma como uma antimolécula de TNF- α (ANKER & VON HAEHLING, 2004).

O TNF- α pode ser o principal causador de uma série de distúrbios metabólicos tais como: elevação da taxa metabólica (ANKER *et al.*, 2004), diminuição do fluxo de sangue para tecidos periféricos e disfunção endotelial (BEHNKE *et al.*, 2004), ativação da oxido nítrico sintetase (GIELEN *et al.*, 2005) e alteração no metabolismo das proteínas e dos lipídios (FERRARI, 1998). Além da forte implicação na obesidade e RI, o TNF- α também está associado com patologias como a HAS, as dislipidemias, infecções e câncer (COTTAM *et al.*, 2004).

2.1.1.1 TNF- α e comorbidades associadas

As primeiras informações acerca das ações biológicas associadas ao TNF- α definiam um envolvimento na RI, perda de peso corporal e anorexia. O aumento da lipólise decorreria do estímulo proporcionado pelo TNF- α na expressão da enzima lipase hormônio sensível (LHS), na diminuição da atividade da lipase lipoprotéica (LPL), do transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) e da enzima acetil-CoA sintetase, culminando na inibição da lipogênese (ARNER, P., 1995; MONTAGUE *et al.*, 1998). No entanto, investigações mais recentes têm revelado estreito vínculo molecular entre o TNF- α e o acúmulo de gordura corporal, uma vez que a expressão desta citocina está aumentada na obesidade (FRUHBECK *et al.*, 2001), tanto no plasma quanto no tecido adiposo branco (FANTUZZI, 2005; XU *et al.*, 2003). Tem sido mostrado que os níveis de TNF- α são ainda maiores em pacientes obesos com SM, quando comparados a obesos sem a síndrome (XYDAKIS *et al.*, 2004).

Em 2004, Xydakis *et al.*, mostraram pela primeira vez, que os níveis de TNF- α se elevam com o número de componentes da SM. Além do mais, as análises estatísticas mostraram uma correlação positiva do TNF- α com medidas de adiposidade, perímetro

da cintura, trigliceridemia, insulinemia e RI mensurada pelo índice HOMA-IR (modelo de avaliação da homeostase da sensibilidade à insulina). Contrariamente, a correlação foi negativa com os valores da razão colesterol/HDL.

O TNF- α é uma das principais citocinas mediadoras da resposta inflamatória e imune, além de ser indutor da síntese do fator de crescimento TGF- β (PETERSON, 2005; XYDAKIS *et al.*, 2004). Além disso, o TNF- α induz a expressão de IL-6 no tecido adiposo e promove a expressão endotelial de moléculas de adesão (DARVALL *et al.*, 2007). Há ainda indícios de que o aumento da expressão gênica de TNF- α no tecido adiposo bem como a sua elevada concentração plasmática poderiam induzir à obesidade, em parte, por alterar a liberação na circulação de outras adipocinas, como o inibidor do PAI-I e a adiponectina. Ratificam essa hipótese, resultados de experimentos envolvendo ratos tratados com tiazolidinedionas (TZDs), medicamentos utilizados no controle glicêmico, regulando receptores ativados pelo proliferador de peroxissomo (PPAR). Em um destes estudos, foi verificada diminuição da expressão gênica de TNF- α no tecido adiposo bem como sensibilidade inalterada à insulina neste tecido. Além disso, ocorreu aumento da expressão de PAI-I e diminuição da adiponectina no tecido adiposo branco (RUAN *et al.*, 2002). Entretanto, como já discutido nesta revisão ainda não se sabe ao certo o que seria a causa e o efeito entre o processo inflamatório e a obesidade.

Atualmente se discute, sobretudo, acerca do papel do TNF- α no contexto da RI em humanos obesos, pois há forte correlação inversa entre TNF- α e metabolismo da glicose (WINKLER *et al.*, 2003). Este efeito ocorre em razão da supressão pelo TNF- α da sinalização da insulina, reduzindo a fosforilação do substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1) e a atividade do receptor insulina quinase (PI3K). Tal fato resulta na redução da síntese e translocação do GLUT-4 para a membrana com conseqüente diminuição na captação de glicose pelas células mediada pela ação da insulina. Esta redução de sensibilidade periférica à insulina ocasiona o aumento da gliconeogênese hepática e reduz o *clearance* de glicose pelo músculo esquelético e tecido adiposo, caracterizando um quadro de hiperinsulinemia (ARNER, P., 1995; HSUEH & LAW, 2003).

A partir desses dados, e de outros achados da literatura, é que tem sido proposto que o TNF- α está diretamente envolvido na evolução da obesidade, da RI e do DM2 e

suas complicações (CAWTHORN & SETHI, 2008; YE, 2008). Essa hipótese é apoiada por estudos que mostram que a interferência na sinalização do TNF- α protege contra o desenvolvimento da SM em animais, durante o desenvolvimento da obesidade (ARAUJO *et al.*, 2007) e por estudos em humanos que mostram que a neutralização do TNF- α aumenta a sensibilidade à insulina em pacientes com doença inflamatória crônica (GONZALEZ-GAY *et al.*, 2006; KIORTSIS *et al.*, 2005). Há também uma série de trabalhos com animais, que mostram que a interferência na sinalização do TNF- α tanto endógena (ou seja, nos ratos que faltam TNF- α ou seu receptor) (LIANG *et al.*, 2008; UYSAL, K. T. *et al.*, 1997), quanto exógena (neutralização da ação do TNF- α) melhora a RI durante o desenvolvimento da obesidade (ARAUJO *et al.*, 2007; ISHIKAWA *et al.*, 2006).

Todavia, outras pesquisas usando estratégias semelhantes não conseguiram demonstrar o efeito de neutralização do TNF- α na sensibilidade a insulina (PAMIR *et al.*, 2009; SCHREYER *et al.*, 1998). Adicionalmente, estudos que investigam a neutralização do TNF- α em pacientes com DM2 não conseguiram demonstrar efeito na sensibilidade à insulina (BERNSTEIN *et al.*, 2006; DOMINGUEZ *et al.*, 2005; PAQUOT *et al.*, 2000). Portanto, embora esta hipótese tenha encontrado ampla aceitação, ainda existem controvérsias sobre o papel do TNF- α na patogênese da RI, do DM2 e das doenças vasculares (VON BIBRA & ST JOHN SUTTON, 2010). A base para essa divergência não é clara, mas pode ser reflexo das diferenças na dieta ou na estrutura genética dos camundongos estudados e, no caso de estudos realizados com humanos, pode dizer respeito às diferenças entre as populações investigadas e/ou aos diferentes períodos de tempo entre os estudos.

Recentemente, Wascher *et al.* (2011), promoveram um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego em 9 adultos jovens de aproximadamente 39 anos, obesos (IMC \pm 31,5 kg.m⁻²) do sexo masculino com SM e RI. Os voluntários receberam infusões (3mg/kg) de um potente inibidor da ação do TNF α (Infliximab[®]) ou placebo. A investigação mostrou que o bloqueio de TNF- α em longo prazo em pacientes com a SM, sem diagnóstico de DM, reduz o estado inflamatório, como indicado pela diminuição da PCR e do fibrinogênio ($2,77 \pm 0,6$ para $1,80 \pm 0,5$ mg/L e $3,42 \pm 0,18$

para $3,18 \pm 0,28$ g/L; dias 0 e 70, respectivamente), mas não melhora a sensibilidade à insulina ou função endotelial. Este estudo, juntamente com outros trabalhos envolvendo a neutralização do TNF- α (BERNSTEIN *et al.*, 2006; DI ROCCO *et al.*, 2004; DOMINGUEZ *et al.*, 2005; OFEI *et al.*, 1996; PAQUOT *et al.*, 2000) também trazem a questão a saber se, de fato, o TNF- α é a ligação causal entre obesidade e RI.

Pesquisas indicam que o TNF- α pode ser reduzido com intervenções para perda de peso corporal (BASTARD *et al.*, 2000; SHARMAN & VOLEK, 2004) ou após atividade física (CASTELLANO *et al.*, 2008), porém estudos recentes não corroboram estes resultados. Rolland *et al.* (2011) investigaram os efeitos da perda de peso em pacientes obesos (IMC >35 kg/m²) sobre os níveis de algumas adipocinas. Os resultados revelaram que a perda de peso não levou ao decréscimo nos níveis de TNF- α . Outro estudo, realizado por Arvidsson *et al.* (2004), também não mostrou mudança nos níveis circulantes de TNF- α , mesmo depois de uma perda de peso média de 7,5% em 10 semanas. Estes autores sugerem que o tecido adiposo pode ter um efeito pouco importante na regulação dos níveis TNF- α circulantes. Assim, o TNF- α parece ser produzido atuando localmente no tecido adiposo humano (LOFGREN *et al.*, 2000), não havendo uma importante liberação para a circulação (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997). Uma série de estudos confirmou que não houve mudanças nos valores sanguíneos de TNF- α após reduções significativas no peso corporal (5-9 kg) com intervenções dietéticas e de exercícios físicos (DVORAKOVA-LORENZOVA *et al.*, 2006; LAMBERT *et al.*, 2008; MILLER *et al.*, 2008; PUGLISI & FERNANDEZ, 2008; XYDAKIS *et al.*, 2004).

Com relação à modificação na ingestão alimentar, este é um importante aspecto a ser observado, uma vez que alguns estudos indicam influência da dieta nos níveis de TNF- α . Um exemplo são os polifenóis presentes na uva (ZERN *et al.*, 2005) e uvas-passas (SHARMAN & VOLEK, 2004) que tem sido efetivos na redução das concentrações plasmáticas TNF- α . Há ainda referências de que triacilgliceróis e ácidos graxos livres exerçam forte influência na indução da expressão de TNF- α . Roedores tratados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento significativo da expressão de TNF- α e alteração da via de sinalização insulínica *in vivo* (MORIN *et al.*, 1997).

Também pode ser visto que em animais deficientes do TNF- α , mesmo quando submetidos à dieta hiperlipídica, apresentando-se “protegidos” em relação ao desenvolvimento de obesidade com RI. Neste sentido, tem se demonstrado que a dieta e o tratamento farmacológico indicado para a perda de peso podem conduzir a uma diminuição dos níveis séricos de TNF- α (FRUHBECK *et al.*, 2001; HUKSHORN *et al.*, 2004).

Apesar do enorme número de estudos e das inúmeras hipóteses, ainda existem lacunas a serem preenchidas sobre o papel do TNF- α no contexto das doenças metabólicas e, principalmente, no que se refere a etapas que antecedem o desfecho destas. É notória a necessidade de averiguar e aprofundar neste campo de conhecimento, uma vez que esta pode ser uma forma de auxiliar na prevenção e/ou tratamento de patologias crônicas que se alastram e oneram o sistema de saúde da maior parte dos países.

2.1.2 Interleucina seis (IL-6)

A IL-6 é uma citocina multifuncional produzida e secretada por vários tipos de células, principalmente por macrófagos e células T, tendo seus efeitos mediados por seus receptores, IL-6R β (também conhecido como gp130) como uma sub-unidade de sinalização (FISMAN & TENENBAUM, 2010). Esta interleucina pode atuar sobre diferentes tipos de células, desempenhando uma gama de funções nos efeitos imunes celulares e humorais relacionados à inflamação, defesa do hospedeiro e injúria tecidual (FRANCISCO *et al.*, 2006); bem como nas características fisiológicas da maioria dos tipos de células e tecidos fora do sistema imune (KAMIMURA *et al.*, 2003).

A IL-6 possui ação parácrina, autócrina e endócrina (FRANCISCO *et al.*, 2006), sendo a mediadora central da resposta de fase aguda e a principal citocina pró-coagulante, pois determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas de fibrinogênio, proteína amilóide sérica A (SAA), e em especial, da PCR (FRANCISCO *et al.*, 2006; WILLERSON & RIDKER, 2004).

Concentrações elevadas de IL-6 têm sido associadas com um prognóstico ruim de saúde (HARRIS *et al.*, 1999; VOLPATO *et al.*, 2001). Os níveis de IL-6 aumentados

têm sido relacionados a diversas doenças e estados metabólicos como a sepse (ANDREJKO *et al.*, 1998), a HAS (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2001), a baixa sobrevida entre pacientes com câncer (DUFFY *et al.*, 2008), ao risco aumentado de câncer de mama em mulheres antes da menopausa (ALOKAIL *et al.*, 2009), a intensidade da resposta inflamatória (CUSCHIERI *et al.*, 2010), a obesidade (POU *et al.*, 2007), ao aumento da RI (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2001), e outros. Além disso, os níveis de IL-6 aumentados se correlacionam com outros biomarcadores que refletem processos prejudiciais, como o TNF- α (FISMAN *et al.*, 2008; HUNG *et al.*, 2005), interleucinas 8 e 18 (FISMAN *et al.*, 2008; TROSEID *et al.*, 2010), PCR (LEY *et al.*, 2010), e outros. Também tem sido postulado que a IL-6 poderia ser o elo entre a inflamação, obesidade, estresse e enfermidades cardiovasculares (GOYENECHEA, E. *et al.*, 2005).

Entretanto, salienta-se que a investigação genômica comparativa entre as seqüências de aminoácidos da IL-6 de humanos e de ratos, mostrou que há correspondência de apenas 42% (KAMIMURA *et al.*, 2003), requerendo extrema cautela na extrapolação dos resultados de ratos para humanos. Outro problema nas investigações com a IL-6 é a grande variabilidade de seus valores. O valor de referência estabelecido é de 1 pg/mL (D'AURIA *et al.*, 1997; YAMAMURA *et al.*, 1998), mas ele se modifica com uma grande amplitude, como após uma única refeição rica em gordura (MATHEW *et al.*, 2010), após a atividade física (FEBBRAIO & PEDERSEN, 2002), durante o período menstrual (ANGSTWURM *et al.*, 1997), na hiperglicemia aguda (NODE & INOUE, 2009), ou durante e após uma intervenção cirúrgica (SAKAMOTO *et al.*, 1994). A gravidez representa um bom exemplo dessas grandes alterações séricas: os valores de mediana de 129 pg/mL foram registrados no momento do parto, diminuindo para 58 pg/mL imediatamente depois (KESKI-NISULA *et al.*, 2004). Além disso, durante a sepse a IL-6 pode chegar a valores ainda mais elevados que estes citados (KITANOVSKI *et al.*, 2006).

2.1.2.1 IL-6 e comorbidades associadas.

A IL-6 junto com o TNF- α são as citocinas mais estudadas em relação à obesidade (FANTUZZI, 2005). Os níveis de IL-6 estão elevados em indivíduos obesos, tanto no soro como no tecido adiposo branco. Na ausência de um processo inflamatório agudo, os adipócitos contribuem com cerca de 10 a 30% dos níveis circulantes da IL-6 (FANTUZZI, 2005; MOHAMED-ALI *et al.*, 1997), sendo que o tecido adiposo visceral produz e secreta três vezes mais IL-6 do que o subcutâneo (FRIED *et al.*, 1998). Investigações em humanos mostram que os níveis da IL-6 se correlacionam com todos os componentes da SM (glicemia, perímetro da cintura, concentrações séricas de triacilgliceróis e de HDL-colesterol, pressão sistólica, pressão diastólica), além da concentração sérica de insulina, IMC e os marcadores inflamatórios IL-18 e PCR (THORAND *et al.*, 2006; YUDKIN *et al.*, 2004). Volp *et al.* (2010), em uma revisão sistemática, concluíram que concentrações elevadas da IL-6 estão associadas com a SM de uma forma dependente da obesidade.

TNF- α , glicocorticóides e catecolaminas representam alguns importantes moduladores da expressão de IL-6 no tecido adiposo (FRIED *et al.*, 1998). De acordo com Nonogaki *et al.* (1995), o impacto metabólico produzido pelo aumento da expressão de IL-6 nos depósitos corporais de gordura, pode ser de crucial importância na patogênese da obesidade. Os níveis plasmáticos elevados de IL-6 poderiam estimular a síntese hepática de triacilglicerol, contribuindo assim para a hipertrigliceridemia associada à obesidade visceral.

Os dois principais efeitos adversos do aumento da IL-6 na obesidade são a RI e aumento do risco de complicações cardiovasculares (ARSLAN *et al.*, 2010). A administração de IL-6 em voluntários saudáveis induz ao aumento da glicemia de maneira dose dependente (TSIGOS *et al.*, 1997), demonstrando assim seu papel na regulação da homeostase da glicose. Outros estudos, também revelaram uma ação direta da IL-6 na sensibilidade à insulina em homens saudáveis, em mulheres obesas, e em pacientes com câncer (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2001; KERN *et al.*, 2001).

Esta associação positiva entre níveis de plasmáticos de IL-6, RI e obesidade em humanos, pode acometer tanto adultos como crianças. Um estudo realizado com 105 crianças e adolescentes obesos, sendo 14 intolerantes à glicose e 91 com teste normal de tolerância à glicose, os níveis plasmáticos de IL-6 foram maiores naqueles que apresentavam intolerância à glicose em comparação aos pacientes normoglicídicos (YESTE *et al.*, 2007). Os mecanismos que explicam este efeito ainda não estão completamente elucidados, entretanto, está provavelmente relacionado à RI.

Já é conhecido há alguns anos que a IL-6 inibe a transdução de sinal do receptor de insulina nos hepatócitos, o que aumenta a circulação de ácidos graxos livres do tecido adiposo e reduz a secreção de adiponectina, promovendo, desse modo, resistência à ação do hormônio no tecido (BODEN & SHULMAN, 2002; FASSHAUER *et al.*, 2003). Outros estudos mostram, que esta interleucina também desempenha papel importante no metabolismo de carboidratos e lipídios por aumentar a lipólise, com inibição da LPL e redução da expressão do IRS-1 e do GLUT-4 também no tecidos muscular (REXRODE *et al.*, 2003).

Paradoxalmente a todas essas evidências acerca do papel da IL-6 na obesidade e na RI, alguns autores não encontraram alterações na tolerância à glicose após a administração aguda de IL-6, sugerindo que é pouco provável que esta citocina, por si só, esteja ligada ao desenvolvimento de RI em humanos (KROGH-MADSEN *et al.*, 2006). Além disso, estudos realizados com roedores mostraram que, na deficiência de IL-6, pode ocorrer uma indução de obesidade com intolerância à glicose (NONOGAKI *et al.*, 1995), e que a administração intracerebroventricular dessa citocina pode diminuir a gordura corporal (WALLENIOUS *et al.*, 2002). O conjunto desses achados sugere que a IL-6 pode agir de formas distintas, dependendo da sua concentração orgânica, tanto nos tecidos periféricos quanto no sistema nervoso central, influenciando o peso corporal, a homeostase energética e a sensibilidade insulínica (GUIMARÃES *et al.*, 2007).

A IL-6 parece possuir um papel negativo em ambos os tipos principais de DM. Após o ajuste para idade, sexo, IMC, relação cintura-quadril, esportes, tabagismo, consumo de álcool e outras variáveis, a IL-6, surge como um preditor independente precoce do DM2 (SPRANGER *et al.*, 2003). Também, há indícios que a presença do

DM2 esteja relacionado com polimorfismos no promotor do gene da IL-6 (VOZAROVA *et al.*, 2003). Já no diabetes mellitus tipo 1 (DM1), pacientes jovens metabolicamente controlados, apresentam maiores níveis de IL-6 e fibrinogênio em relação aos controles (SNELL-BERGEON *et al.*, 2010).

Ainda destaca-se que esta citocina também desempenha um papel muito importante na patogênese da doença arterial coronariana (FISMAN *et al.*, 2008). Grandes quantidades de IL-6 são encontrados em placas ateroscleróticas humanas (RUS *et al.*, 1996) e estão associados a maior mortalidade por todas as causas em pessoas idosas (REUBEN *et al.*, 2000). Além disso, os pacientes com elevação persistente dos níveis de IL-6 demonstram pior evolução intra-hospitalar após a admissão com angina instável (BIASUCCI; LIUZZO; FANTUZZI; *et al.*, 1999; BIASUCCI; LIUZZO; *et al.*, 2000) e em modelos animais experimentais (MELENDEZ *et al.*, 2010).

A partir da forte evidência que a IL-6 está envolvida no desenvolvimento e manutenção de várias doenças, alguns estudos de intervenção têm sido desenvolvidos com o intuito de amenizar suas ações. A redução da concentração plasmática de IL-6 e de seus respectivos receptores, na forma solúvel, tem sido demonstrada em indivíduos com insuficiência cardíaca submetidos a um programa de treinamento aeróbio (ADAMOPOULOS *et al.*, 2002), e também em obesos que participam de estudos de intervenção baseados em dieta e exercícios físicos (BRUUN *et al.*, 2006), sugerindo uma atenuação no quadro inflamatório crônico, mediada por uma regulação na resposta inflamatória periférica (CONRAADS *et al.*, 2002; COSTA ROSA & BATISTA, 2005).

Em outro estudo, foi verificado que o selênio da dieta pode suprimir a concentração plasmática da IL-6, por desempenhar um papel importante no decréscimo do estado oxidativo e da resposta inflamatória (BLAKE & RIDKER, 2001). Nesse estudo, indivíduos que possuíam maiores concentrações séricas de selênio, eram menos propensos a apresentar maiores concentrações séricas de IL-6 (>4,81pg/mL) (T3: OR=0,65 [0,52-0,80]; 95%). Os autores discutem que, de fato, o selênio é um

constituente da glutathiona peroxidase (GPx), a enzima com maior ação redutora de peróxido de hidrogênio e de peróxidos de lipídios.

As relações de causa-efeito entre os processos de inflamação e as doenças associadas ainda não estão claras, mas vários estudos têm associado estas ao aumento da secreção de alguns biomarcadores (DANDONA *et al.*, 2004; DANDONA *et al.*, 2005; MORENO-ALIAGA *et al.*, 2005), como o TNF- α e de outras citocinas como a IL-6 (FORD *et al.*, 2003; GREEN *et al.*, 2004; HANSEL *et al.*, 2004; KEANEY *et al.*, 2003). Existem controvérsias a este respeito na literatura científica e ainda, há pouca informação sobre os níveis destes marcadores em indivíduos clinicamente saudáveis. No entanto, os resultados de vários estudos têm confirmado que as doenças crônicas são acompanhadas pelos processos inflamatórios e que a presença de inflamação pode preceder o futuro desenvolvimento destas doenças (BLAKE & RIDKER, 2001; DARVALL *et al.*, 2007; FESTA *et al.*, 2000; FRANCISCO *et al.*, 2006; KOH *et al.*, 2005; PEARSON *et al.*, 2003; YUDKIN *et al.*, 2004).

Diante do exposto, verifica-se que são necessários mais estudos com o objetivo de elucidar a possível relação existente entre a ingestão alimentar, o estado inflamatório e a expressão de determinados genes em indivíduos saudáveis para melhor entendimento do processo de desenvolvimento da obesidade e de suas complicações metabólicas associadas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido mediante análise de dados e amostras de sangue previamente coletados como parte do projeto intitulado “Avaliação do estado oxidativo e inflamatório de uma população universitária: possível associação com o desenvolvimento de síndrome metabólica”, devidamente registrado (nº 50703155347), em 09/05/2007, na Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa. Tal projeto foi também aprovado (Of. Ref. nº 009/2006), em 27/03/2006, pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, de acordo com os princípios da Declaração de *Helsinki*. Cabe ressaltar que as informações individuais dos voluntários participantes foram tratadas de forma imparcial e sigilosa, e estiveram acessíveis apenas ao pesquisador executor do projeto em sala separada. Este presente projeto também foi aprovado pelo mesmo comitê de ética (Of. Ref. nº 019/2011 – Anexo deste trabalho). A seguir, serão apresentados os dados e amostras biológicas disponíveis, mediante etapas previamente cumpridas e a metodologia empregada no presente trabalho.

3.1 ETAPAS PREVIAMENTE CUMPRIDAS

3.1.1 Seleção dos Voluntários

Foram selecionados 161 indivíduos (93 mulheres e 68 homens), obedecendo aos seguintes critérios de inclusão: apresentar idade entre 18 e 35 anos; ser estudante de graduação ou pós-graduação da Universidade Federal de Viçosa; não ser portador de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes *mellitus*, doenças tireoidianas, doenças cardiovasculares, trombofilias, doenças infecciosas e/ou inflamatórias, doenças do trato gastrointestinal e/ou hepáticas, doenças renais crônicas, doenças respiratórias, câncer, doenças de transtorno alimentar, alergias alimentares ou outras doenças metabólicas e/ou endócrinas que possam afetar a ingestão alimentar ou a composição corporal; não possuir marcapasso e/ou prótese; não estar em tratamento farmacológico que possa afetar o metabolismo energético, a ingestão alimentar, a composição corporal ou os níveis de glicose, perfil lipídico e insulina; não ter iniciado o uso de anticoncepcional há menos de 2 meses, não ter feito tratamento para perda de peso;

possuir peso estável nos últimos 6 meses (permitido flutuação de até 5% do peso corporal), não ser atleta de elite ou estar planejando modificar sua atividade física e/ou alimentação durante o estudo; não ser adepto a prática de dietas especiais (dieta vegetariana, dieta Atkins, etc.) aos três meses anteriores ao estudo. Os questionários e formulários utilizados estão no anexo deste trabalho.

3.1.2 Parâmetros antropométricos e de composição corporal

A estatura foi aferida utilizando-se estadiômetro (Modelo Seca 206, Hamburg, Alemanha), com extensão máxima de 2 metros, subdividido em milímetros. Para a aferição do peso corporal utilizou-se balança digital eletrônica (Modelo Tanita TBF-300A, Tóquio, Japão), com capacidade máxima de 180 quilogramas e aproximação de 100 gramas. O índice de massa corporal foi calculado pelo quociente entre o peso corporal (Kg) e a estatura ao quadrado (m^2) e classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998).

O perímetro da cintura foi medido no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca e o do quadril no maior perímetro horizontal entre a cintura e os joelhos, sem contração glútea (SALAS-SALVADO *et al.*, 2007). Ambos os perímetros foram aferidos utilizando-se fita métrica flexível e inelástica, subdividida em milímetros. Foi calculada a relação entre os perímetros da cintura e quadril, classificada segundo os pontos de corte preconizados pela NCEP-ATPIII (2001).

As pregas cutâneas tricótipal, bicótipal, subescapular e suprailíaca foram aferidas utilizando-se adipômetro (*Lange caliper, Cambridge Scientific Industries Inc.*, Cambridge, Maryland, Estados Unidos) com aproximação de 1 milímetro, conforme técnica previamente padronizada (DURNIN & WOMERSLEY, 1974). Procedeu-se ao cálculo do percentual de gordura troncular pela razão entre o somatório das pregas cutâneas subescapular e suprailíaca e o somatório das 4 pregas cutâneas (WARNBERG *et al.*, 2006).

O percentual de gordura corporal total foi obtido mediante análise da bioimpedância elétrica horizontal (*Biodynamics 310 model, Washington, USA*), a partir da qual também foi estimada a massa de gordura e a massa livre de gordura corporal em quilogramas.

3.1.3 Pressão arterial

Os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica foram aferidos mediante esfigmomanômetro mecânico de coluna de mercúrio (BIC, São Paulo, Brasil), com aproximação de 2 mmHg, conforme técnica descrita anteriormente (PERLOFF *et al.*, 1993).

3.1.4 Consumo alimentar e variáveis de estilo de vida

Os voluntários foram orientados a registrar em formulário próprio todos os alimentos e bebidas consumidos, bem como suas quantidades, ao longo de um dia. Esse procedimento foi realizado por três dias não consecutivos, incluindo um dia de final de semana. A ingestão dietética diária (calorias, carboidrato, proteína, lipídio, fibra, colesterol, ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados, vitaminas C e A, ferro, cobre e zinco) foi avaliada, utilizando-se software específico, *DietPRO*, versão 5.0i, AS Sistemas (DIETPRO, 2009).

Variáveis de estilo de vida tais como: uso de suplementos vitamínicos, tabagismo (fumantes ou não-fumantes), número de cigarros por dia, prática regular de atividade física (sim ou não) e intensidade da atividade física também foram coletados. Para quantificar a intensidade de atividade física, foi utilizado o índice metabólico equivalente (MET). Este índice representa a razão entre a quantidade de energia (kcal) despendida para a realização de uma determinada atividade física e a energia equivalente à situação de repouso. Convencionalmente, considera-se que a situação de repouso refere-se ao MET = 1. As pontuações dos METs foram fornecidas pelo Compêndio de Atividades Físicas (AMORIM & GOMES, 2003), um esquema de codificação que classifica as atividades físicas de acordo com seu dispêndio energético em relação à situação de repouso (AINSWORTH *et al.*, 1993; AINSWORTH *et al.*, 2000). Os METs, para cada atividade específica, foram calculados multiplicando o tempo gasto em cada atividade pela sua pontuação de MET, procedendo-se ao somatório de todas as atividades realizadas ao longo de uma semana, obtendo-se um valor médio, expresso em horas por dia.

3.1.5 Obtenção das amostras de sangue

A coleta de sangue foi realizada após jejum de 12 horas, por punção venosa através da veia antecubital mediana usando um sistema de vácuo *Vacutainer* (Becton Dickinson, UK), feita por profissional habilitado e treinado. De cada voluntário foi extraído uma amostra de sangue em dois tubos de EDTA (*ethylene-diaminetetra-acetic-acid*) e um tubo para soro (4 ml/Tubo). As amostras de plasma EDTA e soro foram separadas do sangue total mediante centrifugação a 3500 rpm a 5°C por 15 minutos (*Eppendorf AG*, Modelo 5804R, Hamburg, Alemanha) (Figura 1).

O soro e o plasma foram armazenados à temperatura de -80° C, sendo que o primeiro foi utilizado para as determinações de glicose, perfil lipídico e insulina, enquanto o segundo foi utilizado para as determinações dos marcadores inflamatórios. Após a separação das alíquotas do plasma em microtubos, o sangue de um dos tubos contendo EDTA como anticoagulante, foi diluído em soro fisiológico para um volume de cerca de 4 ml (1:1). A partir deste sangue procedeu-se o isolamento das PBMC que foram utilizados para determinar a expressão gênica.

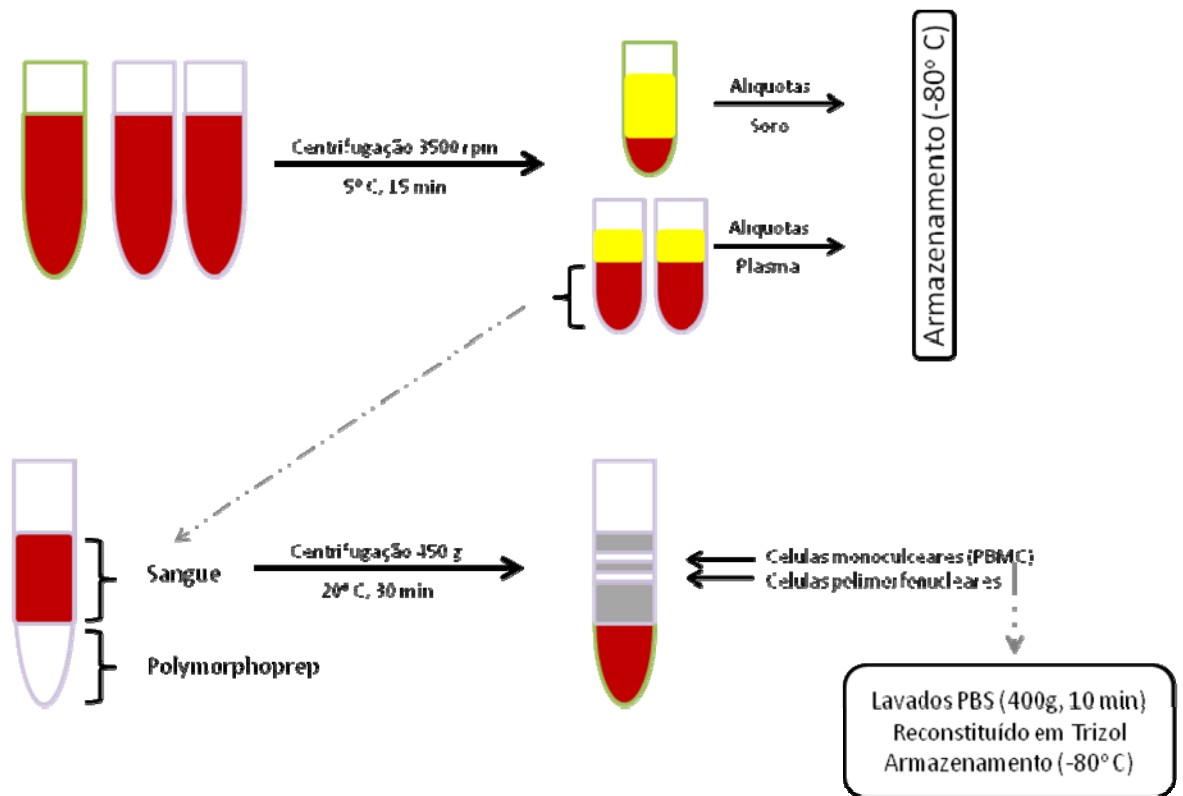


Figura 1. Obtenção das amostras biológicas.

PBMC: células mononucleares periféricas; PBS: Tampão fosfato-salino

O isolamento das PBMC foi realizado pelo método do gradiente de centrifugação com o reagente Polymorphoprep[®] (Robbins Scientific Corporation, Sunnyvale, CA, EUA). Esta técnica é um aprimoramento do método tradicional onde utiliza-se Ficoll (BOYUM, 1968), proporcionando assim um rendimento superior a 95% de PBMC em suspensão (DANDONA *et al.*, 2001). Uma vez recolhida as PBMC em suspensão (banda), esta foi lavada (400 g; 22° C; 10 min) com PBS (*Phosphate Bufferd Saline*). O precipitado obtido foi reconstituído em Trizol (Invitrogen Corporation, Caarlsbad, CA, EUA), e congelado imediatamente a -80 ° C até a extração do RNA total.

3.1.6 Análise de amostras biológicas

As concentrações séricas de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triacilgliceróis e ácido úrico (mg/dL), foram analisadas por ensaio colorimétrico ou turbidimétrico, mediante analisador automático (*BS-200, Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Nanshan, China*) utilizando-se kits de análise específicos (*BS-200, Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Nanshan, China*). A lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi calculada pela equação de Friedewald, previamente estabelecida (FRIEDEWALD *et al.*, 1972) e posteriormente validada (TREMBLAY *et al.*, 2004). Procedeu-se também ao cálculo da razão colesterol total/HDL-c, conforme preconizado (CASTELLI, 1988), e da resistência à insulina (RI), estimada pelo modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (HOMA-IR), previamente estabelecido (MATTHEWS *et al.*, 1985).

A concentração plasmática de insulina (sensibilidade de 2 µU/mL) foi analisada por ensaio imuno enzimático, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), utilizando-se material e reagentes providos por *kit* de análise específico (*Linco Research, St. Charles, USA*): placa recoberta com anticorpo de captura anti insulina humana (anticorpo monoclonal de coelho); anticorpo de detecção anti insulina humana (anticorpo monoclonal de coelho biotilado) e substrato TMB (3, 3', 5, 5'-*tetrametilbenzidina*). Procedeu-se à dosagem em plasma EDTA, o ensaio foi realizado conforme protocolo descrito no *kit* de análise.

Foram coletadas as amostras de unhas dos pés e das mãos, mediante limpeza prévia com água e sabão e retirada de esmalte, e, em seguida, armazenadas a

temperatura ambiente, em sacos de polipropileno. O preparo das amostras incluía seu tratamento ácido sob aquecimento (ácido nítrico fervente), sob altas pressões, em recipiente de teflon (digestor), usando um sistema de digestão de microondas (*Ethos Plus, Milestone, Sorisole, Itália*). Após a digestão ácida, as concentrações de cobre, zinco e selênio foram analisadas por espectrofotometria de absorção atômica de chama (*Perkin Elmer AAnalyst 800; Norwalk, CT, USA*), conforme técnica estabelecida anteriormente (NAVARRO-BLASCO & ALVAREZ-GALINDO, 2004). Os valores de concentração foram ajustados para o peso da amostra, e foram expressas em micrograma por grama de unha ($\mu\text{g/g}$ de unha) para o cobre e o zinco e em nanogramas por grama de unha (ng/g de unha) para o selênio.

3.2 ETAPAS EMPREGADAS NA EXECUÇÃO DO PRESENTE TRABALHO

A partir das amostras de sangue disponíveis, foram realizadas as dosagens plasmáticas de dois biomarcadores inflamatórios, IL-6 e TNF- α , e a expressão gênica, em células mononucleares, de citocinas do processo inflamatório ou marcadores relacionados a este processo (IL-6, IL-18, IL-1R, TNF- α e ICAM), a fim de avaliar o estado inflamatório em adultos jovens e clinicamente saudáveis (161 indivíduos, idade entre 18 e 35 anos) e proceder a sua associação com as demais variáveis de interesse, os determinantes da síndrome metabólica. A seguir será descrita a metodologia empregada para a aferição dos marcadores propostos.

3.2.1 Dosagem plasmática de biomarcadores inflamatórios

A dosagem plasmática de IL-6 (sensibilidade de 7,8 pg/mL) foi realizada por ensaio imunológico, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – ELISA, mediante a utilização de *kit* de análise específico (*Cayman Chemical, Ann Arbor, MI/USA, catalog no.583361*): placa recoberta com anticorpo de captura anti IL-6 humano (anticorpo monoclonal); ligador seletivo a diferentes epítomos da molécula de IL-6 humana (acetilcolinesterase:Fab conjugado - AChE:Fab') e reagente de *Ellmans* (substrato para o AChE). Procedeu-se a dosagem em plasma EDTA sendo o ensaio realizado conforme protocolo descrito no *kit* de análise. O método se constitui de imunoensaio de fase sólida de dois sítios. Empregou-se a técnica de captura ou “*sandwich*” direto na qual anticorpos

monoclonais, marcados no poço da microplaca, são dirigidos contra determinantes antigênicos da molécula de IL-6. Durante a incubação, a IL-6 presente na amostra reage frente aos anticorpos anti-IL-6. Após lavagem, pela qual serão removidos componentes plasmáticos que não reagiram, se adiciona e se incuba o conjugado (AChE:Fab') ligado ao anticorpo anti IL-6 humano que reconhecerá a IL-6 ligada à fase sólida. Após esta fase, há outra etapa de lavagem, pela qual se removerá o excesso de conjugado não ligado. O conjugado ligado será detectado mediante adição e incubação com o reagente de *Ellmans*. A reação colorimétrica com tal substrato produz um subproduto específico, que foi lido em leitora automática em microplacas (Biotec Fymergy-HP / *Software Gen 5*) no comprimento de onda de 420 nm. Visto que o aumento na absorbância a 420 nm é diretamente proporcional à concentração de IL-6 na amostra, a mesma pode ser derivada por interpolação de duas curvas padrão ($r^2=0.9886$ e 0.9987) gerada a partir do confronto da absorbância dos padrões frente às correspondentes concentrações mediante algoritmo de regressão linear (*Cayman Chemical, Ann Arbor, MI/USA, catalog no.583361*).

A dosagem plasmática de TNF- α (sensibilidade de 3,98 pg/mL) também foi realizada por ensaio imunológico, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – ELISA, mediante a utilização de *kit* de análise específico (*Cayman Chemical, Ann Arbor, MI/USA, catalog no.589201*): placa recoberta com anticorpo de captura anti TNF- α humano (anticorpo monoclonal); placa recoberta com anticorpo de captura anti TNF- α humano (anticorpo monoclonal); ligador seletivo a diferentes epítomos da molécula de TNF- α humana (acetilcolinesterase:Fab conjugado - AChE:Fab') e reagente de *Ellmans* (substrato para o AChE). Procedeu-se a dosagem em plasma EDTA sendo o ensaio realizado conforme protocolo descrito no *kit* de análise, onde o método se constitui de imunoenensaio de fase sólida de dois sítios com a técnica de captura ou “sandwich” já detalhada anteriormente quando feito para IL-6. A reação colorimétrica também foi detectada em leitora automática em microplacas (Biotec Fymergy-HP / *Software Gen 5*) no comprimento de onda de 420 nm. Após a determinação das absorbâncias em diferentes tempos, os valores foram obtidos a partir interpolação de duas curvas padrão ($r^2=0.9967$ e 0.9955), gerada a partir do confronto da absorbância dos padrões frente às correspondentes concentrações mediante algoritmo de regressão linear (*Cayman Chemical, Ann Arbor, MI/USA, catalog no.589201*).

3.2.2 Análises da expressão gênica de marcadores inflamatórios

Para avaliar o estado inflamatório dos participantes do estudo, foram selecionados para as análises de expressão gênica em PBMC, os genes: molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), receptor de interleucina 1, o IL1R1, e três interleucinas pró-inflamatórias, IL-6, IL-18 e TNF- α . Como controles endógenos foram utilizados os genes β -actina, GPDH e 18s. As características dos genes selecionados para o estudo do estado inflamatório, mediante expressão gênica estão sintetizadas na Tabela 1.

Quadro 2. Características dos genes selecionados para o estudo do estado inflamatório de adultos jovens, mediante expressão gênica.

Nome do Gene	Símbolo	ID Genbank
Molécula de adesão intercelular-1	ICAM1	NM_000201.2
Receptor tipo-1 de interleucina-1	IL1R1	NM_000877.2
Interleucina seis	IL6	NM_000600.2
Interleucina dezoito	IL18	NM_001243211.1
Fator de necrose tumoral alfa	TNF- α	NM_000594.2
Beta actina	β -Act	NM_001101.3
Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	GPDH	NM_001256799.1
Subunidade ribossomal 18S	18S	NM_000238.9

3.2.2.1 Extração, quantificação e análises da integridade do RNA

O RNA total foi extraído das PBMC, previamente congeladas em Trizol[®] (Invitrogen Corporation[®], Carlsbad, CA, EUA), utilizando-se um protocolo adaptado e previamente testado para estas células, descrito a seguir. A cada microtubo, de 2 mL, contendo PBMC e trizol, foi colocado em temperatura de 17°C para descongelamento e seqüencialmente vortexado para homogeneização do material estocado. Em seguida os tubos foram submetidos à centrifugação por 10 minutos a 4 °C com velocidade equivalente 12.000 g. O sobrenadante, aproximadamente 1400 μ L, foi transferido para um novo tubo onde foram adicionados cerca de 600 μ L de clorofórmio e homogeneizados por 15 minutos. Depois, os tubos ficaram em repouso por 2 minutos. Para separação nítida das fases, as amostras foram submetidas à centrifugação durante 15 minutos a 4 °C (12.000 g) e a fase aquosa superior (aproximadamente 750 μ L) contendo o RNA, foi transferida para um novo tubo. Posteriormente, o mesmo volume

de isopropanol foi adicionado, 750 μL , procedendo-se a agitação por inversão dos mesmos por 3 minutos, e posteriormente repouso por 10 minutos a temperatura ambiente. As amostras foram então centrifugadas durante 10 minutos a 4 °C (12.000 g), e o sobrenadante descartado. O *pellet* formado foi então lavado com 1 mL de etanol a 75%, à 5 °C, procedendo-se então a última centrifugação, por 5 minutos a 4 °C (12.000 g). O líquido residual foi removido do tubo com uma micropipeta e o RNA foi ressuspendido em 20 μL de água Milli-Q autoclavada e incubados a 60°C por 1 minuto.

Após a extração do RNA total, sua concentração bem como sua pureza foram determinadas no espectrômetro *NanoDrop* (NanoDrop 2000C, Thermo Scientific[®], EUA), por meio da leitura em absorbância de UV₂₆₀ e pelo quociente UV_{260/280}, respectivamente. Ainda assim, a integridade do RNA extraído foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1% (p/v), corado com *red gel*, verificando-se a presença e a intensidade das bandas do RNA ribossomal.

3.2.2.2 Síntese da fita de DNA complementar (cDNA)

A síntese de cDNA foi realizada a partir de 2 μg de RNA total, pré-tratado com 1 μL de DNase (50 U/ μL , Amplification Grade Dnase I, Invitrogen[™]), para retirar os possíveis contaminantes de DNA genômico, incubada por 37°C a 30 minutos, de acordo com o protocolo do fabricante. Adicionalmente, foi preparado um mix contendo 1 μL de *Random Primers* 10X (100 UL, Invitrogen[™]), 1 μL de dNTP (100 mM; dATP, dGTP, dCTP e dTTP em pH neutro), 1 μL do reagente *stop solution*, e água para um volume final de 12 μL /amostra. Os tubos foram incubados em um *termomixer* a 65° C por 10 min à 300rpm. Após esta etapa, as amostras eram colocadas no gelo por dois minutos. Posteriormente, foi feito um novo mix contendo 5,6 μL de tampão de reação (5X, Invitrogen[™]), 1 μL de RNasen (inibidor de ribonuclease recombinante; 40 unidades/ μL , Invitrogen[™]), 2 μL de DTT (0,1M) e 1 μL de M-MLV[™] (enzima transcriptase reversa; 200un. μL^{-1}), que foi incubado a 37° C por 1 hora e a seguir à 70° C por 15 minutos.

Após a síntese da dupla fita a partir do RNA total, as concentrações de cDNA de cada amostra foram determinadas em espectrômetro NanoDrop (NanoDrop 2000C, Thermo Scientific[®], EUA) para que posteriormente fossem ajustadas para uma mesma concentração, e estocados a -80°C. A concentração utilizada (135 ng/ μL) foi determinada

levando em consideração a homogeneidade dos C_T 's (*cycle threshold*) de todos os genes, a partir do “*pool*” de cDNA em várias diluições, contendo 0,5 μ L de todas as amostras. Após esta etapa os tubos foram conservados no freezer a -20 °C.

3.2.2.3 Primers

Os *primers* utilizados neste trabalho foram projetados utilizando o *software* NCBI Primer Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) como seguem em detalhe no Quadro 3. Os *primers* de alguns genes (GAPDH, β -actina e IL-6) já tinham sido utilizados em estudos prévios (MALLAT *et al.*, 2001; MURPHY *et al.*, 2003; STEENBERG *et al.*, 2002).

Quadro 3. Características dos primers utilizados.

GENE	Sonda	SEQUÊNCIA	PB	TM
18s	<i>Reverse</i>	AACGCAAGCTTATGACCCGC	20	55.93
	<i>Forward</i>	GATGGGATCGGGGATTGCA	20	56.11
GPDH	<i>Reverse</i>	GATGGGATTTCCATTGATGACA	22	55.39
	<i>Forward</i>	CCACCCATGGCAAATTCC	18	53.92
β-ACTIN	<i>Reverse</i>	TGATCCACATCTGCTGGAAGGT	22	55.39
	<i>Forward</i>	GACAGGATGCAGAAGGAGATTACT	24	53.92
TNF-α	<i>Reverse</i>	GCGATGCGGCTGATGGTGTG	20	59.03
	<i>Forward</i>	TGGTGGTGCCATCAGAGGGC	20	58.69
ICAM-1	<i>Reverse</i>	AGCTCGGGCAATGGGTCCC	20	59.05
	<i>Forward</i>	TCCGGGAAACTGGACGTGGC	20	59.00
IL-1 R1	<i>Reverse</i>	TACCCGAGAGGCACGTGAGC	20	58.24
	<i>Forward</i>	CATGCCAGTCCAGCGACGGT	20	59.42
IL-6	<i>Reverse</i>	GTGCCTCTTTGCTGCTTTCAC	21	54.88
	<i>Forward</i>	GGTACATCCTCGACGGCATCT	21	55.85
IL-18	<i>Reverse</i>	CAGCCGCTTTAGCAGCCA	18	55.06
	<i>Forward</i>	CAAGGAATTGTCTCCCAGTGC	21	53.38

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL:interleucina; 18s: Subunidade ribossomal 18S; GAPDH: Gliceraldeido-3-fosfato desidrogenase; β -actin: Beta actina; PB: número de pares de bases; TM: temperatura de anelamento.

3.2.2.4 PCR em tempo real (qPCR)

Após determinar a concentração do cDNA para todas as amostras, a melhor temperatura de anelamento e garantir a eficiência dos *primers* entre 94% a 97%, foi realizado o ensaio da expressão gênica relativa, mediante o método *cycle threshold* (C_T) comparativo, utilizando-se do PCR em tempo real (StepOnePlus™ Real-Time PCR System, Applied Biosystem), com sistema de detecção de fluorescência *mix* SYBR Green I (Applied Biosystems®, California, USA). A reação foi realizada utilizando o cDNA sintetizado, solução contendo os *primers* (*primer* direto e inverso, 10 μ M), dNTP (5 mM), tampão de PCR (10x; Invitrogen®), $MgCl_2$ (50 mM; Invitrogen®), SYBR Green I (1:10000; Invitrogen®), Platinum Taq DNA polimerase (5U/ μ l), ROX (Invitrogen®) e H_2O estéril.

As reações foram feitas em triplicatas, pipetadas manualmente em capela com fluxo de ar, utilizando-se placas específicas para qPCR (Invitrogen®), onde todos os *primers*, para cada amostra, foram adicionados em uma na mesma placa. As reações foram feitas no equipamento StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystem) sendo que as condições de amplificação foram: *hot start* a 95 °C, 40 ciclos a 95 °C, com temperatura de anelamento de 58 °C, e temperatura de extensão de 72 °C.

Os valores de C_T foram calculados pelo *software* Real Time PCR Miner versão 2.2 (<http://www.miner.ewindup.info/>; ZHAO, S. & FERNALD, 2005) a partir dos valores de fluorescência das reações, sendo o C_T o ciclo de amplificação em que o sinal de fluorescência emitida é significativamente acima dos níveis de amplificação inespecífica e é inversamente proporcional ao número de cópias inicial da amostra.

Para a normalização dos dados foram selecionados três genes constitutivos (β -actina, GPDH e 18S), entretanto, após a amplificação a partir do qPCR e análise pelo programa GeNorm versão 3.5, verificou-se que apenas os dois primeiros genes seriam os mais adequados para as amostras deste estudo. Assim, o cálculo da expressão dos genes alvo se baseou nos métodos comparativos propostos por Zhao & Fernald (2005) onde primeiramente as médias dos valores das triplicatas do C_{T_s} de cada amostra, foram utilizadas para calcular a expressão do gene de interesse de cada indivíduo do grupo normalizadas pela média dos dois genes controles selecionados (β -actina e GPDH). A quantificação relativa foi obtida pelas fórmulas $ER = (1/1+E)^{C_T}$, $N = ER_{GA}/ER_{GC}$ e

EGF=N/Vmin, sendo os resultados apresentados em relação ao menor valor da expressão de cada gene, como realizado em outros trabalhos recentemente publicados (HERMSDORFF *et al.*, 2010; PUCHAU; HERMSDORFF; *et al.*, 2009).

Assim, os cálculos realizados foram:

$$\mathbf{ER} = (1/1+E)^{C_T}$$

$$\mathbf{N} = ER_{GA}/ER_{GC}$$

$$\mathbf{EGF} = N/Vmin$$

Onde, ER é a expressão relativa de cada gene em cada amostra; E é a eficiência de todos os genes e amostras de cada placa; C_T é o ciclo de amplificação dos genes em estudo; N é o valor normalizado de cada amostra a partir dos genes controle; ER_{GA} é a expressão relativa dos genes alvo; ER_{GC} é a expressão relativa dos genes controle; EGF é a expressão gênica final; Vmin é o valor normalizado mínimo entre todas as amostras.

3.2.3 Análise estatística

Foi utilizado o teste de *Kolmogorov-Smirnov* para verificar a normalidade da distribuição. De acordo com a distribuição das variáveis, foi adotado o teste de *Student-t*, paramétrico, ou seu equivalente não paramétrico, o teste de *Mann-Whitney-U*, para a comparação entre os grupos categorizados pela mediana da distribuição da concentração plasmática do TNF- α e da IL-6. Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste de qui-quadrado- χ^2 . Os resultados da expressão gênica foram transformados para a escala *log*, com exceção do gene TNF- α que apresentou uma distribuição normal.

Foi utilizada a correlação de *Spearman* para rastrear a associação entre as concentrações plasmáticas do TNF- α e IL-6 e as demais variáveis de interesse. Modelos de regressão linear simples foram utilizados para identificar os fatores preditivos das concentrações plasmáticas das variáveis dependentes. Estes modelos foram previamente

ajustados para as co-variáveis sexo, idade, tabagismo e atividade física, quando estes fatores mostraram efeito significativo.

A análise de regressão logística foi realizada para verificar a associação entre os componentes da síndrome metabólica e os níveis circulantes do TNF- α e da IL-6 (variáveis independentes), considerando-se, como referência, o primeiro quartil ou tercil da distribuição deste biomarcador para o cálculo da razão de chances (*odds ratio*, *OR*).

Os resultados foram apresentados como média \pm DP. O intervalo de confiança de 95% foi utilizado para descrever os valores do coeficiente de regressão linear (β) e o de regressão logística. Foi considerado o nível de significância estatística de 5 % de probabilidade ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* STATA versão 9.1 para *Windows*.

4. RESULTADOS

4.1 CAPÍTULO 1

Associação da expressão gênica e dos níveis plasmáticos de TNF- α com os componentes da síndrome metabólica em adultos jovens.

Introdução

O estado crônico de inflamação de baixa intensidade tem sido reconhecido como o elo entre a adiposidade e doenças metabólicas, tais como diabetes (DM), aterosclerose e síndrome metabólica (SM) (HAJER *et al.*, 2008; ZULET *et al.*, 2007). Ademais, pesquisas têm mostrado que alguns mediadores da inflamação se encontram associados aos efeitos negativos observados na hipertensão arterial sistêmica (HAS), DM, dislipidemias, infecções e câncer (FANTUZZI, 2005; MORENO-ALIAGA *et al.*, 2005). Nesse sentido, as concentrações de TNF- α têm se associado positivamente com medidas de adiposidade, como o perímetro da cintura, e outras condições como hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e resistência à insulina (RI) (XYDAKIS *et al.*, 2004). Além disso, o TNF- α tem ação pró-inflamatória, que parece estimular a produção de proteínas de fase aguda, tais como a proteína C reativa (PCR), bem como moléculas de adesão o que aumenta o risco para doenças cardiovasculares (VAN GAAL *et al.*, 2006).

Biomarcadores periféricos de doenças metabólicas complexas estão sendo estudados de forma a serem ferramentas que possibilitem indicar um possível prognóstico metabólico, assim células mononucleares de sangue periférico (PBMC) têm sido utilizadas em estudos de expressão gênica por sua atividade metabólica e acessibilidade frente à complicada obtenção de amostras de tecidos adiposo, muscular e hepático de humanos (MULLER *et al.*, 2002).

Evidências indicam que o acúmulo de gordura está associado com a ativação das PBMC e ao aumento dos níveis circulantes de algumas citocinas inflamatórias (O'ROURKE *et al.*, 2006). Além do mais, alguns marcadores pró-inflamatórios estão elevados em indivíduos que possuem maiores valores de gordura visceral, mesmo sendo jovens e com índice de massa corporal (IMC) adequados (HERMSDORFF *et al.*, 2010).

No entanto, existem poucos estudos na literatura que investigaram este tipo de população, havendo poucas informações a respeito do estado inflamatório e regulação gênica destes mediadores no processo inflamatório em humanos clinicamente saudáveis. Acredita-se que o conhecimento e o entendimento dessas associações, permitirão o direcionamento de ações capazes de controlar os níveis de TNF- α , prevenindo o desenvolvimento e/ou evolução da SM e suas enfermidades associadas.

Não há consenso na literatura se a inflamação é causa ou efeito da obesidade e dos demais distúrbios metabólicos comuns às doenças crônicas não transmissíveis, ou seja, não se sabe se esses biomarcadores aumentam a incidência desses parâmetros ou se a presença desses distúrbios provoca uma elevação dessas citocinas. Neste contexto, o presente estudo se propôs a avaliar, em indivíduos jovens e clinicamente saudáveis, as concentrações plasmáticas e a expressão gênica do TNF- α e suas possíveis associações com fatores de risco para o desenvolvimento da SM.

Voluntários e métodos

Voluntários

O presente estudo avaliou 161 indivíduos jovens e saudáveis (92 mulheres e 68 homens), com idade entre 18 e 35 anos, com idade média de $23,2 \pm 3,5$ anos e IMC médio de $22,0 \pm 2,9$ kg.m⁻².

Para a triagem inicial dos voluntários, considerou-se como critérios de exclusão a evidência de qualquer doença relacionada ao estresse oxidativo, inflamação crônica, desequilíbrios hídricos, mudanças na composição corporal ou presença de alterações na absorção e/ou metabolismo de nutrientes. Outros critérios de exclusão se referiram ao uso de medicamentos ou tratamento nutricional que afetassem o balanço energético, consumo alimentar, perfil lipídico, concentrações plasmáticas de insulina e metabolismo da glicose; o início do uso regular de anticoncepcionais nos 2 meses anteriores à participação no presente estudo; adesão à práticas dietéticas para a perda de peso ou peso instável nos últimos 6 meses (perda ou ganho de 5% do peso corporal).

Em conformidade com os princípios da declaração de *Helsinki* e após explicação clara sobre o protocolo do estudo, cada participante assinou o termo de consentimento livre e esclarecido, permitindo assim sua participação voluntária. O estudo foi aprovado

pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (Of. ref. N ° 019/2011).

Parâmetros antropométricos e de composição corporal

A estatura foi aferida utilizando-se estadiômetro (modelo Seca 206, Hamburg, Alemanha), com extensão máxima de 2 metros, subdividido em milímetros. Para a aferição do peso corporal utilizou-se balança digital eletrônica (modelo *Tanita TBF-300A*, Tokyo, Japão), com capacidade máxima de 180 quilogramas e aproximação de 100 gramas. O IMC foi calculado pelo quociente entre o peso corporal (Kg) e a estatura ao quadrado (m^2) e classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998).

O perímetro da cintura foi medida no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca e o do quadril no maior perímetro horizontal entre a cintura e os joelhos, sem contração gluteal (SALAS-SALVADO *et al.*, 2007). Foram utilizados os pontos de referência preconizados pela NCEP-ATPIII (2001). Ambos os perímetros foram aferidos utilizando-se fita métrica flexível e inelástica, subdividida em milímetros. Foi calculada a relação entre os perímetros da cintura e quadril.

As pregas cutâneas tricípital, bicipital, subescapular e suprailíaca foram aferidas utilizando-se adipômetro (*Lange caliper, Cambridge Scientific Industries Inc., Cambridge, Maryland, USA*) com aproximação de 1 milímetro, conforme técnica previamente padronizada (DURNIN & WOMERSLEY, 1974). Procedeu-se ao cálculo do percentual de gordura troncular pela razão entre o somatório das pregas cutâneas subescapular e suprailíaca e o somatório das 4 pregas cutâneas (WARNBERG *et al.*, 2006).

O percentual de gordura corporal total foi obtido mediante análise da bioimpedância elétrica horizontal (*Biodynamics 310 model, Washington, USA*), a partir da qual também foram estimadas a massa de gordura e a massa livre de gordura corporal em quilogramas.

Pressão arterial

Os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica foram aferidos mediante esfigmomanômetro mecânico de coluna de mercúrio (BIC, São Paulo, Brasil), com aproximação de 2 mmHg, conforme técnica descrita anteriormente (PERLOFF *et al.*, 1993).

Análise de amostras biológicas

A coleta de sangue foi realizada por punção venosa, após jejum de 12 horas. As amostras de plasma EDTA (*ethylene-diaminetetra-acetic-acid*), foram separadas do sangue total mediante centrifugação a 2465 g a 5°C por 15 minutos (*Eppendorf AG, 5804R model, Hamburg, Germany*). As amostras foram imediatamente armazenadas a -80°C até o momento das análises.

As concentrações séricas de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triacilgliceróis, ácido úrico e ceruloplasmina (mg/dL), foram analisadas por ensaio colorimétrico ou turbidimétrico, mediante analisador automático (*BS-200, Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Nanshan, China*) utilizando-se kits de análise específicos (*BS-200, Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Nanshan, China*). A lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi calculada pela equação de *Friedwald*, previamente estabelecida (FRIEDEWALD *et al.*, 1972) e posteriormente validada (TREMBLAY *et al.*, 2004). Procedeu-se também ao cálculo da razão colesterol total/HDL-c, conforme preconizado (CASTELLI, 1988).

A concentração plasmática de insulina (sensibilidade de 2 µU/mL) foi analisada por ensaio imuno enzimático, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), utilizando-se material e reagentes providos por kit de análise específico (*Linco Research, St. Charles, USA*). Procedeu-se à dosagem em plasma EDTA, o ensaio foi realizado conforme protocolo descrito no *kit* de análise.

A resistência à insulina foi estimada pelo modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (HOMA-IR), previamente estabelecido (MATTHEWS *et al.*, 1985).

A dosagem plasmática de TNF- α (sensibilidade de 3,98 pg/mL) foi realizada por ensaio imunológico, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – ELISA, mediante a

utilização de *kit* de análise específico (*Cayman Chemical, Ann Arbor, MI/USA, catalog no.589201*) em plasma EDTA.

O isolamento das PBMC foi realizado pelo método do gradiente de centrifugação com o reagente Polymorphoprep[®] (Robbins Scientific Corporation, Sunnyvale, CA, EUA). Esta técnica é um aprimoramento do método tradicional onde se utilizou Ficoll (BOYUM, 1968), proporcionando assim um rendimento superior a 95% de PBMC em suspensão (DANDONA *et al.*, 2001). Uma vez recolhida as PBMC em suspensão (banda), esta foi lavada (400 g; 22° C; 10 min) com PBS. O precipitado obtido foi reconstituído em Trizol[®] (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA), e congelado imediatamente a -80° C até a extração do RNA total. Esta extração foi feita pelo método TRIZOL[®] (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA), utilizando-se um protocolo adaptado e previamente testado (Hermsdorff *et al.*, 2010). Após esta etapa, a concentração bem como a pureza do RNA foram determinadas no espectrômetro *NanoDrop* (NanoDrop 2000C, Thermo Scientific[®], EUA), por meio da leitura em absorbância de UV₂₆₀ e pelo quociente UV_{260/280}, respectivamente. A integridade do RNA extraído foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1% (p/v), corado com *red gel*, verificando-se a presença e a intensidade das bandas do RNA ribossomal. Os *primers* utilizados foram projetados utilizando o *software* NCBI Primer Blast. Foi realizado o ensaio da expressão gênica relativa, mediante o método *cycle threshold* (C_T) comparativo, utilizando-se do PCR em tempo real (StepOnePlus[™] Real-Time PCR System, Applied Biosystem), com sistema de detecção de fluorescência *mix* SYBR Green I (Applied Biosystems[®], California, USA). Para a normalização dos dados foram selecionados três genes constitutivos (β -actina, GPDH e 18S). Assim, o cálculo da expressão dos genes alvo se baseou nos métodos comparativos propostos por Zhao & Fernald (2005), onde primeiramente as médias dos valores das triplicatas do C_{T_s} de cada amostra, foram utilizadas para calcular a expressão do gene de interesse de cada indivíduo do grupo normalizadas pela média dos dois genes controles selecionados (β -actina e GPDH).

Foram coletadas as amostras de unhas dos pés e das mãos, mediante limpeza prévia com água e sabão e retirada de esmalte e, em seguida, armazenadas a temperatura ambiente, em sacos de polipropileno. O preparo das amostras incluía seu tratamento

ácido sob aquecimento (ácido nítrico fervente), sob altas pressões, em recipiente de teflon (digestor), usando um sistema de digestão de microondas (*Ethos Plus, Millestone, Sorisole, Itália*). Após a digestão ácida, as concentrações de cobre, zinco e selênio foram analisadas por espectrofotometria de absorção atômica de chama (*Perkin Elmer Analyst 800; Norwalk, CT, USA*), conforme técnica estabelecida anteriormente (NAVARRO-BLASCO & ALVAREZ-GALINDO, 2004). Os valores de concentração foram ajustados para o peso da amostra, e foram expressas em micrograma por grama de unha ($\mu\text{g/g}$ de unha) para o cobre e o zinco e em nanograma por grama de unha (ng/g de unha) para o selênio.

Consumo alimentar e variáveis de estilo de vida

Os voluntários foram orientados a registrar em formulário próprio todos os alimentos e bebidas consumidos, bem como suas quantidades, ao longo de um dia. Esse procedimento foi realizado por três dias não consecutivos, incluindo um dia de final de semana. A ingestão dietética diária (calorias, carboidrato, proteína, lipídio, fibra, colesterol, ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados, vitaminas C e A, ferro, cobre e zinco) foi avaliada utilizando-se software específico, *DietPRO, versão 5.0, AS Sistemas* (DIETPRO, 2009).

Variáveis de estilo de vida tais como: uso de suplementos vitamínicos, tabagismo (fumantes ou não-fumantes), número de cigarros por dia, prática regular de atividade física (sim ou não) e intensidade da atividade física também foram coletados. Para quantificar a intensidade de atividade física, foi utilizado o índice metabólico equivalente (MET). Este índice representa a razão entre a quantidade de energia (kcal) despendida para a realização de uma determinada atividade física e a energia equivalente à situação de repouso. As pontuações dos METs foram fornecidas pelo Compêndio de Atividades Físicas (AMORIM & GOMES, 2003), um esquema de codificação que classifica as atividades físicas de acordo com seu dispêndio energético em relação à situação de repouso (AINSWORTH *et al.*, 1993; AINSWORTH *et al.*, 2000). Os METs, para cada atividade específica, foram calculados multiplicando o tempo gasto em cada atividade pela sua pontuação de MET, procedendo-se ao somatório de todas as

atividades realizadas ao longo de uma semana, obtendo-se um valor médio, expresso em horas por dia.

Análise estatística

Foi utilizado o teste de *Kolmogorov-Smirnov* para verificar a normalidade da distribuição. Os dados avaliados como não paramétricos foram transformados em escala logarítmica antes de serem incluídos nas análises estatísticas. De acordo com a distribuição das variáveis, foi adotado o teste de *Student-t*, paramétrico, ou seu equivalente não paramétrico, o teste de *Mann-Whitney-U*, para a comparação entre os grupos categorizados pela mediana da distribuição da concentração plasmática do TNF- α . Este critério utilizando a mediana como “ponto de corte” foram utilizados previamente em estudos de metodologia semelhante (Barbosa et al., 2011; Hermsdorff et al., 2010). Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste de qui-quadrado- χ^2 .

Foi utilizada a correlação de *Spearman* para rastrear a associação entre a concentração plasmática de TNF- α e as demais variáveis de interesse. Modelos de regressão linear simples foram utilizados para identificar os fatores preditivos da concentração plasmática da TNF- α (variável dependente). Estes modelos foram previamente ajustados para as co-variáveis sexo, idade, tabagismo e atividade física, quando estes fatores mostraram efeito significativo.

A análise de regressão logística foi realizada para verificar a associação entre os componentes da síndrome metabólica e os níveis circulantes da TNF- α (variável independente), considerando-se, como referência, o primeiro tercil da distribuição deste biomarcador para o cálculo da razão de chances (*odds ratio*).

Os resultados foram apresentados como média \pm DP. O intervalo de confiança de 95% foi utilizado para descrever os valores do coeficiente de regressão linear (β) e o de regressão logística, *odds ratio* (OR). Foi considerado o nível de significância estatística de 5 % de probabilidade ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* STATA versão 9.1.

Resultados

As características antropométricas, clínicas e bioquímicas são apresentadas na Tabela 1 separadas pelo gênero (média \pm DP). Pôde-se verificar que, de modo geral, a população do estudo é jovem ($23,23 \pm 3,52$ anos) e clinicamente saudável, pois os valores médios dos parâmetros avaliados estão dentro dos limites de referência. Vale ressaltar que a concentração de TNF- α no plasma é superior nos indivíduos do sexo masculino ($4,98 \pm 1,77$ vs $3,86 \pm 1,79$; $p < 0,001$) diferentemente aos valores de expressão gênica que não se difere entre os gêneros.

Os parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos (média \pm DP) categorizados pelo valor da mediana das concentrações plasmáticas de TNF- α ($4,27$ pg/mL) são apresentados na Tabela 2. Indivíduos com maiores níveis circulantes de TNF- α demonstraram maiores valores de peso corporal, perímetro da cintura, relação cintura/quadril, massa livre de gordura, pressão arterial sistólica e diastólica, glicose e ácido úrico sanguíneos, e por outro lado, menores valores de porcentagem de gordura total, colesterol total e frações HDL-c e LDL-c, além de menores concentrações de zinco nas unhas ($p < 0,05$). Demais medidas de adiposidade, como IMC, adiposidade troncular, perímetro do quadril e pregas cutâneas não diferiram entre os grupos referentes às concentrações plasmáticas de TNF- α ($< 4,27$ pg/mL vs $\geq 4,27$ pg/mL). Da mesma forma, nenhuma diferença foi encontrada para os níveis de insulina e triacilgliceróis sanguíneos, além da expressão gênica de TNF- α em PBMC, entre as categorias desta citocina.

Na Tabela 3, apresentam-se as variáveis de estilo de vida e ingestão dietética diária, também categorizadas pela mediana da concentração plasmática da TNF- α ($4,27$ pg/mL para as variáveis de estilo de vida e $4,20$ pg/mL para a ingestão dietética diária). Indivíduos com maiores níveis de TNF- α consumiam significativamente mais calorias, proteínas, fibras e cobre, entretanto, consumiam menos ferro provindo da dieta ($p < 0,05$). Não houve diferença para os outros nutrientes analisados bem como para nenhuma nas variáveis de estilo de vida em relação às categorias de TNF- α .

Tabela 1: Características antropométricas, clínicas e bioquímicas de todos os indivíduos e separadas por gênero (média ± DP).

Características	Todos os participantes		Mulheres		Homens	P
N=	161		93		68	
^{s*} Idade (anos)	23,23	± 3,52	23,64	± 3,36	22,67 ± 3,68	0,036
^{s**} Peso Corporal (kg)	62,72	± 11,20	56,67	± 7,99	69,89 ± 10,46	0,000
^{s**} IMC (kg/m ²)	22,07	± 2,86	21,07	± 2,81	22,27 ± 2,81	0,003
^{s**} Relação Cintura/Quadril ¹	0,81	± 0,06	0,79	± 0,06	0,85 ± 0,06	0,000
^{s**} Gordura Troncular (%) ¹	58,34	± 6,66	55,69	± 5,97	60,85 ± 6,40	0,000
^{s**} Gordura Total (%)	23,92	± 7,52	27,16	± 4,68	18,50 ± 7,89	0,000
^{s**} Massa Livre de Gordura (kg)	47,68	± 10,09	40,23	± 5,19	56,85 ± 6,70	0,000
^{s**} Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	10,96	± 0,93	10,66	± 0,85	11,38 ± 0,88	0,000
^{s**} Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	7,34	± 0,66	7,20	± 0,65	7,54 ± 0,63	0,001
^{s**} Glicose (mg/dL) ¹	90,55	± 6,65	89,09	± 6,66	92,54 ± 6,13	0,000
Insulina (μU/mL)	16,17	± 5,51	15,97	± 3,61	16,51 ± 7,90	0,575
HOMA-IR	3,73	± 1,14	3,65	± 0,83	3,85 ± 1,55	0,771
^{s**} Colesterol Total (mg/dL)	159,82	± 31,32	168,15	± 33,61	148,44 ± 23,73	0,000
HDL-c (mg/dL)	46,39	± 11,36	51,59	± 10,78	39,64 ± 8,12	0,000
^{s**} LDL-c (mg/dL)	95,45	± 26,76	98,51	± 29,52	90,30 ± 21,71	0,124
^{s**} Triacilgliceróis (mg/dL)	99,95	± 44,14	104,81	± 38,91	93,29 ± 49,95	0,005
^{s**} IL-6 (pg/mL)	4,18	± 1,75	3,45	± 1,51	5,19 ± 1,54	0,000
IL-6 (EG) ^F	4,66	± 1,75	4,77	± 1,65	4,53 ± 1,49	0,472
^{s**} TNF-α (pg/mL)	4,33	± 1,86	3,86	± 1,79	4,98 ± 1,77	0,000
TNF-α (EG) ^F	1,55	± 0,65	1,58	± 0,67	1,51 ± 0,63	0,487
R1IL1 (EG) ^F	3,12	± 0,92	3,14	± 0,93	3,09 ± 0,92	0,428
IL-18 (EG) ^F	10,78	± 3,49	10,56	± 3,42	11,09 ± 3,58	0,396
ICAM (EG) ^F	1,60	± 0,55	1,63	± 0,54	1,56 ± 0,55	0,390

DP, desvio padrão; IL-6, interleucina seis; IMC, índice de massa corporal; PC, prega cutânea; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; TNF-α, fator de necrose tumoral alfa; EG, expressão gênica,

¹ teste *Student t* foi realizado para as variáveis com distribuição normal, as demais variáveis foram analisadas pelo teste *Mann-Whitney U*

^F Valores na escala logarítmica

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os sexos (P < 0,05)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade entre os sexos (P < 0,01)

Tabela 2: Parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos (média ± DP) categorizados pelo valor da mediana (4,27 pg/mL) da concentração plasmática de TNF- α .

	TNF- α < 4,27 pg/mL (n=80)		TNF- α ≥ 4,27 pg/mL (n=80)		Valor de P
Idade (anos)	23,04	± 2,75	23,40	± 4,08	0,796
^{s**} Peso Corporal (kg)	59,17	± 9,53	65,81	± 11,68	0,000
IMC (kg/m ²)	21,83	± 2,64	22,28	± 3,04	0,278
^{s**} Perímetro da Cintura (cm)	76,14	± 7,66	80,00	± 9,11	0,004
Perímetro do Quadril (cm) ¹	95,75	± 6,09	95,28	± 7,29	0,664
^{s**} Relação Cintura/Quadril ¹	0,79	± 0,06	0,83	± 0,05	0,000
PC Tricipital (mm)	18,73	± 6,20	17,67	± 7,51	0,158
PC Bicipital (mm)	7,61	± 4,01	7,01	± 3,77	0,254
PC Supraíliac (mm)	18,73	± 8,50	17,84	± 9,68	0,254
PC Subscapular (mm)	17,65	± 6,42	17,98	± 8,40	0,520
Soma das 4 PC (mm)	62,74	± 21,64	60,52	± 26,69	0,237
Gordura Troncular (%) ¹	57,83	± 6,83	58,78	± 6,52	0,371
^{s**} Gordura Total (%)	25,12	± 5,89	22,88	± 8,60	0,007
Massa de Gordura (kg)	15,05	± 5,24	15,72	± 10,70	0,709
^{s**} Massa Livre de Gordura (kg)	43,99	± 9,06	50,90	± 9,89	0,000
^{s*} Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	108,0	± 0,82	111,1	± 0,99	0,035
^{s*} Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	72,1	± 0,64	74,6	± 0,66	0,036
^{s*} Glicose (mg/dL) ¹	89,13	± 6,06	91,79	± 6,92	0,011
Insulina (μ U/mL) ^a	17,89	± 7,32	14,77	± 2,86	0,083
HOMA-IR ^a	4,02	± 1,45	3,48	± 0,74	0,212
^{s*} Colesterol Total (mg/dL)	165,56	± 31,77	154,82	± 30,22	0,017
^{s**} HDL-c (mg/dL) ^b	49,53	± 10,26	43,56	± 11,63	0,000
LDL-c (mg/dL)	97,44	± 26,98	93,72	± 26,60	0,309
Triacilgliceróis (mg/dL)	99,53	± 35,78	100,31	± 50,52	0,417
^{s*} Relação Colesterol Total/HDL-c ^b	3,43	± 0,73	3,66	± 0,86	0,038
^{s**} Ácido Úrico (mg/dL) ¹	3,28	± 0,99	3,81	± 1,12	0,002
Selênio (ng/g de unha) ^{1,c}	0,37	± 0,07	0,39	± 0,09	0,206
^{s**} Zinco (μ g/g de unha) ^c	138,30	± 73,94	119,21	± 49,67	0,002
Cobre (μ g/g de unha) ^c	6,86	± 7,09	7,79	± 5,55	0,295
TNF- α (EG) ^F	1,57	± 0,67	1,53	± 0,07	0,746

DP, desvio padrão; IL-6, interleucina seis; IMC, índice de massa corporal; PC, prega cutânea; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; TNF- α , fator de necrose tumoral alfa; EG, expressão gênica,

¹ teste *Student t* foi realizado para as variáveis com distribuição normal, as demais variáveis foram analisadas pelo teste *Mann-Whitney U*

^a n=79 para TNF- α <4,27 pg/mL; n=77 para TNF- α ≥ 4,27 pg/mL

^b n=73 para TNF- α ≥ 4,27 pg/mL

^c n=69 para TNF- α <4,27 pg/mL; n=66 para TNF- α ≥ 4,27 pg/mL

^F Valores na escala logarítmica

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade (P < 0,01)

Ao avaliar as concentrações circulantes de TNF- α categorizados pela mediana do perímetro da cintura (76,5 cm para mulheres e 79,5 cm para homens), verificou-se que as mulheres que estavam acima da mediana também possuíam maiores níveis deste biomarcador ($P = 0,009$). Entretanto, quando os dados são analisados para o gênero masculino ou não são corrigidos pelo gênero, a associação entre o perímetro da cintura e os níveis de TNF- α não é estatisticamente significativa (dados não apresentados em tabela).

Para um melhor entendimento das associações existentes entre os níveis circulantes TNF- α e as variáveis de interesse, procedeu-se ao teste de correlação de *Spearman*. No tocante aos parâmetros antropométricos e de composição corporal, foram observadas correlações da concentração plasmática de TNF- α com as seguintes variáveis: peso corporal ($r = 0,31$; $p < 0,001$), índice de massa corporal ($r = 0,29$; $p < 0,001$), perímetro da cintura ($r = 0,24$; $P = 0,001$), relação cintura/quadril ($r = 0,34$; $p < 0,001$), porcentagem de gordura total ($r = -0,25$; $P = 0,001$). Considerando a ingestão dietética diária, o consumo de fibras ($r = 0,28$; $p < 0,001$), mostraram-se correlacionadas ao TNF- α .

Em relação aos parâmetros bioquímicos, as seguintes correlações foram encontradas: glicose ($r = 0,19$; $P = 0,013$), colesterol total ($r = -0,19$; $P = 0,016$), HDL-c ($r = -0,31$; $p < 0,001$), ácido úrico ($r = 0,28$; $p < 0,001$). Os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica não se correlacionaram aos níveis circulantes de TNF- α , usando este teste estatístico. Nenhuma correlação foi encontrada entre as concentrações desta citocina com as variáveis de estilo de vida, como, números de cigarros/dia ou gasto calórico da atividade física relacionado ao gasto energético de repouso (MET) (dados não apresentados em tabela). Já em relação à expressão gênica em PBMC, foi verificado que a expressão do IL1R1, da IL-18, e da ICAM1 estiveram correlacionadas significativamente com os níveis de TNF- α circulantes ($r = 0,16$ $p < 0,001$; $r = 0,16$ $p < 0,001$; $r = 0,20$ $p < 0,001$; respectivamente).

Tabela 3: Variáveis de estilo de vida e ingestão dietética diária (média ± DP) categorizadas pelo valor da mediana (4,27 pg/mL) da concentração plasmática da TNF- α .

	TNF- α < 4,27 pg/mL (n=80)	TNF- α ≥ 4,27 pg/mL (n=80)	Valor de P
<i>Variáveis de Estilo de Vida</i>			
Uso de suplementação de vitaminas (%) ¹	6,67	5,81	0,823
Tabagismo (%) ^{1,a}	7,69	15,58	0,149
Prática regular de atividade física (%) ^{1,a}	62,67	63,95	0,953
Cigarros/dia ^a	0,81 ± 3,22	1,45 ± 4,33	0,1597
MET (h/dia) ^a	29,49 ± 9,90	31,46 ± 9,05	0,1259
	TNF- α < 4,20 pg/mL (n=68)	TNF- α ≥ 4,20 pg/mL (n=69)	Valor de P
<i>Ingestão Dietética Diária</i>			
^{s*} Calorias (kcal) ²	2557,86 ± 676,07	2835,29 ± 781,43	0,037
Carboidrato (g)	337,23 ± 96,88	366,36 ± 113,29	0,107
Proteína (g)	95,94 ± 29,10	107,91 ± 37,71	0,049
Lipídio (g)	91,88 ± 26,62	100,45 ± 32,66	0,174
^{s**} Fibra (g)	22,50 ± 12,53	29,64 ± 16,47	0,002
Colesterol (g) ²	225,87 ± 97,43	219,17 ± 97,47	0,726
Ácidos graxos saturados (g)	23,34 ± 9,81	21,77 ± 9,30	0,380
Ácidos graxos monoinsaturados (g)	17,43 ± 10,78	16,10 ± 7,49	0,585
Ácidos graxos poliinsaturados (g)	13,71 ± 9,47	14,75 ± 7,69	0,083
Vitamina A (mg)	896,79 ± 564,99	937,13 ± 536,14	0,588
Vitamina C (mg)	129,47 ± 115,85	115,67 ± 71,69	0,742
Ferro (mg)	18,37 ± 12,23 [!]	17,47 ± 16,31 [!]	0,001
Cobre (mg)	1,23 ± 1,46	1,35 ± 0,70	0,008
Zinco (mg)	8,07 ± 3,51	8,61 ± 3,64	0,397

DP, desvio padrão; MET, índice metabólico equivalente; TNF- α , fator de necrose tumoral alfa

¹ teste *qui-quadrado* χ^2 test para variáveis categóricas

² teste *Student t* foi realizado para as variáveis com distribuição normal, as demais variáveis foram analisadas pelo teste *Mann-Whitney U*

^a n=73 para TNF- α < 4,27 pg/mL; n=67 para TNF- α ≥ 4,27 pg/mL

[!] Valores expressos em mediana

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade (P < 0,01)

Na Tabela 4, mediante análise de regressão simples, após o ajuste para os possíveis fatores de confundimento, como, sexo, idade e tabagismo, observou-se que a expressão do IL1R1, da IL-18 e da ICAM1, tiveram efeito preditivo positivo sobre os níveis circulantes de TNF- α (p < 0,05). Nenhuma variável avaliada teve um significativo efeito preditivo negativo sobre as concentrações de TNF- α .

Tabela 4: Preditores da concentração plasmática de TNF- α (pg/mL).

N = 160	coeficiente β	P	r ²
<i>Preditores de TNF-α</i>			
IMC (kg/m ²)	-0,007	0,711	0,0009
Peso Corporal (kg)	0,001	0,817	0,0004
Massa Livre de Gordura (kg)	0,001	0,809	0,0004
Gordura Total (%)	-0,001	0,834	0,0003
Gordura Troncular (%)	-0,011	0,147	0,0142
Colesterol Total (mg/dL)	0,023	0,998	0,0000
LDL-c (mg/dL)	-0,000	0,896	0,0001
HDL (mg/dL)	0,001	0,802	0,0004
Triacilgliceróis (mg/dL)	-0,000	0,897	0,0001
Relação Colesterol Total/HDL-c ¹	-0,014	0,835	0,0003
Ácido Úrico (mg/dL)	-0,023	0,644	0,0014
^{s*} Cobre (ng/g de unha) ²	0,175	0,229	0,0110
Zinco (ng/g de unha) ²	0,026	0,561	0,0020
Colesterol (g/dia) ⁴	0,000	0,260	0,0102
Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	-0,050	0,386	0,0051
Pressão Arterial Distólica (mmHg)	-0,049	0,543	0,0025
Glicose (mg/dL)	0,003	0,688	0,0011
TNF- α EG (UA)	0,011	0,703	0,0010
^{s**} ICAM EG (UA)	0,547	0,000	0,2081
^{s**} IL-1 EG (UA)	0,296	0,000	0,1662
^{s**} IL-18 EG (UA)	0,003	0,000	0,1614

TNF- α , fator de necrose tumoral alfa; IMC, índice de massa corporal; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; IC, intervalo de confiança; UA, unidades arbitrarias
¹n=153, ²n=135, ³n=100, ⁴n=137

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade (P < 0,01)

A Tabela 5 apresenta a análise de regressão logística, ou seja, revela a razão de chances (OR) com o IC de 95%, para os componentes da SM de acordo com a concentração plasmática do TNF- α . Os indivíduos que se posicionaram no segundo maior tercil (3,48 a 5,08 pg/mL) da distribuição dos níveis circulantes do TNF- α , quando comparados àqueles no menor tercil (<3,48 pg/mL), demonstraram aumento importante nas chances de apresentar obesidade abdominal (OR = 2,93; IC 95% = 1,10 a 7,78; P = 0,030). De modo semelhante, os indivíduos que se posicionaram no maior tercil (\geq 5,09 pg/mL) da distribuição dos níveis circulantes da TNF- α , quando comparados àqueles no menor tercil, demonstraram aumento importante nas chances de apresentar níveis reduzidos de HDL-c (OR = 3,33; IC 95% = 1,28 a 8,68; P = 0,042).

Tabela 5: Análise de Regressão Logística: razão de chances (OR) e IC 95% para os componentes da síndrome metabólica de acordo com a concentração plasmática da TNF- α (n=160).

<i>Componentes da Síndrome Metabólica</i>	Tercis da distribuição da TNF- α (pg/mL) ¹	
	T2 (3,48 a 5,08)	T3 (5,09 a 9,30)
	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)
^{s*} Obesidade Abdominal	2,93(1,10 a 7,78)	2,61 (0,96 a 7,08)
Hipertriglicidemia	1,11 (0,48 a 2,58)	0,43 (0,16 a 1,16)
^{**} HDL-c Reduzido ^a	1,11 (,50 a 2,49)	3,33 (1,28 a 8,68)
Hipertensão Arterial	2,60 (,261 a 25,90)	5,00 (0,56 a 44,47)
Hiperglicemia	1,78 (0,68 a 4,67)	2,43 (0,93 a 6,35)

IC, intervalo de confiança; OR, odds ratio; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; Componentes da síndrome metabólica: obesidade abdominal (> percentil 75 da distribuição do perímetro da cintura, 83 cm); hipertriglicidemia (> percentil 75 da distribuição da concentração sérica de triacilgliceróis, 117,5 mg/dL); HDL-c reduzido (< percentil 75 da distribuição da concentração sérica da HDL-c, 53 mg/dL); hipertensão arterial (> percentil 75 da distribuição dos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, 12/8 mmHg); hiperglicemia (> percentil 75 da distribuição da concentração sérica da glicose, 95 mg/dL).

¹primeiro tercil da distribuição da TNF- α (T1 < 3,48), referência para o cálculo da OR

^an=153

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05). OR: T2 *versus* T1

^{**} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05). OR: T3 *versus* T1

Discussão

Embora os fatores de risco clássicos já tenham seu papel estabelecido no contexto das doenças metabólicas, diversas condições emergentes, como a dos biomarcadores do processo inflamatório, ainda não estão definitivamente entendidas. Apesar disso, é sabido que uma modesta elevação plasmática dessas moléculas relacionadas com a inflamação pode contribuir substancialmente para o aumento do risco de acidente vascular cerebral e mortalidade cardiovascular (ROSENSON & KOENIG, 2003). Daí verifica-se a importância deste trabalho, que identifica os níveis de TNF- α em jovens adultos saudáveis e suas associações com determinantes da SM, trazendo melhor compreensão do desenvolvimento das doenças associadas.

O principal achado deste estudo, foi que o TNF- α correlaciona-se com muitos fatores e variáveis, sejam elas antropométricas, clínicas ou bioquímicas, mesmo em adultos jovens clinicamente saudáveis. No entanto, essas associações possuem

implicações diferentes com cada molécula e /ou parâmetro, como mostrado a partir das análises estatísticas, o que dificulta o esclarecimento de algumas questões, uma vez, que muitos eventos não acontecem independentemente, havendo participação de vários sistemas e processos.

Parte dos resultados deste trabalho corrobora os achados na literatura. Os valores plasmáticos de TNF- α , em média, são superiores nos indivíduos do sexo masculino, diferentemente dos valores de expressão gênica, que não se diferenciam entre os gêneros. Quanto à expressão gênica, o trabalho de Hermsdorff *et al.* (2010) corrobora nossos dados, uma vez que neste estudo metodologicamente semelhante, foi verificado que a expressão de genes pró-inflamatórios, em PBMC de jovens adultos, é independente do gênero; Todavia, quanto aos níveis circulantes de TNF- α , nossos dados se contrapõem ao observado na literatura. Em um estudo recentemente publicado, Morales *et al.* (2011) verificaram que o níveis da maioria dos mediadores inflamatórios eram superiores em adolescentes do sexo feminino, entretanto, sem diferença estatística, exceto para o complemento C3. O mesmo foi visto por De Luis *et al.* (2011), num trabalho com obesos mórbidos, onde também verificou-se maiores valores de TNF- α em mulheres. No entanto, Sanchez-Moreno *et al.* (2004), em um estudo com adultos saudáveis, não verificaram diferenças entre os gêneros nas concentração plasmáticas de alguns marcadores inflamatórios, incluindo o TNF- α . Os maiores valores desta citocina em homens pode ser explicado, de acordo com Aeckerman (ACKERMAN, 2006) e De León-Naya & Morales-Montor (2006), pela diferença hormonal entre os gêneros, porém este presente estudo não mensurou os hormônios dos participantes.

Este trabalho também mostrou que indivíduos com maiores níveis circulantes de TNF- α , apresentaram maiores valores de peso corporal, perímetro da cintura, relação cintura/quadril e massa livre de gordura, além de menores valores de porcentagem de gordura total. Esta citocina pró-inflamatória é hiperproduzida com o aumento da adiposidade, sendo em parte liberada pelo infiltrado de monócitos nos depósitos de gordura (HOTAMISLIGIL, 2006; VAN GAAL *et al.*, 2006). Estudos prévios confirmam parte destes achados, uma vez que tem sido demonstrada forte associação positiva entre indicadores de adiposidade e os níveis de TNF- α (DE LUIS *et al.*, 2011; NISHIDA *et al.*, 2007; POU *et al.*, 2007; WARNBERG *et al.*, 2006; XYDAKIS *et al.*,

2004). Entretanto, estas associações ainda são controversas, uma vez que estudos recentes, como o de Rolland *et al.* (2011) envolvendo indivíduos obesos, tem mostrado que os níveis médios de TNF- α não se correlacionaram significativamente com o peso, o perímetro da cintura ou porcentagem de gordura corporal. Apesar disso, os próprios autores discutem que estes resultados foram inesperados, pois a associação entre TNF- α com os indicadores de obesidade já vem sendo relatada a mais de 15 anos.

A ausência de associações entre as concentrações de TNF- α e outras medidas de adiposidade, como IMC, adiposidade troncular, perímetro do quadril e pregas cutâneas, verificadas neste estudo, possivelmente, se deve à predominância de indivíduos eutróficos (IMC < 25,0 kg/m²; 85%), de acordo com os pontos de corte preconizados pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998). Outros estudos corroboram nossos achados não verificando associação entre os níveis de TNF- α e alguns indicadores de adiposidade (O'ROURKE *et al.*, 2006; PINCELLI *et al.*, 2001; UYSAL, O. *et al.*, 2005). A discrepância entre os resultados também pode ser atribuída às diferenças nas características fenotípicas das populações dos estudos tais como idade, presença ou não de RI e/ou SM, composição corporal e grau de obesidade.

O TNF- α tem assim, sido proposto como principal envolvido na evolução da RI e do DM2 e complicações associadas (CAWTHORN & SETHI, 2008), estando inversamente associado à concentração de glicose (WINKLER *et al.*, 2003). Esta hipótese corrobora nossos dados onde os indivíduos com maiores níveis circulantes de TNF- α demonstraram maior valor de glicose sanguínea, apesar da normoglicemia prevalecer entre os participantes do estudo. Estudos em animais mostram que há interferência do TNF- α no processo de desenvolvimento da SM e obesidade (ARAUJO *et al.*, 2007). Já em humanos, tem sido mostrado que a neutralização do TNF- α melhora a sensibilidade à insulina em pacientes com doenças inflamatórias crônicas (GONZALEZ-GAY *et al.*, 2006; KIORTSIS *et al.*, 2005). Este efeito ocorre em razão da supressão pelo TNF- α da sinalização da insulina, reduzindo a fosforilação do substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1) e a atividade do receptor insulina quinase (PI3K) (HOTAMISLIGIL, 1999). Tal fato resulta na redução da síntese e translocação

do GLUT-4 para a membrana, com consequente diminuição na captação de glicose pelas células, mediada pela ação da insulina. Esta redução de sensibilidade periférica à insulina ocasiona o aumento da glicogênese hepática e reduz o *clearance* de glicose pelo músculo esquelético e tecido adiposo, caracterizando um quadro de hiperinsulinemia (ARNER, P., 1995; HSUEH & LAW, 2003).

Embora a literatura científica possua forte respaldo sobre a ação negativa do TNF- α no metabolismo da glicose (ARAUJO *et al.*, 2007; GONZALEZ-GAY *et al.*, 2006), outros estudos, que investigaram a neutralização desta citocina em pacientes diabéticos tipo 2, não conseguiram demonstrar o mesmo efeito sobre a sensibilidade à insulina (BERNSTEIN *et al.*, 2006; DOMINGUEZ *et al.*, 2005; WASCHER *et al.*, 2011). A base para esta controvérsia não está clara, mas pode dizer respeito às populações estudadas ou às diferentes doses e duração dos experimentos.

A concentração sérica de ácido úrico (AU) dos participantes deste presente trabalho, também foi associada aos maiores valores de TNF- α . Este composto orgânico tem se comportado como um fator de risco cardiovascular em vários estudos longitudinais (HEINIG & JOHNSON, 2006; KRISHNAN *et al.*, 2007; MELLEEN *et al.*, 2006; PERLSTEIN *et al.*, 2006; SUNDSTROM *et al.*, 2005), adicionalmente, em ratos, foi demonstrada estreita correlação entre hiperuricemia e SM por provável mecanismo envolvendo a inibição da função endotelial (NAKAGAWA *et al.*, 2006). Sabe-se que a insulina necessita de óxido nítrico para estimular a captação da glicose e a disponibilidade do óxido nítrico está diminuída quando ocorre hiperuricemia (HEINIG & JOHNSON, 2006). Entretanto, a presença de variáveis de confusão, dificulta o estabelecimento de forma inequívoca o papel do ácido úrico como um fator de risco independente para eventos.

Há relatos na literatura mostrando a forte interação entre os efeitos do TNF- α e do AU, uma vez que este também está elevado na SM (COUTINHO *et al.*, 2007; DESAI, 2005; FORD *et al.*, 2007; FRANCO, 2009; ISHIZAKA *et al.*, 2005; KAWADA *et al.*, 2007). Kawada *et al.* (2007), conduziram um estudo onde 981 trabalhadores japoneses foram avaliados, sendo observado forte associação entre SM e hiperuricemia. O grupo de Ishizaka (2005) também demonstrou de maneira significativa a associação entre SM e AU, ao estudar, de forma transversal, 8.144 indivíduos de

ambos os sexos, estratificados por quartis de AU. A maior prevalência de SM por níveis crescentes de AU também foi demonstrada no estudo realizado por Choi & Ford (2007), utilizando dados do NHANES. Em alguns outros trabalhos, como os de Coutinho *et al.* (2007) e Desai *et al.* (2005), nota-se que as concentrações de AU estiveram associados a componentes que constituem a SM, sendo esta associação tanto maior quanto maior o número de componentes presentes. Em estudo realizado no Brasil por Franco *et al.* (2009), em pacientes hipertensos de Cuiabá, observou-se maior prevalência de SM em pacientes portadores de hiperuricemia.

No entanto, na outra ponta dessa argumentação, encontra-se a possibilidade de que o aumento do AU possa estar presente em condições clínicas sabidamente pró-inflamatórias, como a HAS e a SM, por sua ação antioxidante (HAYDEN & TYAGI, 2004) e, portanto, representar apenas um mecanismo bioquímico de defesa (NIETO *et al.*, 2000). Assim, não seria um fator independente de risco para essas síndromes, mas, antes, apenas parte do processo fisiológico de defesa. Tais pressupostos talvez justifiquem o efeito preditor negativo do AU sobre os níveis de TNF- α , encontrado neste estudo, sendo que o acréscimo de 1 mg/dL nos níveis séricos de AU associou-se à diminuição da concentração plasmática de TNF- α em 0,023 pg/mL.

Muitas evidências têm ligado o TNF- α às anormalidades metabólicas da obesidade, uma vez que o tecido adiposo é um local de síntese desta citocina, existindo direta correlação entre adipocinas, tecido adiposo e níveis de insulina (Qi & Pekala, 2000). No entanto, a distribuição da gordura parece ser mais importante do que a massa total de gordura (ARNER, P. , 1997). A gordura predominantemente na parte superior do corpo aumenta os riscos para complicações metabólicas, incluindo esteatose hepática, especialmente quando está associado com o aumento da gordura intra-abdominal (KERSHAW & FLIER, 2004; NIELSEN *et al.*, 2004), uma vez que este é um tecido metabolicamente mais ativo, produzindo elevadas quantidades de citocinas inflamatórias (LASTRA, G. M., C., 2005; REDINGER, 2008). Assim, indivíduos com valores de IMC relativamente baixos podem ter elevada quantidade de gordura visceral abdominal (PARK, K. S. *et al.*, 1991), e outros, com um IMC elevado, podem ter pouca gordura visceral (WAJCHENBERG, 2000). No entanto, alguns estudos mostram que no caso da produção de TNF- α , não há variação importante entre os tipos de gordura subcutânea e

visceral (TRAYHURN & WOOD, 2004; VAN HARMELEN *et al.*, 2002; WAJCHENBERG, 2000), o que apoia nossos dados quanto à adiposidade troncular. Vale ressaltar que, não há até o momento, evidências sobre a liberação de TNF- α a partir de tecido adiposo subcutâneo (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997; WASCHER *et al.*, 2011) e visceral (LINDEMAN *et al.*, 2007) *in vivo*.

Em nosso estudo nenhuma diferença foi encontrada para os níveis de insulina e triacilgliceróis sanguíneos, bem como para a expressão gênica de TNF- α em PBMC, entre as categorias desta citocina (< 4.27 pg/mL versus \geq 4.27 pg/mL). Sobre este último achado, é sabido que corriqueiramente há uma disparidade entre a presença do mRNA e a secreção da respectiva proteína para várias citocinas inflamatórias (FAIN *et al.*, 2004). Além do mais, nosso grupo ainda discute sobre a utilização das PBMC como marcadores sensíveis do estado inflamatório, sobretudo em humanos clinicamente saudáveis, uma vez que a contribuição na produção de citocinas a partir destas células possa ser pequena.

Ambas as observações clínicas e de pesquisa básica têm indicado uma possível ligação entre inflamação e metabolismo lipídico. O TNF- α age como uma citocina chave que afeta e media várias vias de sinalização metabólica, e uma relação estreita entre o TNF- α e metabolismo lipídico é suportado por vários estudos. Em pacientes com hiperlipidemia, os níveis de TNF- α significativamente correlacionam-se com as concentrações de VLDL, triacilgliceróis e colesterol, e negativamente com os valores de HDL (JOVINGE *et al.*, 1998). Sivastania[®] e Atrovastaina[®], medicamentos utilizados no tratamento de dislipidemias, diminuem significativamente os níveis de TNF- α em indivíduos com hiperlipidemia e hipercolesterolemia (ASCER *et al.*, 2004; MARKETOU *et al.*, 2006; ZUBELEWICZ-SZKODZINSKA *et al.*, 2004). Uma dieta rica em colesterol induz altos níveis séricos de TNF- α , enquanto que a expressão de mRNA de TNF- α é significativamente reduzido pelo tratamento com Atrovastaina[®] em coelhos hipercolesterolêmicos (ZHAO, S. P. *et al.*, 2005). O bloqueio de TNF- α pode afetar significativamente o metabolismo lipídico. A administração em curto prazo de Adaluminab[®], um anticorpo monoclonal humano anti-TNF- α , em pacientes com artrite reumatóide, aumentou significativamente as concentrações de HDL, além de diminuir o índice aterogênico (POPA *et al.*, 2005). O uso do Infliximab[®], um anticorpo anti-TNF- α

quimérico monoclonal, apresentou resultados semelhantes (CAUZA *et al.*, 2002; SPANAKIS *et al.*, 2006; VIS *et al.*, 2005). Em camundongos, a administração de TNF- α resulta em um aumento agudo nas concentrações triacilgliceróis no plasma em cerca de 85%; e a inibição da atividade do TNF- α bloqueia este aumento dos triacilgliceróis, caracteristicamente observado após tratamento com lipopolissacarídeo (FEINGOLD *et al.*, 1994; MEMON *et al.*, 1993). Apesar destas comprovações, o estudo do efeito do TNF- α sobre o metabolismo lipídico é complexo e os mecanismos ocorrem em diferentes níveis e através de diferentes etapas que ainda permanecem obscuras (ZHANG *et al.*, 2009).

O perfil da SM é caracterizado por obesidade abdominal, hipertrigliceridemia, diminuição da fração HDL-c, hipertensão arterial e hiperglicemia NCEP-ATPIII (2001). O TNF- α possui correlação com os componentes da SM e pode predizer o risco de doenças cardiovasculares e infarto, com risco relativo de 3,09 para óbito dentro de 24 meses, de acordo com a literatura, embora fosse um marcador independente para IAM (BARRETO-FILHO, 2004). No presente estudo, os maiores valores de perímetro da cintura e os menores níveis de HDL-c ($>$ percentil 75 e $<$ percentil 75, respectivamente) foram as únicas alterações relacionada à SM que se associaram aos níveis circulantes da TNF α . Tais resultados encontram respaldo no fato de que os níveis de TNF- α se associam diretamente com a adiposidade central e o perfil lipídico em humanos, como já discutido anteriormente.

O presente trabalho também verificou que indivíduos com maiores níveis circulantes de TNF- α demonstraram maiores valores de pressão arterial sistólica e diastólica da mesma forma como visto por De Luis *et al.*, (2011). Apesar da média dos níveis pressóricos dos indivíduos não os classificar em nenhum grau de HAS, é sabido que o TNF- α regula a expressão e/ou atividade da óxido nítrico (NO) sintase (NOS). Aortas humanas tratadas com TNF- α por 8 horas induziram modificações na síntese de RNAm de alguns subtipos da NOS (MACNAUL & HUTCHINSON, 1993). Outros estudos também têm demonstrado que o TNF- α diminui significativamente a expressão da NOS em células endoteliais (GOODWIN *et al.*, 2007; SEIDEL *et al.*, 2006; XIA *et al.*, 2006). Com isso, pode haver uma menor produção final de NO, que possui função vasodilatadora (GOODWIN *et al.*, 2007; PICCHI *et al.*, 2006), e/ou aumento de sua

remoção (GAO *et al.*, 2007). Ademais, o aumento da expressão de TNF- α pode induzir a produção de ROS (espécies reativas de oxigênio) que também podem levar à disfunção endotelial (ZHANG *et al.*, 2009). O TNF- α também tem-se associado à HAS por estimular a produção de endotelina 1 (Kahaleh & Fan, 1997), molécula que aumenta o tônus vascular (KOHAN, 2008).

As análises estatísticas deste trabalho nos levaram a verificar relações interessantes, como a expressão gênica da ICAM1, do IL1R1 e da IL-18, que tiveram efeito preditivo positivo sobre os níveis circulantes de TNF- α . Todos estes marcadores têm sido estudados uma vez que a elevação de uma citocina ou componente do processo inflamatório, leva, conseqüentemente à modificações em vários processos e mecanismos fisiológicos, que podem culminar nos eventos característicos da inflamação.

A dosagem de minerais antioxidantes (cobre, selênio e zinco) na unha é capaz de refletir sua ingestão dietética habitual (6 a 12 meses precedentes) (HUNTER *et al.*, 1990) e ainda apresenta-se como um método menos invasivo que a dosagem sérica (AL-SALEH & BILLEDO, 2006). Interessantemente, este trabalho verificou que os indivíduos com maiores concentrações de TNF- α possuíam menores concentrações de zinco nas unhas, mesmo sem diferença na ingestão diária deste mineral entre os grupos. Puchau *et al.* (2009) ainda apontaram que a dosagem de cobre na unha correlacionou-se negativamente aos níveis plasmáticos de homocisteína ($r = -0,165$; $P = 0,049$), um marcador do risco cardiovascular. Barbosa *et al.* (2011), evidenciaram, pela primeira vez, que a dosagem de selênio na unha teve efeito preditor negativo sobre as concentrações de LDLox, sendo que o aumento de 1 ng/g de unha foi capaz de se associar à diminuição de 0,06 U/L de LDLox. Anteriormente, Puchau *et al.* (2009) mostraram que em adultos jovens, as dosagens de selênio e zinco nas unhas estiveram negativamente associadas aos níveis séricos de *asymmetric dimethylarginine* (ADMA), marcador do estresse oxidativo. No caso dos achados deste trabalho, não há na literatura mecanismos que expliquem o envolvimento do metabolismo do zinco na produção de TNF- α . Entretanto, o aumento de interleucinas plasmáticas, tal como ocorre na inflamação, no dano tissular e no exercício intenso, estimula o fígado a uma maior captação de zinco no plasma, para a síntese de metalotioneína (e possivelmente de superóxido dismutase e outras zinco-proteínas), que, por sua vez, participa na resposta

aguda (HAMMER, 1986). Além do mais, sabe-se da participação deste mineral como cofator de enzimas antioxidantes e do processo de manutenção da homeostase (MCCALL *et al.*, 2000) e, possivelmente, seja mais requisitado naqueles com elevados níveis de TNF- α , diminuindo seu depósito nas unhas. Já a dosagem de cobre nas unhas, revelou que este mineral foi um preditor positivo dos níveis de TNF- α , entretanto, vale salientar que o grupo com maiores níveis desta citocina ingeria, em média (mg/dia), quantidades superiores de cobre, o que pode ser um fator de confusão.

Exceto pela correlação encontrada entre ingestão média diária de calorias e fibras e a concentração plasmática de TNF- α , nenhum outro parâmetro dietético se associou aos níveis circulantes deste marcador. Quanto à ingestão de fibras, esta tem sido inversamente associada com marcadores inflamatórios na população em geral (AJANI *et al.*, 2004; KING *et al.*, 2003) diferentemente do verificado nesta pesquisa. Esse resultado foi inesperado uma vez que a ingestão adequada de fibra alimentar pode, segundo alguns trabalhos, reduzir o risco de algumas doenças, mediando o processo pró-inflamatório (LIU, 2002; LIU *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2004). Ma *et al.* (2008), em um estudo com 1958 mulheres pós menopausa, levou os autores a sugerir que uma dieta rica em fibras pode ser uma efetiva forma de diminuir o níveis de TNF- α . As hipóteses estão baseadas no papel das fibras em diminuir a oxidação de glicose e lipídios, mantendo um ambiente intestinal saudável e ainda prevenindo a inflamação, por alterar a produção adipocitocinas no tecido adiposo (KING *et al.*, 2005). Apesar disso, alguns estudos não verificaram associação entre a ingestão de fibras e marcadores inflamatórios (JACOBS *et al.*, 2007; QI & HU, 2007; WARNBERG *et al.*, 2007) o que mostra que as hipóteses ainda não são conclusivas. Além disso, Barbosa *et al.* (2008) em uma revisão sistemática, ressaltam que os estudos concernentes à avaliação dos efeitos dos fatores dietéticos sobre biomarcadores apresentam importante heterogeneidade metodológica, relacionada às características dos indivíduos estudados (sexo, idade, IMC, estado de saúde, tabagismo, entre outros) e à variabilidade da intervenção realizada (dose e tempo de suplementação, conteúdo de antioxidantes, características do hábito alimentar e tempo das intervenções dietéticas), sendo tais fatores determinantes dos resultados ainda controversos.

Estudos desta natureza são de elevada complexidade, uma vez que os diversos resultados encontrados na literatura, muitas vezes são consequência de estudos em populações de vida livre, não controlando os diversos efeitos resultantes da alimentação, condições de saúde, bem como fatores culturais, sociais e econômicos que, juntos modificam as respostas individuais, afetando a interpretação dos dados (SLOBODIANIK, 2007). Além disso, alguns fatores, como o humor (JANICKI-DEVERTS *et al.*, 2007) e o sono (PADILHA *et al.*, 2011; VGONTZAS *et al.*, 2004) podem modificar significativamente os resultados de biomarcadores como o TNF- α . Em um estudo da perda do sono leve (2 h por noite durante 7 noites) em homens (n = 12) e mulheres (n = 13) saudáveis, a restrição do sono foi associada com um aumento significativo (pós menos restrição pré-sono) no ciclo geral de 24 horas de secreção de TNF- α em homens ($0,26 \pm 0,1$ pg / mL, P <0,01), mas não em mulheres ($-0,06 \pm 0,03$ pg / mL, P >0,05) (VGONTZAS *et al.*, 2004). Além disso, deve-se levar em consideração fatores como horário de coleta das amostras sanguíneas, uma vez que tem sido mostrado que pela manhã, momento da coleta das amostras sanguíneas deste trabalho, há menor produção e liberação de algumas citocinas inflamatórias (BARRIGA-IBARS *et al.*, 2005). Vale salientar que, todos os estudos conhecidos até o momento, fizeram as coletas das amostras sanguíneas nos mesmos horários/períodos utilizados no presente trabalho.

Algumas limitações podem ser destacadas neste estudo, como o uso de mensurações indiretas de adiposidade total (IMC) e central (adiposidade troncular calculada pela razão entre pregas cutâneas e perímetro da cintura), que possuem menor acurácia que outros métodos diretos (tomografia computadorizada, densitometria ou ressonância magnética). Esta menor sensibilidade pode ter impedido melhor entendimento entre a expressão gênica e os parâmetros antropométricos; No entanto, metodologias semelhantes têm sido utilizadas em trabalhos recentemente publicados com população adulta e clinicamente saudável (BARBOSA *et al.*, 2011; HERMSDORFF *et al.*, 2010). Outro ponto crítico foi o não uso de *kit's* de ELISA ultrasensíveis (*high sensitive*), uma vez que a população em estudo é genuinamente saudável, e por sua vez, exigia metodologias altamente sensíveis para detectar pequenas variações dos mediadores inflamatórios estudados. Vale também lembrar que, o uso de registros

preenchidos em vida livre pelos participantes do estudo, não nos garante a fidedignidade da ingestão dos nutrientes analisados.

Este trabalho traz relevantes evidências, sobre a relação existente entre a expressão gênica em PBMC e os níveis circulantes de TNF- α com a antropometria e outros parâmetros importantes de adultos clinicamente saudáveis. A gordura troncular e o perímetro da cintura, apesar de não terem sido capazes de prever aumento nos níveis circulantes da TNF- α em indivíduos jovens, saudáveis e predominantemente eutróficos, estiveram aumentados entre aqueles cujos níveis de TNF- α estavam acima da mediana. Cabe ainda ressaltar que, outras medidas de adiposidade importantes como IMC e massa livre de gordura, não se comportaram como o esperado, o que nos leva a refletir sobre a complexidade da atuação das citocinas inflamatórias em seus vários mecanismos fisiológicos. O papel da hiperuricemia como fator de risco para doenças cardiovasculares merece destaque, apesar deste composto não ter sido capaz de prever o aumento nas concentrações de TNF- α . Diante da associação positiva entre os níveis de TNF- α e os níveis pressóricos, sugere-se a possível ocorrência de mecanismos que elevariam, em longo prazo, dos valores de pressão arterial. Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, apesar das associações plausíveis (glicose e HDL-c), algumas variáveis se comportaram de forma inesperada, como o caso do colesterol total, que é significativamente menor naqueles que possuíam maiores valores de TNF- α circulantes. Outra constatação importante foi que, mesmo com o perfil de saúde da população estudada, existe uma correlação positiva entre os vários marcadores do processo inflamatório, evidenciada pela predição dos níveis de TNF- α a partir dos valores da expressão gênica de mediadores envolvidos neste processo (ICAM1, IL1R1 e IL-18).

Por fim, o estudo contribuiu para o melhor entendimento das associações entre o marcador de interesse (TNF- α) e os fatores de risco para a ocorrência da SM. Estudos mais detalhados a respeito do papel das citocinas inflamatórias, especialmente do TNF- α em populações saudáveis, são de notória importância, uma vez que os mesmos podem nos levar a entender a verdadeira função destes mediadores no desenvolvimento das doenças crônicas inflamatórias; e se de fato, poderão agregar valor na identificação precoce de indivíduos sob risco de ser acometido por alguma das mesmas.

Referências bibliográficas

- ACKERMAN, L. S. **Sex hormones and the genesis of autoimmunity.** Arch Dermatol, 2006. p. 371-6.
- ADAMOPOULOS, S.; PARISSIS, J.; KARATZAS, D.; KROUPIS, C.; GEORGIADIS, M.; KARAVOLIAS, G.; PARASKEVAIDIS, J.; KONIAVITOU, K.; COATS, A. J.; KREMASTINOS, D. T. **Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure.** J Am Coll Cardiol, 2002. p. 653-63.
- ADAMOPOULOS, S.; PARISSIS, J. T.; KREMASTINOS, D. T. **A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure.** Eur J Heart Fail, 2001. p. 517-26.
- ADERKA, D.; ENGELMANN, H.; WYSENBEEK, A. J.; LEVO, Y. **The possible role of tumor necrosis factor (TNF) and its natural inhibitors, the soluble-TNF receptors, in autoimmune diseases.** Isr J Med Sci, 1992. p. 126-30.
- AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; LEON, A. S.; JACOBS, D. R., JR.; MONTROYE, H. J.; SALLIS, J. F.; PAFFENBARGER, R. S., JR. **Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities.** Med Sci Sports Exerc, 1993. p. 71-80.
- AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; WHITT, M. C.; IRWIN, M. L.; SWARTZ, A. M.; STRATH, S. J.; O'BRIEN, W. L.; BASSETT, D. R., JR.; SCHMITZ, K. H.; EMPLAINCOURT, P. O.; JACOBS, D. R., JR.; LEON, A. S. **Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities.** Med Sci Sports Exerc, 2000. p. S498-504.
- AJANI, U. A.; FORD, E. S.; MOKDAD, A. H. **Dietary fiber and C-reactive protein: findings from national health and nutrition examination survey data.** J Nutr, 2004. p. 1181-5.
- AL-SALEH, I.; BILLEDO, G. **Determination of selenium concentration in serum and toenail as an indicator of selenium status.** Bull Environ Contam Toxicol, 2006. p. 155-63.
- ALOKAIL, M. S.; AL-DAGHRI, N. M.; AL-ATTAS, O. S.; HUSSAIN, T. **Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women.** Cardiovasc Diabetol, 2009. p. 33.
- AMORIM, P. R.; GOMES, T. N. P. Métodos de baixo custo e aplicáveis na prática. In: AMORIM, P. R. e GOMES, T. N. P. (Ed.). **Gasto energético na atividade física.** Rio de Janeiro: Shape, 2003. cap. 5, p.113 - 194.
- ANDREJKO, K. M.; CHEN, J.; DEUTSCHMAN, C. S. **Intrahepatic STAT-3 activation and acute phase gene expression predict outcome after CLP sepsis in the rat.** Am J Physiol, 1998. p. G1423-9.
- ANGSTWURM, M. W.; GARTNER, R.; ZIEGLER-HEITBROCK, H. W. **Cyclic plasma IL-6 levels during normal menstrual cycle.** Cytokine, 1997. p. 370-4.
- ANKER, S. D.; STEINBORN, W.; STRASSBURG, S. **Cardiac cachexia.** Ann Med, 2004. p. 518-29.

- ANKER, S. D.; VON HAEHLING, S. **Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview.** Heart, 2004. p. 464-70.
- ARAUJO, E. P.; DE SOUZA, C. T.; UENO, M.; CINTRA, D. E.; BERTOLO, M. B.; CARVALHEIRA, J. B.; SAAD, M. J.; VELLOSO, L. A. **Infliximab restores glucose homeostasis in an animal model of diet-induced obesity and diabetes.** Endocrinology, 2007. p. 5991-7.
- ARNER, P. **Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues.** Ann Med, 1995. p. 435-8.
- ARNER, P. **Regional adiposity in man.** Journal of Endocrinology, 1997. p. 191-192.
- ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. **Hormones and cytokines in childhood obesity.** Indian Pediatr, 2010. p. 829-39.
- ARVIDSSON, E.; VIGUERIE, N.; ANDERSSON, I.; VERDICH, C.; LANGIN, D.; ARNER, P. **Effects of different hypocaloric diets on protein secretion from adipose tissue of obese women.** Diabetes, 2004. p. 1966-71.
- ASCER, E.; BERTOLAMI, M. C.; VENTURINELLI, M. L.; BUCCHERI, V.; SOUZA, J.; NICOLAU, J. C.; RAMIRES, J. A.; SERRANO, C. V., JR. **Atorvastatin reduces proinflammatory markers in hypercholesterolemic patients.** Atherosclerosis, 2004. p. 161-6.
- ASIRVATHAM, A. J.; MAGNER, W. J.; TOMASI, T. B. **miRNA regulation of cytokine genes.** Cytokine, 2009. p. 58-69.
- AZUAJE, F.; DEVAUX, Y.; WAGNER, D. **Computational biology for cardiovascular biomarker discovery.** Brief Bioinform, 2009. p. 367-77.
- BARBOSA, K. B.; BRESSAN, J.; ZULET, M. A.; MARTINEZ HERNANDEZ, J. A. **[Influence of dietary intake on plasma biomarkers of oxidative stress in humans].** An Sist Sanit Navar, 2008. p. 259-80.
- BARBOSA, K. B.; VOLP, A. C.; HERMSDORFF, H. H.; NAVARRO-BLASCO, I.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A.; BRESSAN, J. **Relationship of oxidized low density lipoprotein with lipid profile and oxidative stress markers in healthy young adults: a translational study.** Lipids Health Dis, 2011. p. 61.
- BARRETO-FILHO, J. **Síndrome metabólica: um estado pró-trombótico.** . Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, 2004. p. 590-5.
- BARRIGA-IBARS, C.; RODRIGUEZ-MORATINOS, A. B.; ESTEBAN, S.; RIAL, R. V. **[Interrelations between sleep and the immune status].** Rev Neurol, 2005. p. 548-56.
- BASTARD, J. P.; JARDEL, C.; BRUCKERT, E.; VIDAL, H.; HAINQUE, B. **Variations in plasma soluble tumour necrosis factor receptors after diet-induced weight loss in obesity.** Diabetes Obes Metab, 2000. p. 323-5.

BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; LAGATHU, C.; KIM, M. J.; CARON, M.; VIDAL, H.; CAPEAU, J.; FEVE, B. **Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance.** Eur Cytokine Netw, 2006. p. 4-12.

BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; VAN NHIEU, J. T.; JARDEL, C.; BRUCKERT, E.; GRIMALDI, A.; ROBERT, J. J.; CAPEAU, J.; HAINQUE, B. **Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro.** J Clin Endocrinol Metab, 2002. p. 2084-9.

BDWG, B. D. W. G.-. **Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework.** Clin Pharmacol Ther, 2001. p. 89-95.

BEHNKE, B. J.; DELP, M. D.; MCDONOUGH, P.; SPIER, S. A.; POOLE, D. C.; MUSCH, T. I. **Effects of chronic heart failure on microvascular oxygen exchange dynamics in muscles of contrasting fiber type.** Cardiovasc Res, 2004. p. 325-32.

BERNSTEIN, L. E.; BERRY, J.; KIM, S.; CANAVAN, B.; GRINSPOON, S. K. **Effects of etanercept in patients with the metabolic syndrome.** Arch Intern Med, 2006. p. 902-8.

BEYAERT, R. F., W. **Tumor necrosis factor and lymphotoxin.** 2. London/UK: 1999.

BIASUCCI, L. M.; LIUZZO, G.; FANTUZZI, G.; CALIGIURI, G.; REBUZZI, A. G.; GINNETTI, F.; DINARELLO, C. A.; MASERI, A. **Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events.** Circulation, 1999. p. 2079-84.

BIASUCCI, L. M.; LIUZZO, G.; GRILLO, R. L.; CALIGIURI, G.; REBUZZI, A. G.; BUFFON, A.; SUMMARIA, F.; GINNETTI, F.; FADDA, G.; MASERI, A. **Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability.** Circulation, 1999. p. 855-60.

BLAKE, G. J.; RIDKER, P. M. **Novel clinical markers of vascular wall inflammation.** Circ Res, 2001. p. 763-71.

BODEN, G.; SHULMAN, G. I. **Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction.** Eur J Clin Invest, 2002. p. 14-23.

BOYUM, A. **Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of monuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g.** Scand J Clin Lab Invest Suppl, 1968. p. 77-89.

BRUUN, J. M.; HELGE, J. W.; RICHELSEN, B.; STALLKNECHT, B. **Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects.** Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. p. E961-7.

CACHOFEIRO, V. M., M; MARTIN, B;. **Obesidad, inflamación y disfunción endotelial.** Rev. Esp. Obes., 2006. p. 195-204.

CASTELLANO, V.; PATEL, D. I.; WHITE, L. J. **Cytokine responses to acute and chronic exercise in multiple sclerosis.** J Appl Physiol, 2008. p. 1697-702.

CASTELLI, W. P. **Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study.** Can J Cardiol, 1988. p. 5A-10A.

CAUZA, E.; CAUZA, K.; HANUSCH-ENSERER, U.; ETEMAD, M.; DUNKY, A.; KOSTNER, K. **Intravenous anti TNF-alpha antibody therapy leads to elevated triglyceride and reduced HDL-cholesterol levels in patients with rheumatoid and psoriatic arthritis.** Wien Klin Wochenschr, 2002. p. 1004-7.

CAWTHORN, W. P.; SETHI, J. K. **TNF-alpha and adipocyte biology.** FEBS Lett, 2008. p. 117-31.

CERIELLO, A. **Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension.** Diabetes Care, 2008. p. S181-4.

CONRAADS, V. M.; BECKERS, P.; BOSMANS, J.; DE CLERCK, L. S.; STEVENS, W. J.; VRINTS, C. J.; BRUTSAERT, D. L. **Combined endurance/resistance training reduces plasma TNF-alpha receptor levels in patients with chronic heart failure and coronary artery disease.** Eur Heart J, 2002. p. 1854-60.

COSTA ROSA, L. F. B. P.; BATISTA, J. R. M. **Efeito do treinamento fisico como modulador positivo nas alterações no eixo neuroimunoendócrino em indivíduos com insuficiência cardíaca crônica: Possível atuação do fator de necrose tumoral- α .** Rev Bras Med Esporte, 2005. p. 238-42.

COTTAM, D. R.; MATTAR, S. G.; BARINAS-MITCHELL, E.; EID, G.; KULLER, L.; KELLEY, D. E.; SCHAUER, P. R. **The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss.** Obes Surg, 2004. p. 589-600.

COUTINHO, T. D. A.; TURNER, S. T.; PEYSER, P. A.; BIELAK, L. F.; SHEEDY, P. F.; KULLO, I. J. **Associations of Serum Uric Acid With Markers of Inflammation, Metabolic Syndrome, and Subclinical Coronary Atherosclerosis[ast].** Am J Hypertens, 2007. p. 83-89.

CRUJEIRAS, A. B.; PARRA, D.; MILAGRO, F. I.; GOYENECHEA, E.; LARRARTE, E.; MARGARETO, J.; MARTÍNEZ, A. **Differential Expression of Oxidative Stress and Inflammation Related Genes in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Response to a Low-Calorie Diet: A Nutrigenomics Study.** A Journal of Integrative Biology., 2008. p. 251-261.

CUSCHIERI, J.; BULGER, E.; SCHAEFFER, V.; SAKR, S.; NATHENS, A. B.; HENNESSY, L.; MINEI, J.; MOORE, E. E.; O'KEEFE, G.; SPERRY, J.; REMICK, D.; TOMPKINS, R.; MAIER, R. V. **Early elevation in random plasma IL-6 after severe injury is associated with development of organ failure.** Shock, 2010. p. 346-51.

D'AURIA, L.; BONIFATI, C.; MUSSI, A.; D'AGOSTO, G.; DE SIMONE, C.; GIACALONE, B.; FERRARO, C.; AMEGLIO, F. **Cytokines in the sera of patients with pemphigus vulgaris: interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha levels are significantly increased as compared to healthy subjects and correlate with disease activity.** Eur Cytokine Netw, 1997. p. 383-7.

DAI, Q.; GAO, Y. T.; SHU, X. O.; YANG, G.; MILNE, G.; CAI, Q.; WEN, W.; ROTHMAN, N.; CAI, H.; LI, H.; XIANG, Y.; CHOW, W. H.; ZHENG, W. **Oxidative stress, obesity, and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study.** J Clin Oncol, 2009. p. 2482-8.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; BANDYOPADHYAY, A. **Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes.** Trends Immunol, 2004. p. 4-7.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; CHAUDHURI, A.; MOHANTY, P.; GARG, R. **Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation.** Circulation, 2005. p. 1448-54.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; MOHANTY, P.; GHANIM, H.; HAMOUDA, W.; ASSIAN, E.; AHMAD, S. **Insulin inhibits intranuclear nuclear factor kappaB and stimulates IkappaB in mononuclear cells in obese subjects: evidence for an anti-inflammatory effect?** J Clin Endocrinol Metab, 2001. p. 3257-65.

DARVALL, K. A.; SAM, R. C.; SILVERMAN, S. H.; BRADBURY, A. W.; ADAM, D. J. **Obesity and thrombosis.** Eur J Vasc Endovasc Surg, 2007. p. 223-33.

DE LEON-NAVA, M. A.; MORALES-MONTOR, J. **[Immune sexual dimorphism: can sex steroids affect the Th1/Th2 cytokine profile?].** Rev Invest Clin, 2006. p. 161-9.

DE LUIS, D. A.; GONZALEZ SAGRADO, M.; CONDE, R.; ALLER, R.; IZAOLA, O.; CASTRO, M. J. **Circulating adipocytokines in morbid obese patients, relation with cardiovascular risk factors and anthropometric parameters.** Nutr Hosp, 2011. p. 91-6.

DEBEY-PASCHER, S.; EGGLE, D.; SCHULTZE, J. L. RNA Stabilization of Peripheral Blood and Profiling by Bead Chip Analysis. In: (Ed.), v.496, 2008. p.175-210.

DESAI, M. S., R.; DALAL, D; CARVALHO, J.A; MARTEN, D.R.; FLYNN, J.A.; . **Relation of serum uric acid with metabolic risk factors in asymptomatic middle-aged Brazilian men. .** J Am Coll Cardiol., 2005. p. 865-8.

DI ROCCO, P.; MANCO, M.; ROSA, G.; GRECO, A. V.; MINGRONE, G. **Lowered tumor necrosis factor receptors, but not increased insulin sensitivity, with infliximab.** Obes Res, 2004. p. 734-9.

DIETPRO. **DietPRO, AS sistemas, versão 5.0.** Viçosa 2009.

DINH, W.; FUTH, R.; NICKL, W.; KRAHN, T.; ELLINGHAUS, P.; SCHEFFOLD, T.; BANSEMIR, L.; BUFE, A.; BARROSO, M. C.; LANKISCH, M. **Elevated plasma levels of TNF-alpha and interleukin-6 in patients with diastolic dysfunction and glucose metabolism disorders.** Cardiovasc Diabetol, 2009. p. 58.

DOMINGUEZ, H.; STORGAARD, H.; RASK-MADSEN, C.; STEFFEN HERMANN, T.; IHLEMANN, N.; BAUNBJERG NIELSEN, D.; SPOHR, C.; KOBER, L.; VAAG, A.; TORP-PEDERSEN, C. **Metabolic and vascular effects of tumor necrosis factor-alpha blockade with etanercept in obese patients with type 2 diabetes.** J Vasc Res, 2005. p. 517-25.

DUFFY, S. A.; TAYLOR, J. M.; TERRELL, J. E.; ISLAM, M.; LI, Y.; FOWLER, K. E.; WOLF, G. T.; TEKNOS, T. N. **Interleukin-6 predicts recurrence and survival among head and neck cancer patients.** *Cancer*, 2008. p. 750-7.

DURNIN, J. V.; WOMERSLEY, J. **Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years.** *Br J Nutr*, 1974. p. 77-97.

DVORAKOVA-LORENZOVA, A.; SUCHANEK, P.; HAVEL, P. J.; STAVEK, P.; KARASOVA, L.; VALENTA, Z.; TINTERA, J.; POLEDNE, R. **The decrease in C-reactive protein concentration after diet and physical activity induced weight reduction is associated with changes in plasma lipids, but not interleukin-6 or adiponectin.** *Metabolism*, 2006. p. 359-65.

FAIN, J. N.; BAHOUTH, S. W.; MADAN, A. K. **Haptoglobin release by human adipose tissue in primary culture.** *J Lipid Res*, 2004. p. 536-42.

FANTUZZI, G. **Adipose tissue, adipokines, and inflammation.** *J Allergy Clin Immunol*, 2005. p. 911-9; quiz 920.

FASSHAUER, M.; KRALISCH, S.; KLIER, M.; LOSSNER, U.; BLUHER, M.; KLEIN, J.; PASCHKE, R. **Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes.** *Biochem Biophys Res Commun*, 2003. p. 1045-50.

FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. **Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles.** *FASEB J*, 2002. p. 1335-47.

FEINGOLD, K. R.; MARSHALL, M.; GULLI, R.; MOSER, A. H.; GRUNFELD, C. **Effect of endotoxin and cytokines on lipoprotein lipase activity in mice.** *Arterioscler Thromb*, 1994. p. 1866-72.

FERNANDEZ-REAL, J. M.; VAYREDA, M.; RICHART, C.; GUTIERREZ, C.; BROCH, M.; VENDRELL, J.; RICART, W. **Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. p. 1154-9.

FERNANDEZ-REAL LEMOS, J. M. **[Insulin resistance and evolution].** *Nutr Hosp*, 2002. p. 60-6.

FERNANDEZ-SANCHEZ, A.; MADRIGAL-SANTILLAN, E.; BAUTISTA, M.; ESQUIVEL-SOTO, J.; MORALES-GONZALEZ, A.; ESQUIVEL-CHIRINO, C.; DURANTE-MONTIEL, I.; SANCHEZ-RIVERA, G.; VALADEZ-VEGA, C.; MORALES-GONZALEZ, J. A. **Inflammation, oxidative stress, and obesity.** *Int J Mol Sci*, 2011. p. 3117-32.

FERRARI, R. **Tumor necrosis factor in CHF: a double facet cytokine.** *Cardiovasc Res*, 1998. p. 554-9.

FESTA, A.; D'AGOSTINO, R., JR.; HOWARD, G.; MYKKANEN, L.; TRACY, R. P.; HAFFNER, S. M. **Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS).** *Circulation*, 2000. p. 42-7.

- FISMAN, E. Z.; ADLER, Y.; TENENBAUM, A. **Biomarkers in cardiovascular diabetology: interleukins and matrixins.** *Adv Cardiol*, 2008. p. 44-64.
- FISMAN, E. Z.; TENENBAUM, A. **The ubiquitous interleukin-6: a time for reappraisal.** *Cardiovasc Diabetol*, 2010. p. 62.
- FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I.; LIMA, F. B. **Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice.** *J Pediatr (Rio J)*, 2007. p. S192-203.
- FORD, E. S.; AJANI, U. A.; MOKDAD, A. H. **The metabolic syndrome and concentrations of C-reactive protein among U.S. youth.** *Diabetes Care*, 2005. p. 878-81.
- FORD, E. S.; LI, C.; COOK, S.; CHOI, H. K. **Serum concentrations of uric acid and the metabolic syndrome among US children and adolescents.** *Circulation*, 2007. p. 2526-32.
- FORD, E. S.; MOKDAD, A. H.; GILES, W. H.; BROWN, D. W. **The metabolic syndrome and antioxidant concentrations: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.** *Diabetes*, 2003. p. 2346-52.
- FRANCISCO, G.; HERNANDEZ, C.; SIMO, R. **Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia.** *Clin Chim Acta*, 2006. p. 1-16.
- FRANCO, G. P. P. S., L.C.N; ALVES, C.J.; FRANÇA, V.A; CASARELL, T.; JARDIM, P.C. **Síndrome metabólica em hipertensos de Cuiabá-MT: prevalência e fatores de risco.** *Arq Bras Cardiol.* , 2009. p. 437-42.
- FRANK, R.; HARGREAVES, R. **Clinical biomarkers in drug discovery and development.** *Nat Rev Drug Discov*, 2003. p. 566-580.
- FRIED, S. K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S. **Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1998. p. 847-50.
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.** *Clin Chem*, 1972. p. 499-502.
- FRUHBECK, G.; GOMEZ-AMBROSI, J.; MURUZABAL, F. J.; BURRELL, M. A. **The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. p. E827-47.
- FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. **Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome.** *J Clin Invest*, 2004. p. 1752-61.
- GAO, X.; XU, X.; BELMADANI, S.; PARK, Y.; TANG, Z.; FELDMAN, A. M.; CHILIAN, W. M.; ZHANG, C. **TNF-alpha contributes to endothelial dysfunction by upregulating arginase in ischemia/reperfusion injury.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. p. 1269-75.

- GERSZTEN, R. E.; WANG, T. J. **The search for new cardiovascular biomarkers.** Nature, 2008. p. 949-52.
- GHANIM, H.; ALJADA, A.; HOFMEYER, D.; SYED, T.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. **Circulating Mononuclear Cells in the Obese Are in a Proinflammatory State.** Circulation, 2004. p. 1564-1571.
- GHANIM, H.; ALJADA, A.; HOFMEYER, D.; SYED, T.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. **Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state.** Circulation, 2004. p. 1564-71.
- GIELEN, S.; ADAMS, V.; LINKE, A.; ERBS, S.; MOBIUS-WINKLER, S.; SCHUBERT, A.; SCHULER, G.; HAMBRECHT, R. **Exercise training in chronic heart failure: correlation between reduced local inflammation and improved oxidative capacity in the skeletal muscle.** Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2005. p. 393-400.
- GIL, A. **Papel de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en los procesos inflamatorios (Libro blanco de los omega-3).** . Madrid/ES: Médica Panamericana., 2005.
- GONZALEZ-GAY, M. A.; DE MATIAS, J. M.; GONZALEZ-JUANATEY, C.; GARCIA-PORRUA, C.; SANCHEZ-ANDRADE, A.; MARTIN, J.; LLORCA, J. **Anti-tumor necrosis factor-alpha blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis.** Clin Exp Rheumatol, 2006. p. 83-6.
- GOODWIN, B. L.; PENDLETON, L. C.; LEVY, M. M.; SOLOMONSON, L. P.; EICHLER, D. C. **Tumor necrosis factor-alpha reduces argininosuccinate synthase expression and nitric oxide production in aortic endothelial cells.** Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. p. H1115-21.
- GOYENECHEA; PARRA, D.; CRUJEIRAS, A. B.; ABETE, I.; MARTINEZ, J. A. **A nutrigenomic inflammation-related PBMC-based approach to predict the weight-loss regain in obese subjects.** . Ann Nutr Metab 2009., p. 43-51.,
- GOYENECHEA, E.; PARRA, M. D.; MARTINEZ HERNANDEZ, J. A. **[Role of IL-6 and its -174G>C polymorphism in weight management and in the metabolic comorbidities associated with obesity].** An Sist Sanit Navar, 2005. p. 357-66.
- GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. **Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes.** Diabetes, 2004. p. S110-8.
- GUIMARÃES, D. E. D.; SARDINHA, F. L. C.; MIZURINI, D. M.; TAVARES, C. M. G. **Adipokines: a new view of adipose tissue.** Rev. Nutr., Campinas, 2007. p. 549-559.
- HAJER, G. R.; VAN HAEFTEN, T. W.; VISSEREN, F. L. **Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases.** Eur Heart J, 2008. p. 2959-71.
- HANSEL, B.; GIRAL, P.; NOBECOURT, E.; CHANTEPIE, S.; BRUCKERT, E.; CHAPMAN, M. J.; KONTUSH, A. **Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity.** J Clin Endocrinol Metab, 2004. p. 4963-71.

HARRIS, T. B.; FERRUCCI, L.; TRACY, R. P.; CORTI, M. C.; WACHOLDER, S.; ETTINGER, W. H., JR.; HEIMOVITZ, H.; COHEN, H. J.; WALLACE, R. **Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly.** *Am J Med*, 1999. p. 506-12.

HAYDEN, M. R.; TYAGI, S. C. **Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle.** *Nutr Metab (Lond)*, 2004. p. 10.

HEINIG, M.; JOHNSON, R. J. **Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome.** *Cleve Clin J Med*, 2006. p. 1059-64.

HERMSDORFF, H. H.; MONTEIRO, J. B. **[Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem?].** *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2004. p. 803-11.

HERMSDORFF, H. H.; PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A. **Association of body fat distribution with proinflammatory gene expression in peripheral blood mononuclear cells from young adult subjects.** *OMICS*, 2010. p. 297-307.

HOTAMISLIGIL, G. S. **Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance.** *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1999. p. 119-25.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. **Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance.** *Science*, 1993. p. 87-91.

HSUEH, W. A.; LAW, R. **The central role of fat and effect of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma on progression of insulin resistance and cardiovascular disease.** *Am J Cardiol*, 2003. p. 3J-9J.

HUKSHORN, C. J.; LINDEMAN, J. H.; TOET, K. H.; SARIS, W. H.; EILERS, P. H.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S.; KOOISTRA, T. **Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. p. 1773-8.

HUNG, J.; MCQUILLAN, B. M.; CHAPMAN, C. M.; THOMPSON, P. L.; BEILBY, J. P. **Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. p. 1268-73.

HUNTER, D. J.; MORRIS, J. S.; CHUTE, C. G.; KUSHNER, E.; COLDITZ, G. A.; STAMPFER, M. J.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C. **Predictors of selenium concentration in human toenails.** *Am J Epidemiol*, 1990. p. 114-22.

ISHIKAWA, K.; TAKAHASHI, K.; BUJO, H.; HASHIMOTO, N.; YAGUI, K.; SAITO, Y. **Subcutaneous fat modulates insulin sensitivity in mice by regulating TNF-alpha expression in visceral fat.** *Horm Metab Res*, 2006. p. 631-8.

ISHIZAKA, N.; ISHIZAKA, Y.; TODA, E.; NAGAI, R.; YAMAKADO, M. **Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. p. 1038-44.

JACOBS, D. R., JR.; ANDERSEN, L. F.; BLOMHOFF, R. **Whole-grain consumption is associated with a reduced risk of noncardiovascular, noncancer death attributed to inflammatory diseases in the Iowa Women's Health Study.** *Am J Clin Nutr*, 2007. p. 1606-14.

JANICKI-DEVERTS, D.; COHEN, S.; DOYLE, W. J.; TURNER, R. B.; TREANOR, J. J. **Infection-induced proinflammatory cytokines are associated with decreases in positive affect, but not increases in negative affect.** *Brain Behav Immun*, 2007. p. 301-7.

JOVINGE, S.; HAMSTEN, A.; TORNVALL, P.; PROUDLER, A.; BAVENHOLM, P.; ERICSSON, C. G.; GODSLAND, I.; DE FAIRE, U.; NILSSON, J. **Evidence for a role of tumor necrosis factor alpha in disturbances of triglyceride and glucose metabolism predisposing to coronary heart disease.** *Metabolism*, 1998. p. 113-8.

KAMIMURA, D.; ISHIHARA, K.; HIRANO, T. **IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model.** *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2003. p. 1-38.

KAWADA, T.; OTSUKA, T.; KATSUMATA, M.; SUZUKI, H. **Serum uric acid is significantly related to the components of the metabolic syndrome in Japanese workingmen.** *J Cardiometab Syndr*, 2007. p. 158-62.

KEANEY, J. F., JR.; LARSON, M. G.; VASAN, R. S.; WILSON, P. W.; LIPINSKA, I.; COREY, D.; MASSARO, J. M.; SUTHERLAND, P.; VITA, J. A.; BENJAMIN, E. J. **Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. p. 434-9.

KERN, P. A.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. **Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. p. E745-51.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. **Adipose tissue as an endocrine organ.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. p. 2548-56.

KESKI-NISULA, L.; HIRVONEN, M. R.; ROPONEN, M.; HEINONEN, S.; PEKKANEN, J. **Spontaneous and stimulated interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production at delivery and three months after birth.** *Eur Cytokine Netw*, 2004. p. 67-72.

KING, D. E.; EGAN, B. M.; GEESEY, M. E. **Relation of dietary fat and fiber to elevation of C-reactive protein.** *Am J Cardiol*, 2003. p. 1335-9.

KING, D. E.; MAINOUS, A. G., 3RD; EGAN, B. M.; WOOLSON, R. F.; GEESEY, M. E. **Fiber and C-reactive protein in diabetes, hypertension, and obesity.** *Diabetes Care*, 2005. p. 1487-9.

KIORTSIS, D. N.; MAVRIDIS, A. K.; VASAKOS, S.; NIKAS, S. N.; DROSOS, A. A. **Effects of infliximab treatment on insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis.** *Ann Rheum Dis*, 2005. p. 765-6.

KITANOVSKI, L.; JAZBEC, J.; HOJKER, S.; GUBINA, M.; DERGANČ, M. **Diagnostic accuracy of procalcitonin and interleukin-6 values for predicting bacteremia and clinical**

- sepsis in febrile neutropenic children with cancer.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2006. p. 413-5.
- KOH, K. K.; HAN, S. H.; QUON, M. J. **Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions.** J Am Coll Cardiol, 2005. p. 1978-85.
- KOHAN, D. E. **Endothelin-1 and hypertension: from bench to bedside.** Curr Hypertens Rep, 2008. p. 65-9.
- KRISHNAN, E.; KWOH, C. K.; SCHUMACHER, H. R.; KULLER, L. **Hyperuricemia and incidence of hypertension among men without metabolic syndrome.** Hypertension, 2007. p. 298-303.
- KROGH-MADSEN, R.; PLOMGAARD, P.; MOLLER, K.; MITTENDORFER, B.; PEDERSEN, B. K. **Influence of TNF-alpha and IL-6 infusions on insulin sensitivity and expression of IL-18 in humans.** Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. p. E108-14.
- LAMBERT, C. P.; WRIGHT, N. R.; FINCK, B. N.; VILLAREAL, D. T. **Exercise but not diet-induced weight loss decreases skeletal muscle inflammatory gene expression in frail obese elderly persons.** J Appl Physiol, 2008. p. 473-8.
- LASTRA, G.; MANRIQUE, C. M.; HAYDEN, M. R. **The role of beta-cell dysfunction in the cardiometabolic syndrome.** J Cardiometab Syndr, 2006. p. 41-6.
- LASTRA, G. M., C. **Síndrome cardiometabólico: Inflamación, tejido adiposo, resistencia a la insulina y aterogénesis se expande el rompecabezas.** . Acta med Colomb, 2005. p. 100-111.
- LEY, S. H.; HEGELE, R. A.; CONNELLY, P. W.; HARRIS, S. B.; MAMAKEESICK, M.; CAO, H.; GITTELSON, J.; RETNAKARAN, R.; ZINMAN, B.; HANLEY, A. J. **Assessing the association of the HNF1A G319S variant with C-reactive protein in Aboriginal Canadians: a population-based epidemiological study.** Cardiovasc Diabetol, 2010. p. 39.
- LIANG, H.; YIN, B.; ZHANG, H.; ZHANG, S.; ZENG, Q.; WANG, J.; JIANG, X.; YUAN, L.; WANG, C. Y.; LI, Z. **Blockade of tumor necrosis factor (TNF) receptor type 1-mediated TNF-alpha signaling protected Wistar rats from diet-induced obesity and insulin resistance.** Endocrinology, 2008. p. 2943-51.
- LINDEMAN, J. H.; PIJL, H.; TOET, K.; EILERS, P. H.; VAN RAMSHORST, B.; BUIJS, M. M.; VAN BOCKEL, J. H.; KOOISTRA, T. **Human visceral adipose tissue and the plasminogen activator inhibitor type 1.** Int J Obes (Lond), 2007. p. 1671-9.
- LIU, S. **Intake of refined carbohydrates and whole grain foods in relation to risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease.** J Am Coll Nutr, 2002. p. 298-306.
- LIU, S.; WILLETT, W. C.; MANSON, J. E.; HU, F. B.; ROSNER, B.; COLDITZ, G. **Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women.** Am J Clin Nutr, 2003. p. 920-7.
- LOFGREN, P.; VAN HARMELEN, V.; REYNISDOTTIR, S.; NASLUND, E.; RYDEN, M.; ROSSNER, S.; ARNER, P. **Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong**

relationship to insulin-stimulated glucose transport in human adipose tissue. *Diabetes*, 2000. p. 688-92.

MA, Y.; HEBERT, J. R.; LI, W.; BERTONE-JOHNSON, E. R.; OLENDZKI, B.; PAGOTO, S. L.; TINKER, L.; ROSAL, M. C.; OCKENE, I. S.; OCKENE, J. K.; GRIFFITH, J. A.; LIU, S. **Association between dietary fiber and markers of systemic inflammation in the Women's Health Initiative Observational Study.** *Nutrition*, 2008. p. 941-9.

MACNAUL, K. L.; HUTCHINSON, N. I. **Differential expression of iNOS and cNOS mRNA in human vascular smooth muscle cells and endothelial cells under normal and inflammatory conditions.** *Biochem Biophys Res Commun*, 1993. p. 1330-4.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. **Erythrocyte zinc and carbonic anhydrase levels in nondialyzed chronic kidney disease patients.** *Clin Biochem*, 2004. p. 67-71.

MAIESE, K.; MORHAN, S. D.; CHONG, Z. Z. **Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus.** *Curr Neurovasc Res*, 2007. p. 63-71.

MALLAT, Z.; CORBAZ, A.; SCOAZEC, A.; BESNARD, S.; LESECHE, G.; CHVATCHKO, Y.; TEDGUI, A. **Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability.** *Circulation*, 2001. p. 1598-603.

MARKETOU, M. E.; ZACHARIS, E. A.; NIKITOVIC, D.; GANOTAKIS, E. S.; PARTHENAKIS, F. I.; MALIARAKI, N.; VARDAS, P. E. **Early effects of simvastatin versus atorvastatin on oxidative stress and proinflammatory cytokines in hyperlipidemic subjects.** *Angiology*, 2006. p. 211-8.

MATHEW, M.; TAY, E.; CUSI, K. **Elevated plasma free fatty acids increase cardiovascular risk by inducing plasma biomarkers of endothelial activation, myeloperoxidase and PAI-1 in healthy subjects.** *Cardiovasc Diabetol*, 2010. p. 9.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; 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*, 1985. p. 412-9.

MCCALL, K. A.; HUANG, C.; FIERKE, C. A. **Function and mechanism of zinc metalloenzymes.** *J Nutr*, 2000. p. 1437S-46S.

MEIGS, J. B.; D'AGOSTINO, R. B., SR.; WILSON, P. W.; CUPPLES, L. A.; NATHAN, D. M.; SINGER, D. E. **Risk variable clustering in the insulin resistance syndrome. The Framingham Offspring Study.** *Diabetes*, 1997. p. 1594-600.

MELLENDEZ, G. C.; MCLARTY, J. L.; LEVICK, S. P.; DU, Y.; JANICKI, J. S.; BROWER, G. L. **Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats.** *Hypertension*, 2010. p. 225-31.

MELLEN, P. B.; BLEYER, A. J.; ERLINGER, T. P.; EVANS, G. W.; NIETO, F. J.; WAGENKNECHT, L. E.; WOFFORD, M. R.; HERRINGTON, D. M. **Serum uric acid predicts incident hypertension in a biethnic cohort: the atherosclerosis risk in communities study.** *Hypertension*, 2006. p. 1037-42.

- MEMON, R. A.; GRUNFELD, C.; MOSER, A. H.; FEINGOLD, K. R. **Tumor necrosis factor mediates the effects of endotoxin on cholesterol and triglyceride metabolism in mice.** *Endocrinology*, 1993. p. 2246-53.
- MILLER, G. D.; NICKLAS, B. J.; LOESER, R. F. **Inflammatory biomarkers and physical function in older, obese adults with knee pain and self-reported osteoarthritis after intensive weight-loss therapy.** *J Am Geriatr Soc*, 2008. p. 644-51.
- MOHAMED-ALI, V.; GOODRICK, S.; RAWESH, A.; KATZ, D. R.; MILES, J. M.; YUDKIN, J. S.; KLEIN, S.; COPPACK, S. W. **Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. p. 4196-200.
- MONTAGUE, C. T.; PRINS, J. B.; SANDERS, L.; ZHANG, J.; SEWTER, C. P.; DIGBY, J.; BYRNE, C. D.; O'RAHILLY, S. **Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes.** *Diabetes*, 1998. p. 1384-91.
- MORALES, R. V. P. T., M. G. Z; MARTÍNEZ CARRILLO, B. E; GÓMEZ MARTÍNEZ, S. , MARCOS, A; RAMOS, R. V. . **Inflammatory mediators and immune response in Mexican adolescents.** *Nutr Hosp*, 2011. p. 1115-1119.
- MORENO-ALIAGA, M. J.; CAMPIÓN, J.; MILAGRO, F. I.; BERJÓN, A.; MARTINEZ, J. A. **Adiposity and proinflammatory state: the chicken or the egg.** *Adipocytes*, 2005. p. 1-6.
- MORIN, C. L.; ECKEL, R. H.; MARCEL, T.; PAGLIASSOTTI, M. J. **High fat diets elevate adipose tissue-derived tumor necrosis factor-alpha activity.** *Endocrinology*, 1997. p. 4665-71.
- MULLER, J.; NYVAD, O.; LARSEN, N. A.; LOKKEGAARD, N.; PEDERSEN, R. S.; SOLLING, J.; PEDERSEN, E. B. **Chlamydia pneumoniae DNA in peripheral blood mononuclear cells in dialysis patients, renal transplant recipients and healthy controls.** *Scand J Clin Lab Invest*, 2002. p. 503-9.
- MURPHY, R. M.; WATT, K. K.; CAMERON-SMITH, D.; GIBBONS, C. J.; SNOW, R. J. **Effects of creatine supplementation on housekeeping genes in human skeletal muscle using real-time RT-PCR.** *Physiol Genomics*, 2003. p. 163-74.
- NAKAGAWA, T.; HU, H.; ZHARIKOV, S.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; GLUSHAKOVA, O.; OUYANG, X.; FEIG, D. I.; BLOCK, E. R.; HERRERA-ACOSTA, J.; PATEL, J. M.; JOHNSON, R. J. **A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome.** *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006. p. F625-31.
- NAVARRO-BLASCO, I.; ALVAREZ-GALINDO, J. I. **Selenium content of Spanish infant formulae and human milk: influence of protein matrix, interactions with other trace elements and estimation of dietary intake by infants.** *J Trace Elem Med Biol*, 2004. p. 277-89.
- NCEP-ATPIII. **Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III).** *Jama*, 2001. p. 2486-97.

- NIELSEN, S.; GUO, Z.; JOHNSON, C. M.; HENSRUD, D. D.; JENSEN, M. D. **Splanchnic lipolysis in human obesity.** *J Clin Invest*, 2004. p. 1582-8.
- NIETO, F. J.; IRIBARREN, C.; GROSS, M. D.; COMSTOCK, G. W.; CUTLER, R. G. **Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis?** *Atherosclerosis*, 2000. p. 131-9.
- NISHIDA, M.; MORIYAMA, T.; SUGITA, Y.; YAMAUCHI-TAKIHARA, K. **Interleukin-10 associates with adiponectin predominantly in subjects with metabolic syndrome.** *Circ J*, 2007. p. 1234-8.
- NODE, K.; INOUE, T. **Postprandial hyperglycemia as an etiological factor in vascular failure.** *Cardiovasc Diabetol*, 2009. p. 23.
- NONOGAKI, K.; FULLER, G. M.; FUENTES, N. L.; MOSER, A. H.; STAPRANS, I.; GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K. R. **Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats.** *Endocrinology*, 1995. p. 2143-9.
- O'ROURKE, R. W.; KAY, T.; LYLE, E. A.; TRAXLER, S. A.; DEVENNEY, C. W.; JOBE, B. A.; ROBERTS, C. T., JR.; MARKS, D.; ROSENBAUM, J. T. **Alterations in peripheral blood lymphocyte cytokine expression in obesity.** *Clin Exp Immunol*, 2006. p. 39-46.
- OFEI, F.; HUREL, S.; NEWKIRK, J.; SOPWITH, M.; TAYLOR, R. **Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM.** *Diabetes*, 1996. p. 881-5.
- OLIN, K. L.; GOLUB, M. S.; GERSHWIN, M. E.; HENDRICKX, A. G.; LONNERDAL, B.; KEEN, C. L. **Extracellular superoxide dismutase activity is affected by dietary zinc intake in nonhuman primate and rodent models.** *Am J Clin Nutr*, 1995. p. 1263-7.
- OLIVER, S. R.; ROSA, J. S.; MILNE, G. L.; PONTELLO, A. M.; BORNTRAGER, H. L.; HEYDARI, S.; GALASSETTI, P. R. **Increased oxidative stress and altered substrate metabolism in obese children.** *Int J Pediatr Obes*, 2010. p. 436-44.
- OLSON, T. P.; DENGEL, D. R.; LEON, A. S.; SCHMITZ, K. H. **Changes in inflammatory biomarkers following one-year of moderate resistance training in overweight women.** *Int J Obes (Lond)*, 2007. p. 996-1003.
- PADILHA, H. G.; CRISPIM, C. A.; ZIMBERG, I. Z.; DE-SOUZA, D. A.; WATERHOUSE, J.; TUFIK, S.; DE-MELLO, M. T. **A link between sleep loss, glucose metabolism and adipokines.** *Braz J Med Biol Res*, 2011. p. 992-9.
- PAMIR, N.; MCMILLEN, T. S.; KAIYALA, K. J.; SCHWARTZ, M. W.; LEBOEUF, R. C. **Receptors for tumor necrosis factor-alpha play a protective role against obesity and alter adipose tissue macrophage status.** *Endocrinology*, 2009. p. 4124-34.
- PAQUOT, N.; CASTILLO, M. J.; LEFEBVRE, P. J.; SCHEEN, A. J. **No increased insulin sensitivity after a single intravenous administration of a recombinant human tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein in obese insulin-resistant patients.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2000. p. 1316-9.

PARK, H. S.; PARK, J. Y.; YU, R. **Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6.** Diabetes Res Clin Pract, 2005. p. 29-35.

PARK, K. S.; RHEE, B. D.; LEE, K. U.; KIM, S. Y.; LEE, H. K.; KOH, C. S.; MIN, H. K. **Intra-abdominal fat is associated with decreased insulin sensitivity in healthy young men.** Metabolism, 1991. p. 600-603.

PEARSON, T. A.; MENSAH, G. A.; ALEXANDER, R. W.; ANDERSON, J. L.; CANNON, R. O., 3RD; CRIQUI, M.; FADL, Y. Y.; FORTMANN, S. P.; HONG, Y.; MYERS, G. L.; RIFAI, N.; SMITH, S. C., JR.; TAUBERT, K.; TRACY, R. P.; VINICOR, F. **Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association.** Circulation, 2003. p. 499-511.

PEREIRA, M. A.; O'REILLY, E.; AUGUSTSSON, K.; FRASER, G. E.; GOLDBOURT, U.; HEITMANN, B. L.; HALLMANS, G.; KNEKT, P.; LIU, S.; PIETINEN, P.; SPIEGELMAN, D.; STEVENS, J.; VIRTAMO, J.; WILLETT, W. C.; ASCHERIO, A. **Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies.** Arch Intern Med, 2004. p. 370-6.

PERLOFF, D.; GRIM, C.; FLACK, J.; FROHLICH, E. D.; HILL, M.; MCDONALD, M.; MORGENSTERN, B. Z. **Human blood pressure determination by sphygmomanometry.** Circulation, 1993. p. 2460-70.

PERLSTEIN, T. S.; GUMIENIAK, O.; WILLIAMS, G. H.; SPARROW, D.; VOKONAS, P. S.; GAZIANO, M.; WEISS, S. T.; LITONJUA, A. A. **Uric acid and the development of hypertension: the normative aging study.** Hypertension, 2006. p. 1031-6.

PETERSON, M. C. **Circulating transforming growth factor beta-1: a partial molecular explanation for associations between hypertension, diabetes, obesity, smoking and human disease involving fibrosis.** Med Sci Monit, 2005. p. RA229-32.

PICCHI, A.; GAO, X.; BELMADANI, S.; POTTER, B. J.; FOCARDI, M.; CHILIAN, W. M.; ZHANG, C. **Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome.** Circ Res, 2006. p. 69-77.

PICKUP, J. C.; CROOK, M. A. **Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system?** Diabetologia, 1998. p. 1241-8.

PINCELLI, A. I.; BRUNANI, A.; SCACCHI, M.; DUBINI, A.; BORSOTTI, R.; TIBALDI, A.; PASQUALINOTTO, L.; MAESTRI, E.; CAVAGNINI, F. **The serum concentration of tumor necrosis factor alpha is not an index of growth-hormone- or obesity-induced insulin resistance.** Horm Res, 2001. p. 57-64.

POPA, C.; NETEA, M. G.; RADSTAKE, T.; VAN DER MEER, J. W.; STALENHOF, A. F.; VAN RIEL, P. L.; BARERRA, P. **Influence of anti-tumour necrosis factor therapy on cardiovascular risk factors in patients with active rheumatoid arthritis.** Ann Rheum Dis, 2005. p. 303-5.

POU, K. M.; MASSARO, J. M.; HOFFMANN, U.; VASAN, R. S.; MAUROVICH-HORVAT, P.; LARSON, M. G.; KEANEY, J. F., JR.; MEIGS, J. B.; LIPINSKA, I.; KATHIRESAN, S.; MURABITO, J. M.; O'DONNELL, C. J.; BENJAMIN, E. J.; FOX, C. S. **Visceral and**

subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 2007. p. 1234-41.

PUCHAU, B.; HERMSDORFF, H. H.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A. **DDAH2 mRNA expression is inversely associated with some cardiovascular risk-related features in healthy young adults.** *Dis Markers*, 2009. p. 37-44.

PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; HERMSDORFF, H. H.; NAVARRO-BLASCO, I.; MARTINEZ, J. A. **Nail Antioxidant Trace Elements Are Inversely Associated with Inflammatory Markers in Healthy Young Adults.** *Biol Trace Elem Res*, 2009.

PUGLISI, M. J.; FERNANDEZ, M. L. **Modulation of C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and adiponectin by diet, exercise, and weight loss.** *J Nutr*, 2008. p. 2293-6.

QATANANI, M.; LAZAR, M. A. **Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu.** *Genes Dev*, 2007. p. 1443-55.

QI, L.; HU, F. B. **Dietary glycemic load, whole grains, and systemic inflammation in diabetes: the epidemiological evidence.** *Curr Opin Lipidol*, 2007. p. 3-8.

RADER, D. J. **Inflammatory markers of coronary risk.** *N Engl J Med*, 2000. p. 1179-82.

RAWAL, N. R., M.A.; LISCHWE, K.R.; WILLIAMS, W.K.; PAIK; KIM, S. . **Structural specificity of substrate for S-adenosylmethionine:protein arginine N-methyltransferases.** *Biochim Biophys Acta* 1995. p. 11-18.

REDINGER, R. N. **The physiology of adiposity.** *J Ky Med Assoc*, 2008. p. 53-62.

REUBEN, D. B.; FERRUCCI, L.; WALLACE, R.; TRACY, R. P.; CORTI, M. C.; HEIMOVITZ, H.; HARRIS, T. B. **The prognostic value of serum albumin in healthy older persons with low and high serum interleukin-6 (IL-6) levels.** *J Am Geriatr Soc*, 2000. p. 1404-7.

REXRODE, K. M.; PRADHAN, A.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. **Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women.** *Ann Epidemiol*, 2003. p. 674-82.

ROLLAND, C.; HESSION, M.; BROOM, I. **Effect of weight loss on adipokine levels in obese patients.** *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2011. p. 315-23.

ROMANO, M.; SIRONI, M.; TONIATTI, C.; POLENTARUTTI, N.; FRUSCELLA, P.; GHEZZI, P.; FAGGIONI, R.; LUINI, W.; VAN HINSBERGH, V.; SOZZANI, S.; BUSSOLINO, F.; POLI, V.; CILIBERTO, G.; MANTOVANI, A. **Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment.** *Immunity*, 1997. p. 315-25.

ROSA, J. S.; OLIVER, S. R.; FLORES, R. L.; NGO, J.; MILNE, G. L.; ZALDIVAR, F. P.; GALASSETTI, P. R. **Altered inflammatory, oxidative, and metabolic responses to exercise in pediatric obesity and type 1 diabetes.** *Pediatr Diabetes*, 2011. p. 464-72.

- ROSENSON, R. S.; KOENIG, W. **Utility of inflammatory markers in the management of coronary artery disease.** Am J Cardiol, 2003. p. 10i-8i.
- ROTH, C. L.; KRATZ, M.; RALSTON, M. M.; REINEHR, T. **Changes in adipose-derived inflammatory cytokines and chemokines after successful lifestyle intervention in obese children.** Metabolism, 2011. p. 445-52.
- RUAN, H.; MILES, P. D.; LADD, C. M.; ROSS, K.; GOLUB, T. R.; OLEFSKY, J. M.; LODISH, H. F. **Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor-alpha: implications for insulin resistance.** Diabetes, 2002. p. 3176-88.
- RUS, H. G.; VLAICU, R.; NICULESCU, F. **Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall.** Atherosclerosis, 1996. p. 263-71.
- SAKAMOTO, K.; ARAKAWA, H.; MITA, S.; ISHIKO, T.; IKEI, S.; EGAMI, H.; HISANO, S.; OGAWA, M. **Elevation of circulating interleukin 6 after surgery: factors influencing the serum level.** Cytokine, 1994. p. 181-6.
- SALAS-SALVADO, J.; RUBIO, M. A.; BARBANY, M.; MORENO, B. [**SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria**]. Med Clin (Barc), 2007. p. 184-96; quiz 1 p following 200.
- SANCHEZ-MORENO, C.; CANO, M. P.; DE ANCOS, B.; PLAZA, L.; OLMEDILLA, B.; GRANADO, F.; MARTIN, A. **Consumption of high-pressurized vegetable soup increases plasma vitamin C and decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in healthy humans.** J Nutr, 2004. p. 3021-5.
- SCHIFFRIN, E. L. **Oxidative stress, nitric oxide synthase, and superoxide dismutase: a matter of imbalance underlies endothelial dysfunction in the human coronary circulation.** Hypertension, 2008. p. 31-2.
- SCHREYER, S. A.; CHUA, S. C., JR.; LEBOEUF, R. C. **Obesity and diabetes in TNF-alpha receptor- deficient mice.** J Clin Invest, 1998. p. 402-11.
- SEIDEL, M.; BILLERT, H.; KURPISZ, M. **Regulation of eNOS expression in HCAEC cell line treated with opioids and proinflammatory cytokines.** Kardiol Pol, 2006. p. 153-8; discussion 159-60.
- SHARMAN, M. J.; VOLEK, J. S. **Weight loss leads to reductions in inflammatory biomarkers after a very-low-carbohydrate diet and a low-fat diet in overweight men.** Clin Sci (Lond), 2004. p. 365-9.
- SLOBODIANIK, N. H. **Obesity and defense mechanisms.** Actualización en Nutrición 2007. p. 200-2.
- SNELL-BERGEON, J. K.; WEST, N. A.; MAYER-DAVIS, E. J.; LIESE, A. D.; MARCOVINA, S. M.; D'AGOSTINO, R. B., JR.; HAMMAN, R. F.; DABELEA, D. **Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study.** J Clin Endocrinol Metab, 2010. p. 2868-76.

SONG, Y.; MIYAKI, K.; ARAKI, J.; ZHANG, L.; OMAE, K.; MURAMATSU, M. **The interaction between the interleukin 6 receptor gene genotype and dietary energy intake on abdominal obesity in Japanese men.** *Metabolism*, 2007. p. 925-30.

SPANAKIS, E.; SIDIROPOULOS, P.; PAPADAKIS, J.; GANOTAKIS, E.; KATSIKAS, G.; KARVOUNARIS, S.; BIZAKI, A.; KRITIKOS, H.; BOUMPAS, D. T. **Modest but sustained increase of serum high density lipoprotein cholesterol levels in patients with inflammatory arthritides treated with infliximab.** *J Rheumatol*, 2006. p. 2440-6.

SPOTO, B. P., ROSA M.; PARLONGO, GIOVANNA; SGRO', EDOARDO; ZOCCALI, CARMINE. **The enzymatic machinery for ADMA synthesis and degradation is fully expressed in human adipocytes**
J Nephrol
2007. p. 554 - 559.

SPRANGER, J.; KROKE, A.; MOHLIG, M.; HOFFMANN, K.; BERGMANN, M. M.; RISTOW, M.; BOEING, H.; PFEIFFER, A. F. **Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study.** *Diabetes*, 2003. p. 812-7.

STEMBURGO, T.; AZEVEDO, M. J.; MARTINEZ, J. A. **[Gene-nutrient interaction and its association with obesity and diabetes mellitus].** *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2009. p. 497-508.

STEENSBERG, A.; KELLER, C.; STARKIE, R. L.; OSADA, T.; FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. **IL-6 and TNF-alpha expression in, and release from, contracting human skeletal muscle.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002. p. E1272-8.

STEINBRICH-ZOLLNER, M.; GRUN, J. R.; KAISER, T.; BIESEN, R.; RABA, K.; WU, P.; THIEL, A.; RUDWALEIT, M.; SIEPER, J.; BURMESTER, G. R.; RADBRUCH, A.; GRUTZKAU, A. **From transcriptome to cytome: integrating cytometric profiling, multivariate cluster, and prediction analyses for a phenotypical classification of inflammatory diseases.** *Cytometry A*, 2008. p. 333-40.

SUNDSTROM, J.; SULLIVAN, L.; D'AGOSTINO, R. B.; LEVY, D.; KANNEL, W. B.; VASAN, R. S. **Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence.** *Hypertension*, 2005. p. 28-33.

THORAND, B.; BAUMERT, J.; CHAMBLESS, L.; MEISINGER, C.; KOLB, H.; DORING, A.; LOWEL, H.; KOENIG, W. **Elevated markers of endothelial dysfunction predict type 2 diabetes mellitus in middle-aged men and women from the general population.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006. p. 398-405.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. **Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue.** *Br J Nutr*, 2004. p. 347-55.

TREMBLAY, A. J.; MORRISSETTE, H.; GAGNE, J. M.; BERGERON, J.; GAGNE, C.; COUTURE, P. **Validation of the Friedewald formula for the determination of low-density lipoprotein cholesterol compared with beta-quantification in a large population.** *Clin Biochem*, 2004. p. 785-90.

- TROSEID, M.; SELJEFLOT, I.; ARNESEN, H. **The role of interleukin-18 in the metabolic syndrome.** *Cardiovasc Diabetol*, 2010. p. 11.
- TSIGOS, C.; PAPANICOLAOU, D. A.; KYROU, I.; DEFENSOR, R.; MITSIADIS, C. S.; CHROUSOS, G. P. **Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. p. 4167-70.
- UYSAL, K. T.; WIESBROCK, S. M.; MARINO, M. W.; HOTAMISLIGIL, G. S. **Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function.** *Nature*, 1997. p. 610-4.
- UYSAL, O.; ARIKAN, E.; CAKIR, B. **Plasma total homocysteine level and its association with carotid intima-media thickness in obesity.** *J Endocrinol Invest*, 2005. p. 928-34.
- VALGIMIGLI, M.; CECONI, C.; MALAGUTTI, P.; MERLI, E.; SOUKHOMOVSKAIA, O.; FRANCOLINI, G.; CICCHITELLI, G.; OLIVARES, A.; PARRINELLO, G.; PERCOCO, G.; GUARDIGLI, G.; MELE, D.; PIRANI, R.; FERRARI, R. **Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study.** *Circulation*, 2005. p. 863-70.
- VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; DE BLOCK, C. E. **Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease.** *Nature*, 2006. p. 875-80.
- VAN HARMELEN, V.; DICKER, A.; RYDEN, M.; HAUNER, H.; LONNQVIST, F.; NASLUND, E.; ARNER, P. **Increased lipolysis and decreased leptin production by human omental as compared with subcutaneous preadipocytes.** *Diabetes*, 2002. p. 2029-36.
- VGONTZAS, A. N.; ZOUMAKIS, E.; BIXLER, E. O.; LIN, H. M.; FOLLETT, H.; KALES, A.; CHROUSOS, G. P. **Adverse effects of modest sleep restriction on sleepiness, performance, and inflammatory cytokines.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. p. 2119-26.
- VIGUERIE, N.; VIDAL, H.; ARNER, P.; HOLST, C.; VERDICH, C.; AVIZOU, S.; ASTRUP, A.; SARIS, W.; MACDONALD, I.; KLIMCAKOVA, E.; CLÉMENT, K.; MARTINEZ, A.; HOFFSTEDT, J.; SØRENSEN, T.; LANGIN, D.; PROJECT, F. T. N. G. I. I. H. O. I. F. D. G. **Adipose tissue gene expression in obese subjects during low-fat and high-fat hypocaloric diets.** *Diabetologia*, 2005. p. 123-131.
- VIS, M.; NURMOHAMED, M. T.; WOLBINK, G.; VOSKUYL, A. E.; DE KONING, M.; VAN DE STADT, R.; TWISK, J. W.; DIJKMANS, B. A.; LEMS, W. F. **Short term effects of infliximab on the lipid profile in patients with rheumatoid arthritis.** *J Rheumatol*, 2005. p. 252-5.
- VOLP, A. C.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M.; ZULET, M. Á.; MARTÍNEZ, J. Á. **Efeitos antioxidantes do selênio e seu elo com a inflamação e síndrome metabólica** *Rev. Nutr.*, 2010. p. 581-590.
- VOLPATO, S.; GURALNIK, J. M.; FERRUCCI, L.; BALFOUR, J.; CHAVES, P.; FRIED, L. P.; HARRIS, T. B. **Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study.** *Circulation*, 2001. p. 947-53.

- VON BIBRA, H.; ST JOHN SUTTON, M. **Diastolic dysfunction in diabetes and the metabolic syndrome: promising potential for diagnosis and prognosis.** *Diabetologia*, 2010. p. 1033-45.
- VOZAROVA, B.; FERNANDEZ-REAL, J. M.; KNOWLER, W. C.; GALLART, L.; HANSON, R. L.; GRUBER, J. D.; RICART, W.; VENDRELL, J.; RICHART, C.; TATARANNI, P. A.; WOLFORD, J. K. **The interleukin-6 (-174) G/C promoter polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native Americans and Caucasians.** *Hum Genet*, 2003. p. 409-13.
- WADSWORTH, R. M. **Oxidative stress and the endothelium.** *Exp Physiol*, 2008. p. 155-7.
- WAJCHENBERG, B. L. **Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome.** *Endocr Rev*, 2000. p. 697-738.
- WALLENIUS, K.; WALLENIUS, V.; SUNTER, D.; DICKSON, S. L.; JANSSON, J. O. **Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats.** *Biochem Biophys Res Commun*, 2002. p. 560-5.
- WARNBERG, J.; NOVA, E.; MORENO, L. A.; ROMEO, J.; MESANA, M. I.; RUIZ, J. R.; ORTEGA, F. B.; SJOSTROM, M.; BUENO, M.; MARCOS, A. **Inflammatory proteins are related to total and abdominal adiposity in a healthy adolescent population: the AVENA Study.** *Am J Clin Nutr*, 2006. p. 505-12.
- WARNBERG, J.; NOVA, E.; ROMEO, J.; MORENO, L. A.; SJOSTROM, M.; MARCOS, A. **Lifestyle-related determinants of inflammation in adolescence.** *Br J Nutr*, 2007. p. S116-20.
- WASCHER, T. C.; LINDEMAN, J. H.; SOURIJ, H.; KOOISTRA, T.; PACINI, G.; RODEN, M. **Chronic TNF-alpha neutralization does not improve insulin resistance or endothelial function in "healthy" men with metabolic syndrome.** *Mol Med*, 2011. p. 189-93.
- WEISBERG, S. P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; FERRANTE, A. W., JR. **Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue.** *J Clin Invest*, 2003. p. 1796-808.
- WHO. **World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic.** WHO Technical Report Series 894, 1998.
- WILLERSON, J. T.; RIDKER, P. M. **Inflammation as a cardiovascular risk factor.** *Circulation*, 2004. p. II2-10.
- WINKLER, G.; KISS, S.; KESZTHELYI, L.; SAPI, Z.; ORY, I.; SALAMON, F.; KOVACS, M.; VARGHA, P.; SZEKERES, O.; SPEER, G.; KARADI, I.; SIKTER, M.; KASZAS, E.; DWORAK, O.; GERO, G.; CSEH, K. **Expression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF-alpha, soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level.** *Eur J Endocrinol*, 2003. p. 129-35.
- XIA, Z.; LIU, M.; WU, Y.; SHARMA, V.; LUO, T.; OUYANG, J.; MCNEILL, J. H. **N-acetylcysteine attenuates TNF-alpha-induced human vascular endothelial cell apoptosis and restores eNOS expression.** *Eur J Pharmacol*, 2006. p. 134-42.

- XU, H.; BARNES, G. T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C. J.; SOLE, J.; NICHOLS, A.; ROSS, J. S.; TARTAGLIA, L. A.; CHEN, H. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance.** *J Clin Invest*, 2003. p. 1821-30.
- XYDAKIS, A. M.; CASE, C. C.; JONES, P. H.; HOOGEVEEN, R. C.; LIU, M. Y.; SMITH, E. O.; NELSON, K. W.; BALLANTYNE, C. M. **Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. p. 2697-703.
- YAMAMURA, M.; YAMADA, Y.; MOMITA, S.; KAMIHIRA, S.; TOMONAGA, M. **Circulating interleukin-6 levels are elevated in adult T-cell leukaemia/lymphoma patients and correlate with adverse clinical features and survival.** *Br J Haematol*, 1998. p. 129-34.
- YE, J. **Regulation of PPARgamma function by TNF-alpha.** *Biochem Biophys Res Commun*, 2008. p. 405-8.
- YESTE, D.; VENDRELL, J.; TOMASINI, R.; BROCH, M.; GUSSINYE, M.; MEGIA, A.; CARRASCOSA, A. **Interleukin-6 in obese children and adolescents with and without glucose intolerance.** *Diabetes Care*, 2007. p. 1892-4.
- YUDKIN, J. S.; JUHAN-VAGUE, I.; HAWE, E.; HUMPHRIES, S. E.; DI MINNO, G.; MARGAGLIONE, M.; TREMOLI, E.; KOOISTRA, T.; MORANGE, P. E.; LUNDMAN, P.; MOHAMED-ALI, V.; HAMSTEN, A. **Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study.** *Metabolism*, 2004. p. 852-7.
- YUDKIN, J. S.; KUMARI, M.; HUMPHRIES, S. E.; MOHAMED-ALI, V. **Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link?** *Atherosclerosis*, 2000. p. 209-14.
- ZERN, T. L.; WOOD, R. J.; GREENE, C.; WEST, K. L.; LIU, Y.; AGGARWAL, D.; SHACHTER, N. S.; FERNANDEZ, M. L. **Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress.** *J Nutr*, 2005. p. 1911-7.
- ZHANG, H.; PARK, Y.; WU, J.; CHEN, X.; LEE, S.; YANG, J.; DELLSPERGER, K. C.; ZHANG, C. **Role of TNF-alpha in vascular dysfunction.** *Clin Sci (Lond)*, 2009. p. 219-30.
- ZHAO, S.; FERNALD, R. D. **Comprehensive algorithm for quantitative real-time polymerase chain reaction.** *J Comput Biol*, 2005. p. 1047-64.
- ZHAO, S. P.; WU, Z. H.; WU, J.; HONG, S. C.; DENG, P. **Effect of atorvastatin on tumor necrosis factor alpha serum concentration and mRNA expression of adipose in hypercholesterolemic rabbits.** *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005. p. 185-9.
- ZUBELEWICZ-SZKODZINSKA, B.; SZKODZINSKI, J.; ROMANOWSKI, W.; BLAZELONIS, A.; DANIKIEWICZ, A.; MUC-WIERZGON, M.; SZKILNIK, R. **Simvastatin decreases concentration of interleukin-2 in hypercholesterolemic patients after treatment for 12 weeks.** *J Biol Regul Homeost Agents*, 2004. p. 295-301.

ZULET, M. A.; PUCHAU, B.; NAVARRO, C.; MARTI, A.; MARTINEZ, J. A. **[Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies]**. Nutr Hosp, 2007. p. 511-27.

4.2 CAPÍTULO 2

Associação entre a expressão gênica e os níveis plasmáticos de IL-6 e os determinantes da síndrome metabólica em adultos jovens.

Introdução

Concentrações elevadas da IL-6 têm sido associadas com um prognóstico ruim de saúde (HARRIS *et al.*, 1999; VOLPATO *et al.*, 2001). Os níveis da IL-6 aumentados têm sido relacionados com diversas doenças e estados metabólicos como a sepse (ANDREJKO *et al.*, 1998), a hipertensão arterial sistêmica (HAS) (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2001), ao risco aumentado de câncer de mama em mulheres (ALOKAIL *et al.*, 2009), a intensidade da resposta inflamatória (CUSCHIERI *et al.*, 2010), a obesidade (POU *et al.*, 2007), ao aumento da resistência à insulina (RI) (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2001), e outros. Além disso, os níveis da IL-6 aumentados se correlacionam com outros biomarcadores que refletem processos prejudiciais, como o TNF- α (FISMAN *et al.*, 2008; HUNG *et al.*, 2005), interleucinas 8 e 18 (FISMAN *et al.*, 2008; TROSEID *et al.*, 2010) e proteína C reativa (PCR) (LEY *et al.*, 2010).

Investigações em humanos obesos mostram que os níveis de IL-6 estão relacionados com todos os componentes da síndrome metabólica (SM) (glicemia, perímetro da cintura, concentrações séricas de triacilgliceróis e de HDL-colesterol, pressão sistólica e diastólica), além da concentração sérica de insulina, do índice de massa corporal (IMC) e dos marcadores inflamatórios IL-18 e PCR (THORAND *et al.*, 2006; YUDKIN *et al.*, 2004). Volp *et al.*, (2010), em uma revisão sistemática, concluíram que concentrações elevadas da IL-6 estão associadas com a SM de uma forma dependente da obesidade, uma vez que o conteúdo plasmático aumentado da IL-6 poderia estimular a síntese hepática de triacilglicerol, contribuindo para a hipertrigliceridemia associada à obesidade visceral.

Evidências indicam que o acúmulo de gordura está associado com a ativação das células mononucleares periféricas (PBMC) e ao aumento dos níveis circulantes de algumas citocinas inflamatórias (O'ROURKE *et al.*, 2006). Além do mais, alguns marcadores pró-inflamatórios estão elevados em indivíduos que possuem maiores

valores de gordura visceral, mesmo sendo jovens e com IMC adequados (HERMSDORFF *et al.*, 2010). Entretanto, existem poucos estudos na literatura que pretenderam investigar este tipo de população, havendo poucas informações a respeito do estado inflamatório e da regulação gênica destes mediadores no processo inflamatório em humanos clinicamente saudáveis.

Neste contexto, o presente estudo determinou as concentrações plasmáticas e a expressão gênica de IL-6 em indivíduos jovens e clinicamente saudáveis, e investigou suas possíveis associações com fatores de risco para o desenvolvimento da SM.

Voluntários e métodos

Voluntários

O presente estudo avaliou 161 indivíduos jovens e saudáveis (92 mulheres e 68 homens), com idade entre 18 e 35 anos, com idade média de $23,2 \pm 3,5$ anos e IMC médio de $22,0 \pm 2,9$ kg.m⁻².

Para a triagem inicial dos voluntários, considerou-se como critérios de exclusão a evidência de qualquer doença relacionada ao estresse oxidativo, inflamação crônica, desequilíbrios hídricos, mudanças na composição corporal ou presença de alterações na absorção e/ou metabolismo de nutrientes. Outros critérios de exclusão se referiram ao uso de medicamentos ou tratamento nutricional que afetassem o balanço energético, consumo alimentar, perfil lipídico, concentrações plasmáticas de insulina e metabolismo da glicose; o início do uso regular de anticoncepcionais nos 2 meses anteriores à participação no presente estudo; adesão à práticas dietéticas para a perda de peso ou peso instável nos últimos 6 meses (perda ou ganho de 5% do peso corporal).

Em conformidade com os princípios da declaração de *Helsinki* e após explicação clara sobre o protocolo do estudo, cada participante assinou o termo de consentimento livre e esclarecido, permitindo assim sua participação voluntária. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (Of. ref. N° 019/2011).

Parâmetros antropométricos e de composição corporal

A estatura foi aferida utilizando-se estadiômetro (modelo Seca 206, Hamburg, Alemanha), com extensão máxima de 2 metros, subdividido em milímetros. Para a aferição do peso corporal utilizou-se balança digital eletrônica (modelo *Tanita TBF-300A*, Tokyo, Japão), com capacidade máxima de 180 quilogramas e aproximação de 100 gramas. O índice de massa corporal foi calculado pela razão entre o peso corporal (quilogramas) e a estatura ao quadrado (metros) e classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998).

O perímetro da cintura foi medido no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca e o do quadril na maior perímetro horizontal entre a cintura e os joelhos, sem contração gluteal (SALAS-SALVADO *et al.*, 2007). Foram utilizados os pontos de referência preconizados pela NCEP-ATPIII (2001). Ambos os perímetros foram aferidos utilizando-se fita métrica flexível e inelástica, subdividida em milímetros. Foi calculada a relação entre os perímetros da cintura e quadril.

As pregas cutâneas tricípital, bicipital, subescapular e suprailíaca foram aferidas utilizando-se adipômetro (*Lange caliper, Cambridge Scientific Industries Inc., Cambridge, Maryland, USA*) com aproximação de 1 milímetro, conforme técnica previamente padronizada (DURNIN & WOMERSLEY, 1974). Procedeu-se ao cálculo do percentual de gordura troncular pela razão entre o somatório das pregas cutâneas subescapular e suprailíaca e o somatório das 4 pregas cutâneas (WARNBERG *et al.*, 2006).

O percentual de gordura corporal total foi obtido mediante análise da bioimpedância elétrica horizontal (Modelo *Biodynamics 310*, Washington, USA), a partir da qual também foram estimadas a massa de gordura e massa livre de gordura corporal em quilogramas.

Pressão arterial

Os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica foram aferidos mediante esfignomamômetro mecânico de coluna de mercúrio (BIC, São Paulo, Brasil), com aproximação de 2 mmHg, conforme técnica descrita anteriormente (PERLOFF *et al.*, 1993).

Análise de amostras biológicas

A coleta de sangue foi realizada por punção venosa, após jejum de 12 horas. As amostras de plasma EDTA (*ethylene-diaminetetra-acetic-acid*) foram separadas do sangue total mediante centrifugação a 2465 g a 5°C por 15 minutos (*Eppendorf AG*, Modelo 5804R, Hamburg, Alemanha). As amostras foram imediatamente armazenadas a -80°C até o momento das análises.

As concentrações séricas de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triacilgliceróis, ácido úrico e ceruloplasmina (mg/dL), foram analisadas por ensaio colorimétrico ou turbidimétrico, mediante analisador automático (*BS-200*, *Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co.*, Nanshan, China) utilizando-se kits de análise específicos (*BS-200*, *Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co.*, Nanshan, China).

A lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi calculada pela equação de Friedwald, previamente estabelecida (FRIEDEWALD *et al.*, 1972) e posteriormente validada (TREMBLAY *et al.*, 2004). Procedeu-se também ao cálculo da razão colesterol total/HDL-c, conforme preconizado (CASTELLI, 1988).

A concentração plasmática de insulina (sensibilidade de 2 µU/mL) foi analisada por ensaio imuno enzimático, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), utilizando-se material e reagentes providos por kit de análise específico (*Linco Research*, *St. Charles, USA*). Procedeu-se à dosagem em plasma EDTA, o ensaio foi realizado conforme protocolo descrito no kit de análise. A resistência à insulina foi estimada pelo modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (HOMA-IR), previamente estabelecido (MATTHEWS *et al.*, 1985).

A dosagem plasmática de IL-6 (sensibilidade de 7.8 pg/mL) foi realizada por ensaio imunológico, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – ELISA, mediante a utilização de *kit* de análise específico (*Cayman Chemical*, *Ann Arbor, MI/USA*, *catalog no.583361*) em plasma EDTA.

O isolamento das PBMC foi realizado pelo método do gradiente de centrifugação com o reagente Polymorphoprep[®] (Robbins Scientific Corporation, Sunnyvale, CA, EUA). Uma vez recolhida as PBMC em suspensão (banda), esta foi lavada (400 g; 22°C; 10 min) com PBS. O precipitado obtido foi reconstituído em Trizol[®] (Invitrogen

Corporation[®], Carlsbad, CA, EUA), e congelado imediatamente a -80° C até a extração do RNA total. Esta foi feita pelo método TRIZOL[®] (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA), utilizando-se um protocolo adaptado e previamente testado (HERMSDORFF *et al.*, 2010). Após esta etapa a concentração bem como a pureza do RNA, foram determinadas no espectrômetro *NanoDrop* (NanoDrop 2000C, Thermo Scientific[®], EUA), por meio da leitura em absorbância de UV₂₆₀ e pelo quociente UV_{260/280}, respectivamente. Ainda assim, a integridade do RNA extraído foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1% (p/v), corado com *red gel*, verificando-se a presença e a intensidade das bandas do RNA ribossomal. Os *primers* utilizados neste trabalho foram projetados utilizando o *software* NCBI Primer Blast. Foi realizado o ensaio da expressão gênica relativa, mediante o método *cycle threshold* (C_T) comparativo, utilizando-se do PCR em tempo real (StepOnePlus™ Real-Time PCR System, Applied Biosystem), com sistema de detecção de fluorescência *mix* SYBR Green I (Applied Biosystems[®], California, USA). Para a normalização dos dados foram selecionados 2 genes constitutivos (β -actina e GPDH). Assim, o cálculo da expressão dos genes alvo se baseou nos métodos comparativos propostos por Zhao & Fernald (2005).

Foram coletadas as amostras de unhas dos pés e das mãos, mediante limpeza prévia com água e sabão e retirada de esmalte e, em seguida, armazenadas a temperatura ambiente, em sacos de polipropileno. O preparo das amostras incluía seu tratamento ácido sob aquecimento (ácido nítrico fervente), sob altas pressões, em recipiente de teflon (digestor), usando um sistema de digestão de microondas (*Ethos Plus*, Milestone, Sorisole, Itália). Após a digestão ácida, as concentrações de cobre, zinco e selênio foram analisadas por espectrofotometria de absorção atômica de chama (*Perkin Elmer AAnalyst 800*; Norwalk, CT, USA), conforme técnica estabelecida anteriormente (NAVARRO-BLASCO & ALVAREZ-GALINDO, 2004). Os valores de concentração foram ajustados para o peso da amostra, e foram expressas em micrograma por grama de unha ($\mu\text{g/g}$ de unha) para o cobre e o zinco e em nanograma por grama de unha (ng/grama de unha) para o selênio.

Consumo alimentar e variáveis de estilo de vida

Os voluntários eram orientados a registrar em formulário próprio todos os alimentos e bebidas consumidos, bem como suas quantidades, ao longo de um dia. Esse procedimento foi realizado por três dias não consecutivos, incluindo um dia de final de semana. A ingestão dietética diária (calorias, carboidrato, proteína, lipídio, fibra, colesterol, ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados, vitaminas C e A, ferro, cobre e zinco) foi avaliada utilizando-se software específico, *DietPRO, versão 5.0, AS sistemas* (DIETPRO, 2009).

Variáveis de estilo de vida tais como: uso de suplementos vitamínicos, tabagismo (fumantes ou não-fumantes), número de cigarros por dia, prática regular de atividade física (sim ou não) e intensidade da atividade física também foram coletados. Para quantificar a intensidade de atividade física, foi utilizado o índice metabólico equivalente (MET). Este índice representa a razão entre a quantidade de energia (kcal) despendida para a realização de uma determinada atividade física e a energia equivalente à situação de repouso. Convencionalmente, considera-se que a situação de repouso refere-se ao MET = 1. As pontuações dos METs foram fornecidas pelo Compêndio de Atividades Físicas (AMORIM & GOMES, 2003), um esquema de codificação que classifica as atividades físicas de acordo com seu dispêndio energético em relação à situação de repouso (AINSWORTH *et al.*, 1993; AINSWORTH *et al.*, 2000). Os METs, para cada atividade específica, foram calculados multiplicando o tempo gasto em cada atividade pela sua pontuação de MET, procedendo-se ao somatório de todas as atividades realizadas ao longo de uma semana, obtendo-se um valor médio, expresso em horas por dia.

Análise estatística

Foi utilizado o teste de *Kolmogorov-Smirnov* para verificar a normalidade da distribuição. Os dados avaliados como não paramétricos foram *log*-transformados antes de serem inclusos nas análises estatísticas. De acordo com a distribuição das variáveis, foi adotado o teste de *Student-t*, paramétrico, ou seu equivalente não paramétrico, o teste de *Mann-Whitney-U*, para a comparação entre os grupos categorizados pela mediana da distribuição da concentração plasmática da IL-6. Este critério utilizando a mediana como

“ponto de corte” foram utilizados previamente em estudos de metodologia semelhante (BARBOSA *et al.*, 2011; HERMSDORFF *et al.*, 2010). Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste de qui-quadrado- χ^2 .

Foi utilizada a correlação de *Spearman* para rastrear a associação entre a concentração plasmática de IL-6 e as demais variáveis de interesse. Modelos de regressão linear simples foram utilizados para identificar os fatores preditivos da concentração plasmática da IL-6 (variável dependente). Estes modelos foram previamente ajustados para as co-variáveis sexo, idade, tabagismo e atividade física, quando estes fatores mostraram efeito significativo.

A análise de regressão logística foi realizada para verificar a associação entre os componentes da síndrome metabólica e os níveis circulantes da IL-6 (variável independente), considerando-se, como referência, o primeiro quartil da distribuição deste biomarcador para o cálculo da razão de chances (*odds ratio*).

Os resultados foram apresentados como média \pm DP. O intervalo de confiança de 95% foi utilizado para descrever os valores do coeficiente de regressão linear (β) e o de regressão logística, *odds ratio* (OR). Foi considerado o nível de significância estatística de 5 % de probabilidade ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* STATA versão 9.1.

Resultados

As características antropométricas, clínicas e bioquímicas estão apresentadas na Tabela 1 separadas pelo gênero (média \pm DP). Vale ressaltar que a concentração sanguínea de IL-6 é superior nos indivíduos do sexo masculino ($5,19 \pm 1,54$ vs $3,45 \pm 1,51$; $p < 0,001$), entretanto, o mesmo não ocorre na expressão gênica desta interleucina, uma vez que ela foi igualmente expressa em ambos os gêneros.

Os parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos (média \pm DP) categorizados pelo valor da mediana das concentrações plasmáticas de IL-6 (4,06 pg/mL) estão apresentados na Tabela 2. Indivíduos com maiores níveis circulantes de IL-6 demonstraram maiores valores de peso corporal, IMC, gordura troncular, massa livre de gordura, pressão arterial sistólica e diastólica, fração HDL-c, ácido úrico e por outro lado, menores valores de porcentagem de gordura total, pregas cutâneas tricípital e

bicipital, triacilgliceróis, colesterol total e fração LDL-c, além de menores concentrações de selênio e zinco nas unhas ($p < 0,05$).

Tabela 1: Características antropométricas, clínicas e bioquímicas de todos os indivíduos e separadas por gênero (média \pm DP).

Características	Todos os participantes		Mulheres		Homens		P
N=	161		93		68		
^{s*} Idade (anos)	23,23	\pm 3,52	23,64	\pm 3,36	22,67	\pm 3,68	0,036
^{s**} Peso Corporal (kg)	62,72	\pm 11,20	56,67	\pm 7,99	69,89	\pm 10,46	0,000
^{s**} IMC (kg/m ²)	22,07	\pm 2,86	21,07	\pm 2,81	22,27	\pm 2,81	0,003
^{s**} Relação Cintura/Quadril ¹	0,81	\pm 0,06	0,79	\pm 0,06	0,85	\pm 0,06	0,000
^{s**} Gordura Troncular (%) ¹	58,34	\pm 6,66	55,69	\pm 5,97	60,85	\pm 6,40	0,000
^{s**} Gordura Total (%)	23,92	\pm 7,52	27,16	\pm 4,68	18,50	\pm 7,89	0,000
^{s**} Massa Livre de Gordura (kg)	47,68	\pm 10,09	40,23	\pm 5,19	56,85	\pm 6,70	0,000
^{s**} Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	10,96	\pm 0,93	10,66	\pm 0,85	11,38	\pm 0,88	0,000
^{s**} Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	7,34	\pm 0,66	7,20	\pm 0,65	7,54	\pm 0,63	0,001
^{s**} Glicose (mg/dL) ¹	90,55	\pm 6,65	89,09	\pm 6,66	92,54	\pm 6,13	0,000
Insulina (μ U/mL)	16,17	\pm 5,51	15,97	\pm 3,61	16,51	\pm 7,90	0,575
HOMA-IR	3,73	\pm 1,14	3,65	\pm 0,83	3,85	\pm 1,55	0,771
^{s**} Colesterol Total (mg/dL)	159,82	\pm 31,32	168,15	\pm 33,61	148,44	\pm 23,73	0,000
HDL-c (mg/dL)	46,39	\pm 11,36	51,59	\pm 10,78	39,64	\pm 8,12	0,000
^{s**} LDL-c (mg/dL)	95,45	\pm 26,76	98,51	\pm 29,52	90,30	\pm 21,71	0,124
^{s**} Triacilgliceróis (mg/dL)	99,95	\pm 44,14	104,81	\pm 38,91	93,29	\pm 49,95	0,005
^{s**} IL-6 (pg/mL)	4,18	\pm 1,75	3,45	\pm 1,51	5,19	\pm 1,54	0,000
IL-6 (EG) ^F	4,66	\pm 1,75	4,77	\pm 1,65	4,53	\pm 1,49	0,472
^{s**} TNF- α (pg/mL)	4,33	\pm 1,86	3,86	\pm 1,79	4,98	\pm 1,77	0,000
TNF- α (EG) ^F	1,55	\pm 0,65	1,58	\pm 0,67	1,51	\pm 0,63	0,487
R1IL1 (EG) ^F	3,12	\pm 0,92	3,14	\pm 0,93	3,09	\pm 0,92	0,428
IL-18 (EG) ^F	10,78	\pm 3,49	10,56	\pm 3,42	11,09	\pm 3,58	0,396
ICAM (EG) ^F	1,60	\pm 0,55	1,63	\pm 0,54	1,56	\pm 0,55	0,390

DP, desvio padrão; IL-6, interleucina seis; IMC, índice de massa corporal; PC, prega cutânea; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; TNF- α , fator de necrose tumoral alfa; EG, expressão gênica,

¹ teste *Student t* foi realizado para as variáveis com distribuição normal, as demais variáveis foram analisadas pelo teste *Mann-Whitney U*

^F Valores na escala logarítmica

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os sexos ($P < 0,05$)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade entre os sexos ($P < 0,01$)

Tabela 2 : Parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos (média ± DP) categorizados pelo valor da mediana (4.06 pg/mL) da concentração plasmática da IL6.

	IL-6 < 4.06 pg/mL (n=80)		IL-6 ≥ 4.06 pg/mL (n=80)		Valor de P
		±		±	
Idade (anos)	23.37	± 3.59	23.11	± 3.47	0.736
^{s**} Peso Corporal (kg)	59.34	± 10.52	65.59	± 11.02	0.000
^{s*} IMC (kg/m ²)	21.61	± 2.62	22.46	± 3.01	0.043
Circunferência da Cintura (cm)	77.77	± 8.17	78.56	± 9.08	0.830
Circunferência do Quadril (cm) ¹	95.78	± 5.82	95.26	± 7.46	0.628
Relação Cintura/Quadril ¹	0.81	± 0.06	0.82	± 0.07	0.201
^{s**} PC Tricipital (mm)	19.54	± 6.61	17.00	± 7.01	0.007
^{s**} PC Bicipital (mm)	8.27	± 3.96	6.45	± 3.63	0.000
^{s*} PC Suprailiac (mm)	19.38	± 8.54	17.29	± 9.54	0.028
PC Subscapular (mm)	18.11	± 7.11	17.59	± 7.89	0.486
^{s*} Soma das 4 PC (mm)	65.31	± 22.4	58.36	± 25.69	0.016
^{s*} Gordura Troncular (%) ¹	56.93	± 6.12	59.53	± 6.90	0.013
^{s**} Gordura Total (%)	25.44	± 5.64	22.63	± 8.64	0.002
Massa de Gordura (kg)	14.95	± 4.19	15.80	± 11.03	0.417
^{s**} Massa Livre de Gordura (kg)	44.08	± 9.20	50.75	± 9.85	0.000
^{s**} Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	10.62	± 0.85	11.26	± 0.89	0.000
^{s**} Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	7.17	± 0.60	7.49	± 0.67	0.003
Glicose (mg/dL) ¹	89.82	± 6.07	91.17	± 7.08	0.201
Insulina (μU/mL) ^a	15.94	± 3.86	16.41	± 6.90	0.944
HOMA-IR ^a	3.66	± 3.66	3.66	± 3.66	0.857
^{s**} Colesterol Total (mg/dL)	168.17	± 33.60	152.72	± 27.49	0.000
^{s**} HDL-c (mg/dL) ^b	49.57	± 10.73	43.88	± 11.28	0.000
^{s*} LDL-c (mg/dL)	21.40	± 9.65	18.78	± 7.91	0.032
Triacilgliceróis (mg/dL)	107.04	± 48.29	93.91	± 39.55	0.019
Relação Colesterol Total/HDL-c ^b	3.50	± 0.92	3.59	± 0.71	0.107
^{s**} Ácido Úrico (mg/dL) ¹	3.30	± 1.00	3.79	± 1.12	0.004
^{s**} Selênio (ng/g de unha) ^{1,c}	0.41	± 0.08	0.35	± 0.07	0.006
^{s**} Zinco (μg/g de unha) ^c	138.91	± 74.72	119.21	± 49.39	0.000
Cobre (μg/g de unha) ^c	7.68	± 7.84	7.05	± 4.69	0.823
^{s*} IL-6 EG ^F	4.99	± 1.84	4.41	± 1.29	0.031

DP, desvio padrão; LDLox, lipoproteína de baixa densidade oxidada; IMC, índice de massa corporal; PC, prega cutânea; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; GPx, glutatona peroxidase; CAT, capacidade antioxidante total do plasma; EG, expressão gênica.

¹ teste *Student t* foi realizado para as variáveis com distribuição normal, as demais variáveis foram analisadas pelo teste *Mann-Whitney U*

^a n=79 para IL-6 <4.06 pg/mL; n=77 para IL-6 ≥4.06 pg/mL

^b n=73 para IL-6 ≥ 4.06 pg/mL

^c n=69 para IL-6 < 4.06 pg/mL; n=66 para IL-6 ≥ 4.06 pg/mL

^F Valores na escala logarítmica

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade (P < 0,01)

Demais medidas de adiposidade, como perímetro da cintura, perímetro do quadril, relação cintura quadril, pregas cutâneas subescapular e suprailíaca, não diferiram entre os grupos referentes às concentrações plasmáticas de IL-6 ($< 4,06$ pg/mL vs $\geq 4,06$ pg/mL). Da mesma forma, nenhuma diferença foi encontrada para os níveis de glicose e insulina sanguíneos, e para os índices HOMA-IR e CASTELLI entre as categorias de IL-6. Cabe ressaltar que a expressão gênica desta citocina em PBMC se apresentou de forma inversa às concentrações plasmáticas de IL-6 ($p = 0,03$).

Na Tabela 3, apresentam-se as variáveis de estilo de vida e ingestão dietética diária, também categorizadas pelo valor da mediana da concentração plasmática da IL-6 (4,06 pg/mL para as variáveis de estilo de vida e 4,00 pg/mL para a ingestão dietética diária). Indivíduos com maiores níveis da IL-6 consumiam mais calorias, macronutrientes, fibras, ferro e cobre ($p < 0,05$). Não houve diferença para os outros nutrientes analisados, bem como para nenhuma nas variáveis de estilo de vida em relação às categorias da IL-6.

Ao avaliar as concentrações circulantes da IL-6 categorizados pela mediana da adiposidade troncular (57,89 %; $n=152$), verificou-se que, aqueles indivíduos que estavam acima desta mediana, também possuíam maiores níveis desta interleucina ($p = 0,010$). Entretanto, quando os dados são corrigidos pelo gênero, esta associação passa a não ser estatisticamente significativa (dados não apresentados em tabela).

Para um melhor entendimento das associações existentes entre os níveis circulantes da IL-6 e as variáveis de interesse, procedeu-se o teste de correlação de *Spearman* (dados não apresentados em tabela). No tocante aos parâmetros antropométricos e de composição corporal, foram observadas correlações da concentração plasmática de IL-6 com as seguintes variáveis: peso corporal ($r = 0,33$; $p < 0,001$), adiposidade troncular ($r = 0,23$; $P = 0,003$), porcentagem de gordura total ($r = -0,3642$; $p < 0,001$), massa livre de gordura ($r = 0,41$; $p < 0,001$), além das pregas cutâneas tricipital ($r = -0,29$; $p < 0,001$), bicipital ($r = -0,36$; $p < 0,001$) e suprailíaca ($r = -0,26$; $p = 0,001$). Considerando a ingestão dietética diária, o consumo de calorias ($r = 0,33$; $p < 0,001$), carboidratos ($r = 0,40$; $p < 0,001$), proteínas ($r = 0,24$; $P = 0,004$), lipídios ($r = 0,25$; $p = 0,003$), fibras ($r = 0,32$; $p < 0,001$) e ferro ($r = 0,36$; $p < 0,001$) mostraram-se correlacionadas à IL-6.

Tabela 3 : Variáveis de estilo de vida e ingestão dietética diária (média ± DP) categorizadas pelo valor da mediana (4,06 pg/mL) da concentração plasmática da IL-6.

	IL-6 < 4,06 pg/mL (n=80)	IL-6 ≥ 4,06 pg/mL (n=80)	Valor de P
<i>Variáveis de Estilo de Vida</i>			
Uso de suplementação de vitaminas (%) ¹	4,05	8,05	0,296
Tabagismo (%) ^{1,a}	9,38	14,10	0,388
Prática regular de atividade física (%) ^{1,a}	62,16	64,37	0,927
Cigarros/dia ^a	1,03 ± 3,99	1,26 ± 3,77	0,406
MET (h/dia) ^a	31,17 ± 9,45	30,06 ± 9,50	0,567
	IL-6 < 4,00 pg/mL (n=69)	IL-6 ≥ 4,00 pg/mL (n=68)	Valor de P
<i>Ingestão Dietética Diária</i>			
^{s**} Calorias (kcal)	2472,56 ± 599,32	2894,56 ± 798,71	0,001
^{s**} Carboidrato (g)	310,58 ± 74,42	386,36 ± 116,46	0,000
^{s**} Proteína (g)	94,13 ± 27,74	109,01 ± 37,85	0,010
^{s*} Lipídio (g)	88,96 ± 25,86	102,49 ± 32,25	0,020
^{s*} Fibra (g)	22,62 ± 12,40	29,36 ± 16,54	0,013
Colesterol (g) ²	212,33 ± 93,44	229,89 ± 99,87	0,280
Ácidos graxos saturados (g)	21,29 ± 8,97	23,41 ± 9,91	0,208
Ácidos graxos monoinsaturados (g)	16,31 ± 8,47	17,02 ± 9,63	0,741
Ácidos graxos poliinsaturados (g)	13,68 ± 7,14	14,74 ± 9,48	0,625
Vitamina A (mg)	909,44 ± 563,92	926,22 ± 538,35	0,709
Vitamina C (mg)	123,99 ± 119,60	120,30 ± 68,93	0,316
^{s**} Ferro (mg)	14,90 ± 12,56 ¹	20,20 ± 15,88 ¹	0,002
^{s*} Cobre (mg)	1,25 ± 1,47	1,34 ± 0,70	0,041
Zinco (mg)	7,98 ± 3,42	8,67 ± 3,69	0,202

DP, desvio padrão; LDLox, lipoproteína de baixa densidade oxidada; MET, índice metabólico equivalente

¹ teste *qui-quadrado* χ^2 test para variáveis categóricas

² teste *Student t* foi realizado para as variáveis com distribuição normal, as demais variáveis foram analisadas pelo teste *Mann-Whitney U*

^a n=73 para < 4,06 pg/mL; n=67 para ≥ 4,06 pg/mL

¹ Valores expressos em Mediana

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (P < 0,05)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade (P < 0,01)

Em relação aos parâmetros bioquímicos, as seguintes correlações foram encontradas: glicose (r = 0,20; p = 0,010), colesterol total (r = -0,25; p = 0,001), HDL-c (r = -0,33; p < 0,001), triacilgliceróis (r = -0,18; p = 0,024), relação colesterol total/fração HDL-c (r = 0,19; p = 0,017), ácido úrico (r = 0,22; p = 0,005), concentração de selênio (r = -0,29; p < 0,001) e zinco nas unhas (r = -0,36; p < 0,001). Os níveis de

pressão arterial sistólica e diastólica também se correlacionaram aos níveis circulantes da IL-6 ($r = 0,38$; $p < 0,001$ e $r = 0,29$; $p < 0,001$, respectivamente). Nenhuma correlação foi encontrada entre as concentrações de IL-6 e sua expressão gênica em células mononucleadas e também às variáveis de estilo de vida, como, números de cigarros/dia ou gasto calórico da atividade física relacionado ao gasto energético de repouso (MET) (dados não apresentados em tabela).

Na Tabela 4, mediante análise de regressão simples, após o ajuste para os possíveis fatores de confundimento, como o gênero, observou-se que o peso corporal, a massa livre de gordura, a adiposidade troncular, a pressão arterial sistólica e diastólica, os níveis de ácido úrico, e glicose tiveram efeito preditivo positivo sobre os níveis circulantes da IL-6. Por outro lado, a porcentagem de gordura total, os níveis circulantes de colesterol total e frações LDL-c e HDL-c, além da concentração de selênio nas unhas tiveram um efeito preditivo negativo sobre as concentrações de IL-6, sendo que o acréscimo de 1 unidade na concentração de selênio (1 ng/g de unha), esteve associado a redução de 6,8 pg/mL nos níveis circulantes de IL-6.

Tabela 4: Preditores da concentração plasmática da IL-6 (U/L).

N = 160 ^a	Coefficiente β	P	r ²
<i>Preditores da IL-6</i>			
IMC (kg/m ²)	0,052	0,308	0,0071
^{s**} Peso Corporal (kg)	0,044	0,000	0,0807
^{s**} Massa Livre de Gordura (kg)	0,075	0,000	0,1681
^{s**} Gordura Total (%)	-0,067	0,000	0,0847
^{s**} Gordura Troncular (%)	0,065	0,003	0,0576
^{s*} Colesterol Total (mg/dL)	-0,011	0,011	0,0436
^{s*} LDL-c (mg/dL)	-0,011	0,031	0,0315
^{s**} HDL (mg/dL)	-0,055	0,000	0,1077
Triacilgliceróis (mg/dL)	-0,004	0,177	0,0124
[*] Relação Colesterol Total/HDL-c ¹	0,323	0,079	0,0219
^{s*} Ácido Úrico (mg/dL)	0,348	0,011	0,0440
^{s*} Selênio (ng/g de unha) ²	-6,800	0,000	0,1030
Colesterol (g/dia) ³	0,000	0,711	0,0011
^{s**} Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	0,630	0,000	0,1101
^{s**} Pressão Arterial Distólica (mmHg)	0,750	0,000	0,0821
^{s**} Glicose (mg/dL)	0,062	0,008	0,0478
IL-6 EG (UA)	-0,124	0,192	0,0130

IMC, índice de massa corporal; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; UA, unidades arbitrárias

^a ajuste prévio para sexo, idade, tabagismo e atividade física

¹n=153, ²n=135, ³n=137

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$)

^{s**} diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

A Tabela 5 apresenta a análise de regressão logística, ou seja, revela a razão de chances (OR), com o IC de 95%, para os componentes da SM de acordo com a concentração plasmática da IL-6. Os indivíduos que se posicionaram nos dois maiores tercís (3,43 a 4,86 pg/mL e $\geq 4,87$ pg/mL) da distribuição dos níveis circulantes da IL-6, quando comparados àqueles no menor tercil ($<3,43$ pg/mL), mostraram aumento importante (OR = 3,69; IC 95% = 1,54 a 8,83; $p = 0,003$ e OR = 7,29; IC 95% = 2,62 a 20,27; $p < 0,001$; respectivamente) nas chances de apresentar concentrações séricas diminuídas de HDL-c.

Tabela 5: Análise de Regressão Logística: razão de chances (OR) e IC 95% para os componentes da síndrome metabólica de acordo com a concentração plasmática da IL-6.

n=160	Tercis da distribuição da IL-6 (pg/mL) ¹	
	T2 (3,43 a 4,86)	T3 (4,87 a 8,31)
<i>Componentes da Síndrome Metabólica</i>	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)
Obesidade Abdominal	1,18 (0,494 a 2,85)	1,02 (0,41 a 2,52)
Hipertrigliceridemia	1,07 (0,44 a 2,60)	0,82(0,32 a 2,07)
^{s*} HDL-c Reduzido ^a	3,69 (1,54 a 8,83)	7,29 (2,62 a 20,27)
Hipertensão Arterial	3,06 (0,30 a 30,51)	4,36 (0,46 a 40,54)
Hiperglicemia	1,72 (0,66 a 4,47)	2,02 (,78 a 5,20)

IC, intervalo de confiança; OR, odds ratio; HDL-c, lipoproteína de alta densidade;

Componentes da síndrome metabólica: obesidade abdominal ($>$ percentil 75 da distribuição da circunferência da cintura, 83 cm); hipertrigliceridemia ($>$ percentil 75 da distribuição da concentração sérica de triacilgliceróis, 117,5 mg/dL); HDL-c reduzido ($<$ percentil 75 da distribuição da concentração sérica da HDL-c, 53 mg/dL); hipertensão arterial ($>$ percentil 75 da distribuição dos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, 12/8 mmHg); hiperglicemia ($>$ percentil 75 da distribuição da concentração sérica da glicose, 95 mg/dL)

¹primeiro quartil da distribuição da IL-6 (T1 $< 3,43$), referência para o cálculo da OR

^an=153

^{s*} diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$), OR: T2 e T3 *versus* T1

Discussão

Diversas condições emergentes, como a dos biomarcadores do processo inflamatório, tem sido foco de importantes centros de pesquisa em todo mundo, uma vez que recentes descobertas têm ampliado as perspectivas para o tratamento de doenças crônicas. É sabido que uma modesta elevação plasmática dessas moléculas relacionadas com a inflamação pode contribuir substancialmente para o aumento do risco, por exemplo, de acidente vascular cerebral e mortalidade cardiovascular (ROSENSON &

KOENIG, 2003). Assim, verifica-se a importância deste trabalho, que identifica os níveis de IL-6 em jovens adultos saudáveis e suas associações com determinantes da SM, trazendo melhor compreensão do desenvolvimento das patologias associadas.

Este estudo verificou que a IL-6 está fortemente relacionada com muitas variáveis, mesmo em adultos jovens clinicamente saudáveis, que podem se tornar fatores de risco para doenças crônicas. No entanto, como mostrado a partir das análises estatísticas, essas associações possuem implicações diferentes com cada molécula e/ou parâmetro, necessitando de uma avaliação rigorosa e detalhada, para o não confundimento ou sobreposição de mecanismos fisiopatológicos; Assim as características da população estudada neste manuscrito devem sempre ser lembradas.

Os valores plasmáticos da IL-6 foram superiores nos indivíduos do sexo masculino, diferentemente dos valores de expressão gênica desta interleucina, que não se diferenciam entre os gêneros. Os maiores valores da IL-6 em homens pode ser explicado, de acordo com Aeckerman (2006) e De Leon-Nava & Morales-Montor (2006), pela diferença hormonal entre os gêneros. Neste trabalho, entretanto, não foram mensuramos os níveis hormonais dos participantes. Em um estudo recentemente publicado, Morales *et al.* (2011) verificaram que o níveis da maioria dos mediadores inflamatórios eram superiores em adolescentes do sexo feminino, entretanto, sem diferença estatística, exceto para o complemento C3, se opondo aos resultados do presente trabalho. Já quanto aos valores de expressão gênica, Hermsdorff *et al.* (2010), num estudo metodologicamente semelhante a este, mostraram que a expressão de genes pró-inflamatórios em PBMC de jovens adultos, independe do gênero, como visto neste presente trabalho.

A IL-6 é uma citocina com efeito pró-inflamatório, secretada por vários tipos de células, incluindo macrófagos (CACHOFEIRO, 2006) e adipócitos humanos (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997), e pelas outras células do sistema imune, fibroblastos, células endoteliais, e músculo esquelético (SÁNCHEZ *et al.*, 2005). Na ausência de um processo inflamatório agudo, os adipócitos contribuem com cerca de 10 a 30% dos níveis circulantes da IL-6 (FANTUZZI, 2005; MOHAMED-ALI *et al.*, 1997), sendo que o tecido adiposo visceral produz e secreta três vezes mais desta citocina do que o subcutâneo (FRIED *et al.*, 1998), levando a liberação de grandes quantidades na

obesidade (BASTARD *et al.*, 2002). Esta relação entre os níveis circulantes da IL-6 e a adiposidade, justifica os maiores valores de algumas medidas de adiposidade, entre aqueles que possuíam valores acima da mediana para IL-6, verificadas neste e em outros estudos (LASTRA, G. *et al.*, 2006; MOHAMED-ALI *et al.*, 1997).

Claramente, os dados do presente trabalho, mostram a forte associação entre IL-6 e adiposidade troncular (que estima a gordura visceral), mesmo em adultos jovens clinicamente saudáveis. Interessantemente, a correlação desta citocina foi inversa com a porcentagem de gordura total. A literatura atribui este achado à importância da distribuição da gordura quando comparado à massa total de gordura (ARNER, P. , 1997). A adiposidade visceral eleva os níveis de vários marcadores inflamatórios, incluindo a IL-6, tanto em adultos (PARK, H. S. *et al.*, 2005) quanto em crianças (OLIVER *et al.*, 2010; ROSA *et al.*, 2011). Ademais, a presença de elevada concentração da IL-6 tem sido relacionada à inflamação (STEEMBURGO *et al.*, 2009). A gordura predominantemente na parte superior do corpo aumenta os riscos para complicações metabólicas incluindo esteatose hepática, especialmente quando está associado com o aumento da gordura intra-abdominal (KERSHAW & FLIER, 2004; NIELSEN *et al.*, 2004), uma vez que este é um tecido metabolicamente mais ativo produzindo elevadas quantidades de citocinas inflamatórias, como a IL-6 (FAIN *et al.*, 2004). Assim, indivíduos com valores de IMC relativamente baixos podem ter elevada quantidade de gordura visceral abdominal (PARK, H. S. *et al.*, 2005), e outros, com IMC elevado, podem ter pouca gordura visceral (WAJCHENBERG, 2000).

A IL-6 parece ter um importante papel na regulação do peso corpóreo, pois inibe a lipase lipoprotéica, regula a deposição de triacilgliceróis no tecido adiposo, estimula a termogênese e a saciedade através da síntese de prostaglandinas e liberação de corticóides, contribuindo assim na homeostase do peso corporal (YUDKIN *et al.*, 2000). Apesar disso, alguns trabalhos não conseguiram mostrar redução nos níveis de IL-6 com redução do peso corporal (OLSON *et al.*, 2007; ROTH *et al.*, 2011). No presente estudo, a ausência de associações entre as concentrações de IL-6 e outras medidas de adiposidade, como perímetro da cintura e perímetro do quadril possivelmente, se deve à predominância de indivíduos eutróficos (IMC < 25,0 kg/m²; 85%) (WHO, 1998), e

ainda, pela pequena frequência de indivíduos de perímetro da cintura aumentados (102 cm para homens e 88 para mulheres; 4,8%) (NCEP-ATPIII, (2001).

Não houve diferença entre os valores de glicose, quando se categorizou os participantes deste estudo pela mediana dos níveis da IL-6, todavia, quando feita a correlação de *spearman*, houve associação positiva entre os níveis de glicose e as concentrações desta citocina. Tem sido postulado que os dois principais efeitos adversos do aumento da IL-6 na obesidade são a RI e o aumento do risco de complicações cardiovasculares (ARSLAN *et al.*, 2010). A administração de IL-6 em voluntários saudáveis induz ao aumento da glicemia de maneira dose dependente (TSIGOS *et al.*, 1997), demonstrando assim seu papel na regulação da homeostase da glicose. Também, outros estudos revelaram uma ação direta da IL-6 na sensibilidade à insulina em homens saudáveis, em mulheres obesas, e em pacientes com câncer (FERNANDEZ-REAL *et al.*, 2001; KERN *et al.*, 2001).

Já é conhecido há alguns anos que a IL-6 inibe a transdução de sinal do receptor de insulina nos hepatócitos, o que aumenta a circulação de ácidos graxos livres do tecido adiposo e reduz a secreção de adiponectina, promovendo, desse modo, resistência à ação do hormônio no tecido (BODEN & SHULMAN, 2002; FASSHAUER *et al.*, 2003). Também, outros estudos mostram, que esta interleucina desempenha papel importante no metabolismo de carboidratos e lipídios por aumentar a lipólise, com inibição da lipase lipoprotéica (LPL) e redução da expressão do IRS-1 e do GLUT-4 também no tecido muscular (REXRODE *et al.*, 2003). A IL-6 também influencia na tolerância à glicose através da regulação negativa da visfatina; Em adição, antagoniza a secreção de adiponectina (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007), e em modelos animais, eleva os níveis de triacilgliceróis pela ativação da gliconeogênese e glicogenólise, além de inibir a glicogênese (FERNANDEZ-SANCHEZ *et al.*, 2011).

Paradoxalmente a todas estas evidências acerca do papel da IL-6 na obesidade e na RI, alguns autores não encontraram alterações na tolerância à glicose após a administração aguda IL-6 em humanos (KROGH-MADSEN *et al.*, 2006), sugerindo que seja pouco provável que esta citocina, por si só, esteja ligada ao desenvolvimento de RI em humanos. Além disso, estudos realizados com roedores mostraram que, na deficiência de IL-6, pode ocorrer uma indução de obesidade com intolerância à glicose

(NONOGAKI *et al.*, 1995), e que a administração intracerebroventricular dessa citocina pode diminuir a gordura corporal (WALLENIOUS *et al.*, 2002). O conjunto desses achados sugere que a IL-6 pode agir de formas distintas, dependendo da sua concentração orgânica, tanto nos tecidos periféricos quanto no sistema nervoso central, influenciando o peso corporal, a homeostase energética e a sensibilidade insulínica (GUIMARÃES *et al.*, 2007). Fato que pode explicar a ausência de correlação entre os valores de insulina e do índice HOMA, com os níveis de IL-6, neste presente estudo.

A concentração sérica de ácido úrico (AU) dos participantes deste presente trabalho também foi associada aos maiores valores de IL-6. Este composto orgânico tem se comportado como um fator de risco cardiovascular em vários estudos longitudinais (KRISHNAN *et al.*, 2007; MELLEEN *et al.*, 2006; PERLSTEIN *et al.*, 2006; SUNDSTROM *et al.*, 2005); Adicionalmente, em ratos, também foi demonstrada estreita correlação entre hiperuricemia e SM por provável mecanismo envolvendo a inibição da função endotelial (NAKAGAWA *et al.*, 2006). Sabe-se que a insulina necessita de óxido nítrico para estimular a captação da glicose e a disponibilidade do óxido nítrico está diminuída quando ocorre hiperuricemia (HEINIG & JOHNSON, 2006). Entretanto, a presença de variáveis de confusão, dificulta o estabelecimento do papel do AU como um fator de risco independente para eventos metabólicos.

Por tudo, é bem provável que haja interação entre os efeitos do IL-6 e do AU, uma vez que este também está elevado na SM (COUTINHO *et al.*, 2007; DESAI, 2005; FORD *et al.*, 2007; FRANCO, 2009; ISHIZAKA *et al.*, 2005; KAWADA *et al.*, 2007). Kawada *et al.* (2007), conduziu um estudo onde 981 trabalhadores japoneses foram avaliados, sendo observado forte associação entre SM e hiperuricemia. O grupo de Ishizaka (2005) também demonstrou de maneira significativa, a associação entre SM e AU, ao estudar, de forma transversal, 8.144 indivíduos de ambos os sexos, estratificados por quartis de AU. A maior prevalência de SM por níveis crescentes de AU também foi demonstrada no estudo realizado por (FORD *et al.*, 2007), utilizando dados do NHANES. Em alguns outros trabalhos, como o de Coutinho *et al.* (2007) e Desai *et al.* (2005), nota-se que o AU esteve associado a componentes que constituem a SM, sendo esta associação mais forte quanto maior o número de componentes presentes. Em estudo realizado no Brasil, por Franco *et al.* (2009), em pacientes hipertensos de

Cuiabá, observou-se maior prevalência de SM em pacientes portadores de hiperuricemia.

No entanto, na outra ponta dessa argumentação, encontra-se a possibilidade de que o aumento do AU possa estar presente em condições clínicas sabidamente pró-inflamatórias, como a HAS e a SM, por sua ação antioxidante (HAYDEN & TYAGI, 2004) e, portanto, representar apenas um mecanismo bioquímico de defesa (NIETO *et al.*, 2000) contra a progressão, por exemplo, da aterosclerose. Assim, não seria um fator independente de risco para essas síndromes, mas, apenas parte do processo fisiológico de defesa.

O presente trabalho também verificou que indivíduos com maiores níveis circulantes de IL-6 possuíam maiores valores de pressão arterial sistólica e diastólica, da mesma forma como visto por De Luis *et al.* (2011). Apesar da média dos níveis pressóricos dos indivíduos não os classificar em nenhum grau de hipertensão, estudos sugerem que IL-6 pode induzir a expressão endotelial de quimiocinas e moléculas de adesão (ROMANO *et al.*, 1997). Os efeitos destas citocinas no metabolismo podem ser o ponto de partida para muitos processos metabólicos que se envolvem em eventos patológicos, como na aterosclerose.

Em nosso estudo, os valores da expressão gênica de IL-6 em PBMC, não foram condizentes com os níveis séricos desta citocina, sendo superior entre aqueles que possuíam menores valores de IL-6, quando estes foram categorizados pela mediana ($< 4,06$ pg/mL vs $\geq 4,06$ pg/mL). Apesar de Ghanim *et al.* (2004) ter verificado correspondência entre a expressão gênica em PBMC de citocinas inflamatórias, outros autores tem relatado negativa associação entre os níveis circulantes de IL-6 e sua expressão (BASTARD *et al.*, 2006; HERMSDORFF *et al.*, 2010). Estes achados podem estar relacionados às ações específicas e pleiotrópicas da IL-6, que atua de forma parácrina, regulando a produção e liberação hepática de PCR (BASTARD *et al.*, 2006). Além disso, a expressão do mRNA para IL-6, alternativamente, pode não ser traduzido à proteína, pois o processo pós-transcricional do gene depende da atividade de Micro RNAs, o que pode interferir diretamente na tradução bem como estabilidade dos RNA mensageiros (ASIRVATHAM *et al.*, 2009). Outro fato a se discutir é que, embora as PBMC estejam sendo utilizadas com bons resultados, a contribuição na produção final

da IL-6, a partir destas células, pode ser pequena, sobretudo em adultos jovens clinicamente saudáveis. Assim, a concentração plasmática da IL-6 poderia ser reflexo, principalmente, da adiposidade e da distribuição de gordura corporal, como já discutido neste trabalho.

Investigações em humanos mostram que os níveis da IL-6 se correlacionam com todos os componentes da SM (glicemia, perímetro da cintura, concentrações séricas de triacilgliceróis e de HDL-colesterol, pressão sistólica, pressão diastólica), além da concentração sérica de insulina, IMC e os marcadores inflamatórios IL-18 e PCR (THORAND *et al.*, 2006; YUDKIN *et al.*, 2004). No presente estudo, os menores níveis de HDL-c (< percentil 75, respectivamente) foi a única alteração relacionada à SM que se associaram aos níveis circulantes da IL-6, cabendo destacar que, aqueles indivíduos com valores superiores a 4,87 pg/mL possuíam 9,29 vezes mais chance de apresentar níveis de HDL-c reduzidos (< 53 mg/dL). Tais resultados encontram respaldo no fato de que os níveis da IL-6 se associam diretamente com o perfil lipídico em humanos como já discutido anteriormente.

A dosagem de minerais antioxidantes (cobre, selênio e zinco) na unha é capaz de refletir sua ingestão dietética habitual (6 a 12 meses precedentes) (HUNTER *et al.*, 1990) e ainda apresenta-se como um método menos invasivo que a dosagem sérica (AL-SALEH & BILLED0, 2006). Interessantemente, este trabalho verificou que os indivíduos com maiores concentrações de IL-6, possuíam menores concentrações de selênio e zinco nas unhas, mesmo sem diferença na ingestão diária destes minerais entre os grupos. Esses tipos de dosagens se constituem em fatores protetores uma vez que trabalhos têm verificado associações entre estes e o risco para eventos cardiovasculares. Puchau *et al.* (2009) apontaram que a dosagem de cobre na unha correlaciona-se negativamente aos níveis plasmáticos de homocisteína ($r = -0,165$; $p = 0,049$), um claro marcador do risco cardiovascular. Barbosa *et al.* (2011), evidenciaram, pela primeira vez, que a dosagem de selênio na unha teve efeito preditor negativo sobre as concentrações de LDLox, sendo que o aumento de 1 ng/g de unha foi capaz de se associar à diminuição de 0,06 U/L de LDLox. Anteriormente, Puchau *et al.* (2009) corroboraram que em adultos jovens, as dosagens de selênio e zinco nas unhas estiveram

negativamente associadas aos níveis séricos de dimetilarginina assimétrica (ADMA), marcador do estresse oxidativo.

No que tange os achados deste trabalho, não há na literatura mecanismos que explanem detalhadamente sobre o envolvimento do metabolismo do zinco com a produção de IL-6. No entanto, sabe-se da participação deste mineral como cofator de enzimas antioxidantes e do processo de manutenção da homeostase (MCCALL *et al.*, 2000) e possivelmente seja mais requisitado naqueles com elevados níveis de IL-6, diminuindo seu depósito nas unhas. Níveis aumentados de interleucinas plasmáticas, tal como ocorre na inflamação, no dano tissular e também no exercício intenso, estimulam o fígado a aumentar a captação do zinco do plasma para a síntese de metalotioneína e possivelmente de superóxido dismutase e outras zinco-proteínas, necessárias aos mecanismos de resposta aguda (OLIN *et al.*, 1995). Entretanto, há quem sugira que a diminuída produção de citocinas pelos leucócitos está relacionada à deficiência de zinco (MAFRA & COZZOLINO, 2004), o que ainda nos impede de precisar a relação existente entre este mineral e a IL-6.

Na dosagem de selênio nas unhas, verificou-se que este mineral possui relevante correlação com os níveis de IL-6. É sabido que o selênio da dieta pode suprimir a concentração plasmática de IL-6, por desempenhar um papel importante no decréscimo do estado oxidativo e da resposta inflamatória (BLAKE & RIDKER, 2001), entretanto, os mecanismos que levam a esta resposta ainda se encontram indefinidos. Esta hipótese é apoiada por nosso estudo uma vez que este mineral dosado nas unhas foi um preditor negativo importante dos valores de IL-6 ($\beta = -6,800$; $r^2 = 0,1030$; $p = 0,000$).

A ingestão diária de nutrientes obteve associações importantes neste trabalho. Todavia, poucos estudos se dedicaram a estudar estas associações e as explicações plausíveis são escassas. Há indícios de modificações nos genes da IL-6 possam influenciar no consumo dietético em humanos. Em homens japoneses portadores de polimorfismo no gene da *IL-6*, o Asp358Ala (T/G), foi observada associação positiva entre maior consumo de energia e obesidade abdominal em indivíduos portadores do alelo T, quando comparados aos outros genótipos desse polimorfismo (SONG *et al.*, 2007), entretanto, o estudo de polimorfismos não foi o foco deste trabalho.

Estudos da natureza deste trabalho são de elevada complexidade, uma vez que os resultados controversos encontrados na literatura, muitas vezes são consequência de estudos em populações de vida livre, com pouco controle dos diversos efeitos resultantes da alimentação, condições de saúde, bem como fatores culturais, sociais e econômicos que juntos modificam as respostas individuais, afetando a interpretação dos dados (SLOBODIANIK, 2007). Além disso, alguns fatores, como o humor (JANICKI-DEVERTS *et al.*, 2007) e o sono (PADILHA *et al.*, 2011; VGONTZAS *et al.*, 2004) podem modificar significativamente os resultados de biomarcadores como a IL-6. Além disso, deve-se levar em consideração fatores como horário de coleta das amostras sanguíneas, uma vez que tem sido mostrado que pela manhã, como normalmente é feito, há menor produção e liberação das citocinas inflamatórias (BARRIGA-IBARS *et al.*, 2005), o que também pode mascarar os resultados.

É digno de nota que o presente estudo possui algumas limitações. Pode ser destacado o uso de mensurações indiretas de adiposidade total (IMC) e central (adiposidade troncular calculada pela razão entre pregas cutâneas e perímetro da cintura), que possuem menor acurácia que outros métodos diretos (tomografia computadorizada, densitometria ou ressonância magnética). Esta menor sensibilidade pode ter impedido melhor entendimento entre a expressão gênica e outros parâmetros de interesse. Entretanto, metodologias semelhantes têm sido utilizadas em trabalhos recentemente publicados com população adulta e clinicamente saudável (BARBOSA *et al.*, 2011; HERMSDORFF *et al.*, 2010). Outro ponto crítico foi o não uso de *kit's* de ELISA ultra-sensíveis (*high sensitive*), uma vez que a população em estudo é genuinamente saudável, e por sua vez, exigia metodologias de alta sensibilidade para detectar pequenas variações dos mediadores inflamatórios estudados.

Este trabalho traz relevantes evidências, sobre a relação existente entre a expressão gênica em PBMC e os níveis circulantes de IL-6 com a antropometria e outros parâmetros importantes de adultos clinicamente saudáveis. Muitas medidas de adiposidade se correlacionaram de alguma maneira com os níveis de IL-6, revelando estreita associação entre a quantidade de adipócitos, bem como sua localização, e a produção desta interleucina. Cabe ainda ressaltar, que outras medidas de adiposidade importantes como perímetro da cintura e % de gordura não se comportaram como o

esperado, o que nos leva a discutir sobre a complexidade da atuação das citocinas inflamatórias em seus vários mecanismos fisiológicos. O papel da hiperuricemia como fator de risco merece destaque e pode ser apontado como indicador precoce de tal processo. No presente estudo, mesmo considerando que os indivíduos apresentaram níveis normais de ácido úrico (< 7 mg/dL), este componente já se mostrou capaz de prever o aumento nas concentrações de IL-6. Diante da associação positiva entre os níveis de IL-6 e os níveis pressóricos, sugere-se a possível ocorrência de mecanismos que elevariam, em longo prazo, os valores de pressão arterial. Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, muitas variáveis se comportaram de forma inesperada, como o caso do colesterol total, LDLc, triacilgliceróis, que foram significativamente menores naqueles que possuíam maiores valores de IL-6 circulantes. Quanto aos fatores dietéticos, houveram correlações com muitos dos nutrientes analisados, o que nos dá certo conhecimento sobre a interação entre os nutrientes e os valores plasmáticos de IL-6. Outra constatação importante foi que, mesmo com o perfil de saúde da população estudada, o selênio dosado nas unhas foi um preditor negativo importante dos níveis de IL-6. Por fim, o estudo contribuiu para o melhor entendimento das associações entre o biomarcador de interesse (IL-6) e os fatores de risco para a ocorrência da SM. Estudos mais detalhados a respeito do papel das citocinas inflamatórias, especialmente da IL-6 em populações saudáveis, são de notória importância, uma vez que os mesmos podem nos levar a entender a verdadeira função destes mediadores no processo de desenvolvimento das doenças crônicas inflamatórias, e se de fato, poderão agregar valor na identificação precoce de indivíduos sob risco de ser acometido por alguma das mesmas.

Referências bibliográficas

ACKERMAN, L. S. **Sex hormones and the genesis of autoimmunity.** Arch Dermatol, 2006. p. 371-6.

AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; LEON, A. S.; JACOBS, D. R., JR.; MONTTOYE, H. J.; SALLIS, J. F.; PAFFENBARGER, R. S., JR. **Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities.** Med Sci Sports Exerc, 1993. p. 71-80.

AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; WHITT, M. C.; IRWIN, M. L.; SWARTZ, A. M.; STRATH, S. J.; O'BRIEN, W. L.; BASSETT, D. R., JR.; SCHMITZ, K. H.; EMPLAINCOURT, P. O.; JACOBS, D. R., JR.; LEON, A. S. **Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities.** Med Sci Sports Exerc, 2000. p. S498-504.

AL-SALEH, I.; BILLEDIO, G. **Determination of selenium concentration in serum and toenail as an indicator of selenium status.** Bull Environ Contam Toxicol, 2006. p. 155-63.

ALOKAIL, M. S.; AL-DAGHRI, N. M.; AL-ATTAS, O. S.; HUSSAIN, T. **Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women.** Cardiovasc Diabetol, 2009. p. 33.

AMORIM, P. R.; GOMES, T. N. P. Métodos de baixo custo e aplicáveis na prática. In: AMORIM, P. R. e GOMES, T. N. P. (Ed.). **Gasto energético na atividade física.** Rio de Janeiro: Shape, 2003. cap. 5, p.113 - 194.

ANDREJKO, K. M.; CHEN, J.; DEUTSCHMAN, C. S. **Intrahepatic STAT-3 activation and acute phase gene expression predict outcome after CLP sepsis in the rat.** Am J Physiol, 1998. p. G1423-9.

ARNER, P. **Regional adiposity in man.** Journal of Endocrinology, 1997. p. 191–192.

ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. **Hormones and cytokines in childhood obesity.** Indian Pediatr, 2010. p. 829-39.

ASIRVATHAM, A. J.; MAGNER, W. J.; TOMASI, T. B. **miRNA regulation of cytokine genes.** Cytokine, 2009. p. 58-69.

BARBOSA, K. B.; VOLP, A. C.; HERMSDORFF, H. H.; NAVARRO-BLASCO, I.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A.; BRESSAN, J. **Relationship of oxidized low density lipoprotein with lipid profile and oxidative stress markers in healthy young adults: a translational study.** Lipids Health Dis, 2011. p. 61.

BARRIGA-IBARS, C.; RODRIGUEZ-MORATINOS, A. B.; ESTEBAN, S.; RIAL, R. V. **[Interrelations between sleep and the immune status].** Rev Neurol, 2005. p. 548-56.

BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; LAGATHU, C.; KIM, M. J.; CARON, M.; VIDAL, H.; CAPEAU, J.; FEVE, B. **Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance.** Eur Cytokine Netw, 2006. p. 4-12.

BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; VAN NHIEU, J. T.; JARDEL, C.; BRUCKERT, E.; GRIMALDI, A.; ROBERT, J. J.; CAPEAU, J.; HAINQUE, B. **Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro.** J Clin Endocrinol Metab, 2002. p. 2084-9.

BLAKE, G. J.; RIDKER, P. M. **Novel clinical markers of vascular wall inflammation.** *Circ Res*, 2001. p. 763-71.

BODEN, G.; SHULMAN, G. I. **Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction.** *Eur J Clin Invest*, 2002. p. 14-23.

CACHOFEIRO, V. M., M; MARTIN, B;. **Obesidad, inflamación y disfunción endotelial.** *Rev. Esp. Obes.*, 2006. p. 195-204.

CASTELLI, W. P. **Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study.** *Can J Cardiol*, 1988. p. 5A-10A.

COUTINHO, T. D. A.; TURNER, S. T.; PEYSER, P. A.; BIELAK, L. F.; SHEEDY, P. F.; KULLO, I. J. **Associations of Serum Uric Acid With Markers of Inflammation, Metabolic Syndrome, and Subclinical Coronary Atherosclerosis[ast].** *Am J Hypertens*, 2007. p. 83-89.

CUSCHIERI, J.; BULGER, E.; SCHAEFFER, V.; SAKR, S.; NATHENS, A. B.; HENNESSY, L.; MINEI, J.; MOORE, E. E.; O'KEEFE, G.; SPERRY, J.; REMICK, D.; TOMPKINS, R.; MAIER, R. V. **Early elevation in random plasma IL-6 after severe injury is associated with development of organ failure.** *Shock*, 2010. p. 346-51.

DE LEON-NAVA, M. A.; MORALES-MONTOR, J. **[Immune sexual dimorphism: can sex steroids affect the Th1/Th2 cytokine profile?].** *Rev Invest Clin*, 2006. p. 161-9.

DE LUIS, D. A.; GONZALEZ SAGRADO, M.; CONDE, R.; ALLER, R.; IZAOLA, O.; CASTRO, M. J. **Circulating adipocytokines in morbid obese patients, relation with cardiovascular risk factors and anthropometric parameters.** *Nutr Hosp*, 2011. p. 91-6.

DESAI, M. S., R; DALAL, D; CARVALHO, J.A; MARTEN, D.R.; FLYNN, J.A.; . **Relation of serum uric acid with metabolic risk factors in asymptomatic middle-aged Brazilian men. .** *J Am Coll Cardiol.*, 2005. p. 865-8.

DIETPRO. **DietPRO, AS sistemas, versão 5.0.** Viçosa 2009.

DURNIN, J. V.; WOMERSLEY, J. **Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years.** *Br J Nutr*, 1974. p. 77-97.

FAIN, J. N.; BAHOUTH, S. W.; MADAN, A. K. **Haptoglobin release by human adipose tissue in primary culture.** *J Lipid Res*, 2004. p. 536-42.

- FANTUZZI, G. **Adipose tissue, adipokines, and inflammation.** J Allergy Clin Immunol, 2005. p. 911-9; quiz 920.
- FASSHAUER, M.; KRALISCH, S.; KLIER, M.; LOSSNER, U.; BLUHER, M.; KLEIN, J.; PASCHKE, R. **Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes.** Biochem Biophys Res Commun, 2003. p. 1045-50.
- FERNANDEZ-REAL, J. M.; VAYREDA, M.; RICHART, C.; GUTIERREZ, C.; BROCH, M.; VENDRELL, J.; RICART, W. **Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women.** J Clin Endocrinol Metab, 2001. p. 1154-9.
- FERNANDEZ-SANCHEZ, A.; MADRIGAL-SANTILLAN, E.; BAUTISTA, M.; ESQUIVEL-SOTO, J.; MORALES-GONZALEZ, A.; ESQUIVEL-CHIRINO, C.; DURANTE-MONTIEL, I.; SANCHEZ-RIVERA, G.; VALADEZ-VEGA, C.; MORALES-GONZALEZ, J. A. **Inflammation, oxidative stress, and obesity.** Int J Mol Sci, 2011. p. 3117-32.
- FISMAN, E. Z.; ADLER, Y.; TENENBAUM, A. **Biomarkers in cardiovascular diabetology: interleukins and matrixins.** Adv Cardiol, 2008. p. 44-64.
- FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I.; LIMA, F. B. **Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice.** J Pediatr (Rio J), 2007. p. S192-203.
- FORD, E. S.; LI, C.; COOK, S.; CHOI, H. K. **Serum concentrations of uric acid and the metabolic syndrome among US children and adolescents.** Circulation, 2007. p. 2526-32.
- FRANCO, G. P. P. S., L.C.N.; ALVES, C.J.; FRANÇA, V.A.; CASARELL, T.; JARDIM, P.C. **Síndrome metabólica em hipertensos de Cuiabá-MT: prevalência e fatores de risco.** Arq Bras Cardiol. , 2009. p. 437-42.
- FRIED, S. K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S. **Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid.** J Clin Endocrinol Metab, 1998. p. 847-50.
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.** Clin Chem, 1972. p. 499-502.
- GHANIM, H.; ALJADA, A.; HOFMEYER, D.; SYED, T.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. **Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state.** Circulation, 2004. p. 1564-71.

GOYENECHEA, E.; PARRA, M. D.; MARTINEZ HERNANDEZ, J. A. **[Role of IL-6 and its -174G>C polymorphism in weight management and in the metabolic comorbidities associated with obesity]**. An Sist Sanit Navar, 2005. p. 357-66.

GUIMARÃES, D. E. D.; SARDINHA, F. L. C.; MIZURINI, D. M.; TAVARES, C. M. G. **Adipokines: a new view of adipose tissue**. Rev. Nutr., Campinas, 2007. p. 549-559.

HARRIS, T. B.; FERRUCCI, L.; TRACY, R. P.; CORTI, M. C.; WACHOLDER, S.; ETTINGER, W. H., JR.; HEIMOVITZ, H.; COHEN, H. J.; WALLACE, R. **Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly**. Am J Med, 1999. p. 506-12.

HAYDEN, M. R.; TYAGI, S. C. **Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle**. Nutr Metab (Lond), 2004. p. 10.

HEINIG, M.; JOHNSON, R. J. **Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome**. Cleve Clin J Med, 2006. p. 1059-64.

HERMSDORFF, H. H.; PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A. **Association of body fat distribution with proinflammatory gene expression in peripheral blood mononuclear cells from young adult subjects**. OMICS, 2010. p. 297-307.

HUNG, J.; MCQUILLAN, B. M.; CHAPMAN, C. M.; THOMPSON, P. L.; BEILBY, J. P. **Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance**. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. p. 1268-73.

HUNTER, D. J.; MORRIS, J. S.; CHUTE, C. G.; KUSHNER, E.; COLDITZ, G. A.; STAMPFER, M. J.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C. **Predictors of selenium concentration in human toenails**. Am J Epidemiol, 1990. p. 114-22.

ISHIZAKA, N.; ISHIZAKA, Y.; TODA, E.; NAGAI, R.; YAMAKADO, M. **Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals**. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. p. 1038-44.

JANICKI-DEVERTS, D.; COHEN, S.; DOYLE, W. J.; TURNER, R. B.; TREATOR, J. J. **Infection-induced proinflammatory cytokines are associated with decreases in positive affect, but not increases in negative affect**. Brain Behav Immun, 2007. p. 301-7.

KAWADA, T.; OTSUKA, T.; KATSUMATA, M.; SUZUKI, H. **Serum uric acid is significantly related to the components of the metabolic syndrome in Japanese workingmen**. J Cardiometab Syndr, 2007. p. 158-62.

- KERN, P. A.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. **Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. p. E745-51.
- KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. **Adipose tissue as an endocrine organ.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. p. 2548-56.
- KRISHNAN, E.; KWOH, C. K.; SCHUMACHER, H. R.; KULLER, L. **Hyperuricemia and incidence of hypertension among men without metabolic syndrome.** *Hypertension*, 2007. p. 298-303.
- KROGH-MADSEN, R.; PLOMGAARD, P.; MOLLER, K.; MITTENDORFER, B.; PEDERSEN, B. K. **Influence of TNF-alpha and IL-6 infusions on insulin sensitivity and expression of IL-18 in humans.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006. p. E108-14.
- LASTRA, G.; MANRIQUE, C. M.; HAYDEN, M. R. **The role of beta-cell dysfunction in the cardiometabolic syndrome.** *J Cardiometab Syndr*, 2006. p. 41-6.
- LEY, S. H.; HEGELE, R. A.; CONNELLY, P. W.; HARRIS, S. B.; MAMAKEESICK, M.; CAO, H.; GITTELSON, J.; RETNAKARAN, R.; ZINMAN, B.; HANLEY, A. J. **Assessing the association of the HNF1A G319S variant with C-reactive protein in Aboriginal Canadians: a population-based epidemiological study.** *Cardiovasc Diabetol*, 2010. p. 39.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. **Erythrocyte zinc and carbonic anhydrase levels in nondialyzed chronic kidney disease patients.** *Clin Biochem*, 2004. p. 67-71.
- MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; 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*, 1985. p. 412-9.
- MCCALL, K. A.; HUANG, C.; FIERKE, C. A. **Function and mechanism of zinc metalloenzymes.** *J Nutr*, 2000. p. 1437S-46S.
- MELLEN, P. B.; BLEYER, A. J.; ERLINGER, T. P.; EVANS, G. W.; NIETO, F. J.; WAGENKNECHT, L. E.; WOFFORD, M. R.; HERRINGTON, D. M. **Serum uric acid predicts incident hypertension in a biethnic cohort: the atherosclerosis risk in communities study.** *Hypertension*, 2006. p. 1037-42.
- MOHAMED-ALI, V.; GOODRICK, S.; RAWESH, A.; KATZ, D. R.; MILES, J. M.; YUDKIN, J. S.; KLEIN, S.; COPPACK, S. W. **Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. p. 4196-200.

MORALES, R. V. P. T., M. G. Z.; MARTÍNEZ CARRILLO, B. E.; GÓMEZ MARTÍNEZ, S., MARCOS, A.; RAMOS, R. V. . **Inflammatory mediators and immune response in Mexican adolescents.** Nutr Hosp, 2011. p. 1115-1119.

NAKAGAWA, T.; HU, H.; ZHARIKOV, S.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; GLUSHAKOVA, O.; OUYANG, X.; FEIG, D. I.; BLOCK, E. R.; HERRERA-ACOSTA, J.; PATEL, J. M.; JOHNSON, R. J. **A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome.** Am J Physiol Renal Physiol, 2006. p. F625-31.

NAVARRO-BLASCO, I.; ALVAREZ-GALINDO, J. I. **Selenium content of Spanish infant formulae and human milk: influence of protein matrix, interactions with other trace elements and estimation of dietary intake by infants.** J Trace Elem Med Biol, 2004. p. 277-89.

NCEP-ATPIII. **Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III).** Jama, 2001. p. 2486-97.

NIELSEN, S.; GUO, Z.; JOHNSON, C. M.; HENSRUD, D. D.; JENSEN, M. D. **Splanchnic lipolysis in human obesity.** J Clin Invest, 2004. p. 1582-8.

NIETO, F. J.; IRIBARREN, C.; GROSS, M. D.; COMSTOCK, G. W.; CUTLER, R. G. **Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis?** Atherosclerosis, 2000. p. 131-9.

NONOGAKI, K.; FULLER, G. M.; FUENTES, N. L.; MOSER, A. H.; STAPRANS, I.; GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K. R. **Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats.** Endocrinology, 1995. p. 2143-9.

O'ROURKE, R. W.; KAY, T.; LYLE, E. A.; TRAXLER, S. A.; DEVENEY, C. W.; JOBE, B. A.; ROBERTS, C. T., JR.; MARKS, D.; ROSENBAUM, J. T. **Alterations in peripheral blood lymphocyte cytokine expression in obesity.** Clin Exp Immunol, 2006. p. 39-46.

OLIN, K. L.; GOLUB, M. S.; GERSHWIN, M. E.; HENDRICKX, A. G.; LONNERDAL, B.; KEEN, C. L. **Extracellular superoxide dismutase activity is affected by dietary zinc intake in nonhuman primate and rodent models.** Am J Clin Nutr, 1995. p. 1263-7.

OLIVER, S. R.; ROSA, J. S.; MILNE, G. L.; PONTELLO, A. M.; BORNTRAGER, H. L.; HEYDARI, S.; GALASSETTI, P. R. **Increased oxidative stress and altered substrate metabolism in obese children.** Int J Pediatr Obes, 2010. p. 436-44.

OLSON, T. P.; DENGEL, D. R.; LEON, A. S.; SCHMITZ, K. H. **Changes in inflammatory biomarkers following one-year of moderate resistance training in overweight women.** Int J Obes (Lond), 2007. p. 996-1003.

PADILHA, H. G.; CRISPIM, C. A.; ZIMBERG, I. Z.; DE-SOUZA, D. A.; WATERHOUSE, J.; TUFIK, S.; DE-MELLO, M. T. **A link between sleep loss, glucose metabolism and adipokines.** Braz J Med Biol Res, 2011. p. 992-9.

PARK, H. S.; PARK, J. Y.; YU, R. **Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6.** Diabetes Res Clin Pract, 2005. p. 29-35.

PERLOFF, D.; GRIM, C.; FLACK, J.; FROHLICH, E. D.; HILL, M.; MCDONALD, M.; MORGENSTERN, B. Z. **Human blood pressure determination by sphygmomanometry.** Circulation, 1993. p. 2460-70.

PERLSTEIN, T. S.; GUMIENIAK, O.; WILLIAMS, G. H.; SPARROW, D.; VOKONAS, P. S.; GAZIANO, M.; WEISS, S. T.; LITONJUA, A. A. **Uric acid and the development of hypertension: the normative aging study.** Hypertension, 2006. p. 1031-6.

POU, K. M.; MASSARO, J. M.; HOFFMANN, U.; VASAN, R. S.; MAUROVICH-HORVAT, P.; LARSON, M. G.; KEANEY, J. F., JR.; MEIGS, J. B.; LIPINSKA, I.; KATHIRESAN, S.; MURABITO, J. M.; O'DONNELL, C. J.; BENJAMIN, E. J.; FOX, C. S. **Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study.** Circulation, 2007. p. 1234-41.

PUCHAU, B.; HERMSDORFF, H. H.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A. **DDAH2 mRNA expression is inversely associated with some cardiovascular risk-related features in healthy young adults.** Dis Markers, 2009. p. 37-44.

PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; HERMSDORFF, H. H.; NAVARRO-BLASCO, I.; MARTINEZ, J. A. **Nail Antioxidant Trace Elements Are Inversely Associated with Inflammatory Markers in Healthy Young Adults.** Biol Trace Elem Res, 2009.

REXRODE, K. M.; PRADHAN, A.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. **Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women.** Ann Epidemiol, 2003. p. 674-82.

ROMANO, M.; SIRONI, M.; TONIATTI, C.; POLENTARUTTI, N.; FRUSCELLA, P.; GHEZZI, P.; FAGGIONI, R.; LUINI, W.; VAN HINSBERGH, V.; SOZZANI, S.; BUSSOLINO, F.; POLI, V.; CILIBERTO, G.; MANTOVANI, A. **Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment.** Immunity, 1997. p. 315-25.

ROSA, J. S.; OLIVER, S. R.; FLORES, R. L.; NGO, J.; MILNE, G. L.; ZALDIVAR, F. P.; GALASSETTI, P. R. **Altered inflammatory, oxidative, and metabolic responses to exercise in pediatric obesity and type 1 diabetes.** Pediatr Diabetes, 2011. p. 464-72.

ROSENSON, R. S.; KOENIG, W. **Utility of inflammatory markers in the management of coronary artery disease.** Am J Cardiol, 2003. p. 10i-8i.

ROTH, C. L.; KRATZ, M.; RALSTON, M. M.; REINEHR, T. **Changes in adipose-derived inflammatory cytokines and chemokines after successful lifestyle intervention in obese children.** Metabolism, 2011. p. 445-52.

SALAS-SALVADO, J.; RUBIO, M. A.; BARBANY, M.; MORENO, B. **[SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria].** Med Clin (Barc), 2007. p. 184-96; quiz 1 p following 200.

SLOBODIANIK, N. H. **Obesity and defense mechanisms.** Actualización en Nutrición 2007. p. 200-2.

SONG, Y.; MIYAKI, K.; ARAKI, J.; ZHANG, L.; OMAE, K.; MURAMATSU, M. **The interaction between the interleukin 6 receptor gene genotype and dietary energy intake on abdominal obesity in Japanese men.** Metabolism, 2007. p. 925-30.

STEEMBURGO, T.; AZEVEDO, M. J.; MARTINEZ, J. A. **[Gene-nutrient interaction and its association with obesity and diabetes mellitus].** Arq Bras Endocrinol Metabol, 2009. p. 497-508.

SUNDSTROM, J.; SULLIVAN, L.; D'AGOSTINO, R. B.; LEVY, D.; KANNEL, W. B.; VASAN, R. S. **Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence.** Hypertension, 2005. p. 28-33.

THORAND, B.; BAUMERT, J.; CHAMBLESS, L.; MEISINGER, C.; KOLB, H.; DORING, A.; LOWEL, H.; KOENIG, W. **Elevated markers of endothelial dysfunction predict type 2 diabetes mellitus in middle-aged men and women from the general population.** Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006. p. 398-405.

TREMBLAY, A. J.; MORRISSETTE, H.; GAGNE, J. M.; BERGERON, J.; GAGNE, C.; COUTURE, P. **Validation of the Friedewald formula for the determination of low-density lipoprotein cholesterol compared with beta-quantification in a large population.** Clin Biochem, 2004. p. 785-90.

TROSEID, M.; SELJEFLOT, I.; ARNESEN, H. **The role of interleukin-18 in the metabolic syndrome.** Cardiovasc Diabetol, 2010. p. 11.

TSIGOS, C.; PAPANICOLAOU, D. A.; KYROU, I.; DEFENSOR, R.; MITSIADIS, C. S.; CHROUSOS, G. P. **Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation.** J Clin Endocrinol Metab, 1997. p. 4167-70.

VGONTZAS, A. N.; ZOUMAKIS, E.; BIXLER, E. O.; LIN, H. M.; FOLLETT, H.; KALES, A.; CHROUSOS, G. P. **Adverse effects of modest sleep restriction on**

sleepiness, performance, and inflammatory cytokines. J Clin Endocrinol Metab, 2004. p. 2119-26.

VOLP, A. C.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M.; ZULET, M. Á.; MARTÍNEZ, J. Á. **Efeitos antioxidantes do selênio e seu elo com a inflamação e síndrome metabólica** Rev. Nutr., 2010. p. 581-590.

VOLPATO, S.; GURALNIK, J. M.; FERRUCCI, L.; BALFOUR, J.; CHAVES, P.; FRIED, L. P.; HARRIS, T. B. **Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study.** Circulation, 2001. p. 947-53.

WAJCHENBERG, B. L. **Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome.** Endocr Rev, 2000. p. 697-738.

WALLENIUS, K.; WALLENIUS, V.; SUNTER, D.; DICKSON, S. L.; JANSSON, J. O. **Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats.** Biochem Biophys Res Commun, 2002. p. 560-5.

WARNBERG, J.; NOVA, E.; MORENO, L. A.; ROMEO, J.; MESANA, M. I.; RUIZ, J. R.; ORTEGA, F. B.; SJOSTROM, M.; BUENO, M.; MARCOS, A. **Inflammatory proteins are related to total and abdominal adiposity in a healthy adolescent population: the AVENA Study.** Am J Clin Nutr, 2006. p. 505-12.

WHO. **World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic.** WHO Technical Report Series 894, 1998.

YUDKIN, J. S.; JUHAN-VAGUE, I.; HAWE, E.; HUMPHRIES, S. E.; DI MINNO, G.; MARGAGLIONE, M.; TREMOLI, E.; KOOISTRA, T.; MORANGE, P. E.; LUNDMAN, P.; MOHAMED-ALI, V.; HAMSTEN, A. **Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study.** Metabolism, 2004. p. 852-7.

YUDKIN, J. S.; KUMARI, M.; HUMPHRIES, S. E.; MOHAMED-ALI, V. **Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link?** Atherosclerosis, 2000. p. 209-14.

ZHAO, S.; FERNALD, R. D. **Comprehensive algorithm for quantitative real-time polymerase chain reaction.** J Comput Biol, 2005. p. 1047-64.

5. CONCLUSÕES

- Na população estudada os níveis de TNF- α e IL-6 são superiores no gênero masculino;
- A expressão gênica de ICAM1, IL1 R1 e IL-18 são preditores relevantes dos valores de TNF- α ;
- Os maiores níveis de TNF- α aumentaram em 193% e 233% as chances de se apresentar obesidade abdominal e HDL-c reduzido, respectivamente;
- A concentração plasmática de IL-6 possui mais associações com medidas de adiposidade do que os níveis circulantes de TNF- α ;
- A concentração plasmática de IL-6 possui uma relação mais estreita com a adiposidade visceral do que os níveis circulantes de TNF- α ;
- O aumento em 1ng/g de selênio dosado nas unhas é capaz de predizer uma redução de 6,8 pg/mL da IL-6 circulante;
- Os maiores níveis de IL-6 aumentaram em 629% as chances de se apresentar valores de HDL-c reduzidos;

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi capaz de demonstrar, que mesmo em indivíduos jovens e isentos de condições patológicas, as concentrações plasmáticas do TNF- α e da IL-6, já se mostraram associados a alguns parâmetros antropométricos e de composição corporal (indicadores de adiposidade total e acúmulo de adiposidade visceral); bioquímicos (indicadores de dislipidemia e hiperglicemia); clínicos (indicadores de hipertensão arterial); dietéticos e até mesmo, com a expressão gênica de genes relacionados com o processo inflamatório.

Algumas medidas de adiposidade importantes como IMC e massa livre de gordura não se comportaram como o esperado, o que nos leva a discutir sobre a complexidade da atuação das citocinas inflamatórias em seus vários mecanismos fisiológicos. Diante da associação positiva entre os níveis da IL-6 e os níveis pressóricos, sugere-se que, juntamente com os níveis de TNF- α , estas citocinas possam, em longo prazo, elevar os valores de pressão arterial, a partir de alguns dos

mecanismos discutidos neste presente trabalho. Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, apesar das associações plausíveis (glicose e HDL-c), algumas variáveis se comportaram de forma inesperada, como o caso do colesterol total. Outra constatação importante foi que, mesmo com o perfil de saúde da população estudada, existe uma correlação positiva entre os vários marcadores do processo inflamatório, evidenciada pela predição dos níveis de TNF- α a partir dos valores da expressão gênica de mediadores envolvidos neste processo (ICAM1, IL1R1 e IL-18).

Os resultados revelaram que na população estudada, os níveis da IL-6 estiveram associados a um maior número de variáveis do que o TNF- α . Muitas medidas de adiposidade se correlacionaram de alguma maneira com os níveis de IL-6, revelando estreita relação entre a quantidade de tecido adiposo, bem como sua localização, e a produção desta interleucina, embora outras medidas de adiposidade importantes, como perímetro da cintura e % de gordura não se comportaram como o esperado. O papel da hiperuricemia como fator de risco merece destaque e pode ser apontado como indicador precoce de tal processo, uma vez que este componente se mostrou capaz de prever o aumento nas concentrações de IL-6. Quanto aos fatores dietéticos, houve correlações com muitos dos nutrientes da dieta, o que nos permite certo conhecimento sobre a interação entre os nutrientes e os valores plasmáticos da IL-6. Outra constatação relevante foi que o selênio dosado nas unhas se comportou como um importante preditor negativo dos níveis da IL-6.

Por fim, o estudo contribuiu para o melhor entendimento das associações entre os marcadores de interesse (TNF- α e IL-6) e os fatores de risco para a ocorrência das doenças associadas à síndrome metabólica; E ainda, evidenciou a associação da expressão gênica de alguns marcadores inflamatórios, em células mononucleadas, com variáveis importantes no contexto das doenças metabólicas, mesmo em adultos saudáveis de vida livre. Estudos mais detalhados a respeito do papel das citocinas inflamatórias, especialmente do TNF- α e da IL-6 em populações saudáveis, são de notória importância, uma vez que, os mesmos, podem levar ao entendimento do verdadeiro papel destes mediadores no desenvolvimento das doenças crônicas inflamatórias; E se de fato, poderão agregar valor na identificação precoce de indivíduos sob risco de ser acometido por alguma destas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMOPOULOS, S.; PARISSIS, J.; KARATZAS, D.; KROUPIS, C.; GEORGIADIS, M.; KARAVOLIAS, G.; PARASKEVAIDIS, J.; KONIAVITOU, K.; COATS, A. J.; KREMASTINOS, D. T. **Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure.** J Am Coll Cardiol, 2002. p. 653-63.

ADAMOPOULOS, S.; PARISSIS, J. T.; KREMASTINOS, D. T. **A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure.** Eur J Heart Fail, 2001. p. 517-26.

ADERKA, D.; ENGELMANN, H.; WYSENBECK, A. J.; LEVO, Y. **The possible role of tumor necrosis factor (TNF) and its natural inhibitors, the soluble-TNF receptors, in autoimmune diseases.** Isr J Med Sci, 1992. p. 126-30.

AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; LEON, A. S.; JACOBS, D. R., JR.; MONTOYE, H. J.; SALLIS, J. F.; PAFFENBARGER, R. S., JR. **Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities.** Med Sci Sports Exerc, 1993. p. 71-80.

AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; WHITT, M. C.; IRWIN, M. L.; SWARTZ, A. M.; STRATH, S. J.; O'BRIEN, W. L.; BASSETT, D. R., JR.; SCHMITZ, K. H.; EMPLAINCOURT, P. O.; JACOBS, D. R., JR.; LEON, A. S. **Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities.** Med Sci Sports Exerc, 2000. p. S498-504.

ALOKAIL, M. S.; AL-DAGHRI, N. M.; AL-ATTAS, O. S.; HUSSAIN, T. **Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women.** Cardiovasc Diabetol, 2009. p. 33.

AMORIM, P. R.; GOMES, T. N. P. Métodos de baixo custo e aplicáveis na prática. In: AMORIM, P. R. e GOMES, T. N. P. (Ed.). **Gasto energético na atividade física.** Rio de Janeiro: Shape, 2003. cap. 5, p.113 - 194.

ANDREJKO, K. M.; CHEN, J.; DEUTSCHMAN, C. S. **Intrahepatic STAT-3 activation and acute phase gene expression predict outcome after CLP sepsis in the rat.** Am J Physiol, 1998. p. G1423-9.

ANGSTWURM, M. W.; GARTNER, R.; ZIEGLER-HEITBROCK, H. W. **Cyclic plasma IL-6 levels during normal menstrual cycle.** Cytokine, 1997. p. 370-4.

ANKER, S. D.; STEINBORN, W.; STRASSBURG, S. **Cardiac cachexia.** Ann Med, 2004. p. 518-29.

ANKER, S. D.; VON HAEHLING, S. **Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview.** Heart, 2004. p. 464-70.

ARAUJO, E. P.; DE SOUZA, C. T.; UENO, M.; CINTRA, D. E.; BERTOLO, M. B.; CARVALHEIRA, J. B.; SAAD, M. J.; VELLOSO, L. A. **Infliximab restores glucose homeostasis in an animal model of diet-induced obesity and diabetes.** *Endocrinology*, 2007. p. 5991-7.

ARNER, P. **Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues.** *Ann Med*, 1995. p. 435-8.

ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. **Hormones and cytokines in childhood obesity.** *Indian Pediatr*, 2010. p. 829-39.

ARVIDSSON, E.; VIGUERIE, N.; ANDERSSON, I.; VERDICH, C.; LANGIN, D.; ARNER, P. **Effects of different hypocaloric diets on protein secretion from adipose tissue of obese women.** *Diabetes*, 2004. p. 1966-71.

AZUAJE, F.; DEVAUX, Y.; WAGNER, D. **Computational biology for cardiovascular biomarker discovery.** *Brief Bioinform*, 2009. p. 367-77.

BASTARD, J. P.; JARDEL, C.; BRUCKERT, E.; VIDAL, H.; HAINQUE, B. **Variations in plasma soluble tumour necrosis factor receptors after diet-induced weight loss in obesity.** *Diabetes Obes Metab*, 2000. p. 323-5.

BDWG, B. D. W. G.-. **Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework.** *Clin Pharmacol Ther*, 2001. p. 89-95.

BEHNKE, B. J.; DELP, M. D.; MCDONOUGH, P.; SPIER, S. A.; POOLE, D. C.; MUSCH, T. I. **Effects of chronic heart failure on microvascular oxygen exchange dynamics in muscles of contrasting fiber type.** *Cardiovasc Res*, 2004. p. 325-32.

BERNSTEIN, L. E.; BERRY, J.; KIM, S.; CANAVAN, B.; GRINSPOON, S. K. **Effects of etanercept in patients with the metabolic syndrome.** *Arch Intern Med*, 2006. p. 902-8.

BEYAERT, R. F., W. **Tumor necrosis factor and lymphotoxin.** 2. London/UK: 1999.

BIASUCCI, L. M.; LIUZZO, G.; FANTUZZI, G.; CALIGIURI, G.; REBUZZI, A. G.; GINNETTI, F.; DINARELLO, C. A.; MASERI, A. **Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events.** *Circulation*, 1999. p. 2079-84.

BIASUCCI, L. M.; LIUZZO, G.; GRILLO, R. L.; CALIGIURI, G.; REBUZZI, A. G.; BUFFON, A.; SUMMARIA, F.; GINNETTI, F.; FADDA, G.; MASERI, A. **Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability.** *Circulation*, 1999. p. 855-60.

BLAKE, G. J.; RIDKER, P. M. **Novel clinical markers of vascular wall inflammation.** *Circ Res*, 2001. p. 763-71.

BODEN, G.; SHULMAN, G. I. **Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction.** *Eur J Clin Invest*, 2002. p. 14-23.

BOYUM, A. **Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of monuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g.** *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 1968. p. 77-89.

BRUUN, J. M.; HELGE, J. W.; RICHELSEN, B.; STALLKNECHT, B. **Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006. p. E961-7.

CASTELLANO, V.; PATEL, D. I.; WHITE, L. J. **Cytokine responses to acute and chronic exercise in multiple sclerosis.** *J Appl Physiol*, 2008. p. 1697-702.

CASTELLI, W. P. **Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study.** *Can J Cardiol*, 1988. p. 5A-10A.

CAWTHORN, W. P.; SETHI, J. K. **TNF-alpha and adipocyte biology.** *FEBS Lett*, 2008. p. 117-31.

CERIELLO, A. **Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension.** *Diabetes Care*, 2008. p. S181-4.

CONRAADS, V. M.; BECKERS, P.; BOSMANS, J.; DE CLERCK, L. S.; STEVENS, W. J.; VRINTS, C. J.; BRUTSAERT, D. L. **Combined endurance/resistance training reduces plasma TNF-alpha receptor levels in patients with chronic heart failure and coronary artery disease.** *Eur Heart J*, 2002. p. 1854-60.

COSTA ROSA, L. F. B. P.; BATISTA, J. R. M. **Efeito do treinamento físico como modulador positivo nas alterações no eixo neuroimunoendócrino em indivíduos com insuficiência cardíaca crônica: Possível atuação do fator de necrose tumoral- α .** *Rev Bras Med Esporte*, 2005. p. 238-42.

COTTAM, D. R.; MATTAR, S. G.; BARINAS-MITCHELL, E.; EID, G.; KULLER, L.; KELLEY, D. E.; SCHAUER, P. R. **The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss.** *Obes Surg*, 2004. p. 589-600.

CRUJEIRAS, A. B.; PARRA, D.; MILAGRO, F. I.; GOYENECHEA, E.; LARRARTE, E.; MARGARETO, J.; MARTÍNEZ, A. **Differential Expression of Oxidative Stress and Inflammation Related Genes in Peripheral Blood Mononuclear Cells in**

Response to a Low-Calorie Diet: A Nutrigenomics Study. *A Journal of Integrative Biology*, 2008. p. 251-261.

CUSCHIERI, J.; BULGER, E.; SCHAEFFER, V.; SAKR, S.; NATHENS, A. B.; HENNESSY, L.; MINEI, J.; MOORE, E. E.; O'KEEFE, G.; SPERRY, J.; REMICK, D.; TOMPKINS, R.; MAIER, R. V. **Early elevation in random plasma IL-6 after severe injury is associated with development of organ failure.** *Shock*, 2010. p. 346-51.

D'AURIA, L.; BONIFATI, C.; MUSSI, A.; D'AGOSTO, G.; DE SIMONE, C.; GIACALONE, B.; FERRARO, C.; AMEGLIO, F. **Cytokines in the sera of patients with pemphigus vulgaris: interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha levels are significantly increased as compared to healthy subjects and correlate with disease activity.** *Eur Cytokine Netw*, 1997. p. 383-7.

DAI, Q.; GAO, Y. T.; SHU, X. O.; YANG, G.; MILNE, G.; CAI, Q.; WEN, W.; ROTHMAN, N.; CAI, H.; LI, H.; XIANG, Y.; CHOW, W. H.; ZHENG, W. **Oxidative stress, obesity, and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study.** *J Clin Oncol*, 2009. p. 2482-8.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; BANDYOPADHYAY, A. **Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes.** *Trends Immunol*, 2004. p. 4-7.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; CHAUDHURI, A.; MOHANTY, P.; GARG, R. **Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation.** *Circulation*, 2005. p. 1448-54.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; MOHANTY, P.; GHANIM, H.; HAMOUDA, W.; ASSIAN, E.; AHMAD, S. **Insulin inhibits intranuclear nuclear factor kappaB and stimulates IkappaB in mononuclear cells in obese subjects: evidence for an anti-inflammatory effect?** *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. p. 3257-65.

DARVALL, K. A.; SAM, R. C.; SILVERMAN, S. H.; BRADBURY, A. W.; ADAM, D. J. **Obesity and thrombosis.** *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2007. p. 223-33.

DEBEY-PASCHER, S.; EGGLE, D.; SCHULTZE, J. L. RNA Stabilization of Peripheral Blood and Profiling by Bead Chip Analysis. In: (Ed.), v.496, 2008. p.175-210.

DI ROCCO, P.; MANCO, M.; ROSA, G.; GRECO, A. V.; MINGRONE, G. **Lowered tumor necrosis factor receptors, but not increased insulin sensitivity, with infliximab.** *Obes Res*, 2004. p. 734-9.

DIETPRO. **DietPRO, AS sistemas, versão 5.0.** Viçosa 2009.

DINH, W.; FUTH, R.; NICKL, W.; KRAHN, T.; ELLINGHAUS, P.; SCHEFFOLD, T.; BANSEMIR, L.; BUFE, A.; BARROSO, M. C.; LANKISCH, M. **Elevated plasma**

levels of TNF-alpha and interleukin-6 in patients with diastolic dysfunction and glucose metabolism disorders. Cardiovasc Diabetol, 2009. p. 58.

DOMINGUEZ, H.; STORGAARD, H.; RASK-MADSEN, C.; STEFFEN HERMANN, T.; IHLEMANN, N.; BAUNBJERG NIELSEN, D.; SPOHR, C.; KOBER, L.; VAAG, A.; TORP-PEDERSEN, C. **Metabolic and vascular effects of tumor necrosis factor-alpha blockade with etanercept in obese patients with type 2 diabetes.** J Vasc Res, 2005. p. 517-25.

DUFFY, S. A.; TAYLOR, J. M.; TERRELL, J. E.; ISLAM, M.; LI, Y.; FOWLER, K. E.; WOLF, G. T.; TEKNOS, T. N. **Interleukin-6 predicts recurrence and survival among head and neck cancer patients.** Cancer, 2008. p. 750-7.

DURNIN, J. V.; WOMERSLEY, J. **Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years.** Br J Nutr, 1974. p. 77-97.

DVORAKOVA-LORENZOVA, A.; SUCHANEK, P.; HAVEL, P. J.; STAVEK, P.; KARASOVA, L.; VALENTA, Z.; TINTERA, J.; POLEDNE, R. **The decrease in C-reactive protein concentration after diet and physical activity induced weight reduction is associated with changes in plasma lipids, but not interleukin-6 or adiponectin.** Metabolism, 2006. p. 359-65.

FANTUZZI, G. **Adipose tissue, adipokines, and inflammation.** J Allergy Clin Immunol, 2005. p. 911-9; quiz 920.

FASSHAUER, M.; KRALISCH, S.; KLIER, M.; LOSSNER, U.; BLUHER, M.; KLEIN, J.; PASCHKE, R. **Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes.** Biochem Biophys Res Commun, 2003. p. 1045-50.

FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. **Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles.** FASEB J, 2002. p. 1335-47.

FERNANDEZ-REAL, J. M.; VAYREDA, M.; RICHART, C.; GUTIERREZ, C.; BROCH, M.; VENDRELL, J.; RICART, W. **Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women.** J Clin Endocrinol Metab, 2001. p. 1154-9.

FERNANDEZ-REAL LEMOS, J. M. **[Insulin resistance and evolution].** Nutr Hosp, 2002. p. 60-6.

FERRARI, R. **Tumor necrosis factor in CHF: a double facet cytokine.** Cardiovasc Res, 1998. p. 554-9.

FESTA, A.; D'AGOSTINO, R., JR.; HOWARD, G.; MYKKANEN, L.; TRACY, R. P.; HAFFNER, S. M. **Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance**

syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*, 2000. p. 42-7.

FISMAN, E. Z.; ADLER, Y.; TENENBAUM, A. **Biomarkers in cardiovascular diabetology: interleukins and matrixins.** *Adv Cardiol*, 2008. p. 44-64.

FISMAN, E. Z.; TENENBAUM, A. **The ubiquitous interleukin-6: a time for reappraisal.** *Cardiovasc Diabetol*, 2010. p. 62.

FORD, E. S.; AJANI, U. A.; MOKDAD, A. H. **The metabolic syndrome and concentrations of C-reactive protein among U.S. youth.** *Diabetes Care*, 2005. p. 878-81.

FORD, E. S.; MOKDAD, A. H.; GILES, W. H.; BROWN, D. W. **The metabolic syndrome and antioxidant concentrations: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.** *Diabetes*, 2003. p. 2346-52.

FRANCISCO, G.; HERNANDEZ, C.; SIMO, R. **Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia.** *Clin Chim Acta*, 2006. p. 1-16.

FRANK, R.; HARGREAVES, R. **Clinical biomarkers in drug discovery and development.** *Nat Rev Drug Discov*, 2003. p. 566-580.

FRIED, S. K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S. **Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1998. p. 847-50.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.** *Clin Chem*, 1972. p. 499-502.

FRUHBECK, G.; GOMEZ-AMBROSI, J.; MURUZABAL, F. J.; BURRELL, M. A. **The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. p. E827-47.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. **Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome.** *J Clin Invest*, 2004. p. 1752-61.

GERSZTEN, R. E.; WANG, T. J. **The search for new cardiovascular biomarkers.** *Nature*, 2008. p. 949-52.

GHANIM, H.; ALJADA, A.; HOFMEYER, D.; SYED, T.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. **Circulating Mononuclear Cells in the Obese Are in a Proinflammatory State.** *Circulation*, 2004. p. 1564-1571.

GHANIM, H.; ALJADA, A.; HOFMEYER, D.; SYED, T.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. **Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state.** *Circulation*, 2004. p. 1564-71.

GIELEN, S.; ADAMS, V.; LINKE, A.; ERBS, S.; MOBIUS-WINKLER, S.; SCHUBERT, A.; SCHULER, G.; HAMBRECHT, R. **Exercise training in chronic heart failure: correlation between reduced local inflammation and improved oxidative capacity in the skeletal muscle.** *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2005. p. 393-400.

GIL, A. **Papel de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en los procesos inflamatorios (Libro blanco de los omega-3).** . Madrid/ES: Médica Panamericana., 2005.

GONZALEZ-GAY, M. A.; DE MATIAS, J. M.; GONZALEZ-JUANATEY, C.; GARCIA-PORRUA, C.; SANCHEZ-ANDRADE, A.; MARTIN, J.; LLORCA, J. **Anti-tumor necrosis factor-alpha blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis.** *Clin Exp Rheumatol*, 2006. p. 83-6.

GOYENECHEA; PARRA, D.; CRUJEIRAS, A. B.; ABETE, I.; MARTINEZ, J. A. **A nutrigenomic inflammation-related PBMC-based approach to predict the weight-loss regain in obese subjects.** . *Ann Nutr Metab* 2009., p. 43-51,.

GOYENECHEA, E.; PARRA, M. D.; MARTINEZ HERNANDEZ, J. A. **[Role of IL-6 and its -174G>C polymorphism in weight management and in the metabolic comorbidities associated with obesity].** *An Sist Sanit Navar*, 2005. p. 357-66.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. **Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes.** *Diabetes*, 2004. p. S110-8.

GUIMARÃES, D. E. D.; SARDINHA, F. L. C.; MIZURINI, D. M.; TAVARES, C. M. G. **Adipokines: a new view of adipose tissue.** *Rev. Nutr., Campinas*, 2007. p. 549-559.

HANSEL, B.; GIRAL, P.; NOBECOURT, E.; CHANTEPIE, S.; BRUCKERT, E.; CHAPMAN, M. J.; KONTUSH, A. **Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. p. 4963-71.

HARRIS, T. B.; FERRUCCI, L.; TRACY, R. P.; CORTI, M. C.; WACHOLDER, S.; ETTINGER, W. H., JR.; HEIMOVITZ, H.; COHEN, H. J.; WALLACE, R. **Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly.** *Am J Med*, 1999. p. 506-12.

HERMSDORFF, H. H.; MONTEIRO, J. B. **[Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem?].** *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2004. p. 803-11.

HERMSDORFF, H. H.; PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A. **Association of body fat distribution with proinflammatory gene expression in peripheral blood mononuclear cells from young adult subjects.** OMICS, 2010. p. 297-307.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. **Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance.** Science, 1993. p. 87-91.

HSUEH, W. A.; LAW, R. **The central role of fat and effect of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma on progression of insulin resistance and cardiovascular disease.** Am J Cardiol, 2003. p. 3J-9J.

HUKSHORN, C. J.; LINDEMAN, J. H.; TOET, K. H.; SARIS, W. H.; EILERS, P. H.; WESTERTEP-PLANTENGA, M. S.; KOOISTRA, T. **Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity.** J Clin Endocrinol Metab, 2004. p. 1773-8.

HUNG, J.; MCQUILLAN, B. M.; CHAPMAN, C. M.; THOMPSON, P. L.; BEILBY, J. P. **Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance.** Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. p. 1268-73.

ISHIKAWA, K.; TAKAHASHI, K.; BUJO, H.; HASHIMOTO, N.; YAGUI, K.; SAITO, Y. **Subcutaneous fat modulates insulin sensitivity in mice by regulating TNF-alpha expression in visceral fat.** Horm Metab Res, 2006. p. 631-8.

KAMIMURA, D.; ISHIHARA, K.; HIRANO, T. **IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model.** Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2003. p. 1-38.

KEANEY, J. F., JR.; LARSON, M. G.; VASAN, R. S.; WILSON, P. W.; LIPINSKA, I.; COREY, D.; MASSARO, J. M.; SUTHERLAND, P.; VITA, J. A.; BENJAMIN, E. J. **Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study.** Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. p. 434-9.

KERN, P. A.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. **Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance.** Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001. p. E745-51.

KESKI-NISULA, L.; HIRVONEN, M. R.; ROPONEN, M.; HEINONEN, S.; PEKKANEN, J. **Spontaneous and stimulated interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production at delivery and three months after birth.** Eur Cytokine Netw, 2004. p. 67-72.

KIORTSIS, D. N.; MAVRIDIS, A. K.; VASAKOS, S.; NIKAS, S. N.; DROSOS, A. A. **Effects of infliximab treatment on insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis.** Ann Rheum Dis, 2005. p. 765-6.

KITANOVSKI, L.; JAZBEC, J.; HOJKER, S.; GUBINA, M.; DERGANČ, M. **Diagnostic accuracy of procalcitonin and interleukin-6 values for predicting bacteremia and clinical sepsis in febrile neutropenic children with cancer.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2006. p. 413-5.

KOH, K. K.; HAN, S. H.; QUON, M. J. **Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions.** J Am Coll Cardiol, 2005. p. 1978-85.

KROGH-MADSEN, R.; PLOMGAARD, P.; MOLLER, K.; MITTENDORFER, B.; PEDERSEN, B. K. **Influence of TNF-alpha and IL-6 infusions on insulin sensitivity and expression of IL-18 in humans.** Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. p. E108-14.

LAMBERT, C. P.; WRIGHT, N. R.; FINCK, B. N.; VILLAREAL, D. T. **Exercise but not diet-induced weight loss decreases skeletal muscle inflammatory gene expression in frail obese elderly persons.** J Appl Physiol, 2008. p. 473-8.

LEY, S. H.; HEGELE, R. A.; CONNELLY, P. W.; HARRIS, S. B.; MAMAKEESICK, M.; CAO, H.; GITTELSON, J.; RETNAKARAN, R.; ZINMAN, B.; HANLEY, A. J. **Assessing the association of the HNF1A G319S variant with C-reactive protein in Aboriginal Canadians: a population-based epidemiological study.** Cardiovasc Diabetol, 2010. p. 39.

LIANG, H.; YIN, B.; ZHANG, H.; ZHANG, S.; ZENG, Q.; WANG, J.; JIANG, X.; YUAN, L.; WANG, C. Y.; LI, Z. **Blockade of tumor necrosis factor (TNF) receptor type 1-mediated TNF-alpha signaling protected Wistar rats from diet-induced obesity and insulin resistance.** Endocrinology, 2008. p. 2943-51.

LOFGREN, P.; VAN HARMELEN, V.; REYNISDOTTIR, S.; NASLUND, E.; RYDEN, M.; ROSSNER, S.; ARNER, P. **Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong relationship to insulin-stimulated glucose transport in human adipose tissue.** Diabetes, 2000. p. 688-92.

MAIESE, K.; MORHAN, S. D.; CHONG, Z. Z. **Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus.** Curr Neurovasc Res, 2007. p. 63-71.

MALLAT, Z.; CORBAZ, A.; SCOAZEC, A.; BESNARD, S.; LESECHE, G.; CHVATCHKO, Y.; TEDGUI, A. **Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability.** Circulation, 2001. p. 1598-603.

MATHEW, M.; TAY, E.; CUSI, K. **Elevated plasma free fatty acids increase cardiovascular risk by inducing plasma biomarkers of endothelial activation, myeloperoxidase and PAI-1 in healthy subjects.** Cardiovasc Diabetol, 2010. p. 9.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; 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*, 1985. p. 412-9.

MEIGS, J. B.; D'AGOSTINO, R. B., SR.; WILSON, P. W.; CUPPLES, L. A.; NATHAN, D. M.; SINGER, D. E. **Risk variable clustering in the insulin resistance syndrome. The Framingham Offspring Study.** *Diabetes*, 1997. p. 1594-600.

MELLENDEZ, G. C.; MCLARTY, J. L.; LEVICK, S. P.; DU, Y.; JANICKI, J. S.; BROWER, G. L. **Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats.** *Hypertension*, 2010. p. 225-31.

MILLER, G. D.; NICKLAS, B. J.; LOESER, R. F. **Inflammatory biomarkers and physical function in older, obese adults with knee pain and self-reported osteoarthritis after intensive weight-loss therapy.** *J Am Geriatr Soc*, 2008. p. 644-51.

MOHAMED-ALI, V.; GOODRICK, S.; RAWESH, A.; KATZ, D. R.; MILES, J. M.; YUDKIN, J. S.; KLEIN, S.; COPPACK, S. W. **Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. p. 4196-200.

MONTAGUE, C. T.; PRINS, J. B.; SANDERS, L.; ZHANG, J.; SEWTER, C. P.; DIGBY, J.; BYRNE, C. D.; O'RAHILLY, S. **Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes.** *Diabetes*, 1998. p. 1384-91.

MORENO-ALIAGA, M. J.; CAMPIÓN, J.; MILAGRO, F. I.; BERJÓN, A.; MARTINEZ, J. A. **Adiposity and proinflammatory state: the chicken or the egg.** *Adipocytes*, 2005. p. 1-6.

MORIN, C. L.; ECKEL, R. H.; MARCEL, T.; PAGLIASSOTTI, M. J. **High fat diets elevate adipose tissue-derived tumor necrosis factor-alpha activity.** *Endocrinology*, 1997. p. 4665-71.

MULLER, J.; NYVAD, O.; LARSEN, N. A.; LOKKEGAARD, N.; PEDERSEN, R. S.; SOLLING, J.; PEDERSEN, E. B. **Chlamydia pneumoniae DNA in peripheral blood mononuclear cells in dialysis patients, renal transplant recipients and healthy controls.** *Scand J Clin Lab Invest*, 2002. p. 503-9.

MURPHY, R. M.; WATT, K. K.; CAMERON-SMITH, D.; GIBBONS, C. J.; SNOW, R. J. **Effects of creatine supplementation on housekeeping genes in human skeletal muscle using real-time RT-PCR.** *Physiol Genomics*, 2003. p. 163-74.

NAVARRO-BLASCO, I.; ALVAREZ-GALINDO, J. I. **Selenium content of Spanish infant formulae and human milk: influence of protein matrix, interactions with**

other trace elements and estimation of dietary intake by infants. *J Trace Elem Med Biol*, 2004. p. 277-89.

NCEP-ATPIII. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*, 2001. p. 2486-97.

NODE, K.; INOUE, T. Postprandial hyperglycemia as an etiological factor in vascular failure. *Cardiovasc Diabetol*, 2009. p. 23.

NONOGAKI, K.; FULLER, G. M.; FUENTES, N. L.; MOSER, A. H.; STAPRANS, I.; GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K. R. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology*, 1995. p. 2143-9.

O'ROURKE, R. W.; KAY, T.; LYLE, E. A.; TRAXLER, S. A.; DEVENNEY, C. W.; JOBE, B. A.; ROBERTS, C. T., JR.; MARKS, D.; ROSENBAUM, J. T. Alterations in peripheral blood lymphocyte cytokine expression in obesity. *Clin Exp Immunol*, 2006. p. 39-46.

OFEL, F.; HUREL, S.; NEWKIRK, J.; SOPWITH, M.; TAYLOR, R. Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes*, 1996. p. 881-5.

PAMIR, N.; MCMILLEN, T. S.; KAIYALA, K. J.; SCHWARTZ, M. W.; LEBOEUF, R. C. Receptors for tumor necrosis factor-alpha play a protective role against obesity and alter adipose tissue macrophage status. *Endocrinology*, 2009. p. 4124-34.

PAQUOT, N.; CASTILLO, M. J.; LEFEBVRE, P. J.; SCHEEN, A. J. No increased insulin sensitivity after a single intravenous administration of a recombinant human tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein in obese insulin-resistant patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000. p. 1316-9.

PEARSON, T. A.; MENSAH, G. A.; ALEXANDER, R. W.; ANDERSON, J. L.; CANNON, R. O., 3RD; CRIQUI, M.; FADL, Y. Y.; FORTMANN, S. P.; HONG, Y.; MYERS, G. L.; RIFAI, N.; SMITH, S. C., JR.; TAUBERT, K.; TRACY, R. P.; VINICOR, F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, 2003. p. 499-511.

PERLOFF, D.; GRIM, C.; FLACK, J.; FROHLICH, E. D.; HILL, M.; MCDONALD, M.; MORGENSTERN, B. Z. Human blood pressure determination by sphygmomanometry. *Circulation*, 1993. p. 2460-70.

PETERSON, M. C. **Circulating transforming growth factor beta-1: a partial molecular explanation for associations between hypertension, diabetes, obesity, smoking and human disease involving fibrosis.** *Med Sci Monit*, 2005. p. RA229-32.

PICKUP, J. C.; CROOK, M. A. **Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system?** *Diabetologia*, 1998. p. 1241-8.

POU, K. M.; MASSARO, J. M.; HOFFMANN, U.; VASAN, R. S.; MAUROVICH-HORVAT, P.; LARSON, M. G.; KEANEY, J. F., JR.; MEIGS, J. B.; LIPINSKA, I.; KATHIRESAN, S.; MURABITO, J. M.; O'DONNELL, C. J.; BENJAMIN, E. J.; FOX, C. S. **Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study.** *Circulation*, 2007. p. 1234-41.

PUCHAU, B.; HERMSDORFF, H. H.; ZULET, M. A.; MARTINEZ, J. A. **DDAH2 mRNA expression is inversely associated with some cardiovascular risk-related features in healthy young adults.** *Dis Markers*, 2009. p. 37-44.

PUGLISI, M. J.; FERNANDEZ, M. L. **Modulation of C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and adiponectin by diet, exercise, and weight loss.** *J Nutr*, 2008. p. 2293-6.

QATANANI, M.; LAZAR, M. A. **Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu.** *Genes Dev*, 2007. p. 1443-55.

RADER, D. J. **Inflammatory markers of coronary risk.** *N Engl J Med*, 2000. p. 1179-82.

RAWAL, N. R., M.A.; LISCHWE, K.R.; WILLIAMS, W.K.; PAIK; KIM, S. . **Structural specificity of substrate for S-adenosylmethionine:protein arginine N-methyltransferases.** *Biochim Biophys Acta* 1995. p. 11-18.

REUBEN, D. B.; FERRUCCI, L.; WALLACE, R.; TRACY, R. P.; CORTI, M. C.; HEIMOVITZ, H.; HARRIS, T. B. **The prognostic value of serum albumin in healthy older persons with low and high serum interleukin-6 (IL-6) levels.** *J Am Geriatr Soc*, 2000. p. 1404-7.

REXRODE, K. M.; PRADHAN, A.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. **Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women.** *Ann Epidemiol*, 2003. p. 674-82.

RUAN, H.; MILES, P. D.; LADD, C. M.; ROSS, K.; GOLUB, T. R.; OLEFSKY, J. M.; LODISH, H. F. **Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor-alpha: implications for insulin resistance.** *Diabetes*, 2002. p. 3176-88.

RUS, H. G.; VLAICU, R.; NICULESCU, F. **Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall.** *Atherosclerosis*, 1996. p. 263-71.

SAKAMOTO, K.; ARAKAWA, H.; MITA, S.; ISHIKO, T.; IKEI, S.; EGAMI, H.; HISANO, S.; OGAWA, M. **Elevation of circulating interleukin 6 after surgery: factors influencing the serum level.** *Cytokine*, 1994. p. 181-6.

SALAS-SALVADO, J.; RUBIO, M. A.; BARBANY, M.; MORENO, B. [**SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria**]. *Med Clin (Barc)*, 2007. p. 184-96; quiz 1 p following 200.

SCHIFFRIN, E. L. **Oxidative stress, nitric oxide synthase, and superoxide dismutase: a matter of imbalance underlies endothelial dysfunction in the human coronary circulation.** *Hypertension*, 2008. p. 31-2.

SCHREYER, S. A.; CHUA, S. C., JR.; LEBOEUF, R. C. **Obesity and diabetes in TNF-alpha receptor- deficient mice.** *J Clin Invest*, 1998. p. 402-11.

SHARMAN, M. J.; VOLEK, J. S. **Weight loss leads to reductions in inflammatory biomarkers after a very-low-carbohydrate diet and a low-fat diet in overweight men.** *Clin Sci (Lond)*, 2004. p. 365-9.

SNELL-BERGEON, J. K.; WEST, N. A.; MAYER-DAVIS, E. J.; LIESE, A. D.; MARCOVINA, S. M.; D'AGOSTINO, R. B., JR.; HAMMAN, R. F.; DABELEA, D. **Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study.** *J Clin Endocrinol Metab*, 2010. p. 2868-76.

SPOTO, B. P., ROSA M.; PARLONGO, GIOVANNA; SGRO', EDOARDO; ZOCCALI, CARMINE. **The enzymatic machinery for ADMA synthesis and degradation is fully expressed in human adipocytes**
J Nephrol
2007. p. 554 - 559.

SPRANGER, J.; KROKE, A.; MOHLIG, M.; HOFFMANN, K.; BERGMANN, M. M.; RISTOW, M.; BOEING, H.; PFEIFFER, A. F. **Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study.** *Diabetes*, 2003. p. 812-7.

STEENSBERG, A.; KELLER, C.; STARKIE, R. L.; OSADA, T.; FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. **IL-6 and TNF-alpha expression in, and release from, contracting human skeletal muscle.** *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002. p. E1272-8.

STEINBRICH-ZOLLNER, M.; GRUN, J. R.; KAISER, T.; BIESEN, R.; RABA, K.; WU, P.; THIEL, A.; RUDWALEIT, M.; SIEPER, J.; BURMESTER, G. R.;

RADBRUCH, A.; GRUTZKAU, A. **From transcriptome to cytome: integrating cytometric profiling, multivariate cluster, and prediction analyses for a phenotypical classification of inflammatory diseases.** *Cytometry A*, 2008. p. 333-40.

THORAND, B.; BAUMERT, J.; CHAMBLESS, L.; MEISINGER, C.; KOLB, H.; DORING, A.; LOWEL, H.; KOENIG, W. **Elevated markers of endothelial dysfunction predict type 2 diabetes mellitus in middle-aged men and women from the general population.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006. p. 398-405.

TREMBLAY, A. J.; MORRISSETTE, H.; GAGNE, J. M.; BERGERON, J.; GAGNE, C.; COUTURE, P. **Validation of the Friedewald formula for the determination of low-density lipoprotein cholesterol compared with beta-quantification in a large population.** *Clin Biochem*, 2004. p. 785-90.

TROSEID, M.; SELJEFLOT, I.; ARNESEN, H. **The role of interleukin-18 in the metabolic syndrome.** *Cardiovasc Diabetol*, 2010. p. 11.

TSIGOS, C.; PAPANICOLAOU, D. A.; KYROU, I.; DEFENSOR, R.; MITSIADIS, C. S.; CHROUSOS, G. P. **Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation.** *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. p. 4167-70.

UYSAL, K. T.; WIESBROCK, S. M.; MARINO, M. W.; HOTAMISLIGIL, G. S. **Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function.** *Nature*, 1997. p. 610-4.

VALGIMIGLI, M.; CECONI, C.; MALAGUTTI, P.; MERLI, E.; SOUKHOMOVSKAIA, O.; FRANCOLINI, G.; CICCHITELLI, G.; OLIVARES, A.; PARRINELLO, G.; PERCOCO, G.; GUARDIGLI, G.; MELE, D.; PIRANI, R.; FERRARI, R. **Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study.** *Circulation*, 2005. p. 863-70.

VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; DE BLOCK, C. E. **Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease.** *Nature*, 2006. p. 875-80.

VIGUERIE, N.; VIDAL, H.; ARNER, P.; HOLST, C.; VERDICH, C.; AVIZOU, S.; ASTRUP, A.; SARIS, W.; MACDONALD, I.; KLIMCAKOVA, E.; CLÉMENT, K.; MARTINEZ, A.; HOFFSTEDT, J.; SØRENSEN, T.; LANGIN, D.; PROJECT, F. T. N. G. I. I. H. O. I. F. D. G. **Adipose tissue gene expression in obese subjects during low-fat and high-fat hypocaloric diets.** *Diabetologia*, 2005. p. 123-131.

VOLP, A. C.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M.; ZULET, M. Á.; MARTÍNEZ, J. Á. **Efeitos antioxidantes do selênio e seu elo com a inflamação e síndrome metabólica** *Rev. Nutr.*, 2010. p. 581-590.

VOLPATO, S.; GURALNIK, J. M.; FERRUCCI, L.; BALFOUR, J.; CHAVES, P.; FRIED, L. P.; HARRIS, T. B. **Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study.** *Circulation*, 2001. p. 947-53.

VON BIBRA, H.; ST JOHN SUTTON, M. **Diastolic dysfunction in diabetes and the metabolic syndrome: promising potential for diagnosis and prognosis.** *Diabetologia*, 2010. p. 1033-45.

VOZAROVA, B.; FERNANDEZ-REAL, J. M.; KNOWLER, W. C.; GALLART, L.; HANSON, R. L.; GRUBER, J. D.; RICART, W.; VENDRELL, J.; RICHART, C.; TATARANNI, P. A.; WOLFORD, J. K. **The interleukin-6 (-174) G/C promoter polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native Americans and Caucasians.** *Hum Genet*, 2003. p. 409-13.

WADSWORTH, R. M. **Oxidative stress and the endothelium.** *Exp Physiol*, 2008. p. 155-7.

WALLENIUS, K.; WALLENIUS, V.; SUNTER, D.; DICKSON, S. L.; JANSSON, J. O. **Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats.** *Biochem Biophys Res Commun*, 2002. p. 560-5.

WARNBERG, J.; NOVA, E.; MORENO, L. A.; ROMEO, J.; MESANA, M. I.; RUIZ, J. R.; ORTEGA, F. B.; SJOSTROM, M.; BUENO, M.; MARCOS, A. **Inflammatory proteins are related to total and abdominal adiposity in a healthy adolescent population: the AVENA Study.** *Am J Clin Nutr*, 2006. p. 505-12.

WASCHER, T. C.; LINDEMAN, J. H.; SOURIJ, H.; KOOISTRA, T.; PACINI, G.; RODEN, M. **Chronic TNF-alpha neutralization does not improve insulin resistance or endothelial function in "healthy" men with metabolic syndrome.** *Mol Med*, 2011. p. 189-93.

WEISBERG, S. P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; FERRANTE, A. W., JR. **Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue.** *J Clin Invest*, 2003. p. 1796-808.

WHO. **World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic.** WHO Technical Report Series 894, 1998.

WILLERSON, J. T.; RIDKER, P. M. **Inflammation as a cardiovascular risk factor.** *Circulation*, 2004. p. II2-10.

WINKLER, G.; KISS, S.; KESZTHELYI, L.; SAPI, Z.; ORY, I.; SALAMON, F.; KOVACS, M.; VARGHA, P.; SZEKERES, O.; SPEER, G.; KARADI, I.; SIKTER, M.; KASZAS, E.; DWORAK, O.; GERO, G.; CSEH, K. **Expression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in**

correlation with adipocyte cell volume, serum TNF-alpha, soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level. Eur J Endocrinol, 2003. p. 129-35.

XU, H.; BARNES, G. T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C. J.; SOLE, J.; NICHOLS, A.; ROSS, J. S.; TARTAGLIA, L. A.; CHEN, H. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance.** J Clin Invest, 2003. p. 1821-30.

XYDAKIS, A. M.; CASE, C. C.; JONES, P. H.; HOOGEVEEN, R. C.; LIU, M. Y.; SMITH, E. O.; NELSON, K. W.; BALLANTYNE, C. M. **Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction.** J Clin Endocrinol Metab, 2004. p. 2697-703.

YAMAMURA, M.; YAMADA, Y.; MOMITA, S.; KAMIHIRA, S.; TOMONAGA, M. **Circulating interleukin-6 levels are elevated in adult T-cell leukaemia/lymphoma patients and correlate with adverse clinical features and survival.** Br J Haematol, 1998. p. 129-34.

YE, J. **Regulation of PPARgamma function by TNF-alpha.** Biochem Biophys Res Commun, 2008. p. 405-8.

YESTE, D.; VENDRELL, J.; TOMASINI, R.; BROCH, M.; GUSSINYE, M.; MEGIA, A.; CARRASCOSA, A. **Interleukin-6 in obese children and adolescents with and without glucose intolerance.** Diabetes Care, 2007. p. 1892-4.

YUDKIN, J. S.; JUHAN-VAGUE, I.; HAWE, E.; HUMPHRIES, S. E.; DI MINNO, G.; MARGAGLIONE, M.; TREMOLI, E.; KOOISTRA, T.; MORANGE, P. E.; LUNDMAN, P.; MOHAMED-ALI, V.; HAMSTEN, A. **Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study.** Metabolism, 2004. p. 852-7.

ZERN, T. L.; WOOD, R. J.; GREENE, C.; WEST, K. L.; LIU, Y.; AGGARWAL, D.; SHACHTER, N. S.; FERNANDEZ, M. L. **Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress.** J Nutr, 2005. p. 1911-7.

ZHAO, S.; FERNALD, R. D. **Comprehensive algorithm for quantitative real-time polymerase chain reaction.** J Comput Biol, 2005. p. 1047-64.

ZULET, M. A.; PUCHAU, B.; NAVARRO, C.; MARTI, A.; MARTINEZ, J. A. **[Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies].** Nutr Hosp, 2007. p. 511-27.

ANEXO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-1269

Of. Ref. Nº 019/2011/Comitê de Ética

Viçosa, 25 de março de 2011.

Prezada Professora:

Cientificamos V. S^a. de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 2^a Reunião de 2011, realizada nesta data, analisou e aprovou, sob o aspecto ético, o projeto de pesquisa intitulado *Expressão gênica de adipocinas inflamatórias e dosagens sanguíneas de biomarcadores do estresse oxidativo em adultos jovens saudáveis: possíveis associações com determinantes da síndrome metabólica.*

Atenciosamente,

Professor Ricardo Junqueira Del Carlo
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Vice-Presidente em exercício

Professora
Josefina Bressan
Departamento de Nutrição e Saúde

/rhs.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

PROJETO MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

ENTREVISTA TELEFÔNICA

CÓDIGO

NOME: _____

SEXO 1 Homen 2 Mulher

DATA DE NACIMENTO: ____/____/____

CURSO: _____

TELEFONE DE CONTATO: Res.: _____

Cel.: _____

e-mail: _____

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

	SIM	NÃO
Tem idade compreendida entre 18 e 35 anos?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 Idade: ____ anos
É portador de alguma doença / Infecção Recorrente/ Alergias?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 qual: _____
Faz uso diário de algum medicamento?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 qual: _____ duração: _____
Faz dieta ou participa de algum programa de controle de peso?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 qual: _____ duração: _____
Faz uso de suplementos vitamínicos e/ou minerais?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 qual: _____ duração; _____
Faz uso de algum outro suplemento? (tratamento fitoterápico)	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 qual: _____ duração: _____
Apresentou alguma modificação brusca de peso nos últimos 6 meses?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 quanto: _____ Kg motivo: _____

OBSERVAÇÕES

**1º ENCONTRO**

CÓDIGO

DIA:
HORA:

	SIM	NÃO
Assinar Consentimento Livre Esclarecido (2 vias)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Entrega R72H para preenchimento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Orientações R72H (Kit de Medidas Caseiras)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Entrega da bolsa para coleta das unhas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Entrega das instruções para o 2º ENCONTRO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Marcar 2º ENCONTRO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Dia: ___/___ Hora: _____

DADOS GERAIS E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

	SIM	NÃO
Teve algum processo infeccioso nos últimos 10 dias?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____
É portador de alguma doença / Infecção Recorrente/ Alergias?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____
Faz uso diário de algum medicamento?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Faz dieta ou participa de algum programa de controle de peso?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Faz uso de suplementos vitamínicos e/ou minerais?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Faz uso de algum outro suplemento? (tratamento fitoterápico)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Faz uso de shampoo e/ou loção especial para tratamento capilar?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Compatibiliza estudo e trabalho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> trabalho: _____ horas/semana: _____



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

PROJETO MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

CÓDIGO

Se considera 1 Muito ativo 2 Ativo
 3 Sedentário 4 Muito sedentário

Mora 1 Com seus pais 2 República
 3 Alojamento 4 Outros: _____

DADOS ANTROPOMÉTRICOS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL

C. Braço (cm): _____ _____ _____ <input type="text"/>	C. Cintura (cm): _____ _____ _____ <input type="text"/>	C. Quadril (cm): _____ _____ _____ <input type="text"/>
P. Tricipital (mm): _____ _____ _____ <input type="text"/>	P. Bicipital (mm): _____ _____ _____ <input type="text"/>	P. Subescapular (mm): _____ _____ _____ <input type="text"/>
P. Suprailíaca (mm): _____ _____ _____ <input type="text"/>	Peso (kg): _____ _____ _____ <input type="text"/>	Estatura (cm): _____ _____ _____ <input type="text"/>
% Gordura Corporal: (pregas) _____ _____ <input type="text"/>	Razão Cintura/ Quadril (RCQ) _____ _____ <input type="text"/>	Índice de masa corporal (IMC): _____ _____ <input type="text"/>

OBSERVAÇÕES

**2º ENCONTRO**CÓDIGO

DIA:
HORA:

	SIM	NÃO
Devolução do R72H preenchido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Conferir R72H (Kit de medidas caseiras)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Devolução da bolsa com as unhas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Entrega das instruções para o 3º ENCONTRO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Marcar 3º ENCONTRO (entrega dos informes)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Dia: ___/___ Hora: _____

DATOS GERAIS E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E PARA A COLETA DE SANGUE E REALIZAÇÃO DA BI/

	SIM	NÃO
Está em jejum de 12 horas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bebeu álcool, chá e/ou café nas últimas 24 horas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bebeu água nas últimas 4 horas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fez algum exercício físico no dia anterior?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tem a bexiga vazia?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Usa marcapasos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Usa prótese, pircing ou aparelho dental?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MULHER: Esta menstruada?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Teve algum processo infeccioso nos últimos 10 dias?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____
É portador de alguma doença / Infecção Recorrente/ Alergias?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____
Faz uso diário de algum medicamento?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Faz dieta ou participa de algum programa de controle de peso?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____
Faz uso de suplementos vitamínicos e/ou minerais?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> qual: _____ duração: _____



CÓDIGO

Faz uso de algum outro suplemento?
(tratamento fitoterápico)

1

2

qual: _____

duração: _____

DADOS PRESSÃO ARTERIAL

Pressão Arterial Sistólica: _____ mmHg

Pressão Arterial Diastólica: _____ mmHg

DADOS BIOIMPEDANCIA CORPORAL (BIA)

% de Gordura Corporal: _____

Reactância (Xc): _____

Massa de Gordura Corporal: _____ Kg

Resistência (R): _____

Massa Magra Corporal: _____ Kg

GER: _____

TANITA

Peso: _____ Kg

% de Gordura Corporal: _____

Massa de Gordura Corporal: _____ Kg

Massa Magra Corporal: _____ Kg

GER: _____

METACHECK

Time (min)	RMR (Kcal/day)
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

RMR (Kcal/day): _____

Pred (Kcal/day): _____

% Above/Below: _____% ___Above ___Below

VO2 (ml/min): _____

VO2 (ml/min/kg): _____

FFM: _____ kg

C. CINTURA: _____ cm

COLETA DE SANGUE

2 tubos de EDTA

SIM NÃO

1

2

quantidade: _____

2 tubos de soro

1

2

quantidade: _____

1 tubo de heparina

1

2

quantidade: _____

OBSERVAÇÕES



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

PROJETO MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

3º ENCONTRO (ENTREGA DOS INFORMES NUTRICIONAIS)

CÓDIGO

DIA:
HORA:

CONFERIR	SIM	NÃO
Devolução do R72H preenchido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Conferir R72H (Kit de medidas caseiras)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Devolução da bolsa com as unhas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FINALIZAÇÃO

Entrega do informe nutricional (orientação do voluntário em relação ao seu estado nutricional)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------	--------------------------

OBSERVAÇÕES

CÓDIGO **QUESTIONÁRIO ATIVIDADE FÍSICA**Quanto tempo você dedicou à prática das seguintes atividades no **último ano**? (complete a tabela abaixo)

	Nunca	Minutos/semana			Horas/semana						Meses/ano		
		1-4	5-19	20-59	< 1	1-1,5	2-3	4-6	7-10	≥11	<3	3-6	>6
Andar ou passear fora de casa													
Correr devagar													
Correr mais competitivo ou rápido													
Andar de bicicleta													
Bicicleta ergométrica ou spinning													
Nadar													
Tenis ou outro (raquete ou bastão)													
Futebol													
Equipe (volei, basquete)													
Dança de salão, aeróbica													
Escalada													
Ginástica													
Cuidar do jardim ou piscina													
Judo, Karate ou outras artes marciais													
Outras atividades não mencionadas													

CÓDIGO **QUESTIONÁRIO ATIVIDADE FÍSICA**

Quanto tempo por dia você gasta realizando as seguintes atividades (**DIA TÍPICO DE TRABALHO / DIA DE SEMANA**)
(complete a tabela baixo)

	Nunca	min/dia		horas/dia									
		<30	30-60	1	2	3	4	5	6	7	8	9+	
Assistindo TV													
Sentado na frente do computador													
Dirigindo													
Só sentado													
Dormindo													
Saindo com os amigos													
Indo a pé ao trabalho													
Realizando tarefas domésticas													
Realizando atividades mais intensas													

Quanto tempo por dia você gasta realizando as seguintes atividades (**DIA TÍPICO DE FINAL DE SEMANA**)?
(complete a tabela baixo)

	Nunca	min/dia		horas/dia									
		<30	30-60	1	2	3	4	5	6	7	8	9+	
Assistindo TV													
Sentado na frente do computador													
Dirigindo													
Só sentado													
Dormindo													
Saindo com os amigos													
Indo a pé ao trabalho													
Realizando tarefas domésticas													
Realizando atividades mais intensas													

CÓDIGO **QUESTIONÁRIO TABAGISMO**

- Você já fumou 100 ou mais cigarros na sua vida?
- Não
- Sim e continuo
- Sim, mas já parei

Caso tenha marcado a **2ª Opção (Sim e continuo)** ou **3ª Opção (Sim, mas já parei)** responda:

Quantos cigarros por dia (em média) fumava ou fuma em determinada idade?

Idade	Cigarros/dia						
< 15 anos	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> 1 a 4	<input type="checkbox"/> 5 a 15	<input type="checkbox"/> 15 a 24	<input type="checkbox"/> 25 a 34	<input type="checkbox"/> 35 a 44	<input type="checkbox"/> 45 ou +
15 a 19 anos	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> 1 a 4	<input type="checkbox"/> 5 a 15	<input type="checkbox"/> 15 a 24	<input type="checkbox"/> 25 a 34	<input type="checkbox"/> 35 a 44	<input type="checkbox"/> 45 ou +
20 a 29 anos	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> 1 a 4	<input type="checkbox"/> 5 a 15	<input type="checkbox"/> 15 a 24	<input type="checkbox"/> 25 a 34	<input type="checkbox"/> 35 a 44	<input type="checkbox"/> 45 ou +
30 a 39 anos	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> 1 a 4	<input type="checkbox"/> 5 a 15	<input type="checkbox"/> 15 a 24	<input type="checkbox"/> 25 a 34	<input type="checkbox"/> 35 a 44	<input type="checkbox"/> 45 ou +

Caso tenha marcado a **3ª Opção (Sim, mas já parei)**, responda também:

- Há quanto tempo parou de fumar?
- < 1 ano
- 1 a 2 anos
- 3 a 5 anos
- 6 a 9 anos
- 10 ou + anos



INSTRUÇÕES PARA O PREENCHIMENTO DO REGISTRO DE 72 HORAS E COLETA DAS UNHAS

REGISTRO DE 72 HORAS

Você está recebendo três formulários para registrar todos os alimentos e/ou bebidas consumidos durante o período de 3 dias (72 horas) não consecutivos, sendo 2 dias da semana e um de final de semana (sábado ou domingo);

Indicar as datas e os dias da semana referentes ao seu registro;

O formulário é constituído de três colunas:

1a) Hora: Anotar os horários nos quais foram consumidos todos os alimentos e/ou bebidas relatados;

2a) Alimentos ou Bebida/Característica: Você deve anotar o tipo de alimentos e/ou bebida e todas as características possíveis:

No caso dos produtos industrializados, relate a marca e a quantidade;

No caso de preparações relate o tipo de preparação (cru, cozido, frito, assado, etc.);

Indique se o alimento ou bebida é integral, desnatado, light, diet, sem açúcar, etc.;

Indique se o alimento é pré-preparado (congelados);

3a) Quantidade: Ao anotar as quantidades de alimentos e bebidas procure ser o mais exato possível, relatando as medidas caseiras (Ex.: colher de sopa, copo duplo, copo americano, prato fundo...) e/ou unidades (Ex.: 1 pão, 3 biscoitos água e sal, ½ copo, xícara, prato, etc.) conforme orientações recebidas;

Você não deve mudar os seus hábitos alimentares em função do registro;

Para evitar que se esqueça de registrar algum alimento ou bebidas, você deve anotá-los logo após a ingestão;

Não se esqueça de registrar os alimentos consumidos fora de casa;

Não se esqueça de registrar o que come fora das refeições principais (o que “belisca”). Exemplos: bala, chicletes, chocolate, bombons, salgadinhos, etc.;

Não se esqueça de registrar das bebidas alcoólicas;

Caso adicione açúcar, sal ou azeite aos alimentos ou bebidas, não se esqueça de registrar a quantidade

COLETA DAS UNHAS

Você está recebendo uma embalagem plástica, na qual deverá colocar as unhas coletadas;

As unhas dos pés e das mãos, previamente lavadas com água e sabão, devam ser cortadas;

Colocadas na embalagem, que em seguida deve ser fechada e entregue no próximo encontro;

No caso das mulheres, solicita-se que o esmalte seja retirado antes da coleta das unhas.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. **Título do Estudo:** Avaliação do estado oxidativo e inflamatório de uma população universitária: possível associação com o desenvolvimento de síndrome metabólica
2. **Local de Execução:** Universidade Federal de Viçosa - UFV, Departamento de Nutrição e Saúde - DNS, Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal – LAMECC
3. **Pesquisadores:**
Prof^ª Josefina Bressan, D.S. , DNS, UFV
Prof^ª Neuza Brunoro Costa, D.S. , DNS, UFV
Prof^ª Rita de Cássia G Alfenas, D.S. , DNS, UFV
Ana Carolina Pinheiro Volp, M.S., Doutoranda, DTA, UFV
Kiriaque Barra Ferreira Barbosa, M.S., Doutoranda, DTA, UFV

Contatos:

Telefones (24 Horas): 031 8783-1841/031 9775-6960

Telefone LAMECC (8:00 às 12:00 e 14:00 as 18:00): 031 38993388

email: projetonutricao@yahoo.com.br
4. **Objetivo do Estudo:** Investigar a estado inflamatório e de estresse oxidativo e associação com o desenvolvimento da síndrome metabólica em população universitária
5. **Critérios de Inclusão:**
 - Ter idade compreendida entre 18 e 35 anos
 - Não estar enfermo
 - Ser aluno de graduação ou pós-graduação da UFV
 - Não estar fazendo dieta ou participando de programa para controle de peso
6. **Critério de Exclusão:** Não cumprimento de algum dos critérios estabelecidos no item 5.
7. **Descrição do Estudo:**
 - Primeira Etapa: Aplicação de questionários para obtenção de informações relacionadas à alimentação e ao estilo de vida. Avaliações antropométricas não invasivas (peso, altura e circunferências). Será disponibilizada uma embalagem plástica para a coleta de unhas dos pés e das mãos, previamente limpas, que deverão ser entregues na próxima etapa.
 - Segunda Etapa: Avaliação da composição corporal por bioimpedância elétrica (método não invasivo, indolor, baseado na passagem de corrente elétrica, através do corpo, de muito baixa voltagem, a qual não causará nenhum dano à saúde). Aferição da pressão arterial. Extração de sangue.
 - Terceira Etapa: Orientações em relação aos resultados obtidos
8. **Benefícios:** Os participantes poderão conhecer e receber orientações quanto ao estado nutricional, antropometria e composição corporal, adequação do consumo alimentar e condições gerais de saúde: pressão arterial, níveis de colesterol e glicemia.

9. **Riscos:** O estudo não oferece riscos. Os equipamentos e materiais usados em todos os procedimentos serão estéreis e/ou descartáveis. Os participantes não serão submetidos a nenhum tipo de intervenção que possa causar danos à saúde, visto que todos os procedimentos adotados são inócuos e têm respaldo na literatura científica.
10. **Privacidade:** Os resultados do estudo serão publicados, sem citação dos nomes envolvidos, havendo total proteção à participação dos indivíduos. Os resultados poderão estar disponíveis para a Agência Financiadora da Pesquisa, observando a privacidade dos nomes envolvidos.

- Eu entendo que minha participação é voluntária e posso recusar-me a participar ou posso interromper minha participação em qualquer hora, sem penalização.
- Minha participação neste estudo não implica em contrato de trabalho.
- Fui comunicado da inocuidade de todos os procedimentos realizados neste estudo, assim qualquer enfermidade que surja durante o estudo, deverá ser tratada por conta própria, ou seja, o estudo que participo não assume nenhum compromisso no tratamento da mesma. Nestes casos, deverei comunicar à equipe do projeto todas as informações referentes à enfermidade e o seu tratamento e não poderei mais participar do estudo
- Eu não receberei qualquer compensação financeira para participar do estudo.
- Se existir alguma intercorrência decorrente da pesquisa, poderei me comunicar com os pesquisadores através dos telefones: 031 8783-1841 ou 031 9775-6960, em qualquer horário do dia ou da noite.
- Fui esclarecido em relação a todos os procedimentos que serão realizados neste estudo. Minhas dúvidas foram respondidas. Eu entendo que perguntas adicionais relacionadas ao estudo devem ser dirigidas aos investigadores listados acima. Eu entendo que, se tenho dúvidas sobre direitos dos voluntários, posso contatar o Comitê de Ética da UFV. Eu concordo com os termos acima e acuso o recebimento de uma cópia deste consentimento.

Viçosa, ____ de _____ de 2008.

Voluntário

Testemunha

Pesquisador