

**Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Faculdade de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular**

Vera Regina Andrade Vargas

Influência do polimorfismo 48867A>C (Asp358Ala) do gene do receptor da interleucina 6 na resposta a uma intervenção para modificação do estilo de vida em indivíduos com síndrome metabólica

Porto Alegre, 2012

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Faculdade de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

VERA REGINA ANDRADE VARGAS

Influência do polimorfismo 48867A>C (Asp358Ala) do gene do receptor da interleucina 6 na resposta a uma intervenção para modificação do estilo de vida em indivíduos com síndrome metabólica

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Biologia Celular e Molecular
para a obtenção do título de Doutor

Orientador: Prof. Dr. Sandro L. Bonatto
Co-orientadora: Prof^a. Dr. Virgínia Minghelli Schmitt

Porto Alegre, 2012

DEDICATÓRIA

Para as pessoas mais importantes da minha
vida, meus filhos Fabiane, Rômulo e
Bethânia pelo amor, apoio e confiança
dedicados a mim.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Professores Sandro Bonatto e Virgínia Minghelli Schmitt pelas orientações, pelo apoio, pela compreensão e pela amizade.

Aos Professores Fabricio Macagnan e Ana Maria Feoli, coordenadores do estudo MERC, pelas revisões nas análises dos dados.

A Professora Clarice Sampaio Alho, pelas importantes contribuições.

Ao Professor João Fortes pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Farmacêutica Nayane dos Santos, que era acadêmica bolsista do projeto, pelas análises genéticas.

Aos meus colegas da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - Campus de Santo Ângelo pelo apoio, em especial aos colegas Cristiane de P. Kratz e Tiago B. de Oliveira.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

A todos os amigos e familiares que de alguma forma me estimularam e ajudaram em especial a minha irmã Rachel Medeiros Andrade.

Aos Professores da Comissão Examinadora.

E aos meus três filhos, grandes amigos e companheiros, que muito me apoiaram nessa trajetória.

Ao CNPq e à PUCRS, pelos auxílios concedidos, sem os quais não poderia ter realizado esse trabalho.

E aos participantes do estudo MERC, sem os quais não teria sido possível realizar esse trabalho.

RESUMO

A síndrome metabólica (SM) está associada a um risco aumentado de incidência de diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e resistência à insulina, sendo considerada uma importante causa de mortalidade e morbidade por doença cardiovascular. Segundo orientações da *National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP III) o diagnóstico dessa síndrome acontece quando um indivíduo apresenta três ou mais fatores de risco entre obesidade central; elevados níveis de glicemia, de triglicerídeos e de pressão arterial e baixos níveis de HDL-colesterol. Outros fatores que também têm sido associados à SM, são inflamação, fatores genéticos e ambientais. Entre os fatores genéticos investigados como possível fator de risco estão alguns polimorfismos identificados no gene do receptor da interleucina 6, já associados a dislipidemias, obesidade e resistência à insulina. O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta de indivíduos com síndrome metabólica (SM) a uma intervenção de modificação do estilo e a influência do polimorfismo 48867A> C do *IL6R* (rs2228145) nesta resposta. Setenta e sete indivíduos sedentários, com pelo menos três critérios para síndrome metabólica foram incluídos e divididos aleatoriamente em dois grupos: IN, intervenção nutricional; INE, intervenção nutricional e prática de exercícios. Os parâmetros foram analisados antes e após três meses de intervenção. Quando foi comparado o efeito das diferentes intervenções de acordo com o genótipo, foi observada uma diminuição dos níveis de triglicerídeos (significativa para o genótipo AA, mas para o genótipo AC somente no grupo INE); uma redução significativa do nível de glicose em jejum foi observada no genótipo AA, independente do grupo de intervenção, mas para o genótipo AC, somente no IN grupo; a pressão arterial sistólica (PAS) mostrou redução significativa nos genótipos AA e AC. Quando valor médio dos parâmetros foi analisado de acordo com os genótipos (isolados e em combinação) antes e após a intervenção, os níveis médios de triglicerídeos diferiram significativamente após a intervenção entre os genótipos e no genótipo AA comparado com AC+CC; a PAS mostrou diferença antes da intervenção para o genótipo AA e após a intervenção, entre os genótipos e para homozigotos A. A análise do número de indivíduos com parâmetros alterados revelou diferença estatisticamente significativa para o genótipo AA, antes da intervenção, para triglicerídeos e pressão arterial diastólica (PAD). Após a intervenção, foi observada significância para triglicerídeos, PAS e PAD entre os genótipos e para o

genótipo AA quando comparado com AC+CC. Em conclusão, nossos resultados sugerem que a resposta à intervenção baseada no controle nutricional e na prática de exercícios pode beneficiar, principalmente, os indivíduos homozigotos AA do polimorfismo 48867A> C do gene *IL6R*.

Palavras-chave: Intervenção Nutricional, Exercício, Obesidade, Fator de Risco Genético

ABSTRACT

Metabolic syndrome (MetS) is associated with increased risk of incidence type 2 diabetes, cardiovascular disease and insulin resistance and is considered an important cause of mortality and morbidity from cardiovascular disease. According to guidelines from the National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) diagnosis of this syndrome occurs when a person has three or more risk factors between central obesity, hyperglycemia, hypertriglyceridemia, high blood pressure and low HDL-cholesterol. Others risk factors also been associated with MetS are inflammation, genetic and environmental factors. Among the genetic factors investigated as possible risk factors are identified some polymorphisms in the gene interleukin 6 receptor, already associated with dyslipidemia, obesity and insulin resistance. The objective of this study was to evaluate the response of individuals with Metabolic Syndrome (MetS) to a lifestyle modification intervention and the influence of polymorphism 48867A>C of *IL6R* (rs2228145) in this response. Seventy-seven sedentary individuals with at least three criteria for MetS were included and randomly divided into two groups: NI, nutritional intervention; NIE, nutritional intervention and exercise practice. Parameters were analyzed before and after three months of intervention. When comparing the effect of different intervention according to genotype, a decrease in triglyceride levels was observed (significant for AA genotype; for AC genotype only in NIE group); a significant reduction of fasting glucose level was observed in AA genotype, independent of intervention group, but for AC genotype, only in NI group; systolic blood pressure (SBP) showed significant reduction for AA and AC genotype. When analyzing parameters mean value according to genotype (isolated and in combination) before and after intervention, triglyceride mean levels differed significantly after intervention among genotypes and for AA compared to AC+CC; SBP showed difference before intervention for AA genotype and after intervention, among genotypes and for homozygous A. The analysis of number of individuals with altered parameters revealed statistically significant difference for AA genotype before intervention for triglycerides and diastolic blood pressure (DBP). After intervention, significance was observed for triglycerides, SBP and DBP among genotypes and for AA compared to AC+CC. In conclusion, our results suggest that

response to intervention based on nutritional control and exercise practice could benefit mainly individuals homozygous AA of *IL6R* gene 48867A>C polymorphism.

Keywords: Nutritional intervention; Exercise; Obesity; Genetic risk factor

LISTA DE ABREVIATURAS

C/Q	Relação cintura quadril
CA	Circunferência abdominal.(<i>abdominal circumference or waist circumference</i>)
DM1/DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1/ Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
HDL-c	HDL-Colesterol (do inglês: <i>High density lipoprotein cholesterol</i>)
I-DBSM	I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica
IDF	<i>Internacional Diabetes Federation</i>
IFG	Glicemia de jejum alterada (<i>impaired fasting glucose</i>)
IGT	Intolerância à glicose alterada (<i>impaired glucose tolerance</i>)
IL-6	Interleucina-6
IL-6R	Receptor da Interleucina-6
IMC	Índice de massa corpórea
IN	Intervenção Nutricional
INE	Intervenção Nutricional e Exercício
MERC	Efeito da modificação do estilo de vida sobre os fatores de risco cardiovascular que compõem os critérios de diagnóstico da síndrome metabólica, marcadores inflamatórios e balanço autonômico: Um estudo randomizado
NCEP-ATP III	<i>National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III report</i>
RI	Resistência à insulina
SM	Síndrome metabólica
TG	Triglicerídeos

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE ABREVIACÕES	vii
CAPÍTULO 1	1
1.1 INTRODUÇÃO	2
1.1.1 SÍNDROME METABÓLICA	2
1.1.2 COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA	4
1.1.3 IL-6 e IL-6R	6
1.1.4 ESTUDO MULTIDISCIPLINAR MERC	8
1.2 OBJETIVOS	10
1.2.1 OBJETIVO GERAL	10
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
CAPÍTULO 2	11
ARTIGO: Influence of 48867A>C (Asp358Ala) polymorphism of the interleukin 6 receptor on the response to a lifestyle modification intervention in individuals with metabolic syndrome	12
CAPÍTULO 3	32
CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS	35

Sempre começando

De tudo, ficaram três coisas.

A certeza de que estamos sempre começando.

A certeza de que precisamos continuar.

A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.

Portanto, devemos fazer da interrupção um caminho novo.

Da queda, um passo de dança.

Do medo, uma escada.

Do sonho, uma ponte.

Da procura, um encontro.

Fernando Pessoa

Capítulo 1

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 SÍNDROME METABÓLICA

1.1.2 COMPONENTES DA SINDROME METABOLICA

1.1.3 IL-6 e IL-6R

1.1.4 ESTUDO MULTIDISCIPLINAR MERC

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 SÍNDROME METABÓLICA

A síndrome metabólica (SM) é uma constelação de fatores de risco metabólico inter-relacionados que parecem promover o desenvolvimento de doença aterosclerótica e cardiovascular. Pacientes com síndrome metabólica têm risco aumentado de desenvolver diabetes *mellitus* do tipo 2 (LAKKA et al., 2002; ESPOSITO et al., 2004; GRUNDY et al., 2005; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005; DUVNJAK & DUVNJAK, 2009).

Várias definições têm sido propostas para a SM (Quadro 1). A Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs como critérios de diagnóstico para a SM a resistência à insulina, definida como intolerância a glicose ou glicemia de jejum aumentada, e mais dois fatores de risco que incluem obesidade, hipertensão, níveis altos de triglicerídeos, níveis baixos de HDL-colesterol ou microalbuminúria (ALBERTI, ZIMMET, 1998; WHO, 1999; LAKKA et al., 2002; GRUNDY et al., 2005; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005). Mais recentemente, o *Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III - ATP III)* sugeriu que para que uma pessoa possa ser considerada portadora da SM ela deve ter pelo menos três das desordens apresentadas no quadro 1 (NCEP ATP-III, 2002; GRUNDY et al., 2005; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005). Para a *Internacional Diabetes Federation (IDF)*, o critério recomendado é a obesidade abdominal ou maior quantidade de gordura visceral, com circunferência da cintura maior que 94 cm para homens e maior que 80 cm para mulheres, e mais dois dos critérios (IDF, 2006). A IDF recomenda que sejam consideradas diferenças étnicas na correlação entre obesidade abdominal e SM. Também definiu para a glicemia de jejum uma taxa de 100 mg/dL (IDF, 2006; GRUNDY et al., 2005; CORNIER et al., 2008). A Diretriz Brasileira de Síndrome Metabólica (IDBSM) utiliza os critérios da NECP ATP-III, sendo que para a glicemia de jejum é recomendado o valor adotado pela IDF, ou seja, maior ou igual a 100 mg/dL (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005).

Quadro 1: Definições da Síndrome Metabólica conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS), o “*National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III*” (NCEP ATP III), a *Internacional Diabetes Federation* (IDF) e a I Diretriz Brasileira de Síndrome Metabólica (IDBSM).

	OMS	NCEP ATP III	IDF	IDBSM
RI	IGT, IFG, DM2, ou baixa resistência a insulina mais qualquer 2 das seguintes características	Não, mas qualquer 3 das 5 seguinte características	--	Não, mas qualquer 3 das 5 seguinte características
Peso corporal	Homem: C/Q > 0,90; Mulher: C/Q > 0,80; e/ou IMC > 30 kg/m ²	Homens: CA > 102 cm Mulheres: CA > 88 cm	CA aumentada (específico da população) + qualquer 2 das seguintes características	Homem: CA > 102 cm Mulher: CA > 88 cm
TG	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL,	≥ 150 mg/dL,	≥ 150 mg/dL, uso de hipolipemiantes
HDL-c	Homem < 35 mg/dL Mulher < 39 mg/dl	Homem < 40 mg/dL Mulher < 50 mg/dL	Homem < 40 mg/dL Mulher < 50 mg/dL	Homem < 40 mg/dL Mulher < 50 mg/dL
PA	≥ 140/90 mmHg	≥ 130/85 mmHg	≥ 130/85 mmHg ou hipertensão	≥ 130/85 mmHg uso de anti-hipertensivo
IGT	IGT, IFG, ou T2DM (mas não a diabetes)	≥ 110 mg/dL (inclui diabetes)	≥ 100 mg/dL (inclui diabetes)	≥ 100 mg/dL (inclui diabetes)
Outros	Microalbuminúria ≥ 20 µg/min	--	--	---

RI = resistência a insulina; C/Q = relação cintura quadril; TG = triglicérides; PA = pressão arterial; IGT = tolerância à glicose diminuída ou glicemia de jejum alterada (*impaired glucose tolerance*); IFG = glicemia de jejum alterada (*impaired fasting glucose*); HDL-c = lipoproteína de alta densidade colesterol (*high density lipoprotein - cholesterol*); IMC = Índice de massa corpórea; CA = Circunferência abdominal.

Outros componentes considerados como risco para SM incluem fatores inflamatórios, genéticos e ambientais. Como marcadores associados à inflamação podem ser citados as citocinas, pró e anti-inflamatórias; como fatores genéticos, têm sido estudados diversos polimorfismos de genes considerados como fator de risco para as condições observadas na SM; e entre os fatores ambientais, estão a dieta alimentar *versus* maus hábitos alimentares e a prática de exercícios físicos *versus* sedentarismo (REXRODE et al., 2003; FORD, GILES, DIETZ, 2003; SUTHERLAND, MCKINLEY, ECKEL, 2004; GRUNDY et al., 2005; PETERSEN, PEDERSEN, 2005; PAOLETTI, BOLEGO, CIGNARELLA, 2006; WU, WU, 2006; VOLP et al., 2008).

A SM ocorre na população em geral, sendo mais frequente em homens do que em mulheres. A sua prevalência varia entre diferentes populações dependendo da idade, gênero, grupos étnicos e tipo de definição adotada (QIAO et al., 2007; MESHKANI et al., 2009). Balkau et al. estudaram a prevalência da SM em algumas populações europeias e observaram uma frequência de SM, com critérios para SM definidos pela OMS, variando entre 7% e 36% para homens de 40-55 anos e para mulheres da mesma idade entre 5% e 22% (BALKAU et al., 2002). Nos Estados Unidos, conforme o NCEP ATP III, a prevalência relatada de SM foi de entre 21,8% e 23,7%. Para pessoas com idade entre 20-29 anos foi de 6,7%, 43,5% para participantes com idades de 60-69 e 42% para idade de 70 anos ou mais, correspondendo a aproximadamente 47 milhões de indivíduos adultos (> 20 anos de idade) (FORD, GILES, DIETZ, 2002; MEIGS, 2002). Estudos realizados seguindo os critérios do NCEP ATP III revelaram que a prevalência de SM varia de 5,6%, entre mulheres Chinesas (KO et al., 2005), até 52,8%, em homens Maori na Nova Zelândia (SIMMONS, THOMPSON, 2004). No Brasil, não foram encontrados estudos sobre a prevalência da SM com dados representativos da população brasileira (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005).

1.1.2 COMPONENTES DA SINDROME METABÓLICA

O tecido adiposo é essencial para a homeostasia humana, servindo como fonte de energia durante o jejum e fornecendo isolamento e regulação da temperatura. Atualmente, o tecido adiposo tem sido reconhecido, também, como um órgão secretor de fatores pró e anti-inflamatórios e outras substâncias (KERSHAW, FLIER, 2004, CASSIS et al., 2008).

Porém, a deposição de tecido adiposo na região abdominal tem sido associada a distúrbios do metabolismo da glicose e de lipídios. A obesidade abdominal ou central tem sido identificada como um fator de risco importante para diabetes, dislipidemias e doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão arterial, sendo desta forma associada a várias doenças crônicas como a SM (MARTINS, MARINHO, 2003; SAMPAIO et al., 2007; REAVEN, 2007; PETRIBÚ et al., 2011).

Os lipídios, biologicamente mais relevantes, são os fosfolipídios, o colesterol, os triglicerídeos (TG) e os ácidos graxos. Os fosfolipídios formam a estrutura básica das

membranas celulares. O colesterol é precursor dos hormônios esteroides, dos ácidos biliares e da vitamina D. Os TG são formados a partir de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol e constituem uma das formas de armazenamento energético mais importante no organismo, depositados nos tecidos adiposo e muscular (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007). As dislipidemias correspondem a anormalidades quantitativas e qualitativas de TG e do colesterol total e suas frações. Elevados níveis plasmáticos de TG tem sido implicado como fator de risco para doença cardiovascular. As alterações lipídicas que caracterizam a SM são hipertrigliceridemia e diminuição das lipoproteínas de alta densidade colesterol (HDL-colesterol) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007; CHATTERJEE, SPARKS, 2011).

A hipertensão arterial sistêmica é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados da pressão arterial. Associa-se frequentemente a alterações de órgãos, como coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos, e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não fatais (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). A hipertensão arterial é um importante componente da SM, que ocorre com maior prevalência na população de obesos e diabéticos tipo 2, constituindo a principal causa da mortalidade cardiovascular precoce em todo o mundo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005).

Diabetes *mellitus* (DM) é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia crônica, com distúrbios no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, associada a disfunções e insuficiência de vários órgãos, no qual fatores genéticos e ambientais estão associados. Essa doença surge quando a secreção de insulina, a partir das células beta do pâncreas, não consegue manter os níveis de glicose normais no sangue, ou quando as células musculares não podem utilizar a insulina, ocorrendo uma resistência à insulina (ALBERTI, ZIMMET, 1998; WHITE, 2002; BRASIL, 2006). Existem três tipos de diabetes: a diabetes *mellitus* do tipo 1 (DM1 - também conhecida como diabetes *mellitus* insulino dependente ou diabetes juvenil), diabetes *mellitus* do tipo 2 (DM2 - antes referida como diabetes *mellitus* não-insulino dependente ou diabetes do adulto) e a diabetes gestacional (ALBERTI, ZIMMET, 1998; BRASIL, 2006; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2006).

A DM2 é a forma mais comum, que surge quando falta a secreção de insulina pelas células pancreáticas para compensar a resistência periférica à insulina (WHITE, 2002). Pesquisas sugerem que a DM2 começa com a resistência à insulina no músculo esquelético. Além disso, a DM2 possui uma ampla constelação de fenótipos, tais como hiperlipidemia, obesidade central e hipertensão arterial. A hiperglicemia de jejum é considerada como fator de risco para a SM, aumentando o risco para desenvolver o diabetes e doenças cardiovasculares (GRUNDY et al., 2005; BRASIL, 2006; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2006).

A resistência à insulina (RI) é definida como a ineficiência da insulina plasmática, nas concentrações usuais, de produzir adequada captação periférica da glicose, suprimir a gliconeogênese hepática e inibir a produção de lipoproteína de baixa densidade (CHIARELLI F, MARCOVECCHIO, 2008; MEDEIROS et al., 2011; MADEIRA et al., 2008). Atualmente, está bem estabelecida a relação entre RI e obesidade central, intolerância à glicose, diabetes tipo 2, hipertensão arterial e dislipidemia, todos esses componentes da SM (CARNETHON et al., 2003; RIBEIRO FILHO et al., 2006; CHIARELLI, MARCOVECCHIO, 2008; MEDEIROS et al., 2011).

A SM também tem sido associada a um estado inflamatório crônico, e diversas citocinas pró-inflamatórias tem sido associadas a essa síndrome (SUTHERLAND, MCKINLEY, ECKEL, 2004; FALOIA et al., 2012). A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina com ação pró e anti-inflamatória, que age na maturação de células B. Essa citocina é secretada por vários tipos de células, entre elas: células endoteliais, fibroblastos, monócitos e macrófagos, células adiposas e células musculares lisas (REXRODE et al., 2003; WOLFORD et al., 2003; ESTEVE et al., 2006). Aproximadamente, 1/3 da IL-6 detectada no plasma é atribuída à produção no tecido adiposo branco (GALIC, OAKHILL, STEINBERG, 2010).

1.1.3 IL-6 e IL-6R

A ação da IL-6 ao nível tecidual acontece por meio da ligação ao receptor específico, receptor da IL-6 (IL-6R), que consiste de um complexo composto por duas subunidades: uma glicoproteína de 80 kDa (IL-6R), que se liga diretamente à IL-6, e

uma glicoproteína de 130 kDa (gp130), que quando associadas ativam uma cascata de sinalização intracelular, levando à resposta mediada pela IL-6 (JONES et al., 2001; HEINRICH et al., 2003)

O gene que codifica o receptor da interleucina-6 (*IL-6R*) está localizado no cromossomo 1, locus q21 (GALICIA et al., 2004; WANG et al., 2004). Esse receptor é expresso em hepatócitos, neutrófilos, monócitos/macrófagos e em alguns linfócitos, mediando uma sinalização direta. No entanto, o efeito da ativação da IL-6 também pode ser observado em muitas outras células por um mecanismo conhecido como “trans-sinalização”, que depende do IL-6R solúvel (sIL-6R) (JONES et al., 2001; JONES & ROSE-JOHN, 2002; KALLEN, 2002). Essa forma solúvel se liga à IL-6 e forma o complexo IL-6/sIL-6R, que potencializa os efeitos da IL-6. A formação deste complexo pode também prolongar a meia vida da IL-6 no plasma, além de ativar as células que não expressam o receptor de membrana (IL-6R) por meio da associação com a gp130 expressa nestas células (JONES & ROSE-JOHN, 2002).

Níveis elevados de IL-6 estão relacionados com obesidade, com resistência à insulina associada à obesidade e predizem o desenvolvimento da DM2 mediado, em parte, pela obesidade, sugerindo que o aumento nos níveis de IL-6 está relacionado com distúrbios metabólicos (FRIED, BUNKIN, GREENBERG, 1998; BASTARD et al. 2000; PRADHAN et al., 2001). Da mesma forma, vários polimorfismos identificados no gene *IL-6* têm sido associados com dislipidemias, obesidade, resistência à insulina e SM. O polimorfismo em um gene promotor *IL-6* foi associado com obesidade em homens franco-canadenses por Berthier et al. em 2003. A associação do polimorfismo 48867A>C do *IL-6R*, que leva a substituição de Asp por Ala, com obesidade foi descrita pela primeira vez em índios Pima, nos EUA, por Wolford et al. (2003), sugerindo que variantes deste gene poderiam desempenhar um papel na suscetibilidade à obesidade. Esse estudo mostrou que indivíduos não diabéticos que possuem o alelo Asp apresentaram maior índice de massa corporal (IMC) médio em relação aos portadores do alelo Ala, que a presença do alelo Asp poderia ser considerada um fator de risco para SM e que haveria uma associação desse polimorfismo com diabetes tipo 2 em populações caucasianas (WOLFORD et al., 2003; HAMID et al., 2004; ESTEVE et al., 2006; SONG et al., 2007).

O polimorfismo 48867A>C (rs2228145; Asp358Ala), objeto deste estudo, está localizado no exon 9 do gene, se caracteriza como uma substituição de um único

nucleotídeo (SNP - *single nucleotide polymorphism*), a substituição da desoxiadenosina na posição 48867 do DNA por uma desoxicitidina, que resulta na substituição do ácido aspártico na posição 358 da proteína por uma alanina (WANG et al., 2004).

1.1.4 ESTUDO MULTIDISCIPLINAR MERC

Desde o ano de 2006, vem sendo desenvolvido o projeto “Efeito da modificação do estilo de vida sobre os fatores de risco cardiovascular que compõem os critérios de diagnóstico da síndrome metabólica, marcadores inflamatórios e balanço autonômico: Um estudo randomizado (MERC)”, multidisciplinar, que envolve as Faculdades de Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia (FAENFI), Farmácia (FFARM) e Psicologia (FPSI) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da modificação do estilo de vida em indivíduos com SM, por meio de intervenção nutricional supervisionada associada ou não à prática regular de exercícios físicos, sobre os fatores de risco cardiovascular que compõem os critérios de diagnóstico da SM.

Os participantes foram recrutados através da mídia (jornais, radio), e selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: homens e mulheres entre 30 e 59 anos de idade com três (03) ou mais dos seguintes achados (Segundo a I Diretriz Brasileira para Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica): a) circunferência abdominal: > 88 cm para mulheres e > 102 cm para homens; b) pressão arterial: sistólica \geq 130 mmHg e diastólica \geq 85 mmHg; c) glicose de jejum: \geq 100 mg/dL; d) triglicérides: \geq 150 mg/dL; e) HDL-colesterol: < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005). Foram excluídos do estudo os indivíduos que apresentaram uma (01) ou mais das seguintes situações: a) apresentar contra-indicação absoluta para atividade física por problemas músculo-esqueléticos, neurológicos, vasculares (claudicação intermitente), pulmonares e cardíacos; b) uso de hipoglicemiantes orais; c) uso de hipolipemiantes; d) praticar atividade física regular (30min duas ou mais vezes por semana); e) difícil contato e incapacidade de retorno e acompanhamento.

Os participantes foram randomizados em dois grupos: i) grupo intervenção nutricional (IN): intervenção nutricional isoladamente; ii) grupo intervenção nutricional

+ exercício (INE): intervenção nutricional associada a um programa de exercício físico. As intervenções tiveram duração de três meses.

A intervenção nutricional consistiu de um plano alimentar, entregue aos participantes na semana seguinte à primeira consulta e de um acompanhamento quinzenal. O plano alimentar foi baseado nas recomendações da I Diretriz Brasileira para o Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005). A composição do plano alimentar recomendada para a SM foi prevista com calorias totais para reduzir o peso em 5% a 10%, e consistiu de: carboidratos (50-60% das calorias totais, com ênfase em carboidratos complexos); fibras (20-30 g/dia); gordura total (25%-35% das calorias totais); ácidos graxos saturados (< 10% das calorias totais); ácidos graxos poli-insaturados (até 10 das calorias totais); ácidos graxos monoinsaturados (até 20% das calorias totais); colesterol (< 300mg/dia); proteína (0,8g a 1,0g/kg peso atual/dia ou 15%) e micronutrientes, (conforme recomendado pela Ingestão Diária Recomendada – *Dietary Reference Intakes* - DRI, com ênfase nos antioxidantes) (INSTITUTE OF MEDICINE, 1999-2001). A avaliação nutricional foi realizada no início e ao final de três meses de acompanhamento com anamnese alimentar e avaliação antropométrica.

A atividade física foi realizada em esteira (sem inclinação) por 30 minutos contínuos, três vezes por semana, com uma intensidade de 60% a 70% da FC de reserva conforme preconiza a I Diretriz Brasileira para Diagnóstico e Tratamento de Síndrome Metabólica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2005). Foram acompanhados e registrados os parâmetros antropométricos peso corporal, altura, medida das dobras cutâneas e circunferência abdominal antes e após os três meses de intervenção.

Para avaliação de diversos parâmetros bioquímicos, incluindo os que definem a SM, foram realizadas duas coletas de sangue, uma antes do início da intervenção (pré) e uma após os três meses de intervenção (pós). As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas da PUCRS. Para as análises de polimorfismo genético, foi realizada coleta de sangue com anticoagulante, e o DNA foi extraído e analisado no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia da PUCRS.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta à intervenção para mudança de estilo de vida em indivíduos com síndrome metabólica e investigar a influência do polimorfismo 48867A>C (Asp358Ala) do gene *IL-6R* sobre essa resposta.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a resposta à modificação de estilo de vida através da análise dos parâmetros bioquímicos e antropométricos que são critérios de diagnóstico de SM, antes e após as intervenções;
- Avaliar o efeito da intervenção nutricional isolada sobre os critérios de SM;
- Avaliar o efeito da intervenção nutricional associada à prática de exercício físico sobre os critérios de SM;
- Verificar se o polimorfismo 48867A>C do gene *IL-6R* influencia na resposta às intervenções para modificação de estilo de vida do estudo.

Capítulo 2

ARTIGO CIENTÍFICO

Influence of 48867A>C (Asp358Ala) polymorphism of the interleukin 6 receptor on the response to a lifestyle modification intervention in individuals with metabolic syndrome

Submetido à Revista Genetics and Molecular Research (GMR)

Influence of 48867A>C (Asp358Ala) polymorphism of the interleukin 6 receptor on the response to a lifestyle modification intervention in individuals with metabolic syndrome

V.R.A. Vargas^{1,2,3}, S.L. Bonatto¹, F.E. Macagnan⁴, A.M.P. Feoli⁴, C.S. Alho¹, N.D.V. Santos³ and V.M. Schmitt³

- 1) Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil
- 2) Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Santo Ângelo, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil
- 3) Laboratório de Biologia Molecular, Faculdade de Farmácia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil
- 4) Faculdade de Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Corresponding author: Virginia Minghelli Schmitt

vmschmitt@pucrs.br

Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 12

Faculdade de Farmácia

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

CEP 90619-900

Tel. (51) 3320-3512 - Fax (51) 3320-3612

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the response of individuals with Metabolic Syndrome (MetS) to a lifestyle modification intervention and the influence of polymorphism 48867A>C of *IL6R* (rs2228145) in this response. Seventy-seven sedentary individuals with at least three criteria for MetS were included and randomly divided into two groups: NI, nutritional intervention; NIE, nutritional intervention and exercise practice. Parameters were analyzed before and after three months of intervention. When comparing the effect of different intervention according to genotype, a decrease in triglyceride levels was observed (significant for AA genotype; for AC genotype only in NIE group); a significant reduction of fasting glucose level was observed in AA genotype, independent of intervention group, but for AC genotype, only in NI group; systolic blood pressure (SBP) showed significant reduction for AA and AC genotype. When analyzing parameters mean value according to genotype (isolated and in combination) before and after intervention, triglyceride mean levels differed significantly after intervention among genotypes and for AA compared to AC+CC; SBP showed difference before intervention for AA genotype and after intervention, among genotypes and for homozygous A. The analysis of number of individuals with altered parameters revealed statistically significant difference for AA genotype before intervention for triglycerides and diastolic blood pressure (DBP). After intervention, significance was observed for triglycerides, SBP and DBP among genotypes and for AA compared to AC+CC. In conclusion, our results suggest that response to intervention based on nutritional control and exercise practice could benefit mainly individuals homozygous AA of *IL6R* gene 48867A>C polymorphism.

Keywords: Nutritional intervention; Exercise; Obesity; Genetic risk factor

INTRODUCTION

Metabolic Syndrome (MetS) is a condition characterized by a clustering of metabolic risk factors including abdominal obesity, high blood pressure, hypertriglyceridemia, low levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and hyperglycemia. The presence of MetS increases the risk for developing cardiovascular disease, diabetes, disability, and mortality (Lakka et al., 2002; Cornier et al., 2008; Duvnjak and Duvnjak, 2009; Meshkani and Adeli, 2009; Yamada et al., 2009; Gupta and Gupta, 2010; Akintunde et al., 2011). MetS development has been attributed to environmental factors (diet *versus* bad food habits; physical activity *versus* sedentary lifestyle), as well as to genetic polymorphisms known to be risk factors for cardiovascular disease, diabetes or inflammatory conditions (Lakka et al., 2002; Ordovas and Shen, 2008; Meshkani and Adeli, 2009; Yamada et al., 2009; Dalle Grave et al., 2010; Monteiro and Azevedo, 2010).

Interleukin 6 (IL-6) is a mediator cytokine for inflammatory process and has been associated to dislipidemia, type 2 diabetes (T2DM) and MetS (Fernández-Real and Ricart, 2003; Wolford et al., 2003; Wang et al., 2005). IL-6 binds to its receptor, IL6R, initiating an intracellular signaling cascade which leads to an inflammatory state. IL6R has two subunits: the transmembrane 130kD (IL-6ST, IL6R β or gp130), responsible for signal transduction with consequent activation of the inflammatory state, and the 80kDa (IL6R α or gp80), to which IL-6 attaches (Fernández-Real and Ricart, 2003; Wang et al., 2005). A soluble and biologically active form of IL6R (sIL6R) is present in the plasma, corresponding to the extracellular portion (gp80), produced by differential splicing or by proteolytic cleavage of IL6R (shedding) (Galicía et al., 2004; Esteve et al., 2006).

When IL-6 binds to sIL6R, this complex can bind to the gp130 present at surface of cells that do not have IL-6 receptor (and so would not respond to the inflammatory stimuli of IL-6), leading to the dimerization of gp130, consequent intracellular signaling (trans-signaling), resulting in diffused inflammatory state (Jones et al., 2001; Heinrich et al., 2003; Esteve et al., 2006; Qi et al., 2007; Rafiq et al., 2007; Santer et al., 2010).

Seven single nucleotide polymorphisms (SNPs) were identified so far in the gene coding IL6R (Kim et al., 2003; Qi et al., 2007; Rafiq et al., 2007; Santer et al., 2010). Among those, the SNP located at exon 9 (48892A>C; Asp358Ala; rs2228145 [rs8192284 merged into rs2228145]) has been associated to elevated serum levels of sIL6R (Galicía et al., 2004). Polymorphisms of the IL6R gene have been implicated in many studies with obesity, insulin resistance, metabolic syndrome and risk for diabetes, showing a positive relationship of A allele (Asp) with obesity and/or T2DM (Wolford et al., 2003; Hamid et al., 2005; Wang et al., 2005; Esteve et al., 2006).

Lifestyle modification based on behavior therapy is known to be the most important and effective strategy to manage metabolic syndrome (Villareal et al., 2006; Yu et al., 2009). For example, weight reduction represents the main goal of most intervention studies on MetS since it is associated with significant improvement in clinical abnormalities of MetS, including glucose levels, lipid profile, and blood pressure (Dalle Grave et al., 2010; Villareal et al., 2006). However, the relationship between genetic polymorphism in the *IL6R* gene and metabolic syndrome has not been investigated in the Brazilian population. The purpose of this study was to evaluate the response to a lifestyle modification intervention in individuals with metabolic syndrome and

investigate if polymorphism 48867A > C (rs2228145; Asp358Ala) of *IL6R* gene exerts any influence in this response.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

Study subjects were participants of the MERC study ("Effect of lifestyle modification on cardiovascular risk factors that comprise the diagnostic criteria for metabolic syndrome, inflammatory markers and autonomic balance"), a multidisciplinary program conducted at Pontificia Universidade Catolica do Rio Grande do Sul (PUCRS), in Rio Grande do Sul, Brazil.

Including criteria for MERC study were the presence of three or more MetS criteria (according to I-DBSM; for glucose, the new IDF definition was considered): a) abdominal circumference: > 88 cm for women and > 102 cm for men; b) blood pressure: systolic \geq 130 mmHg and diastolic \geq 85 mmHg; c) fasting plasma glucose level: \geq 100 mg/dL; d) triglycerides: \geq 150 mg/dL; e) HDL-cholesterol: < 40 mg/dL for men and <50 mg/dL for women (Grundy et al., 2005; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005; IDF, 2006). Also, individuals should be sedentary.

All participants completed a comprehensive evaluation, including age, anthropometric measures (weight, height), blood pressure and waist circumference. Blood samples were collected from participants before ($t = 0$) and after three months of intervention ($t = 3$ mo) for glucose, HDL-cholesterol and triglycerides evaluation, determined at the Laboratorio de Patologia Clinica do Hospital São Lucas (HSL)/PUCRS (Vitros®

Chemistry System 5.1 Fusion, Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA).

At enrollment, participants were randomly divided into two groups of three months lifestyle modification intervention: Nutritional Intervention group (NI), with participants receiving an alimentary plan based on recommendations of the I-DBSM at enrollment and a follow up every two weeks; Nutritional Intervention and Exercise group (NIE), with participants receiving the same nutritional intervention as NI group with an additional program of physical activity consisting of thirty minutes continuous walk on ergometric treadmill at an intensity of 60% to 70% of maximum cardiac frequency, three times per week. Participants of both groups should conclude the whole three months intervention.

IL6R Asp358Ala polymorphism

Genomic DNA was extracted from peripheral blood sample collected with EDTA (5 ml) (Lahiri and Nurenberg, 1991). 48867A > C *IL6R* SNP (rs2228145; Asp358Ala) was assayed according to Esteve et al. (2006). A fragment of 286 bp containing the polymorphic region was amplified by polymerase chain reaction (PCR) with primers sense 5'- AAG GTT CCT TTG AGG CTT TT -3' and antisense 5'- CCA TAA ATT TCA GAA TGG GC -3'. PCR conditions were 10 mM Tris HCl pH8.5, 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 25 pmol each primer, 0.4 mM dNTP mix, 0.5 units of Taq DNA polymerase (EasyTaq™ – 4G), 1µg extracted DNA. Amplification program was 94°C for 5 min, 35 cycles of 94°C for 1 min, 57°C 1 min, 72°C 1 min and a final extension at 72°C for 7 min. PCR products were digested with *HinfI* restriction enzyme (Invitrogen)

and genotypes defined by restriction fragment length polymorphism (RFLP), with allele C remaining uncut (290 bp), and allele A generating two fragments (172 and 118 bp).

Data analysis

Two different analyses were performed: i) the effect of different intervention according to genotype; ii) parameters mean value and number of individuals with altered parameter according to genotype (isolated and in combination) at each analyzed time. For the first analysis, Mann-Whitney or Student *t* tests were used, and Bonferroni correction was applied for multiple comparisons. For the second analysis, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used.

Ethics

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Research Ethics Committee of Pontificia Universidade Catolica do Rio Grande do Sul (Protocol N#06/03024). Written informed consent was obtained from all participants.

RESULTS

Characteristics of study participants

A total of 77 participants of the MERC study were included: Nutritional Intervention group (NI) counted 39 participants and Nutritional Intervention + Exercise group (NIE) 38 participants. Mean age of participants was 50.89 years (33-61) and female was the predominant gender (n = 56; 72.73%). Comparing gender and age distribution in NI and NIE groups, no significant difference was observed ($p > 0.05$). Also, no statistical

difference was observed in any of the MetS inclusion criteria comparing NI and NIE groups at baseline ($p > 0.05$). The mean values of the MetS inclusion criteria for the study participants were as follows: waist circumference 105.84 (± 9.16) cm for women and 106.92 (± 9.31) cm for men; triglycerides 199.74 (± 100.01) mg/dL; HDL-cholesterol 44.36 (10.11) mg/dL for women and 43.31 (± 9.12) mg/dL for men; fasting plasma glucose 106.61 (± 36.14) mg/dL; systolic blood pressure 124.29 (± 13.36) mmHg, diastolic blood pressure 82.19 mmHg (± 10.57).

IL6R Asp358Ala polymorphism

Genotype frequencies of 48867A > C *IL6R* polymorphism for participants were AA 36.4% (n=28), AC 46.7% (n=36) and CC 16.9% (n=13). Allelic frequency was 0.60 for A and 0.40 for C. In NI and NIE groups, genotypic distribution was, respectively, AA 33.3% (n=13) and 39.5% (n=15); AC 46.7% (n=36) and 43.6% (n=17); CC 23.1% (n=9) and 10.5% (n=4). Allelic distribution was for NI group 0.55 for A and 0.45 for C, while for NIE group was 0.64 for A and 0.36 for C. All were in Hardy-Weinberg equilibrium.

48867A>C Genotype and Lifestyle Modification

Table 1 presents the comparison of anthropometric and biochemical parameters of the study group (all participants and according to intervention group) regarding genotype and instant of sample collection (t=0, before intervention; t = 3mo, after three months of intervention). The analysis of waist circumference according to genotypes and groups showed a general reduction, although significant only for AA and AC individuals. Regarding triglyceride levels, a decrease pattern was observed, except for NI AC genotype. A significant reduction was observed only for NIE AA and AC genotypes.

No significant changes were observed in HDL-cholesterol levels. Significant reduction of fasting plasma glucose level was observed in AA genotype individuals of NI and NIE groups, but for AC genotype only participants of the NI group had significant reduction. Systolic blood pressure showed significant reduction on AA and AC genotype individuals in general, but in the intervention groups it was observed only in NI AC individuals. No significant change was observed in diastolic blood pressure.

TABLE 1 LOCATION.

Combined Genotype Analysis and Presence of Altered Parameters

The presence of altered parameters at the beginning of study (t=0) and after 3 months of intervention (t=3m) was analyzed combining genotypes according to the presence/absence of A allele (AA+AC *versus* CC) and C allele (AC+CC *versus* AA).

Table 2 presents biochemical and anthropometric parameters of participants regarding genotype, before intervention (t=0) and after intervention (t=3m), according to 48867A > C *IL6R* SNP. The analysis of isolated mean value of different parameters according to genotype (P1) before intervention showed that waist circumference was significantly different among genotypes. When analysis was performed according to genotype combinations, only for individuals bearing the C allele (AC+CC *versus* AA; P3) a statistically significant difference was observed for mean values of systolic blood pressure (p=0.037) and waist circumference (p=0.007). The analysis of isolated mean value of different parameters according to genotype after 3 months of intervention (P1) showed that triglycerides (p=0.002), systolic blood pressure (p=0.024) and waist circumference (p=0.018) were significantly different. The analysis of parameters

according to genotype combinations after intervention period showed significance for mean values of triglycerides ($p=0.001$), systolic blood pressure ($p=0.029$) and waist circumference ($p=0.004$) only in individuals bearing the C allele (AC+CC *versus* AA; P3).

TABLE 2 LOCATION

Table 3 presents the number of individuals with altered parameter before ($t=0$) and after intervention ($t=3m$), according to 48867A > C *IL6R* SNP. Before intervention, a statistically significant difference in C allele individuals was observed for the number of individuals with altered triglycerides ($p=0.029$) and diastolic blood pressure ($p=0.038$) besides a tendency for systolic blood pressure ($p=0.056$). Analysis according to genotypes after 3 months intervention showed that the number of individuals with altered parameter was significantly different among genotypes for triglycerides ($p=0.004$), systolic blood pressure ($p=0.042$) and diastolic blood pressure ($p=0.044$). When analyzing combined genotypes, a statistically significant difference was observed only in C allele individuals for triglycerides ($p=0.009$), systolic blood pressure ($p=0.015$) and diastolic blood pressure ($p=0.018$).

TABLE 3 LOCATION

DISCUSSION

Data on the literature disclosed an association between Asp358Ala *IL6R* polymorphism and circulating levels of s*IL6R*, with A allele (Asp) related to higher levels, both in homozygosity and heterozygosity, with a consequent increase s*IL6R*/IL-6 complex, leading to a systemic inflammatory condition (Wolford et al., 2003; Galicia et al., 2004; Wang et al., 2005; Esteve et al., 2006). More recently, it has been suggested that obesity

can induce a chronic inflammatory state with an associated insulin resistance, possibly by inhibiting insulin receptor (IR) signaling pathway (Wellen and Hotamisligil, 2005; Das and Elbein, 2006; de Luca and Olefsky, 2006; Lazar, 2006).

The Asp358Ala IL6R polymorphism frequency found in our study is similar to those reported in previous studies (Galicia et al., 2004; Hamid et al., 2005; Esteve et al., 2006; Qi et al., 2007; Rafiq et al., 2007). Moreover, A allele frequency found in our study was in accordance with data from dbSNP database (Sherry et al., 2001); prevalence for Caucasian population ranging from 0.50 to 0.70. Participants from our study were mainly Caucasians and the prevalence of A allele was 0.6, showing a distribution similar to worldwide reports.

In our study, a reduction in waist circumference (WC) was observed after three months of intervention, independent of intervention group or genotype. The analysis of combined genotypes showed difference associated to C allele, but when adjusted for sex, this difference was no longer evident. A reduction independent of genotype may suggest that caloric restriction and increase in daily calorie consumption exert a more important influence in waist circumference modification than IL6R genotype.

As evidence suggests that adipocytes secrete different cytokines, which in turn may regulate adipose tissue size (Mohamed-Ali et al., 1997; Fried et al., 1998; Bastard et al., 2000), the reduction of WC in study participants reflect a reduced adipose tissue size, with consequent lower cytokine production, lower insulin resistance and lower fasting plasma glucose level.

In fact, in our study a significant reduction in glucose serum levels was observed after intervention. When analyzing by genotype, individuals with A allele presented higher levels at the beginning of the study compared to CC, but showed a better response to intervention, with number of AA individuals with altered mean values after intervention reduced in more than two thirds.

For triglyceride levels, a better response to intervention was observed in individuals bearing allele A. As a significant reduction was observed for AA genotype individuals in NI and NIE groups but in AC genotype only in NI, we could hypothesize that individuals with AC genotype need an association of exercise and nutritional intervention for a better response. When combined by genotypes, the analysis also revealed a significant reduction of triglyceride mean values and number of individuals with altered parameters for AA genotype. Literature present conflicting results on association of 48867A>C IL6R polymorphism with triglyceride levels, with no association observed (Hamid et al., 2005) or significantly elevated triglyceride levels for individuals with genotypes AA and AC, when compared to CC (Esteve et al., 2006).

The absence of significant change for HDL-cholesterol in any of our study groups is similar to a study conducted with elderly men and women after twelve months of physical activity intervention (Wang et al., 2012). Also, in a recent study with individuals submitted to a moderate intensity exercise training for 3 months on bicycle ergometers, no change in LDL or HDL cholesterol levels was observed. The authors report an increase in HDL subfractions antioxidative capacity, suggesting dissociation between the quantitative and qualitative aspects of HDL after short-term exercise training (Casella-Filho et al., 2011).

Regarding blood pressure, a significant reduction of SBP was observed in individuals bearing A allele, suggesting a better response associated to A allele presence. Similarly, in the study of Esteve et al. no significant difference on SBP or DBP was observed (Esteve et al., 2006). The analysis of combined genotypes corroborated this observation, once SBP mean values and number of participants with altered SBP after intervention were lower for AA genotype.

No significant alteration in DBP mean values was observed, but number of participants with altered value was different among genotypes and for AA genotype compared to AC+CC after intervention.

An overall analysis of the studied parameters before and after three months of lifestyle modification intervention showed improvement in waist circumference, triglyceride, glucose levels, SBP and DBP, some of them significant and/or independent on intervention group or genotype. This may suggest that once a nutritional intervention is adopted, with reduction of calorie intake, individuals with MetS would be benefitted. As mentioned previously, it is possible that the intensity or extent of exercise intervention performed in our study were not sufficient for an independent change in many MetS inclusion criteria. Recent studies have also reported a significant decrease of several clinical parameters in MetS patients after nutritional intervention, like waist circumference and triglycerides (Ren et al., 2007; Pimentel et al., 2010; Busnello et al., 2011).

The present analysis of the 48867A>C (Asp358Ala) IL6R polymorphism suggests that a program of nutritional control and exercise practice could benefit more efficiently and possibly prevent risks associated to MetS, as cardiovascular disease and DMT2, in individuals with genotype AA. Further studies should be conducted to better explore this possible role of AA genotype in the response to lifestyle modification intervention.

ACKNOWLEDGMENTS

Research was partially supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). The authors thank all the MERC team and the Molecular Biology Laboratory staff for contributing to the accomplishment of this work. A special thanks to Dr. João Feliz Duarte de Moraes for statistics support.

REFERENCES

- Akintunde AA, Ayodele OE, Akinwusi PO, Opadijo GO (2011). Metabolic syndrome: comparison of occurrence using three definitions in hypertensive patients. *Clin. Med. Res.* 9: 26-31.
- Bastard J-P, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, et al.. (2000). Elevated Levels of Interleukin 6 Are Reduced in Serum and Subcutaneous Adipose Tissue of Obese Women after Weight Loss. *JCE & M.* 85(9):3338-3342.
- Busnello FM, Bodanese LC, Pellanda LC, Santos ZEA. (2011). Nutritional Intervention and the Impact on Adherence to Treatment in Patients with Metabolic Syndrome. *Arq. Bras. Cardiol.* 97, 217-224.
- Casella-Filho A, Chagas ACP, Maranhão RC, Trombetta IC et al.(2011). Effect of Exercise Training on Plasma Levels and Functional Properties of High-Density Lipoprotein Cholesterol in the Metabolic Syndrome. *Am. J. Cardiol.* 107, 1168-1172.
- Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC et al. (2008). The metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* 29, 777-822.
- Dalle Grave R, Calugi S, Centis E, Marzocchi R et al. (2010). Lifestyle modification in the management of the metabolic syndrome: achievements and challenges. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 3, 373-385.

- Das SK and Elbein SC (2006). The Genetic Basis of Type 2 Diabetes. *Cell science* 2,100-131.
- de Luca C and Olefsky JM (2006). Stressed out about obesity and insulin resistance. *Nat. Med.* 12, 41-42.
- Duvnjak L and Duvnjak M (2009). The metabolic syndrome – an ongoing story. *J. Physiol. Pharmacol.* 60, Suppl 7, 19-24.
- Esteve E, Villuendas G, Mallolas J, Vendrell J et al. (2006). Polymorphism in the interleukin-6 receptor gene are associated with body mass index and with characteristics of the metabolic syndrome. *Clin. Endocrinol.* 65, 88–91.
- Fernández-Real JM and Ricart W (2003). Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr. Rev.* 24, 278-301.
- Fried SK, Bunkin DA and Greenberg AS. (1998). Omental and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese Subjects Release Interleukin-6: Depot Difference and Regulation by Glucocorticoid. *JCE & M.*; 83(3):847-850.
- García JC, Tai H, Komatsu Y, Shimada Y et al. (2004). Polymorphism in the IL-6 receptor (IL6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL6R are genetically influenced. *Genes Immun.* 5, 513–516.
- Goodman E, Daniels SR., Meigs JB and Dolan LM. (2007). Instability in the diagnosis of metabolic syndrome in adolescents. *Circulation* 115, 2316–2322.
- Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA et al.(2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112, 2735-2752
- Gupta A and Gupta V (2010). Metabolic syndrome: What are the risks for humans? *Biosci. Trends* 4, 204-212.
- Hamid YH, Urhammer SA, Jensen DP, Glümer C et al. (2005). Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. *Diabetologia* 48, 251–260.
- Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns Hm et al. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation1. *Biochem. J.* 374, 1-20.
- IDF Clinical Guidelines Task Force (2006). Global Guideline for Type 2 Diabetes: recommendations for standard, comprehensive, and minimal care. *Diabet. Med.* 23,579-93.
- Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamamoto N et al. (2001). The soluble interleukin 6 receptor: mechanism of production and implications in disease. *FASEB J* 15,43-58.
- Kim LH, Lee HS, Kim YJ, , Jung JH et al. (2003). Identification of Novel SNPs in the Interleukin 6 Receptor Gene (IL6R). *Hum. Mutat.* 21, 450-451.
- Lahiri DK and Nurenberg JI Jr. (1991). A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 19, 5444
- Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK et al. (2002). The Metabolic Syndrome and Total and Cardiovascular Disease Mortality in Middle-aged Men. *JAMA* 288, 2709-2716.

- Lazar MA (2006). The humoral side of insulin resistance. *Nat. Med.* 12, 43-44.
- Meshkani R and Adeli K (2009). Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Clin. Biochem.* 42, 1331-1346.
- Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR et al. (1997). Subcutaneous Adipose Tissue Releases Interleukin-6, But Not Tumor Necrosis Factor-alpha, in vivo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 4196-4200.
- Monteiro R and Azevedo I (2010). Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. Mediators Inflamm ID 289645, 10 pages. Published online 2010 July 14. doi:10.1155/2010/289645. available at: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20706689].
- Ordovas JM and Shen J (2008). Gene-Environment Interactions and Susceptibility to Metabolic Syndrome and Other Chronic Diseases. *J. Periodontol.* 79, Suppl 8, 1508-1513.
- Pimentel GD, Arimura ST, Moura BM, Silva ME et al. (2010). Short-term nutritional counseling reduces body mass index, waist circumference, triceps skinfold and triglycerides in women with metabolic syndrome. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2, 2-13.
- Qi L, Rifai N and Hu FB (2007). Interleukin-6 Receptor Gene Variations, Plasma Interleukin-6 Levels, and Type 2 Diabetes in U.S. Women. *Diabetes* 56, 3075-3081.
- Rafiq S, Frayling TM, Murray A, Hurst A et al. (2007). A common variant of the interleukin 6 receptor (IL6R). gene increases IL6R and IL-6 levels, without other inflammatory effects. *Genes Immun.* 8, 552-559.
- Ren J, Zhu W, Dai H, Chen Z, Chen L et al. (2007). Nutritional intervention in the metabolic syndrome. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 16, Suppl 1, 418-421.
- Santer FR, Malinowska K, Culig Z et al. (2010). Interleukin-6 trans-signalling differentially regulates proliferation, migration, adhesion and maspin expression in human prostate cancer cells. *Endocr. Relat. Cancer* 17, 241-253.
- Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J et al. (2001). dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 29, 308-311.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia (2005). I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq. Bras. Cardiol.* 84, Suppl I, 1-28.
- Villareal DT, Miller III BV, Banks M, Fontana L et al. (2006). Effect of lifestyle intervention on metabolic coronary heart disease risk factors in obese older adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 84, 1317-1323.
- Wang H, Zhang Z, Chu W, Hale T et al. (2005). Molecular screening and association analyses of the interleukin 6 receptor gene variants with type 2 diabetes, diabetic nephropathy, and insulin sensitivity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 1123-1129.
- Wang X, Hsu F-C, Isom S, Walkup MP et al. (2012). Effects of a 12-Month Physical Activity Intervention on Prevalence of Metabolic Syndrome in Elderly Men and Women. *J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.* 67, 417-424.
- Wellen KE and Hotamisligil GS (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *J. Clin. Invest.* 115, 1111-1119.

- Wolford JK, Colligan PB, Gruber JD and Bogardus C.. (2003). Variants in the interleukin 6 receptor gene are associated with obesity in Pima Indians. *Mol. Genet. Metab.* 80, 338–343.
- Yamada Y, Kato K, Hibino T, Yokoi K et al. (2009). Prediction of genetic risk for metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 191, 298-304.
- Yu Z, Ye X, Wang J, Qi Q et al. (2009). Associations of Physical Activity With Inflammatory Factors, Adipocytokines, and Metabolic Syndrome in Middle-Aged and Older Chinese People. *Circulation* 119, 2969-2977.

Table 1: Biochemical and anthropometric determinations of participants before intervention (t=0) and after three months of intervention (t=3mo) according to 48867A > C *IL6R* SNP.

Genotype	Group	Sample	WC			TG			HDL-Chol			Glucose			SBP			DBP		
			Mean	SD	p*	Mean	SD	p*	Mean	SD	p*	Mean	SD	p*	Mean	SD	p*	Mean	SD	p*
AA	NI+NIE	t=0	103.1	8.22	<.001	172.7	88.77	.001	45.4	11.1	.433	110.1	47.05	.055	126.7	15.85	.049	79.5	7.44	.362
		n=28	t=3mo	96.8		8.91	118.4		58.06	44.2		9.25	95.2		15.58	120.1		9.75	77.6	
	NI	t=0	103.6	4.49	.027	167.1	111.20	.055	46.3	11.3	.281	101.4	13.90	.022	123.5	11.20	.325	80.4	7.23	.237
		n=13	t=3mo	98.4		6.97	116.8		68.61	44.2		9.58	94.9		10.85	119.9		9.50	76.8	
	NIE	t=0	102.6	10.61	.002	177.5	67.37	.001	44.6	11.24	.715	117.7	63.03	.006	129.5	18.96	.182	78.7	7.78	.945
		n=15	t=3mo	95.1		10.54	120.0		48.33	44.1		9.28	95.6		20.02	120.3		10.44	78.5	
AC	NI+NIE	t=0	108.2	10.24	<.001	226.0	116.16	.021	43.6	9.78	.690	108.1	32.02	.054	133.7	13.29	.011	84.3	12.08	.108
		n=36	t=3mo	103.9		10.47	206.9		128.18	43.2		9.80	101.6		21.55	124.4		13.72	80.5	
	NI	t=0	106.9	13.09	.000	244.4	139.00	.679	43.9	10.75	.061	108.4	37.56	.012	132.9	12.85	.039	84.1	15.83	.184
		n=17	t=3mo	103.8		12.6	249.4		154.60	41.7		10.44	99.2		14.36	121.5		13.32	78.7	
	NIE	t=0	129.4	6.96	.000	209.6	91.98	.007	43.4	9.10	.445	107.8	27.21	.354	134.3	13.99	.191	84.4	7.80	.648
		n=19	t=3mo	103.9		8.39	161.6		73.07	44.6		9.20	104.1		27.21	127.1		13.93	82.2	
CC	NI+NIE	t=0	105.3	6.53	.018	185.23	53.37	.182	44.23	9.45	.582	95.08	14.50	.605	135.84	20.98	.556	82.31	11.22	.745
		n=13	t=3mo	103.5		6.76	173.4		91.08	45.3		12.18	94.2		14.90	132.0		16.19	83.1	
	NI	t=0	107.6	6.43	.107	178.4	51.01	.173	46.3	10.28	.263	99.8	15.86	.484	139.6	24.04	.515	83.7	12.75	.674
		n=9	t=3mo	105.7		5.90	165.3		91.82	48.6		12.01	97.6		15.55	135.1		16.55	83.4	
	NIE	t=0	100.3	5.01	.250	200.5	70.40	1.000	39.5	7.85	1.000	84.5	5.06	1.00	127.5	15.26	1.000	79.0	9.59	.500
		n=4	t=3mo	97.5		5.76	197.7		103.60	35.7		7.23	84.0		6.92	126.0		15.87	82.0	

NI: nutritional intervention group. NIE: nutritional and exercise intervention group. NI+NIE: all participants. WC: waist circumference; TG: triglyceride; HDL-C:HDL-cholesterol levels; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

*Significant p values (< 0.05) are indicated in bold characters.

Table 2: Biochemical and anthropometric determinations of participants before (t=0) and after intervention (t=3m), according to 48867A > C *IL6R* SNP

	AA	AC	CC	P1	AA+AC	P2	AC+CC	P3
Total (n =77)	28	36	13	0.243	64	0.572	49	0.545
Female (n =56)	22	23	11		45		34	
Male (n =21)	6	13	2		19		15	
Age (years ;mean \pm SD)	50.25 (\pm 7.34)	50.90 (\pm 6.90)	52.15 (\pm 6.01)					
	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Mean \pm SD	P1	Mean \pm SD	P2	Mean \pm SD	P3
Time = 0								
WC (cm)	103.10 \pm 8.22	108.20 \pm 10.24	105.31 \pm 6.53	0.023	106.00 \pm 9.66	0.796	108.30 \pm 9.43	0.007
TG (mg/dL)	172.70 \pm 88.77	226.00 \pm 116.16	185.23 \pm 53.37	0.130	209.00 \pm 114.27	0.762	221.00 \pm 109.68	0.077
HDL-C (mg/dL)	45.40 \pm 11.10	43.60 \pm 9.78	44.23 \pm 9.45	0.775	44.00 \pm 10.70	0.865	43.00 \pm 9.87	0.477
Glucose (mg/dL)	110.10 \pm 47.05	108.10 \pm 32.02	95.08 \pm 14.50	0.509	110.00 \pm 40.78	0.243	106.00 \pm 29.87	0.684
SBP (mmHg)	126.70 \pm 15.85	133.70 \pm 13.29	135.84 \pm 20.98	0.093	129.70 \pm 13.90	0.358	133.70 \pm 15.72	0.037
DBP (mmHg)	79.50 \pm 7.44	84.30 \pm 12.08	82.31 \pm 11.22	0.308	82.00 \pm 10.69	0.897	83.00 \pm 12.19	0.110
Time = 3m								
WC (cm) n=68	96.75 \pm 8.91	103.86 \pm 10.47	103.48 \pm 6.45	0.018	100.00 \pm 10.38	0.427	103.00 \pm 9.61	0.004
TG (mg/dL) n=67	118.38 \pm 58.06	206.94 \pm 128.18	173.42 \pm 87.20	0.002	168.00 \pm 11.93	0.813	197.00 \pm 118.91	0.001
HDL-C (mg/dL) n=69	44.16 \pm 6.25	43.16 \pm 9.80	45.33 \pm 11.66	0.805	43.00 \pm 9.49	0.586	43.80 \pm 10.40	0.87
Glucose (mg/dL) n=69	95.24 \pm 15.58	101.63 \pm 21.55	94.17 \pm 14.27	0.324	98.00 \pm 19.27	0.434	99.60 \pm 20.07	0.353
SBP (mmHg) n=70	120.08 \pm 9.76	124.36 \pm 13.72	132.83 \pm 15.50	0.024	122.50 \pm 12.26	0.056	126.60 \pm 14.72	0.029
DBP (mmHg) n=70	77.60 \pm 7.26	80.52 \pm 9.75	83.08 \pm 10.67	0.215	79.30 \pm 8.81	0.196	81.20 \pm 10.08	0.303

WC: waist circumference; TG: triglyceride; HDL-C: HDL-cholesterol; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

P1= comparison between AA x AC x CC; P2= comparison between AA+AC x CC; P3= comparison between AA x AC+CC.

Significant p values are indicated in bold characters.

Table 3: Number of individuals with altered parameter before (t=0) and after intervention (t=3m), according to 48867A > C *IL6R* SNP

		AA		AC		CC		P1	AA+AC		P2	AC+CC		P3
		n	%	n	%	n	%		n	%		n	%	
Time= 0														
WC (cm)	Female	22	28.6	22	28.6	11	14.3		44	57.1		33	42.8	
	Male	6	7.8	12	15.6	2	2.6		18	23.4		14	18.1	
	Total	28	36.4	34	44.2	13	16.9	0.310	62	80.5	0.756	47	61.0	0.735
TG (mg/dL)		15	19.5	29	37.7	9	11.7	0.069	44	57.1	0.768	38	49.3	0.029
HDL-C (mg/dL)	Female	17	22.1	14	18.2	8	10.4		31	40.3		22	28.5	
	Male	3	3.9	9	11.7	1	1.3		12	15.6		10	12.9	
	Total	20	26.0	23	29.9	9	11.7	0.807	43	55.8	0.856	32	41.5	0.581
Glucose (mg/dL)		16	20.8	15	19.5	4	5.2	0.237	31	40.3	0.389	19	24.6	0.119
SBP (mmHg)		12	15.6	23	29.9	9	11.7	0.151	35	45.5	0.510	32	41.5	0.056
DBP (mmHg)		5	6.5	14	18.2	6	7.8	0.104	19	24.7	0.406	20	25.9	0.038
Time = 3m														
WC (cm)	Female	14	20.6	18	26.5	9	13.2		32	47.1		27	39.7	
	Male	2	2.9	9	13.2	0	0.0		11	16.2		9	13.2	
	Total	16	24	27	39.7	9	13.2	0.371	43	63.2	0.648	36	52.9	0.159
TG (mg/dL)		6	8.9	21	31.3	4	5.9	0.004	27	40.3	0.321	25	37.3	0.009
HDL-C (mg/dL)	Female	14	20.3	12	17.4	6	8.7		26	37.7		18	26.1	
	Male	2	2.9	8	11.6	1	1.4		10	14.5		9	13.0	
	Total	16	23.2	20	29.0	7	10.1	0.946	36	52.2	0.754	27	39.1	0.829
Glucose (mg/dL)		5	7.2	12	17.4	3	10.1	0.333	17	24.6	0.738	15	21.7	0.215
SBP (mmHg)		3	4.2	14	20.0	6	8.6	0.042	17	24.3	0.745	20	28.5	0.015
DBP (mmHg)		2	2.8	10	14.3	5	7.1	0.044	12	17.1	0.123	15	21.4	0.018

WC: waist circumference (cm); TG: triglyceride (mg/dL); HDL-C: HDL-cholesterol (mg/dL); SBP: systolic blood pressure (mmHg); DBP: diastolic blood pressure (mmHg).

P1= comparison between AA x AC x CC; P2= comparison between AA+AC x CC; P3= comparison between AA x AC+CC.

Significant p values are indicated in bold characters.

Capítulo 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O avanço tecnológico ocorrido nas últimas décadas permitiu ao homem viver com conforto, e também o levou a uma baixa atividade física diária. Isto associado ao estresse e aos maus hábitos alimentares está levando-o a desenvolver obesidade, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemias que combinados levam a síndrome metabólica (SM). A SM está aumentando em incidência e se tornando uma preocupação pelos riscos que ela pode representar ao indivíduo, como o risco aumentado de desenvolver diabetes *mellitus* tipo 2 e doenças cardiovasculares. Apesar das pesquisas terem avançado nos diagnósticos, ainda existem lacunas na prevenção ou na resposta às intervenções, principalmente, relacionadas ao genótipo individual.

Neste estudo, foi investigada a resposta à intervenção para modificação de estilo de vida em indivíduos com síndrome metabólica e a influência do polimorfismo 48867A>C (Asp358Ala) do gene *IL-6R* sobre essa resposta. Não foram encontrados na literatura estudos que pesquisassem a influência desse polimorfismo sobre a resposta a uma intervenção nutricional ou prática de exercício físico, o que confere uma característica inédita a este estudo.

Conforme a literatura existe uma correlação entre os níveis séricos do receptor solúvel da *IL-6R* e o genótipo *IL-6R*. A variante alélica A é apresentada como associada a níveis mais elevados de sIL-6R, predispondo, assim, a um maior estado inflamatório. Na SM, um componente presente é o estado proinflamatório crônico, que pode induzir à resistência à insulina e é um importante elo entre obesidade e diabetes.

No nosso estudo, os indivíduos que carregam a variante A (AA e AC) apresentavam antes da intervenção valores mais alterados dos parâmetros de SM analisados, quando comparados com os indivíduos que não carregam esta variante (CC), sugerindo que esta variante poderia efetivamente representar um fator de risco para o desenvolvimento de SM. Porém, quando foram comparados os genótipos combinados de acordo com a presença/ausência do alelo A (AA+AC *versus* CC) e alelo C (AC+CC *versus* AA), foi observado que os indivíduos com o genótipo AA, antes da intervenção apresentaram médias dos parâmetros de SM analisados melhores parâmetros, alguns com significância, comparados aos indivíduos que possuíam o alelo C.

Após a intervenção nutricional, porém, os indivíduos com genótipo AA e AC apresentaram melhor resposta quando comparados com os indivíduos com genótipo CC. Esta observação poderia sugerir que a variante alélica A representaria um maior risco

cardiovascular para indivíduos com SM, porém, quando estes fossem submetidos a um programa de exercícios e a uma dieta de baixo índice calórico, o benefício seria maior do que em indivíduos que não carregam esta variante. Isso se confirma quando foram comparados os genótipos combinados de acordo com a presença/ausência do alelo A (AA+AC *versus* CC) e alelo C (AC+CC *versus* AA), onde observamos que os indivíduos com o genótipo AA apresentaram médias de alguns parâmetros de SM analisados melhores e maior número de indivíduos que melhoraram esses parâmetros com significância comparados aos indivíduos que possuíam o alelo C.

Uma análise do efeito do polimorfismo sobre a modificação do estilo de vida mostrou que o HDL não aumentou na maioria dos genótipos. Provavelmente, a curta duração das intervenções, tanto nutricional como os exercícios físicos, tenham contribuído para que os níveis séricos de HDL-colesterol não aumentassem com significância estatística. É importante, porém observar que para triglicerídeo, a associação da prática de exercício físico à intervenção nutricional foi suficiente para ocorrer redução.

REFERÊNCIAS

- ALBERTI, K. G.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. **Diabet Med** 1998;15:539–553.
- BALKAU, B. et al.; European Group For The Study Of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. **Diabetes Metab** 2002;28(5):364-76.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes Mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 64 p. il. – **Cadernos de Atenção Básica – DIABETES MELLITUS**, n. 16. Série A.
- BERTHIER, M-T; PARADIS, A-M; TCHERNOF, A; BERGERON, J; PRUD'HOMME, D; DESPRÉS, J-P; VOHL, M-C. The interleukin 6-174G/C Polymorphism is associated with indices of obesity in men *J Hum Genet* (2003) 48:14-19.
- CARNETHON, M. R. et al. Risk Factors for Progression to Incident Hyperinsulinemia: The Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987–1998. **Am J Epidemiol** 2003;158:1058–1067
- CASSIS, L. A. et al. Local Adipose Tissue Renin-Angiotensin System. **Curr Hypertens Rep.** 2008 April ; 10(2): 93–98.
- CHATTERJEE, C.; SPARKS, D. L. Hepatic lipase, high density lipoproteins, and hypertriglyceridemia. **Am J Pathol** 2011;178(4):1429-33.
- CHIARELLI, F.; MARCOVECCHIO, M. L. Insulin resistance and obesity in childhood. **Eur J Endocrinol** 2008;159: S67–S74
- CORNIER, M. A. et al. The Metabolic Syndrome. **Endocr Rev** 2008 29:777-822.
- DUVNJAK, L.; DUVNJAK, M. The metabolic syndrome – an ongoing story. **Acta Physiol Pol** 2009; 60(Suppl 7):19-24
- ESPOSITO, K. et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. **JAMA** 2004;292(12):1440-6.
- ESTEVE, E. et al. Polymorphisms in the interleukin-6 receptor gene are associated with body mass index and with characteristics of the metabolic syndrome. **Clin Endocrinol** 2006;65: 88–91.

FALOIA, E. et al. Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. **J Nutr Metab** 2012, Article ID 476380, 7 pages

FORD, E. S.; GILES, W. H. A Comparison of the Prevalence of the Metabolic Syndrome Using Two Proposed Definitions. **Diabetes Care** 2003;26(3):575-581.

FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the Metabolic Syndrome Among US Adults: Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA** 2002;287(3):354-359.

GALIC, S.; OAKHILL, J. S.; STEINBERG, G. R. Adipose tissue as an endocrine organ. **Mol Cell Endocrinol**. 2010 Mar 25;316(2):129-39.

GALICIA, J. C. et al. Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced. **Genes Immun** 2004;(5):513-516.

GRUNDY, S. M. et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation** 2005; 112 (17): 2735-52

HEINRICH, P. C. et al. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation1. [Review Article]. **Biochem J** 2003;374:1-20.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF**. The IDF consensus worldwide definition of the METABOLIC SYNDROME, 2006

INSTITUTE OF MEDICINE. **Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes**. National Academic Press, Washington D.C., 1999-2001.

JONES, S. A. & ROSE-JOHN, S. The role of soluble receptors in cytokine biology: the agonistic properties of the sIL-6R/IL-6 complex. **Biochim Biophys Acta** 2002;1592:251-263.

JONES, S. A. et al. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. **FASEB J** 2001;15:45-58.

KALLEN K-J. The role of transsignalling via the agonistic soluble IL-6 receptor in human diseases. **Biochim Biophys Acta** 2002;1592:323-343.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **J Clin Endocrinol Metab** 2004, 89(6):2548-2556.

KO GT-C. et al. High prevalence of metabolic syndrome in Hong Kong Chinese - comparison of three diagnostic criteria. **Diabetes Res Clin Pract** 2005;69:160-168.

LAKKA, H-M. et al. The Metabolic Syndrome and Total and Cardiovascular Disease Mortality in Middle-aged Men. **JAMA** 2002;288(21):2709-2716.

MADEIRA, I. R. et al. Ponto de Corte do Índice Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) Avaliado pela Curva Receiver Operating Characteristic (ROC) na Detecção de Síndrome Metabólica em Crianças Pré-Púberes com Excesso de Peso. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2008;52(9):1466-1473.

MARTINS, I. S.; MARINHO, S.P. O potencial diagnóstico dos indicadores da obesidade centralizada. **Rev Saúde Pública** 2003;37(6):760-7

MEDEIROS, C. C. M. et al. Resistência Insulínica e sua Relação com os Componentes da Síndrome Metabólica. **Arq Bras Cardiol** 2011;97(5):380-389

MEIGS J. B. Epidemiology of the Metabolic Syndrome. **Am J Manag Care** 2002;8:S283-S29.

MESHKANI, R.; ADELI, K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Clin Biochem.** 2009 Sep;42(13-14):1331-46.

NCEP ATP III. National Cholesterol Education Program. National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health. NIH Publication No. 02-5215. **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)** Final Report. 2002.

PAOLETTI, R.; BOLEGO, C.; CIGNARELLA, A. P. A. Metabolic syndrome, inflammation and atherosclerosis. **Vasc Health Risk Manag** 2006;2(2):145-152.

PETERSEN, A. M. W.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol** 2005; 98: 1154–1162.

PETTRIBÚ, M. M. V. et al. Prevalência de Obesidade Visceral Estimada por Equação Preditiva em Mulheres Jovens Pernambucanas. **Arq Bras Cardiol.** 2011; [online].ahead print, PP.0-0

QIAO, Q. et al. Metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Ann Clin Biochem** 2007;44:232–63.

REAVEN, G. M. The Individual Components of the Metabolic Syndrome: Is There a Raison d’Etre? **J Am Coll Nutr** 2007; 26(3), 191–195.

REXRODE, K. M. et al. Relationship of Total and Abdominal Adiposity with CRP and IL-6 in Women. **AEP** 2003;13(10): 674-82.

RIBEIRO, F.F. FILHO et al. Gordura Visceral e Síndrome Metabólica: Mais Que Uma Simples Associação. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2006;50(2):230-238

SAMPAIO, L.R. et al. Validity and Reliability of the Sagittal Abdominal Diameter as a Predictor of Visceral Abdominal Fat. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2007;51/6:980-986

SIMMONS, D. & THOMPSON, C.F. Prevalence of the Metabolic Syndrome Among Adult New Zealanders of Polynesian and European Descent. **Diabetes Care** 2004; 27: 3002-3004

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol** 2010; 95(1 supl.1): 1-51.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol** 2007; 88(Suplem. I):1-18.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Tratamento e acompanhamento do Diabetes mellitus**. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; Sociedade Brasileira de Cardiologia; Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia; Sociedade Brasileira de Diabetes e Sociedade Brasileira para Estudos da Obesidade. I Diretriz Brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Arq Bras Cardiol**. 2005;84(1):1-28.

SONG, Y. et al. The interaction between the interleukin 6 receptor gene genotype and dietary energy intake on abdominal obesity in Japanese men. **Metabol Clin Exp** 2007;56:925-930.

SUTHERLAND, J. P.; MVKINLEY, B.; ECKEL, R. H. The metabolic syndrome and inflammation. **Metab Syndr Relat Disord** 2004;2(2):82-104.

VOLP, A.C.P. et al. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2008;52(3):537-549.

WANG, H. et al. Molecular screening and association analyses of the interleukin 6 receptor gene variants with type 2 diabetes, diabetic nephropathy, and insulin sensitivity. **J Clin Endocrinol Metab** 2004;90(2):1123-9.

WHITE, M.F. IRS proteins and the common path to diabetes. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 2002;283: E413–E422.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.** Department of Noncommunicable Disease Surveillance. Geneva. 1999.

WOLFORD, J.K. et al. Variants in the interleukin 6 receptor gene are associated with obesity in Pima Indians. **Mol Genet Metab** 2003;80:338–343.

WU J.T. & WU L.L. Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. **Clinica Chimica Acta** 2006;366:74 – 80.