

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DO  
PORTO  
INSTITUTO POLITÉCNICO DO PORTO

---

Ana Cristina Moreira de Castro

---

PAPEL DO POLIMORFISMO PRO<sup>12</sup>ALA NO  
GENE PPAR GAMA 2 NA OBESIDADE E  
DIABETES MELLITUS TIPO 2 – UMA META  
ANÁLISE

Dissertação submetida à Escola Superior de Tecnologia a Saúde do Porto para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Tecnologia Bioquímica em Saúde, realizada sob a orientação científica de Prof. Doutor Rúben Fernandes, Professor Adjunto de Ciências Químicas e das Biomoléculas da ESTSP, e Professora Rosa Oliveira, assistente de Biomatemática, Bioestatística e Bioinformática da ESTSP e do Departamento de Ciências da Informação e da Decisão em Saúde da FMUP.

De z e m b r o , 2 0 1 2



## DEDICATÓRIA

À minha família e aos meus amigos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.



## **AGRADECIMENTOS**

A realização deste trabalho só foi possível graças a todo um conjunto de pessoas que me proporcionaram uma inestimável colaboração e a quem estou muito grata. Correndo o risco de, involuntariamente, incorrer em algum esquecimento, agradeço de forma especial.

Aos meus pais, Ana e Rui, pelo constante apoio e incentivo para que eu consiga realizar todos os meus sonhos. Muito obrigada pelas constantes demonstrações de amor, carinho e dedicação.

Ao meu namorado, Pedro, pela força dada ao longo deste longo caminho e pela paciência e ajuda demonstrada.

A todos os meus amigos que me deram sempre muita força e incentivo para continuar.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Rúben Fernandes, por ter sempre acreditado em mim. Obrigada pela amizade, confiança, oportunidade, disponibilidade, compreensão e todo o conhecimento transmitido.

À Professora Rosa Oliveira pela ajuda crucial que me deu ao longo deste trabalho. Obrigada pela disponibilidade e conhecimento transmitido.

Obrigada.



## RESUMO

A obesidade e a diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são considerados dois grandes problemas de saúde pública. A má alimentação e a falta de atividade física encontram-se entre os principais desencadeadores de um crescente número de indivíduos obesos, diabéticos e com sensibilidade à insulina diminuída. Este aumento tem motivado a comunidade científica a investigar cada vez mais para o elevado contributo da herança genética associada aos fatores sociais e nutricionais.

O gene dos recetores ativados por proliferadores do peroxissoma gama 2 (PPAR $\gamma$ 2) desempenha um papel importante no metabolismo lipídico. Uma vez que o PPAR $\gamma$ 2 é maioritariamente expresso no tecido adiposo, uma redução moderada da sua atividade tem influência na sensibilidade à insulina, diabetes, e outros parâmetros metabólicos.

Vários estudos sugerem que tanto fatores genéticos como fatores ambientais (tais como a dieta), poderão estar envolvidos na formação de padrões associados ao polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com a composição corporal em diferentes populações humanas. Os diversos estudos genéticos envolvendo o estudo do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do PPAR $\gamma$ 2 na suscetibilidade de possuir risco de diabetes e obesidade em várias populações têm proposto conclusões diversas. Em alguns parece haver mais associações do que outros e, às vezes, não demonstram sequer associação.

Desta forma, o presente trabalho teve como objectivo contribuir para a elucidação do impacto do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do PPAR $\gamma$ 2 na resistência à insulina associada à DM2 e na obesidade, mediante estudo sistematizado da literatura existente até à data, através de meta análise. Do total de uma pesquisa de 63 publicações, foram incluídos 32 artigos no presente estudo, sendo que destes 25 foram incluídos na síntese qualitativa e 11 incluídos na síntese quantitativa.

No presente trabalho pode-se concluir que existe evidência estatística que suporta a hipótese de que o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do PPAR $\gamma$ 2 pode ser considerado um fator protetor para a DM2 [p <0,05 e OR (*odds ratio*) 0,702, com IC (intervalos de confiança) com valores que nunca incluem o 1]. No entanto, e mediante os mesmos pressupostos, o mesmo polimorfismo pode ser considerado um fator de risco ao desenvolvimento de obesidade, pela evidência estatística [p <0,05 e OR de 1,196, com IC com valores que nunca incluem o 1].

PALAVRAS-CHAVE: PPAR $\gamma$ 2, POLIMORFISMO PRO<sup>12</sup>ALA, OBESIDADE, DM2



## **ABSTRACT**

Obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM) are considered two major public health problems. A poor diet and lack of physical activity are among the main triggers of a growing number of obese, diabetic and insulin sensitivity decreased. This increase has motivated the scientific community to investigate increasingly to the high contribution of genetic factors associated with social and nutritional.

The gene of the receptors of the peroxisome proliferator activated by gamma 2 (PPAR $\gamma$ 2) plays an important role in the lipid metabolism. Since PPAR $\gamma$ 2 is expressed mainly in adipose tissue, a moderate reduction of its activity influences the sensitivity to insulin, diabetes, and other metabolic parameters.

Several studies suggest that both genetic and environmental factors (such as diet), may be involved in pattern formation Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism associated with body composition in different human populations. The various genetic studies involving the study of the Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 in susceptibility to possess risk of diabetes and obesity in various populations have proposed different conclusions. In some associations appear to be more than others and sometimes not even show association. Thus, the present study aimed to contribute to the elucidation of the impact of the Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 insulin resistance associated with T2DM and obesity, through systematic study of the literature to date, with a meta analysis. Of the total of 63 research publications, 32 articles were included in this study, of which 25 were included in the qualitative synthesis and 11 included in quantitative synthesis.

In the present study we can conclude that there is statistical evidence that supports the hypothesis that polymorphism Pro<sup>12</sup>Ala of PPAR $\gamma$ 2 may be considered a protective factor for T2DM [p <0.05 and OR (odds ratio) 0,702, with CI (confidence intervals) and with values that never include 1]. However, under the same assumptions, the same polymorphism can be considered a risk factor for the development of obesity, by statistical evidence [p <0.05 and OR of 1.196, with CI values that never include 1].

**KEYWORDS:** PPAR $\gamma$ 2, PRO<sup>12</sup>ALA POLYMORPHISM, OBESITY, DM2



# INDÍCE

DEDICATÓRIA .....	V
AGRADECIMENTOS .....	VII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT .....	XII
INDÍCE.....	XIV
ÍNDICE DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SINAIS.....	XVI
ÍNDICE DE TABELAS .....	XVIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XX
INTRODUÇÃO .....	1
CAPÍTULO I .....	5
REVISÃO DA LITERATURA .....	5
1. GENE PPAR $\gamma$ 2 E POLIMORFISMO PRO <sup>12</sup> ALA .....	7
2. MECANISMO CELULAR DE POLIMORFISMO PRO <sup>12</sup> ALA DO PPAR $\gamma$ 2 .....	10
3. EFEITO DO PRO <sup>12</sup> ALA NOS ADIPÓCITOS.....	11
4. ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO PRO <sup>12</sup> ALA PPAR $\gamma$ 2 COM O RISCO DE DM2.....	13
5. OBESIDADE .....	14
6. DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	19
7. OBJETIVOS.....	26
CAPÍTULO II:.....	27
MÉTODOS .....	27
1. SUJEITOS E MÉTODO .....	29
CAPÍTULO III: .....	33

RESULTADOS .....	33
1. CARATERÍSTICAS DOS ESTUDOS .....	36
2. RESULTADOS .....	40
CAPÍTULO IV: .....	45
DISCUSSÃO .....	45
CONCLUSÃO .....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SINAIS

AG – Ácidos gordos

ALA – Alanina

ANTI - GAD – Descarboxilase do ácido glutâmico

C – Citosina

DM – Diabetes mellitus

DM1 – Diabetes mellitus tipo 1

DM2 – Diabetes mellitus tipo 2

DMID – Diabetes mellitus insulino-dependentes

DMG – Diabetes mellitus gestacional

DMNID – Diabetes mellitus não insulino-dependentes

DMRMN - Diabetes mellitus relacionada com a má nutrição

DTG – Diminuição da tolerância à glicose

EAM – Enfarte agudo do miocárdio

FFA – Ácidos gordos livres

FN – Falsos negativos

FP – Falsos positivos

G - Guanina

GLUT4 – Transportador da glicose

HDL – *High Density Lipoprotein*

IL-6 – Interleucina 6

IMC – Índice de massa corporal

LPL – Lipoproteína lípase

N - TERMINAL – terminal amina

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Proteína C reativa

PPAR – Recetores ativados por proliferadores do peroxissoma

PPAR -  $\alpha$  – Recetores ativados por proliferadores do peroxissoma alfa

PPAR -  $\beta$  – Recetores ativados por proliferadores do peroxissoma beta

PPAR -  $\gamma$  – Recetores ativados por proliferadores do peroxissoma gamma

PPRE – Elementos de resposta aos proliferadores dos peroxissomas

Pro – Prolina

ROC – *Receiver Operating Characteristic*

RXR – Recetor X do ácido retinóico

TG – Triglicerídeos

TNF -  $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa

TZD – Tiazolidinedionas

VN – Verdadeiros negativos

VP – Verdadeiros positivos

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: IMC – Índice de Massa Corporal; OMS – Organização Mundial de Saúde. .....	16
Tabela II: Associação entre o resultado e a doença para classificar os indivíduos incluídos numa meta análise.....	31
Tabela III: Estudos da obesidade incluídos na meta análise e respetivo genótipo da população estudada.....	36
Tabela IV: Estudos da DM2 incluídos na meta análise e respetivo genótipo da população estudada.....	38
Tabela V: Sensibilidade e especificidade combinada dos estudos que estudam o polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala e a obesidade.....	41
Tabela VI: Sensibilidade e especificidade combinada dos estudos que estudam o polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala e a DM2. ....	41
Tabela VII: Cruzamento dos dados do polimorfismo e da obesidade referentes ao nosso estudo.....	43
Tabela VIII: Cruzamento dos dados do polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala e da DM2. ....	43
Tabela IX: Estimativa de risco do polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala para a obesidade. ....	44
Tabela X: Estimativa de risco do polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala para a DM2. ....	44



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I: Mecanismo de ativação transcricional pelo PPAR. (adaptado de Tavares, Hirata, & Hirata, 2007).....	7
Figura II: Diversas funções do PPAR $\gamma$ nos diferentes órgãos. (adaptado de He, 2009).....	8
Figura III: Obesidade androide versus obesidade ginecóide. ....	16
Figura IV: Consequências da obesidade infantil (adaptado de Friedrich, 2011)....	18
Figura V: Regulação da glicose num indivíduo sem diabetes mellitus. ....	19
Figura VI: Diabetes mellitus tipo 2. ....	21
Figura VII: Papel da insulina na lipógenese e na lipólise (adaptado de Kahn & Flier, 2000).....	25
Figura VIII: Fluoxograma da estratégia da revisão sistemática. ....	35
Figura IX: Curva ROC: polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala versus obesidade. ....	42
Figura X: Curva ROC: polimorfismo versus DM2. ....	42



## **INTRODUÇÃO**



O presente estudo centra-se no papel do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do PPAR $\gamma$ 2 em dois distúrbios metabólicos, mediante meta análise. Desta forma, pretende-se elucidar o papel do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene PPAR $\gamma$ 2 na obesidade e na diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

A obesidade e a DM2 são considerados, atualmente, dois grandes problemas de saúde pública no mundo. A má alimentação e a falta de atividade física são considerados os principais desencadeadores de um maior número de sujeitos com estas patologias. Este aumento tem feito com que se investigue cada vez mais a contribuição da herança genética relacionada com fatores sociais e nutricionais.

Sabe-se que o gene PPAR $\gamma$ 2 possui um papel importante no metabolismo lipídico. Uma vez que o PPAR $\gamma$ 2 é maioritariamente expresso no tecido adiposo, uma redução moderada da sua atividade tem influência na sensibilidade à insulina, diabetes, e outros parâmetros metabólicos.

Diversos polimorfismos do gene PPAR $\gamma$ 2 já foram descritos. Contudo, o polimorfismo mais frequente resulta de uma mutação *missense* na porção amino-terminal do gene. Há uma substituição de uma citosina (C) por uma guanina (G), no nucleótido 34, resultando numa alteração de uma prolina (Pro) por uma alanina (Ala), no codão 12, designando-se por polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene PPAR $\gamma$ 2.

O papel deste polimorfismo em relação à obesidade e à DM2 continua por esclarecer. Alguns estudos indicam que o polimorfismo é protetor, outros afirmam que pode contribuir para uma maior suscetibilidade à obesidade e à DM2.

Assim, esta meta análise surge com o intuito de contribuir para o conhecimento do real papel do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene PPAR $\gamma$ 2 nestes distúrbios metabólicos, esperando-se que contribua para um melhor esclarecimento do seu mecanismo molecular patofisiológico.

Este trabalho encontra-se dividido em 4 capítulos. O primeiro capítulo refere-se à Revisão da Literatura, expondo uma revisão da literatura das principais características do PPAR $\gamma$ 2, do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala, da obesidade e diabetes, assim como, a associação do do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com as duas patologias e os objetivos do presente trabalho. O segundo capítulo refere os Métodos usada na presente investigação, onde se identifica os estudos incluídos na meta análise e os métodos estatísticos. Os Resultados e Discussão dos Resultados estão apresentados no terceiro e quarto capítulo, respetivamente.

Posteriormente, segue-se a conclusão deste trabalho, assim como, as respectivas referências bibliográficas utilizadas.

**CAPÍTULO I**  
**REVISÃO DA LITERATURA**



## 1. GENE PPAR $\gamma$ 2 E POLIMORFISMO PRO<sup>12</sup>ALA

O PPAR $\gamma$ 2 é um fator de transcrição da família dos recetores nucleares, que controla diversos processos metabólicos e celulares, tais como o crescimento celular, diferenciação e metabolismo em resposta a hormonas lipofílicas, ácidos gordos e os seus metabolitos. (Mangelsdorf, et al., 1995; Oh, et al., 2000)

A proliferação de peroxissomas foi, inicialmente, descrita por vários grupos, na década de 1960, onde se observou um aumento significativo de peroxissomas hepáticos em resposta à administração de uma determinada droga, em modelos animais. (Heuvel, 2007)

Em 1990, Isselmann e Green descreveram um subtipo do recetor ativado por proliferadores do peroxissoma (PPAR), o subtipo PPAR $\alpha$ , aquando da pesquisa de alvos moleculares para proliferadores de peroxissomas, em roedores. Desde a descoberta inicial em roedores, os PPAR foram clonados de várias espécies, incluindo humanos. (Heuvel, 2007; Oh, et al., 2000)

Os PPAR são fatores de transcrição que regulam a expressão do gene-alvo pela ligação a elementos de resposta aos proliferadores dos peroxissomas (PPRE), em locais reguladores de cada gene. O mecanismo de transdução de sinal destes recetores envolve uma molécula denominada RXR (Recetor X do retinol). Os PPAR são recetores existentes no citosol e com a ligação aos PPRE e RXR surge a formação de um heterodímero, culminando no aumento da transcrição génica, como demonstrado na figura I. (Tavares, Hirata, & Hirata, 2007)

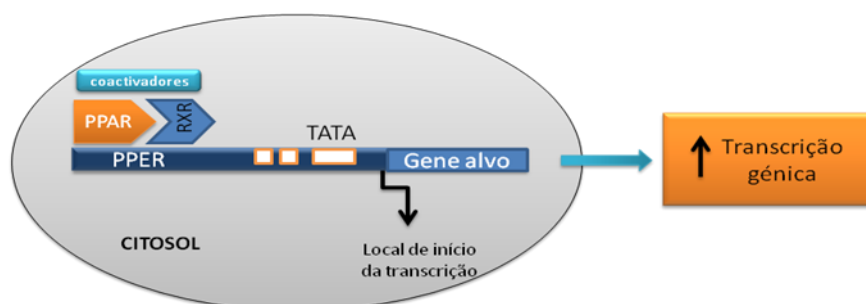


Figura I: Mecanismo de ativação transcricional pelo PPAR. (adaptado de Tavares, Hirata, & Hirata, 2007)

Atualmente estão descritos três subtipos do gene PPAR: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  e PPAR $\gamma$ . A expressão dos três subtipos de PPAR varia de tecido para tecido. (Heuvel, 2007)

O gene PPAR $\gamma$  é o mais estudado. Possui uma grande afinidade para elementos de resposta aos proliferadores específicos de ácidos gordos, sendo maioritariamente expresso no tecido adiposo onde modula a expressão de genes-alvo envolvidos na diferenciação dos adipócitos, sensibilidade à insulina, angiogénese e processos inflamatórios, entre outros, como mostramos na figura II. (Barbieri, et al., 2004; Costa, et al., 2009; Kersten, Desvergne, & Walter, 2000; Oh, et al., 2000; Tavares, Hirata, & Hirata, 2007)



Figura II: Diversas funções do PPAR $\gamma$  nos diferentes órgãos. (adaptado de He, 2009)

O gene PPAR $\gamma$  está localizado no cromossoma 3, na região 3p25, estendendo-se por um segmento genómico superior a 150 kb. É constituído por três isoformas: PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 e PPAR $\gamma$ 3 que se distinguem por gerarem promotores diferentes e splicing alternativo. Existem evidências que sugerem que os ligandos endógenos do PPAR $\gamma$  são derivados de proteoglicanos e ácidos gordos e que o PPAR $\gamma$  é uma molécula alvo de um grupo de drogas, caracterizadas por aumentarem a sensibilidade à insulina e estimularem a diferenciação de adipócitos, as tiazolidinedionas (TZD). Em 1994, Tontonoz e colaboradores demonstraram que o PPAR $\gamma$ , quando expresso e ativado nos fibroblastos, estimula a expressão de genes específicos dos adipócitos, induzindo a sua diferenciação.

(Barbieri, et al., 2004; Kersten, Desvergne, & Walter, 2000; Tavares, Hirata, & Hirata, 2007; Oh, et al., 2000)

O PPAR $\gamma$ 2 é codificado por 7 exões, sendo o exão B específico, pois codifica 28 aminoácidos na sua região N-terminal (terminal amina). É expresso, quase exclusivamente, no tecido adiposo. (Barbieri, et al., 2004; Kersten, Desvergne, & Walter, 2000; Tavares, Hirata, & Hirata, 2007; Oh, et al., 2000)

A obesidade e os fatores nutricionais influenciam a expressão do gene PPAR $\gamma$ 2, possuindo este um papel muito importante no metabolismo lipídico e energético. (Oh, et al., 2000)

Até ao momento, já foram descritos diversos polimorfismos do gene PPAR $\gamma$ 2. Yen e colaboradores identificaram o polimorfismo mais frequente no gene PPAR $\gamma$ 2, uma mutação *missense* na porção N-terminal do gene, aquando da sua investigação em indivíduos caucasianos diabéticos. Essa mutação envolvia a substituição de uma citosina (C) por uma guanina (G), no nucleótido 34, resultando numa alteração de uma prolina (Pro) por uma alanina (Ala), no codão 12. (Yen, et al., 1997)

A frequência do alelo Ala12 foi encontrada em pessoas saudáveis variando entre 2% a 18%. (Paracchini, Pedotti, & Taioli, 2005) Gouda e colaboradores concluíram que a frequência do alelo Ala12 em grupos controlo variou de 1,7% a 21,6% (mediana de 9,5%). Nos estudos que usam controlos caucasianos, a frequência do alelo Ala12 variou de 5,9% a 21,6% (mediana de 12,7%), enquanto os estudos que usaram controlos de origem asiática, a frequência do alelo Ala12 variou de 1,7% para 9,3% (mediana de 4,5%). (Gouda, et al., 2010)

Beamer e colaboradores demonstraram que a mutação Pro<sup>12</sup>Ala no gene PPAR $\gamma$ 2 está associada a um peso corporal e a um IMC (índice de massa corporal) aumentado, sugerindo que a variação genética no *locus* PPAR $\gamma$  pode influenciar a suscetibilidade para a obesidade. Pelo contrário, outros estudos em indivíduos finlandeses sugerem que esta mutação está associada a um baixo IMC e a uma melhoria da sensibilidade à insulina. Ringer e colaboradores não encontraram uma relação significativa entre a mutação Pro<sup>12</sup>Ala e a diabetes, num grupo de estudo composto por caucasianos. Oh e colaboradores estudaram a mutação Pro<sup>12</sup>Ala e o seu significado em indivíduos coreanos diabéticos e obesos e não obtiveram resultados significativos no seu estudo. Contudo, mencionam que existe uma possibilidade da mutação possuir apenas um pequeno efeito na obesidade e/ou na diabetes, e que esse efeito pode tornar-se mais significativo juntamente com fatores

ambientais e outras mutações genéticas. Assim, denota-se que a frequência alélica Ala difere entre caucasianos e asiáticos, o que pode ocorrer devido a diferenças étnicas. (Oh, et al., 2000; Tavares, Hirata, & Hirata, 2007; Clement, et al., 2000; Valve, Sivenius, Miettinen, & Pihlajamäk, 1999)

## 2. MECANISMO CELULAR DE POLIMORFISMO PRO<sup>12</sup>ALA DO PPAR $\gamma$ 2

O PPAR $\gamma$ 2 é maioritariamente expresso no tecido adiposo, pensando-se que uma redução moderada da sua atividade tem influência na sensibilidade à insulina, diabetes, e outros parâmetros metabólicos.

Dado o papel dos ácidos gordos livres e das adipocinas na regulação da sensibilidade à insulina, o efeito do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala pode ser antecipado para mediar as alterações nestes fatores. Assim, indivíduos com o alelo Ala12 apresentam uma menor atividade da lipoproteína lipase (LPL) (Schneider, Kreuzer, Hamann, Naweoth, & Dugi, 2002), o que pode resultar na diminuição das lipoproteínas e, conseqüentemente, na diminuição dos ácidos gordos no plasma, que é prejudicial para a ação da insulina no músculo-esquelético (Delarue & Magnan, 2007). Coerentemente, portadores do alelo Ala12 possuem ácidos gordos plasmáticos mais baixos, maior fluxo sanguíneo no tecido adiposo e no músculo-esquelético e maior sensibilidade à insulina (Tan, et al., 2006). Além disso, a supressão de insulina resultante do processo de lipólise no tecido adiposo é também aumentada em indivíduos magros ou em doentes com DM2 portadores do alelo Ala12 (Stumvoll & Haring, 2002; M, Wahl, & Loblein, 2001). Contudo, a inibição da lipólise a longo prazo aumenta a adiposidade (Stumvoll & Haring, 2002). No entanto, estas razões podem não ser o verdadeiro mecanismo ou podem não ser os únicos mecanismos subjacentes ao efeito do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala.

### 3. EFEITO DO PRO<sup>12</sup>ALA NOS ADIPÓCITOS

Depois da identificação da mutação Pro<sup>12</sup>Ala, um estudo independente relacionou a variante Ala12 com a diminuição da função de transativação do gene PPAR $\gamma$ 2 e com um IMC diminuído (Douglas, et al., 2001). Por outro lado, estudos realizados em várias populações de étnias diferentes demonstraram que o efeito desta mutação no IMC é mais complexo. Obteve-se uma diminuição da adiposidade em indivíduos diabéticos, não diabéticos ou saudáveis possuidores da variante Ala12 (Barbieri, et al., 2005; Doney, et al., 2002; Damcott, et al., 2004; Rosado, Bressan, Martins, & Cecon, 2007). Em estudos realizados em populações afro-americanas e em populações caucasianas americanas, a presença do polimorfismo foi associado a um IMC menor na população afro-americana e maior nos americanos caucasianos (Fornage, Jacobs Jr, Steffes, Gross, Bray, & Schreiner, 2005; Wei, Jacobs Jr, Schreiner, Siscovick, Steffes, & Fornage, 2006). Daqui conclui-se que a mesma mutação genética resulta em diferentes respostas em diferentes grupos étnicos.

O polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala também foi associado com a perda de peso provocada pelo exercício físico em indivíduos com DM2 ou na prevenção da recuperação de peso corporal após perda de peso. (Adamo, et al., 2007; Goyenechea, Parra, & Martinez, 2006; Vogels, Mariman, Bouwman, Kester, Diepvens, & Westerp- Plantenga, 2005). No entanto, numerosos estudos associam a variante Ala12 com o maior risco de possuir obesidade, incluindo estudos realizados em populações étnicas de mexicanos, espanhóis adultos do sexo masculino (Sanchez, Rios, Perez, Laakso, & Larrad, 2002) ou crianças e adolescentes espanhóis (Ochoa, et al., 2004) , franceses (Meirhaeghe, et al., 2005), italianos do sexo masculino (Morini, et al., 2008), canadiano-franceses (Robitaille, Despres, Perusse, & Vohl, 2003), brasileiros do sexo masculino de descendência europeia (Mattevi, Zembruski, & Hutz, 2007), japoneses nativos (Danawati, et al., 2005), entre outros. Esta associação também pode ser encontrada em americanos não diabéticos e não obesos ou obesos (Beamer, et al., 1998), mulheres finlandesas obesas (Valve, et al., 1999) e mulheres coreanas com excesso de peso (mas não em mulheres magras). (Kim, Choi, Shin, YAng, & Yoon, 2004)

Também tem sido mostrado que as mulheres com o alelo Ala12 possuem maior tendência para ganhar mais peso do que as mulheres com alelo Pro12 (Nicklas, Van Rossum, Berman, Ryan, Dennis, & Shuldiner, 2001), apesar destes estudos em diversas populações alemãs (Evans, et al., 2000), francesas (Ghoussaini., et al., 2005), hispanicas, japonesas (Mori, et al., 1998), coreanas (Kim, Lee, & Valentine, 2007) (Oh, et al., 2000) e polacas (Stefanski, et al., 2006) não demonstrarem uma associação entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a gordura corporal.

No estudo de Tonjes e seus colaboradores, sobre indivíduos não diabéticos, os caucasianos com o genótipo X (Pro12 ou Ala12)/Ala12 está associado com um aumento significativo do IMC, embora nenhuma diferença possa ser encontrada na população mundial (Tonjes, Scholz, Loeffler, & Stumvoll, 2006). Estes resultados indicam que uma mudança ligeira na actividade de transcrição do PPAR $\gamma$ 2 tem um impacto significativo sobre a acumulação de lípidos no tecido adiposo.

Ainda não se clarificou a razão pela qual uma única mutação possa resultar em conflitos genéticos em diferentes populações étnicas. Dado o papel proadipogénico do PPAR $\gamma$ , pode-se esperar que a redução moderada da função de transactivação do PPAR $\gamma$ 2 resulte num IMC inferior em indivíduos possuidores do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene PPAR $\gamma$ 2. Estudos de associação mostram claramente que a regulação do gene do PPAR no tecido adiposo é um processo complexo. Vários estudos sugerem que a interação de fatores genéticos e ambientais (tais como a dieta) participam na formação dos padrões de associações do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com composição corporal em diferentes populações humanas. Pelo menos dois estudos, mostram que a proporção de ácidos gordos polinsaturados (P) para ácidos gordos saturados (S), estabelecida pela – razão P:S – afeta significativamente a massa corporal em indivíduos portadores do alelo Ala12. Assim, uma maior ingestão da razão de P:S resulta num IMC menor, enquanto uma alimentação com baixa razão P:S é inversamente associada ao IMC, em indivíduos humanos portadores do alelo Ala12 (Luan, et al., 2001). De igual forma, a ingestão de ácidos gordos monoinsaturados também indicia esse efeito em sujeitos com o alelo Ala12 (Memisoglu, et al., 2003). Em 2003, noutro estudo, a ingestão de ácidos gordos totais e saturados é positivamente correlacionada com a alteração da massa corporal em indivíduos homocigóticos Pro12, enquanto que os portadores do alelo Ala12 estão protegidos (Robitaille, Despres, Perusse, & Vohl, 2003). Além disso, as mudanças no contexto genético, tais como a coexistência de outros polimorfismos, podem ter um impacto

significativo sobre o efeito do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala na composição de peso corporal, originando conclusões opostas (Lin, Vance, Pericak-Vance, & Martin, 2007).

#### 4. ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO PRO<sup>12</sup>ALA PPAR $\gamma$ 2 COM O RISCO DE DM2

Diversos estudos mostram uma heterogeneidade de efeitos do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala na suscetibilidade de possuir risco de diabetes em várias populações. Tem sido encontrada uma resistência ao risco de ter DM2 em portadores do alelo Ala12 em comparação com portadores do alelo Pro12, em populações étnicas muito diversas. Por exemplo, em populações japonesas (Hara, Okada, Tobe, & al, 2000; Horiki, Ikegami, Fujisawa, & al, 2004; Mori, Ikegami, Kawaguchi, & al, 2001), coreanas (Moon, et al., 2005), iranianas (Meshkani, et al., 2007), dinamarquesas (Frederiksen, et al., 2002), finlandesas (Andrulionyte, Zacharova, Chiasson, & Laakso, 2004), francesas (Jaziri, et al., 2006), espanholas (Soriguer, et al., 2006), e norte-americanas (caucasianas) (Memisoglu, et al, 2003; Radha, Vimalaswaran, Babu, & al, 2006). Contudo, também existem estudos que afirmam que o alelo Ala12 pode levar a uma predisposição à DM2 em populações alemãs (Evans, et al, 2000; Herder, et al, 2008), finlandesas (Kilpeläinen, et al., 2008), italianas (Fiotito, et al., 2007), holandesas (Rooij, et al., 2006), norte-americanas (caucasianas) (Florez, et al., 2007), francesas (caucasianas) (Ghousaini M., et al., 2005), indianas (Sanghera, et al., 2008), em índios Parkatêjê (Vieira-Filho, et al., 2004), e árabes (Wakil, et al., 2006). O efeito heterógeno do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala também é demonstrado pela existência de estudos que não encontram nenhum efeito do alelo Ala12 sobre o risco DM2. Isto pode ser observado em populações italianas (Mancini, et al., 1999), tunisinas (Bouassida, et al., 2005) e polacas (Malecki, et al., 2003), entre outras.

A heterogeneidade referida anteriormente foi estudada por Ludovico e colaboradores em 2007. O seu estudo indica que os indivíduos que possuem o Ala12 têm um menor risco de desenvolver DM2 em comparação com os indivíduos portadores do alelo Pro12. O IMC parece ser um importante fator responsável pelo efeito heterogêneo do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala sobre o risco de DM2. Quanto menor o IMC, menor é o risco de desenvolver DM2. Em indivíduos asiáticos portadores do alelo Ala12 existe uma maior redução do risco (35%), comparando com os norte-americanos e europeus (18% e 15%, respectivamente). No entanto, quando procederam à normalização do IMC dos controles, a

diferença entre os asiáticos e os europeus já não se mostrou acentuada. No grupo dos indivíduos europeus surgiram diferenças. Indivíduos da Europa do norte portadores do alelo Ala12 apresentam risco demarcadamente reduzido de DM2 (26%), enquanto a redução do risco na Europa Central e do Sul é pouco evidente (10%) ou nem ocorre risco de redução de peso (Ludovico, et al., 2007). Estes dados sugerem que o alelo Ala12 é benéfico na prevenção da DM2 em várias populações, possuidoras de uma menor massa de gordura corporal.

Embora a heterogeneidade entre os asiáticos e outras populações é estatisticamente explicada pelo IMC, nos europeus outros fatores, incluindo a diferença genética e/ou ambiental, podem causar a heterogeneidade verificada. O papel protetor do alelo Ala12 na DM2 é bastante afetada pelos níveis de lipídios na dieta. Em 2007, Scacchi e colaboradores, estudaram diferentes populações. Observaram que o alelo Ala12 actua como protetor contra a DM2, principalmente em populações onde a energia obtida a partir de lipídios excede 30% do consumo total de energia (Scacchi, et al., 2007). No entanto, a composição de lipídios na dieta é um fator determinante já que a sua ingestão crónica predispõe para um maior risco de DM2 em indivíduos possuidores do alelo Ala12 comparativamente aos portadores do Pro12 (Pisabarro, Sanguinetti, Stoll, & Prendez, 2004). O polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala também interage com outras mutações genéticas de modo a afetar o risco de desenvolver DM2.

## 5. OBESIDADE

A obesidade é classificada como uma doença crónica e multifactorial, que consiste num excesso de gordura corporal acumulada no tecido adiposo, sendo reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um importante problema de Saúde Pública que origina diversas complicações metabólicas. (Formiguera & Cantón, 2004; WHO, 1998)

A obesidade diminui, de forma significativa, a esperança média de vida, sendo considerada pela OMS como a primeira causa mundial de doença que pode ser evitada. (Ferreira, Costa, & Amaral, 2010)

A prevalência da obesidade tem aumentado significativamente, sendo responsável, em grande parte, pelo aumento da mortalidade e morbidade a nível mundial, apesar da

sua prevalência ser maior em determinados países. Portugal é considerado o sexto país da Europa com maior prevalência de obesidade, despendendo cerca de 3,5% do seu orçamento anual no seu tratamento. (Dietz & Bellizi, 1999; Ferreira, Costa, & Amaral, 2010)

A obesidade infantil é um dos mais graves problemas de saúde pública do recente século. O problema está globalizado e a sua prevalência tem aumentado bruscamente. Em 2010 o número de crianças com excesso de peso com idade inferior a cinco anos é estimado em mais de 42 milhões e aproximadamente 35 milhões ocorrem em países em desenvolvimento. Crianças obesas ou com peso a mais têm maior probabilidade de virem a ser obesas na idade adulta e, conseqüentemente, mais propensas a desenvolver diabetes e doenças cardiovasculares numa idade mais jovem. ( World Health Organization, 2012)

Para efetuar a medição da gordura corporal são necessários métodos antropométricos, como a altura, o peso e a circunferência abdominal, que avaliam as medidas do corpo humano na dimensão do músculo, osso e tecido adiposo. Contudo, não estão definidos de forma precisa os valores normais de gordura corporal, utilizando-se, por razões de ordem prática, o IMC, também chamado Índice de Quetelet, para avaliar a obesidade. O IMC é definido como a razão entre o peso do indivíduo, em quilogramas (Kg), e a altura, em metros (m), ao quadrado. (Formiguera & Cantón, 2004)

$$\text{Índice de Massa Corporal (IMC)} = \frac{\text{peso (Kg)}}{\text{altura}^2 \text{ (m}^2\text{)}} \\ (\text{Kg/m}^2)$$

Segundo a OMS (1995), o IMC é um método aplicado universalmente, barato, não invasivo e de simples utilização, constituindo uma boa medida para avaliar o excesso de peso e a obesidade, designadamente para o estudo de grandes amostras. Este como é altamente correlacionado com a gordura corporal é muito útil, também, para fins epidemiológicos. Contudo, não diferencia a ampla variação na distribuição da gordura corporal. Com base no IMC, a OMS estabeleceu uma classificação da obesidade nos adultos, como mencionado na tabela I. (Formiguera & Cantón, 2004; OMS, 2004; Onis & Habicht, 1996)

Tabela I: IMC – Índice de Massa Corporal; OMS – Organização Mundial de Saúde.

Classificação	IMC (kg/m <sup>2</sup> )
Valor normal	18.50 – 24.99
Acima do peso	≥ 25.00
Pré- obeso	25.00 – 29.99
Obeso	≥ 30.00
Obeso da classe I	30.00 – 34.99
Obeso da classe II	35.00 – 39.99
Obeso da classe III	≥ 40.00

Fonte: Modificada de Formiguera & Cantón, 2004.

Para classificar a obesidade infantil também é desejável usar o IMC contudo, este em crianças, normalmente, tem grandes variações em relação à idade e raça. Assim, o peso que é considerado normal numa sociedade específica poderia ser considerado como patológico noutras partes do mundo. Esta é a principal razão pela qual existem tabelas de percentis de IMC próprios nas crianças. (Formiguera & Cantón, 2004)

A obesidade pode ser classificada, de acordo com o segmento corporal onde há maior deposição de gordura: a) obesidade difusa ou generalizada – na qual se verifica deposição de gordura em todo o corpo; b) obesidade androide ou troncular – onde se verifica maior deposição de gordura na região abdominal e torácica, em que o doente apresenta uma forma corporal tendendo a maçã; e finalmente c) obesidade ginecóide – na qual se verifica predomínio de gordura ao nível do quadril e das coxas, em que o doente apresenta uma forma corporal tendendo a pera (mais comum no sexo feminino). (Czepielewski, Obesidade, 2003)



Figura III: Obesidade androide versus obesidade ginecóide.

Esta classificação da obesidade fez com que houvesse a necessidade de se criar a Relação Cintura-Quadril, obtido pela divisão da circunferência abdominal pela circunferência do quadril. Há excesso de gordura corporal, e conseqüentemente, riscos metabólicos quando esta relação é superior a 0,9 no sexo masculino e 0,8 no feminino (Czepielewski, 2003)

$$\text{Relação cintura-quadril} = \frac{\text{circunferência da cintura abdominal}}{\text{circunferência do quadril}}$$

O excesso de gordura corporal não provoca sinais e sintomas diretos, contudo provoca limitações de movimento, existe uma maior suscetibilidade a infecções na pele e nas dobras que o corpo cria pelo excesso de gordura. Além disso, o peso da gordura pode provocar lesões na coluna vertebral e nos membros inferiores, com perdas a longo prazo, com degeneração das articulações da coluna, quadril, joelhos e tornozelos, e ainda com apresentação de varizes com úlceras de repetição e erisipela. (Czepielewski, 2003)

A obesidade é considerada um fator de risco cardiovascular, por si só, independentemente da sua capacidade de agravar outros fatores de risco conhecidos. Assim, a obesidade é frequentemente associada com uma pressão arterial alta, doenças cardíacas, DM2 e dislipidemia. Para além destas alterações metabólicas e cardiovasculares, a obesidade é, também, associada a doenças articulares e distúrbios respiratórios, como apneia obstrutiva do sono e síndrome de hipoventilação da obesidade. (Formiguera & Cantón, 2004) Assim, os indivíduos possuidores de obesidade apresentam uma qualidade de vida inferior com diminuição significativa da esperança média de vida, principalmente quando são obesos da classe III. (Czepielewski, 2003)

O tecido adiposo armazena o excesso de energia na forma de lípidos mas, nos últimos anos, tem sido demonstrado que o tecido adiposo comporta-se como um órgão endócrino e a célula gorda age como um tipo de célula endócrina. (Oliveira, Coelho, & Fernandes, 2012) Há, portanto, uma produção desequilibrada dos vários produtos metabólicos, hormonas e citocinas (adipocitocinas). Estes produtos incluem leptina, resistina, adiponectina, ácidos gordos livres (FFA), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6). Em resumo, a obesidade pode afetar quase todos os órgãos e os tecidos do corpo, a partir do cérebro para as extremidades inferiores, causando uma variedade de problemas clínicos. (Formiguera & Cantón, 2004)

A obesidade infantil é uma grande preocupação atual no sentido em que desenvolverão, em adultos, diversos problemas com consequências multi-sistêmicas (figura IV). (Friedrich, 2011)

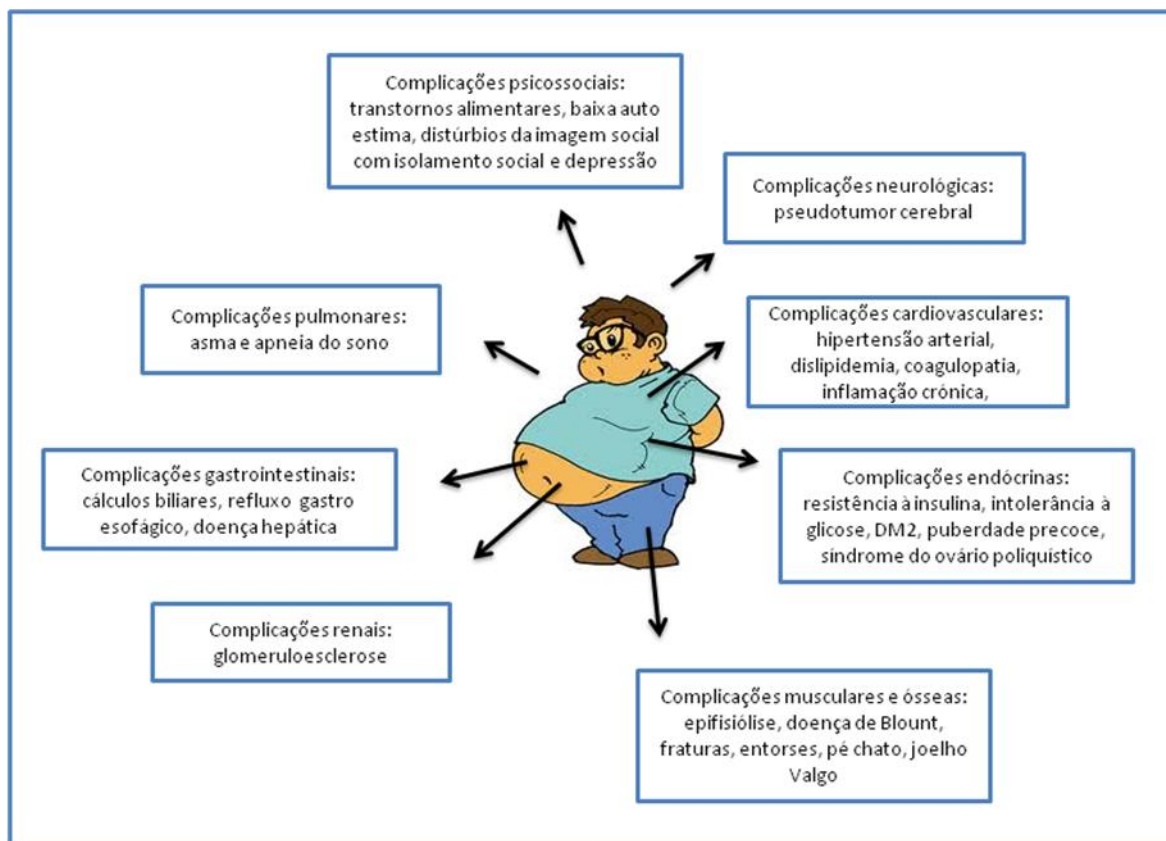


Figura IV: Consequências da obesidade infantil (adaptado de Friedrich, 2011).

A obesidade é considerada um distúrbio metabólico complexo, traduzida por um aumento do balanço energético positivo entre o consumo e o gasto de energia. Existe, assim, um aumento da ingestão e uma diminuição da atividade física, conduzindo a uma acumulação de gordura corporal. Contudo, a obesidade é o resultado de um conjunto de fatores físicos, sociais e comportamentais com grande influência genética. (Koplan & Dietz, 1999; OMS, 2004; Oh, et al., 2000)

A atividade física reduzida é uma das principais razões para o aumento da obesidade. Os fatores comportamentais e as emoções crêm-se, atualmente, como uma reação aos fortes preconceitos e à discriminação contra os indivíduos obesos. A percepção negativa da imagem corporal é um problema grave, que conduz a uma grande insegurança e instabilidade emocional, com importantes repercussões sociais e médicas. A obesidade pode ser desencadeada por situações de *stress* e por certas perturbações emocionais. Os

fatores sociais possuem um papel fundamental na obesidade, sobretudo entre as mulheres. Em alguns países desenvolvidos, a frequência da obesidade é mais do dobro entre as mulheres de nível socioeconómico mais baixo, comparando com as do nível mais alto. (Porter, 2011)

Os fatores genéticos determinam a suscetibilidade dos indivíduos para o peso acima do normal e para a obesidade quando expostos a determinados fatores ambientais. Alguns estudos sugerem que, em média, a influência genética contribui, aproximadamente, 33 % para o peso do corpo, apesar de influenciar de forma particular cada indivíduo. (Koplan & Dietz, 1999; OMS, 2004; Oh, et al., 2000)

## 6. DIABETES MELLITUS TIPO 2

A diabetes mellitus (DM), considerada durante muito tempo uma doença de menor importância para a saúde, é vista, atualmente, como uma das principais ameaças para a saúde. As evidentes mudanças no ambiente, no comportamento humano e no estilo de vida, têm acompanhado a globalização, resultando em taxas crescentes de obesidade e DM. (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001)

A DM é um distúrbio metabólico de etiologia múltipla, caracterizada por uma hiperglicemia crónica, devido a deficiências na secreção e/ou na ação da insulina. Consequentemente, há distúrbios no metabolismo dos hidratos de carbono, lípidos e proteínas. (Czepielewski, 2003)

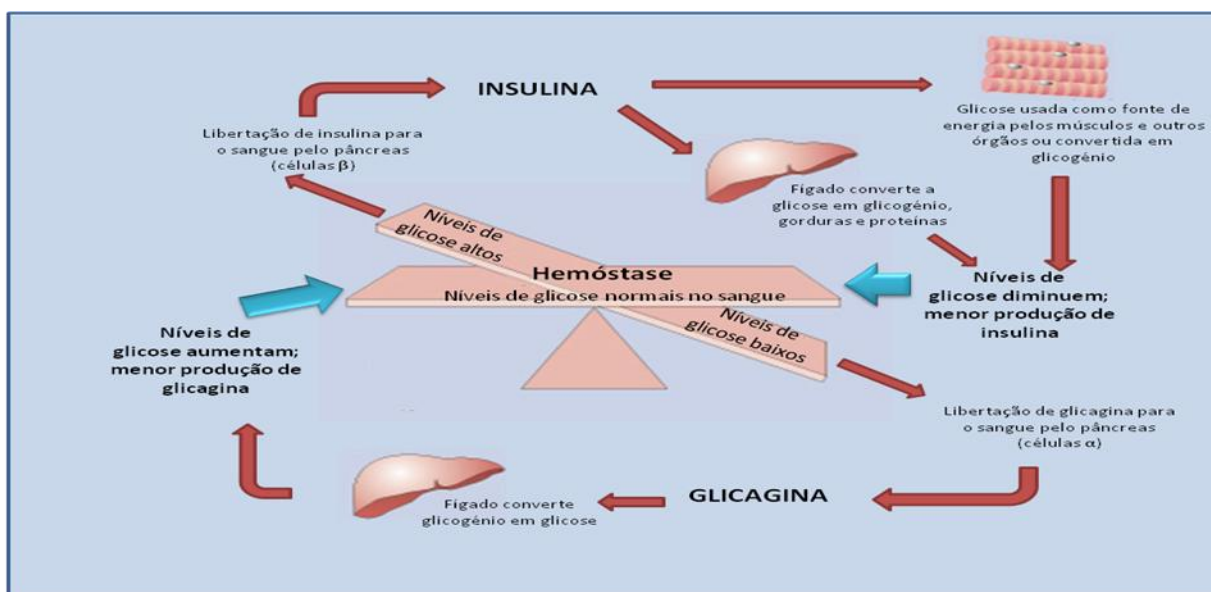


Figura V: Regulação da glicose num indivíduo sem diabetes mellitus.

A primeira classificação amplamente aceita de DM foi publicada, pela OMS, em 1980 (WHO, 1980) e, numa forma modificada, em 1985 (WHO, 1985). Foram classificadas duas grandes classes de DM: diabetes mellitus insulino dependente (DMID) ou tipo 1 e diabetes mellitus não insulino dependente (DMNID) ou tipo 2, em 1980. Em 1985, os termos tipo 1 e tipo 2 foram omitidos mas as classes DMID e DMNID mantidas, sendo, também, introduzida uma classe relacionada com má nutrição – DMRMN. Em ambos os anos outras classes de diabetes incluíam: Outros Tipos, Diminuição da Tolerância à Glicose (DTG) e Diabetes Mellitus Gestacional (DMG).

Atualmente, a nova classificação contém estádios que refletem os vários níveis de hiperglicemia, independentemente dos mecanismos que podem conduzir ao aparecimento de DM. Os termos "diabetes mellitus insulino dependente" e "diabetes mellitus não insulino dependente" não devem ser utilizados atualmente, reintroduzindo-se os termos tipo 1 e tipo 2, para que a classificação dos doentes seja baseada na patogénese e não no tratamento. (Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2012)

A DM1 engloba a maioria dos casos que resulta, principalmente, da destruição das células  $\beta$  dos ilhéus pancreáticos, originando deficiência absoluta de insulina e com propensão a ter cetoacidose. Inclui os casos que são atribuídos processos autoimunes caracterizados pela presença de anticorpos anti-GAD (descarboxilase do ácido glutâmico), bem como aqueles em que há destruição das células  $\beta$  e propensão para cetoacidose mas, nos quais, não é conhecida etiologia nem patogénese (idiopático), que ocorre principalmente em indivíduos não caucasianos (africanos e asiáticos). Não inclui aquelas formas em que a falência ou destruição das células  $\beta$  possam ser atribuídas a causas específicas (exemplo: fibrose cística, defeitos mitocondriais, etc.). (Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2012)

Os indivíduos com DM1 devem tomar insulina exógena de forma a prevenir o desenvolvimento de cetoacidose. A sua frequência é baixa em relação à DM2, que corresponde a mais de 90% dos casos em todo o mundo. (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001) Os marcadores da destruição imunitária, incluindo os anticorpos anti-GAD, estão presentes em 85 a 90% dos indivíduos com DM1 quando é, inicialmente, detetada a hiperglicemia em jejum (Verge, et al., 1996). O pico de incidência desta forma de DM ocorre na infância e adolescência, mas pode ocorrer em qualquer idade (Moibak, Christau, Marnier, Borch-Johnsen, & Nerup, 1994). Há uma predisposição genética para a destruição autoimune das células  $\beta$  que está, também, relacionada com fatores ambientais. Embora os doentes que

apresentam esta forma de diabetes não sejam, geralmente, obesos, a presença de obesidade não é incompatível com o diagnóstico. Estes doentes podem ter, também, outras doenças autoimunes. (Barbieri, et al., 2005; Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2012)

A DM2 é provocada, predominantemente, por defeitos na secreção de insulina, quase sempre com uma grande contribuição da insulinoresistência (ilustração 6). A maioria dos indivíduos com DM2 manifesta uma resistência à ação da insulina. Quando comparada com indivíduos normais, a insulina destes possui uma atividade mais baixa, mesmo estando presente em níveis normais ou elevados. A insulina é pouco eficiente na promoção da absorção de glicose pelas células dos músculos e no fígado e não consegue impedir a produção de mais glicose (através da gliconeogénese ou pela glicogenólise). Desta forma, a resistência à insulina causa hiperglicémia, um desequilíbrio que se manifesta por elevados níveis de glucose no sangue (figura VI). (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001)

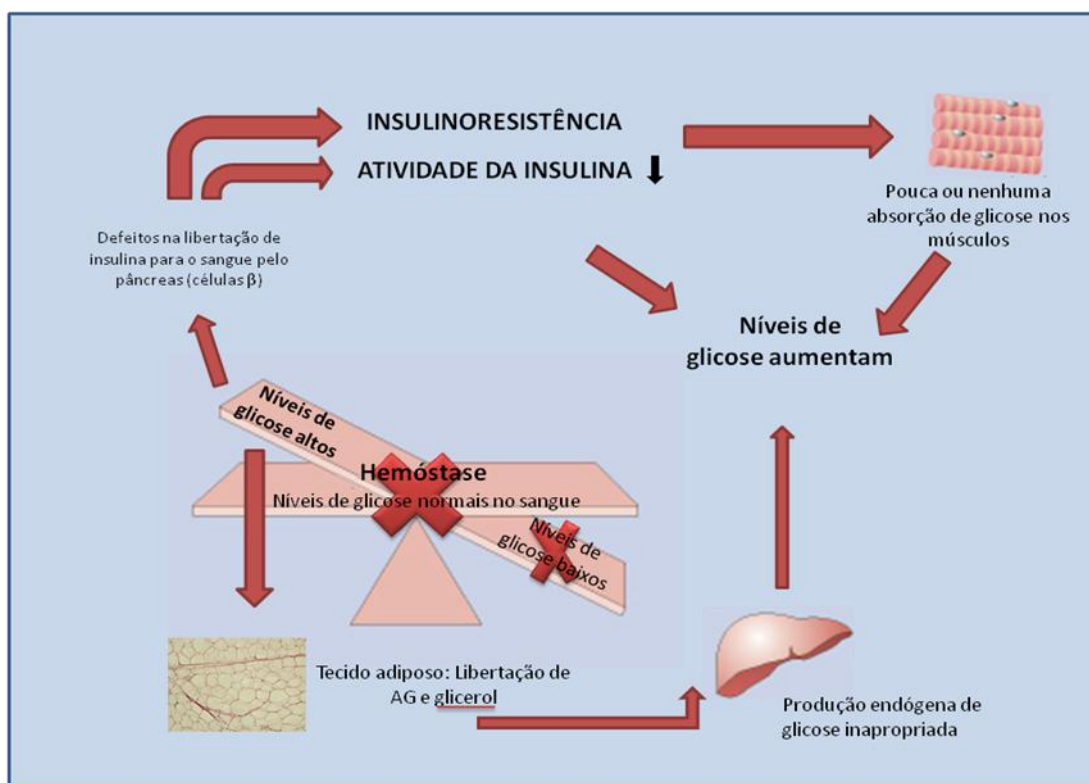


Figura VI: Diabetes mellitus tipo 2.

Pessoas com DM2 não são dependentes de insulina exógena, mas têm que controlar os níveis de glucose no sangue, recorrendo a uma dieta ou a agentes hipoglicemiantes orais. (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001) Inicialmente, os indivíduos com DM2 não necessitam de

insulina para sobreviverem. Frequentemente, este tipo de DM permanece muitos anos sem ser diagnosticada pois, em geral, a hiperglicemia não é suficientemente elevada para provocar sintomatologia. No entanto, estes doentes apresentam um risco aumentado de desenvolverem complicações microvasculares e macrovasculares. Embora se desconheça em detalhe a etiologia da DM2, não ocorre destruição auto-imune das células pancreáticas. (Mooy, et al., 1995)

A maioria dos doentes com DM2 são obesos e a obesidade, só por si, está envolvida no agravamento da insulinoresistência. (Campbell & Carlson, 1993; Bogardus, Lillioja, Mott, Hollenbeck, & Reaven, 1985) A cetoacidose não é frequente, mas quando ocorre está, geralmente, associada ao *stress* provocado por outra patologia, como por exemplo, uma infeção. (Banerji, et al., 1994; Umpierrez, Casals, Gebhardt, Mixon, Clark, & Philips, 1995) Embora os níveis de insulina pareçam normais ou elevados, esperar-se-ia que os valores elevados de glicemia resultassem em níveis de insulina ainda mais elevados. (Polonsky, Sturis, & Bell, 1996) Contudo, a sua secreção é deficiente e insuficiente para compensar a resistência à insulina. A sensibilidade à insulina pode ser aumentada, embora não normalize, com a redução do peso corporal, aumento da atividade física e/ou tratamento farmacológico da hiperglicémia. (Simonson, et al., 1984; Wing, Biair, Bononi, Marcus, Watanabe, & Bergman, 1994)

O risco de DM2 aumenta com idade, com a obesidade e com a ausência de atividade física. (Harris, Cowie, Stern, Boyko, Reiber, & Bennett, 1995; Zimmet, 1992) Ocorre, mais frequentemente, em mulheres com antecedentes de DMG e em indivíduos com hipertensão ou dislipidémia. A sua frequência varia em diferentes subgrupos raciais/étnicos. (Alberti, Zimmet, & Ra, 1997; Harris, Cowie, Stern, Boyko, Reiber, & Bennett, 1995; Zimmet P, 1992) Encontra-se, geralmente, associada a uma predisposição familiar. (Alberti, Zimmet, & DeFronzo, 1997) No entanto, a genética deste tipo de diabetes é complexa e não está claramente definida.

Os efeitos da DM a longo prazo incluem danos, disfunção e falência de vários órgãos. Podem surgir complicações específicas como a retinopatia diabética que pode conduzir à cegueira, nefropatia que pode originar insuficiência renal e/ou neuropatia com risco de ulcerações nos pés, amputações e sinais de disfunção autonómica, incluindo disfunção sexual. (Czepielewski, 2003)

Os sintomas característicos desta doença são a polidipsia, poliúria, noctúria, visão turva, aumento do apetite e perda de peso. Em casos mais graves pode desenvolver-se

cetoacidose na DM1, ou um estado hiperosmolar não-cetônico na DM2 que pode conduzir a letargia, coma e, na ausência de tratamento adequado, pode levar à morte. Na maioria das vezes os sintomas não são graves, podendo até estar ausentes. Consequentemente, pode estar presente durante muito tempo uma hiperglicemia suficiente para causar alterações patológicas e funcionais, antes de ser feito o diagnóstico. (Czepielewski, 2003)

Os indivíduos que sofrem de diabetes têm um risco aumentado de doença cardiovascular, vascular periférica e cerebrovascular. (Czepielewski, 2003)

Nas crianças, a DM apresenta-se, geralmente, com valores de glicemia muito elevados, glicosúria marcada e cetonúria. Na maioria das crianças, o diagnóstico é confirmado, rapidamente, pela determinação da glicemia e o tratamento (incluindo insulinoterapia) é iniciado imediatamente sendo, muitas vezes, determinante para a sobrevivência. (Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2012)

O diagnóstico clínico de diabetes é, muitas vezes, sugerido pela presença de sintomas, como o aumento da sede e do volume urinário, infecções recorrentes, perda de peso inexplicável e, em casos graves, sonolência e coma. Estão, geralmente, presentes níveis elevados de glicosúria. Nestas situações, a obtenção de uma glicemia acima dos valores de referência estabelece o diagnóstico. (Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2012)

Até ao ano de 2030, prevê-se que a DM possa afetar quase 5% da população mundial (cerca de 366 milhões de pessoas). A grande maioria desses indivíduos terá DM2, que atualmente representa cerca de 90-95% dos casos de diabetes. (Wild, Roglic, Green, Sicree, & King, 2004)

A prevalência de DM é de cerca de 3% na população em geral, com maior prevalência em alguns grupos étnicos minoritários, como os sul asiáticos, africanos, afro-caribenhos e chineses, bem como em populações menos abastadas, incluindo aqueles que são menos ativos fisicamente, obesos e que possuem um elevado IMC. Algumas populações, como os índios Pima, detêm de uma prevalência muito maior. A presença de DM está associada a complicações vasculares, tais como enfarte agudo do miocárdio (EAM), insuficiência cardíaca, insuficiência renal, angina de peito e retinopatia, que acarretam uma diminuição da qualidade de vida e esperança média de vida (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001)

Zimmet e colaboradores afirmaram, em 2001, que o número de indivíduos com DM deverá aumentar para 300 milhões em 2025. No mesmo estudo referem que a maioria dos

casos será de DM2, fortemente associada a uma vida sedentária e à obesidade. Embora a DM2 seja numericamente mais prevalente na população em geral, a DM1 é a doença crônica mais comum das crianças. Mas, com o aumento da prevalência de DM2 em crianças e adolescentes, a ordem pode ser invertida dentro de uma a duas décadas. (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001)

Ao longo dos anos, tem-se verificado uma relação crescente entre a obesidade, a DM2 e a resistência à insulina, como já foi mencionado anteriormente. A relação entre a obesidade e a resistência à insulina tem-se verificado em todos os grupos étnicos e em qualquer classe de peso. Depósitos de gordura situados na região abdominal estão mais fortemente ligados à resistência à insulina, DM2 e doença cardiovascular do que os depósitos de gordura situados nas zonas mais periféricas, como na região glútea. Este fato sobre a gordura e sensibilidade à insulina ainda não foi adequadamente explicado. É possível que um fator desconhecido comum, genético ou ambiental, esteja na origem do problema. (Formiguera & Cantón, 2004; Kahn & Flier, 2000)

A insulina é um regulador da biologia dos adipócitos, sendo estes uma das células com maior resposta à insulina. A insulina promove a acumulação de triglicerídeos nos adipócitos e a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos. Nos adipócitos, a insulina promove a lipogênese, estimulando a absorção de glucose e de lipoproteínas derivadas de ácidos gordos, não apenas nos adipócitos, mas também nos hepatócitos. A insulina também aumenta a absorção de ácidos gordos derivados de lipoproteínas em circulação, estimulando a atividade da LPL no tecido adiposo. A insulina também pode regular a transcrição por meio de fatores de transcrição (figura VII). (Kahn & Flier, 2000)

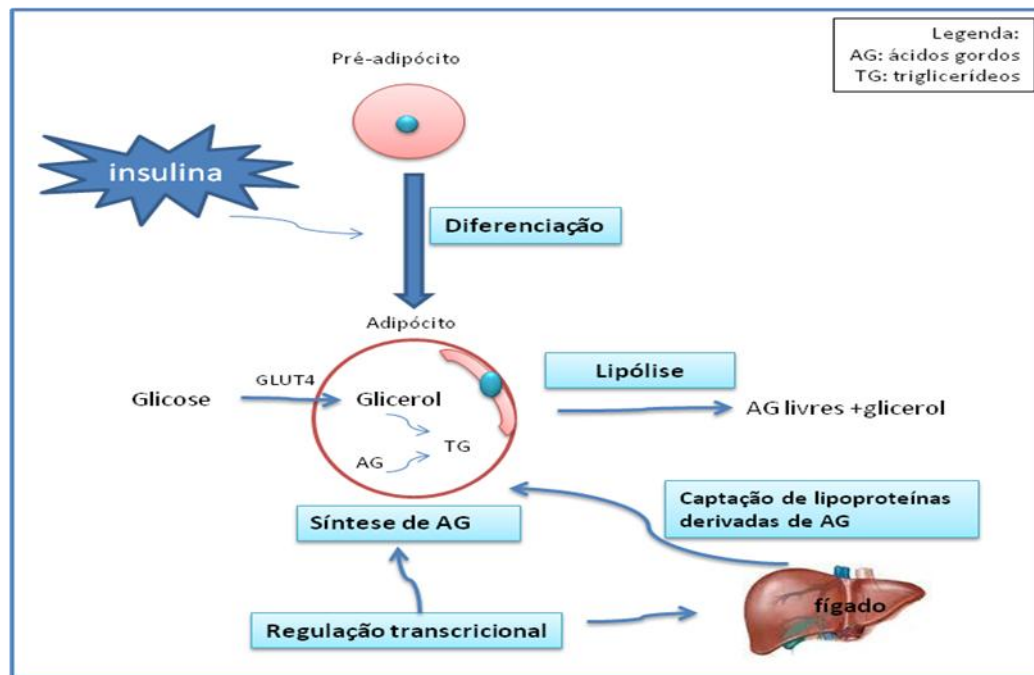


Figura VII: Papel da insulina na lipogênese e na lipólise (adaptado de Kahn & Flier, 2000).

A resistência à insulina é definida como a diminuição do efeito da insulina sobre o metabolismo da glicose, absorção e armazenamento. Há uma diminuição da absorção de glicose estimulada pela insulina no músculo esquelético e no tecido adiposo, e deficiência na supressão da produção de glicose no fígado. Estes defeitos podem ser determinados pela deficiência na sinalização da insulina ou por *down regulation* do transportador da glicose, o GLUT4. (Formiguera & Cantón, 2004)

Foi estabelecido que a síndrome da resistência à insulina se verifica quando três dos cinco critérios seguintes estão alterados: 1) circunferência da cintura superior a 102 cm nos homens e 88 cm nas mulheres; 2) colesterol HDL inferior a 40 mg/dL nos homens e 50 mg/dL nas mulheres; 3) triglicerídeos  $\geq$  a 150 mg/dL; 4) glicemia em jejum  $\geq$  a 110 mg/dL; 5) pressão arterial sistólica e diastólica  $\geq$ 130/85 mm/Hg. (Kahn & Flier, 2000)

Estados pró-trombótico e pró-inflamatório são característicos da resistência à insulina. Os valores de proteína C reativa (PCR), uma proteína de fase aguda do fígado, em grande parte regulada pelos níveis de IL-6 na circulação, e considerado um marcador de inflamação/infeção, estão fortemente associados à obesidade e às desordens relacionadas com a obesidade, incluindo a resistência à insulina, DM2 e dislipidemia. (Kahn & Flier, 2000)

## 7. OBJETIVOS

Para estudar a relação entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene do PPAR $\gamma$ 2 e a obesidade e a DM2 foi realizada uma revisão sistemática das evidências epidemiológicas publicadas na literatura científica e efetuou-se uma meta análise. Para o efeito, os dados foram sintetizados usando técnicas de meta análise para aumentar o poder de deteção de resultados significativos e para diminuir a incerteza dos riscos estimados genéticos.

Consideram-se objetivos específicos da presente meta análise: 1) verificar se existe influência do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene dos PPAR $\gamma$ 2 na obesidade baseado nas melhores evidências disponíveis na literatura; 2) verificar se existe influência do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene dos PPAR $\gamma$ 2 na DM2 baseado nas melhores evidências disponíveis na literatura; 3) perceber se polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala no gene do PPAR $\gamma$ 2 é um bom teste de diagnóstico para a obesidade e para a DM2.

## **CAPÍTULO II: MÉTODOS**



## 1. SUJEITOS E MÉTODO

### *i) Identificação dos estudos*

Para identificar os estudos foi realizada uma pesquisa eletrónica na biblioteca do conhecimento online (www.b-on.pt), pesquisando duas bases de dados, a Sciencedirect e a Medline (Pubmed), entre 2 de Maio e 2 de Julho de 2012, sendo aprofundada posteriormente quando necessário. A pesquisa booleana foi efetuada em ambas as bases de dados, usando as seguintes palavras-chave: (1) PPAR $\gamma$  [AND] Pro<sup>12</sup>Ala, (2) Pro<sup>12</sup>Ala [AND] obesity e (3) Pro<sup>12</sup>Ala [AND] DM2. De modo a que se estudasse a mais recente evidência apenas se consideraram estudos publicados no período de 1998 a 2012. Na Pubmed, usamos ainda os limites artigo completo gratuito, não colocando quaisquer restrição linguística. Além disso, foram efetuadas pesquisas complementares usando os artigos referenciados nos artigos selecionados.

Duas investigadoras avaliaram, independentemente, os títulos e resumos dos artigos identificados pela pesquisa da potencial relevância para a questão de pesquisa efetuada nas bases de dados. Após este processo, os resumos de artigos potencialmente elegíveis foram lidos e avaliados, sendo guardados eletronicamente, numa pasta específica, com base no título, palavras-chave e resumo. Os que geraram dúvidas foram avaliados por um terceiro revisor, que ajudaria a decidir se o artigo era incluído ou excluído. Quando, mesmo assim, algum resumo não pudesse ser rejeitado ou incluído com toda a certeza, o texto integral do artigo era lido para avaliação posterior. Procedeu-se à rejeição dos artigos que numa análise inicial não satisfaziam os critérios de inclusão.

Para que os artigos fossem incluídos na revisão sistemática, só foram considerados os estudos identificados como ensaios clínicos randomizados ou quasi randomizados, realizados em humanos, em que o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala fosse utilizado como forma de comparação entre um grupo de indivíduos obesos e um grupo controlo (não obesos) ou comparação entre um grupo de indivíduos diabéticos e um grupo controlo (não diabéticos).

Considerou-se como resultado primário a obesidade e a DM2.

Depois de se analisarem os artigos e de se extraírem os dados, verificou-se a possibilidade de ser efetuada uma meta análise, dada a homogeneidade dos estudos encontrados e que utilizavam os mesmos resultados. Desta forma, foram recolhidos os

seguintes dados de cada estudo analisado: local onde o estudo foi realizado, ano da publicação, o tipo de *outcome* e o número total de indivíduos analisados.

ii) *Métodos estatísticos*

A meta análise consiste numa revisão quantitativa e resumida de resultados e estudos distintos, que estão relacionados. O objetivo deste estudo foi comparar e combinar os resultados de diferentes trabalhos publicados conduzindo a uma conclusão geral. A investigadora conseguiu reunir poucos estudos envolvendo o polimorfismo em estudo e a obesidade ou a DM2, o que salienta a pouca investigação conhecida sobre a relação entre o genótipo e o fenótipo, que explica, em parte, o insuficiente conhecimento entre a associação entre ambos.

A sensibilidade é a probabilidade de um resultado ser positivo quando a doença está presente. No presente estudo, a sensibilidade é medida pelos indivíduos que possuem o polimorfismo e apresentam a doença (obesidade ou DM2) – chamados de verdadeiros positivos (VP) – sendo medida pela proporção dos VP sobre todos os indivíduos com a doença que foram submetidos ao teste (VP e falsos negativos – FN).

$$\textit{Sensibilidade} = \frac{VP}{VP + FN}$$

Por outro lado, a especificidade, identifica corretamente a ausência de doença. É a probabilidade de um resultado ser negativo quando o indivíduo testado não possui a doença – verdadeiros negativos (VN), sendo no nosso caso os indivíduos que não possuem o polimorfismo nem a doença. É medida pela proporção entre os indivíduos sem a doença que têm um resultado negativo e todos os indivíduos sem a doença que foram submetidos ao teste (VN e falsos positivos – FP).

$$\textit{Especificidade} = \frac{VN}{VN + FP}$$

Tabela II: Associação entre o resultado e a doença para classificar os indivíduos incluídos numa meta análise.

<b>Resultado</b>	<b>Doença</b>	
	<b>Presente</b>	<b>Ausente</b>
<b>Positivo</b>	Verdadeiro positivo (VP)	Falso positivo (FP)
<b>Negativo</b>	Falso negativo (FN)	Verdadeiro negativo (VN)

A relação entre sensibilidade e especificidade pode ser ilustrada usando-se um gráfico conhecido como curva ROC (*receiver operating characteristic*). Numa meta análise, os pontos representam estudos diferentes, e as curvas ROC retratam *trade-offs* entre sensibilidade e especificidade que surgem por causa das diferenças entre os estudos. A curva ROC permite evidenciar os valores para os quais existe maior otimização da sensibilidade em função da especificidade (ponto em que se encontra mais próximo do canto superior esquerdo do diagrama), quantificar a exatidão de um teste diagnóstico (proporcional à área sob a curva) e comparar testes diagnósticos.

Os estudos de casos-controles comparam a frequência de expostos a um determinado fator entre um grupo de indivíduos que apresenta a doença – casos – e outro que não a tem – controlo, como é o caso dos estudos inseridos nesta meta análise. O *Odds Ratio* (OR), que poderá traduzir-se como a “razão de chance”, é definido como a probabilidade de um indivíduo com determinada característica (neste caso, presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala) desenvolver determinada doença, comparada com a probabilidade de um indivíduo sem essa mesma característica desenvolver a referida doença. Valores superiores a 1,0 indicam que determinada característica está associada a um risco aumentado de desenvolver a doença, enquanto valores inferiores a 1,0 sugerem que a mesma característica confere proteção em relação ao desenvolvimento da doença. Valores que englobam 1,0 não podem ser considerados estatisticamente significativos. Todas as

associações foram indicados como OR com os respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%).

A análise dos dados foi efetuada com o programa RevMan, versão 5.1 e com o SPSS Statistics versão 17.0.

**CAPÍTULO III:  
RESULTADOS**



Numa primeira avaliação foram selecionados 63 artigos nas bases de dados referidas anteriormente, 34 artigos foram identificados para uma avaliação mais criteriosa. Os restantes 29 artigos foram considerados elegíveis para leitura do artigo completo. Destes, 8 foram excluídos por não preencherem os critérios de inclusão. Foram incluídos um total de 32 artigos, sendo que destes 25 foram incluídos na síntese qualitativa e 11 incluídos na síntese quantitativa (meta análise).

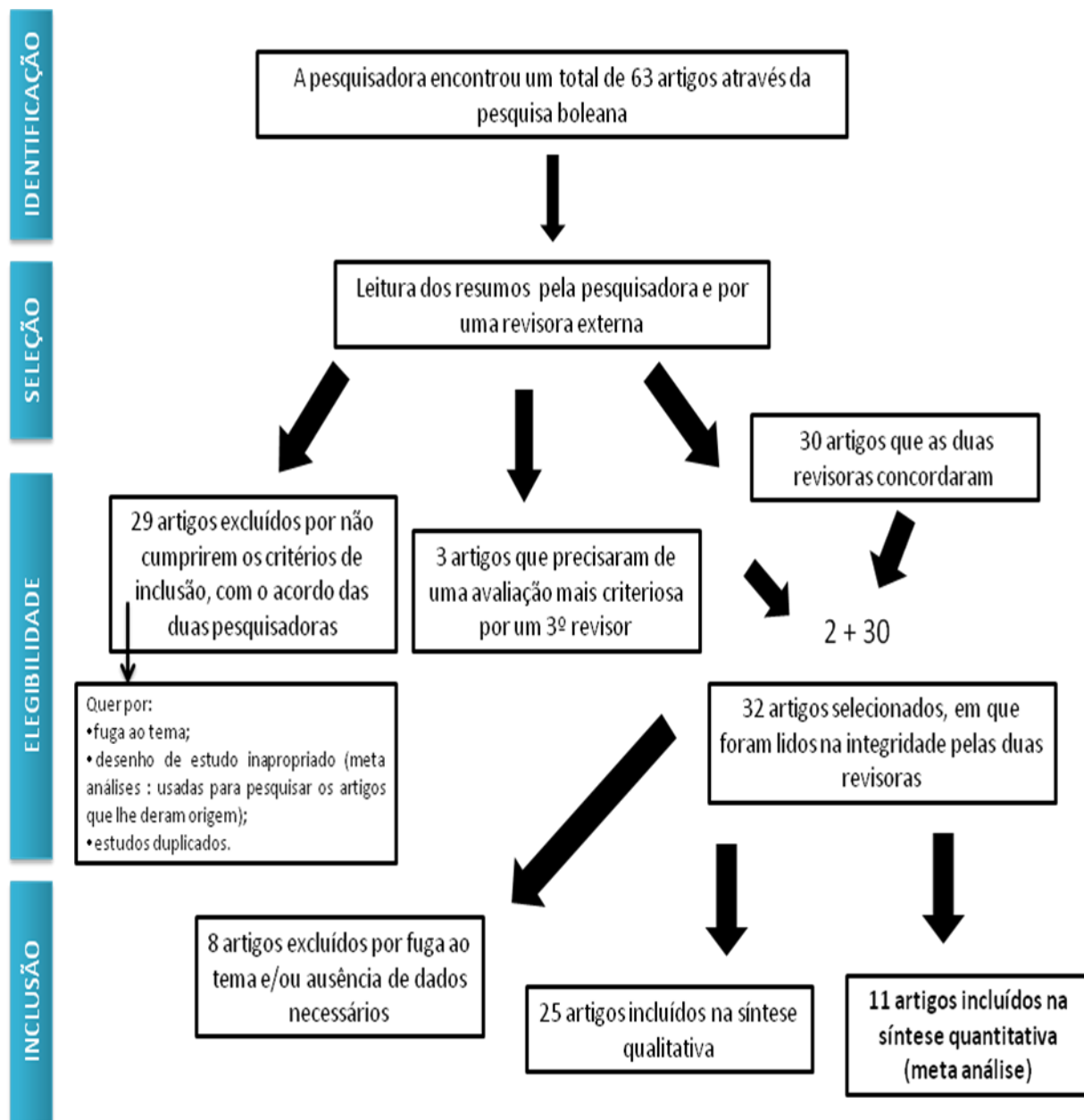


Figura VIII: Fluoxograma da estratégia da revisão sistemática.

## 1. CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

A pesquisa identificou onze estudos, os quais foram incluídos na presente meta análise, seis estudos relativos à presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala na obesidade e oito estudos relativos à presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala na DM2.

Os estudos relativos à obesidade investigaram um total de 3870 indivíduos, sendo 2260 obesos e 1610 não obesos (tabela III), e os artigos concernentes ao estudo da DM2 um total de 7625 indivíduos, sendo 4464 diabéticos e 3161 não diabéticos (tabela IV).

As características basais dos indivíduos investigados foram semelhantes nos estudos incluídos, assim como, a metodologia dos estudos.

Não foi possível realizar as análises de sensibilidade planeadas que avaliavam características da população por causa do pequeno número de estudos incluídos.

Tabela III: Estudos da obesidade incluídos na meta análise e respetivo genótipo da população estudada.

Nome dos artigos	Autores, Ano	População	Tema	Amostra	Nº de casos (obesos)	Nº de controlos (não obesos)	Genótipo					
							Pro/Pro		Pro/Ala		Ala/Ala	
							obesos	não obesos	obesos	não obesos	obesos	não obesos
Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population	Ghoussaini et al, 2005	Francesa	obesidade (crianças)	591	396	195	304	156	84	39	8	0
Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population	Ghoussaini et al, 2005	Francesa	obesidade (adultos)	1713	1102	611	857	478	231	123	12	10
Effect of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor g-2 gene on adiposity, insulin sensitivity and lipid profile in the Spanish population	Sánchez, Ríos, Pérez, Laakso and Larrad. 2002	Espanhola	obesidade	459	145	314	119	264	25	50	1	3
Significance of Pro12Ala Mutation in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 in Korean Diabetic and Obese Subjects	Oh et al, 2000	Coreana	obesidade	229	111	118	103	108	8	9	0	1
Impact of the Pro12Ala Polymorphism of the PPAR-Gamma 2 Gene on Metabolic and Clinical Characteristics in the Palestinian Type 2 Diabetic Patients	Ereqat, Nasereddin, Azmi, Abdeen and Amin, 2009	Palestina	obesidade (indivíduos todos com DM2)	202	121	81	106	73	15	8	–	–
Gender-specific effect of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor g-2 gene on obesity risk and leptin levels in a Tunisian population	Ali et al, 2009	Tunisina	obesidade	675	387	288	348	271	39	17	–	–

Ali e colaboradores estudaram o efeito do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala sobre o risco da obesidade numa população tunisina, em 2009. Notaram que houve uma diferença significativa entre os obesos do sexo masculino e os controlos. Apontaram, também, uma associação entre o polimorfismo e a obesidade em indivíduos do sexo masculino não diabéticos. Estes indivíduos também possuíam um IMC mais elevado. Contudo, este estudo não procedeu à medição da massa gorda e à sua distribuição corporal que possa confirmar a contribuição do polimorfismo na obesidade. Mesmo assim, suportam a hipótese de que o polimorfismo é um marcador relevante da obesidade em homens tunisinos não diabéticos, apesar de não ter um efeito sobre as características metabólicas dos indivíduos. (Ali, et al., 2009)

Ereqat e colaboradores, em 2009, estudaram indivíduos palestinos obesos com DM2. Notaram que nestes indivíduos, o polimorfismo estava associado com níveis plasmáticos elevados de colesterol total, com tendência para uma crescente elevação dos níveis de colesterol LDL. Contudo, não houve impacto significativo entre o polimorfismo e o IMC, triglicerídeos e pressão arterial. Assim, concluíram que o alelo Ala12 pode influenciar o risco cardiovascular, através de efeitos sobre o metabolismo lipídico, em doentes obesos com DM2 palestinos. (Ereqat, Nasereddin, Azmi, Abdeen, & Amin, 2009)

Ghoussaini e colaboradores estudaram a população francesa com DM2 e obesidade. Em relação à obesidade, demonstraram que não existe nenhuma associação entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a obesidade, tanto nas crianças como nos adultos, contudo concluem que o polimorfismo confere uma redução do risco de obesidade. (Ghoussaini, et al., 2005)

Oh e colaboradores realizaram o seu estudo na população coreana. Não encontraram nenhuma associação significativa entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a obesidade, hipertensão e dislipidemia. Contudo, apesar das associações serem estatisticamente insignificantes, segundo os autores, existe a possibilidade de que a mutação do PPAR $\gamma$ 2 tenha apenas um pequeno efeito sobre a obesidade, assumindo um efeito significativo se ocorrer simultaneamente com mutações noutros genes ou fatores ambientais. (Oh et al, 2000)

Sánchez e colaboradores foram os primeiros a realizar um estudo de base populacional realizado em Espanha, sugerindo que o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala pode promover a deposição de gordura generalizada. A frequência do alelo Ala12 foi maior nos indivíduos obesos do sexo masculino do que nos magros. Os homens portadores do alelo

Ala12 possuíam um IMC maior que os não portadores (38,9% versus 21,3%), apesar de possuírem um menor diâmetro abdominal. (Sanchez, Rios, Perez, Laakso, & Larrad, 2002)

Tabela IV: Estudos da DM2 incluídos na meta análise e respetivo genótipo da população estudada.

Nome dos artigos	Autores, Ano	População	Tema	Amostra	Nº de casos (diabéticos)	Nº controlos (não diabéticos)	Genótipo					
							Pro/Pro		Pro/Ala		Ala/Ala	
							diabéticos	não diabéticos	diabéticos	não diabéticos	diabéticos	não diabéticos
Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population	Ghousaini et al, 2005	Francesa	DM2 e sensibilidade à insulina	946	628	318	511	246	113	63	4	9
Association of the Pro12Ala Polymorphism in the PPAR-2 Gene With 3-Year Incidence of Type 2 Diabetes and Body Weight Change in the Finnish Diabetes Prevention Study	Lindi et al, 2002	Finlandesa	DM2	490	248	242	163	174	79	61	6	7
The PPAR $\gamma$ Pro12Ala variant is associated with insulin sensitivity in Russian normoglycaemic and type 2 diabetic subjects	Chistiakov et al, 2009	Russa	DM2 e sensibilidade à insulina	1185	588	597	401	353	167	208	20	36
Significance of Pro12Ala Mutation in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 in Korean Diabetic and Obese Subjects	Oh et al, 2000	Coreana	DM2	229	58	171	54	157	3	14	1	0
The peroxisome proliferator activated receptor 2 (PPAR $\gamma$ 2) Pro12Ala variant: lack of association with type 2 diabetes in obese and non obese Tunisian patients	Bouassida et al, 2005	Tunisina	DM2	488	242	246	216	221	26	23	0	2
The Pro12Ala polymorphism of PPAR $\gamma$ 2 gene and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Polish population	Malecki et al, 2003	Polaca	DM2	644	366	278	256	202	99	66	11	10
The Frequency of Alleles of the Pro12Ala Polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 Is Different between Healthy Controls and Patients with Type 2 Diabetes	Pintérová et al, 2004	Checos	DM2	230	133	97	99	61	31	30	3	6
The Pro12Ala Substitution in PPAR-g Is Associated With Resistance to Development of Diabetes in the General Population	Mori et al, 2001	Japonesa	DM2	3413	2201	1212	2097	1114	103	96	1	2

Ghousaini e colaboradores estudaram a população francesa com DM2 e obesidade, em 2005. Relativamente ao estudo da DM2, afirmam que o polimorfismo desempenha um papel de risco, pois encontraram uma associação significativa entre o polimorfismo e a

DM2, com um valor de  $p = 0,04$  e  $OR = 1,37$  (IC de 95%: 1,02;1,85). (Ghoussaini, et al., 2005)

Lindi e colaboradores estudaram uma população finlandesa diabética. Foram os primeiros a tentar associar o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com a incidência de DM2 numa população de alto risco com tolerância à glicose diminuída, num estudo longitudinal. No presente estudo, o alelo Ala12 não foi significativamente associado com a incidência de DM2 no grupo em estudo. (Lindi, et al., 2002)

Chistiakov e colaboradores analisaram indivíduos de nacionalidade russa com DM2. Os seus resultados sugerem que o polimorfismo reduz o risco de DM2, desempenhando um papel protetor nesta patologia. Na sua população em estudo, o alelo Pro12 contribui para um maior risco de desenvolver a patologia, de acordo com o valor de  $OR = 1,69$  (IC de 95%: 1,02;3,03). (Chistiakov, et al., 2010)

Oh e colaboradores analisaram a associação entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a incidência de DM2, em indivíduos coreanos diabéticos. Compararam indivíduos com tolerância à glicose normal, tolerância à glicose diminuída e indivíduos diabéticos. Não encontraram diferenças significativas entre as frequências do alelo Ala12 nos grupos em estudo, concluindo que não existe nenhuma associação significativa entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a DM2. Contudo, apesar de não possuírem associações estatísticas significativas, afirmam que existe a possibilidade de existir um pequeno efeito do polimorfismo sobre a DM2 quando associado com outras mutações de outros genes e com fatores ambientais. (Oh, et al., 2000)

Bouassida e colaboradores, em 2005, estudaram a associação do polimorfismo com indivíduos tunisinos portadores de DM2. Concluíram que não existem diferenças significativas entre o grupo de indivíduos diabéticos e o grupo controlo, e assim, o polimorfismo não desempenha nenhum papel na DM2. (Bouassida, et al., 2005)

Malecki e colaboradores estudaram o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com a incidência de DM2 numa população polaca. Compararam a incidência do polimorfismo num grupo de diabéticos e num grupo controlo (não diabéticos). Notaram que as frequências dos alelos Pro12 e Ala12 foram similares nos dois grupos (83,5% e 16,5% vs 84,5% e 15,5%, respectivamente,  $p = 0,607$ ), assim como a distribuição genotípica. Não foram capazes de concluir que o polimorfismo confere um risco aumentado para a DM2, como acontece noutros estudos europeus em populações caucasianas. (Malecki, et al., 2003)

Pintérová e colaboradores, em 2004, quiseram compreender qual a associação entre o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a DM2. Para isso, estudaram a população checa, comparando

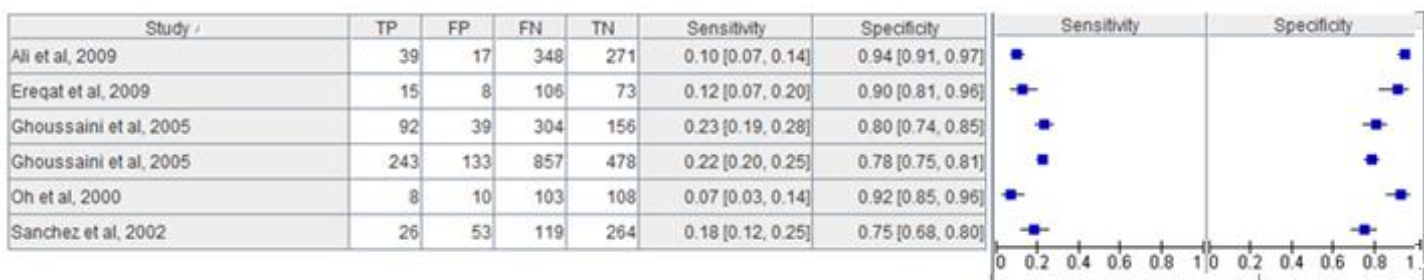
um grupo de estudo de 133 indivíduos com DM2 com um grupo controlo de 97 indivíduos não diabéticos. No grupo de estudo, 3 amostras (2,26%) foram identificados como homozigóticos para o genótipo Ala/Ala e 99 amostras (74,44%) eram homozigóticos para o genótipo Pro/Pro. 31 amostras (23,31%) foram identificados como heterozigóticos. No grupo controlo, 6 amostras (6,19%) eram homozigóticos para o genótipo Ala/Ala e 61 amostras (62,89%) eram homozigóticos para Pro/Pro. 30 amostras (30,93%) foram identificadas como heterozigóticos. A frequência alélica para o alelo Ala foi menor no grupo de diabéticos do que no grupo controlo (13,91% vs 21,43%,  $p = 0,022$ ). Não houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre as características fenotípicas (IMC, sexo) no grupo estudado de acordo com o genótipo Pro<sup>12</sup>Ala. Assim, este estudo suporta a hipótese de que o polimorfismo desempenha um papel importante na DM2 na população checa. Os resultados mostraram que a frequência alélica Ala<sup>12</sup> é maior no grupo controlo do que no grupo de estudo. Em suma, o polimorfismo está associado com um risco reduzido de DM2, assumindo um papel protetor na doença. (Pintérová, et al., 2004)

Mori e colaboradores analisaram o polimorfismo e a DM2 numa população japonesa. Incluíram no seu estudo 2201 indivíduos com DM2 (grupo de estudo) e 1212 indivíduos sem DM2 (grupo controlo). A frequência alélica do Ala<sup>12</sup> foi superior no grupo controlo do que no grupo de estudo (4,13 vs 2,39). Assim, concluíram que o polimorfismo está associado a um menor risco de desenvolver DM2, atuando como um fator protetor para a DM2. (Mori, et al., 2001)

## 2. RESULTADOS

A combinação dos estudos que analisam a presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala na obesidade está representada na tabela V. Podem-se observar os *forest plot* de sensibilidade e especificidade para cada um dos estudos incluídos, com um IC de 95%.

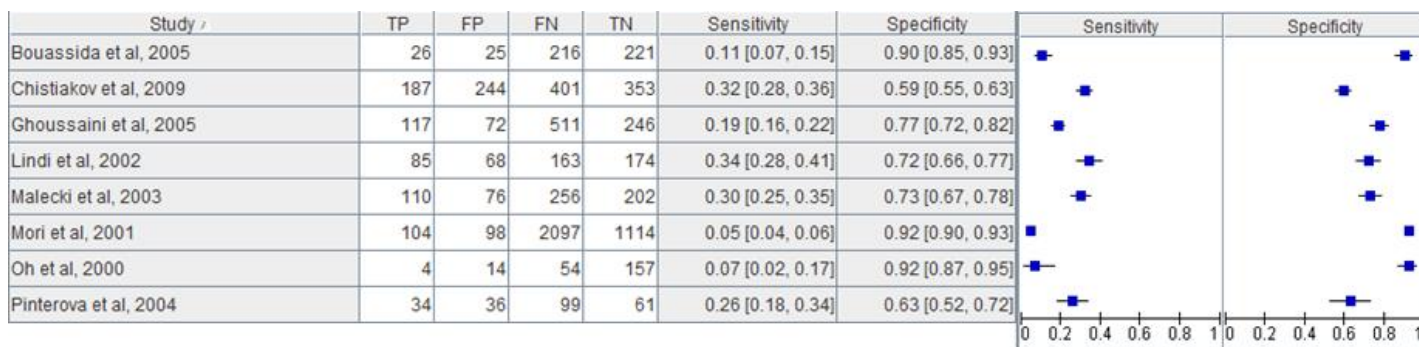
Tabela V: Sensibilidade e especificidade combinada dos estudos que estudam o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a obesidade.



Legenda: *Forest plot* de sensibilidade e especificidade do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala para detetar a obesidade/não obesidade. As estimativas dos pontos e os respetivos IC<sub>95%</sub> para cada um dos estudos incluídos são representados pelos quadrados e respetivas linhas horizontais.

A combinação dos estudos que analisam a presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala na DM2 está representada na tabela VI. Podem-se observar os *forest plot* de sensibilidade e especificidade para cada um dos estudos incluídos, com um IC de 95%.

Tabela VI: Sensibilidade e especificidade combinada dos estudos que estudam o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a DM2.



Legenda: *Forest plot* de sensibilidade e especificidade do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala para detetar a DM2/não DM2. As estimativas dos pontos e os respetivos IC<sub>95%</sub> para cada um dos estudos incluídos são representados pelos quadrados e respetivas linhas horizontais.

A figura IX representa a Curva ROC referente aos estudos que analisam o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a obesidade. No eixo dos XX encontra-se a especificidade combinada com a sensibilidade no eixo dos YY. A linha a tracejado corresponde a um teste

que dá resultados positivos e negativos somente ao acaso, e portanto, não tem um valor inerente, e a linha a preto corresponde ao nosso estudo.

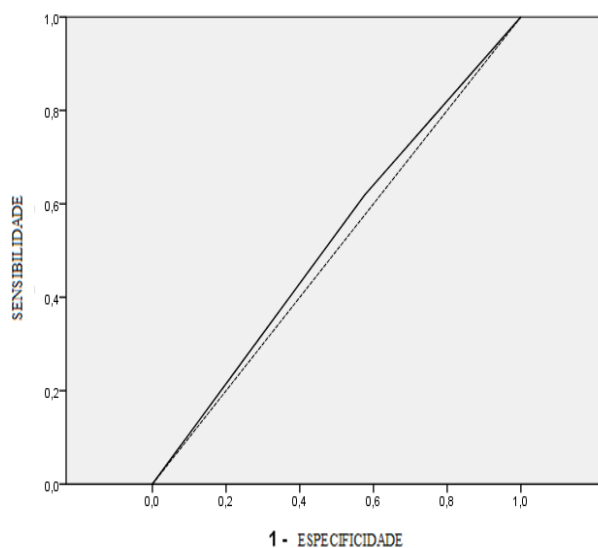


Figura IX: Curva ROC: polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala versus obesidade.

A figura X representa a Curva ROC referente aos estudos que analisam o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e a DM2. No eixo dos XX encontra-se a especificidade combinada com a sensibilidade no eixo dos YY. A linha a tracejado corresponde a um teste que dá resultados positivos e negativos somente ao acaso, e portanto, não tem um valor inerente, e a linha a preto corresponde ao nosso estudo.

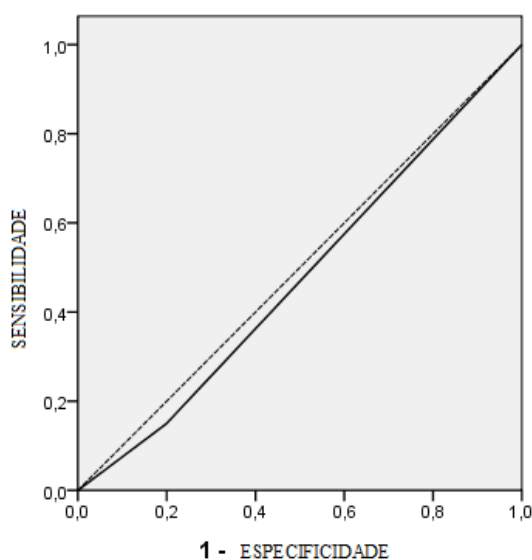


Figura X: Curva ROC: polimorfismo versus DM2.

A tabela VII corresponde ao estudo da obesidade e a tabela VIII ao estudo da DM2.

Tabela VII: Cruzamento dos dados do polimorfismo e da obesidade referentes ao nosso estudo.

		Obesidade		Total	p <0.004
		Obesos	Não obesos		
Polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala	Presente	423	260	683	
	Ausente	1837	1350	3187	
Total		2260	1610	3870	

Tabela VIII: Cruzamento dos dados do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala e da DM2.

		DM2		Total	p <0.01
		Diabéticos	Não diabéticos		
Polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala	Presente	667	633	1300	
	Ausente	3797	2528	6325	
Total		4464	3161	7625	

A tabela IX que se segue relaciona o risco estimado do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala para a obesidade, com os valores de OR e respetivos IC de 95%.

Tabela IX: Estimativa de risco do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala para a obesidade.

	Valor	IC de 95%	
		Baixo	Alto
OR para o polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala (0 / 1)	1,196	1,009	1,417
OR para a variável não obeso = 0	1,113	1,003	1,235
OR para a variável obesos = 1	0,931	0,871	0,994
Nº de casos válidos	3870		

A tabela IX que se segue relaciona o risco estimado do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala para a DM2, com os valores de OR e respetivos IC de 95%.

Tabela X: Estimativa de risco do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala para a DM2.

	Valor	IC de 95%	
		Baixo	Alto
OR para o polimorfismo Pro <sup>12</sup> Ala (0 / 1)	0,702	0,622	0,791
OR para a variável não diabéticos = 0	0,940	0,920	0,961
OR para a variável diabéticos = 1	1,340	1,214	1,479
Nº de casos válidos	7625		

**CAPÍTULO IV:  
DISCUSSÃO**



Como referido anteriormente, 11 estudos foram incluídos na presente meta análise. Procedeu-se ao cruzamento dos dados dos artigos que estudavam o polimorfismo e a obesidade e aqueles cujo tema incluía a análise do polimorfismo e da DM2. Assim, 6 estudos sobre a obesidade e 8 sobre a DM2 foram agrupados em dois grupos, como mostram as tabelas III e IV. De cada estudo, procedeu-se à recolha do genótipo dos indivíduos incluídos. Verificou-se que era de interesse agrupar os indivíduos de acordo com a presença/ausência de polimorfismo e de acordo com a presença/ausência de doença (obesidade ou DM2). Assim, os indivíduos cujo genótipo era Pro/Pro não possuíam o polimorfismo e cujo genótipo era Pro/Ala (heterozigóticos) e Ala/Ala (homozigóticos) possuíam o genótipo. A partir destes dados, conseguiu-se, portanto, agrupar os indivíduos em VN, VP, FP e FN (tabelas V e VI).

Com a combinação dos VN, VP, FP e FN, obteve-se a sensibilidade e especificidade de cada estudo incluído no presente trabalho (tabelas V e VI). Com a análise destas tabelas, verifica-se que, predominantemente, todos os estudos são pouco sensíveis, mas muito específicos.

Na tabela V, o estudo de Ghoussaini e colaboradores realizado em crianças obesas, representa o estudo mais sensível com um valor de 0,23 (IC de 95%; 0,19- 0,28). Pelo contrário, Oh e colaboradores possuem o estudo menos sensível – 0,07 (IC de 95%; 0,03- 0,14). O estudo que possui uma maior especificidade média é o do Ali e colaboradores, realizado em 2009, com um valor de 0,94 (IC de 95%; 0,91- 0,97) e o que possui menor especificidade é o de Sánchez e colaboradores – 0,75 (CI de 95%; 0,68- 0,80).

Na tabela VI, o estudo de Lindi e colaboradores, representa o estudo mais sensível com um valor de 0,34 (IC de 95%; 0,28- 0,41). Pelo contrário, Mori e colaboradores possuem o estudo menos sensível – 0,05 (IC de 95%; 0,04- 0,06). O estudo que possui uma maior especificidade média é o do Mori e colaboradores, com um valor de 0,92 (IC de 95%; 0,90- 0,93) e o que possui menor especificidade é o de Chistiakov e colaboradores – 0,59 (IC de 95%; 0,55- 0,63).

Dos dados das tabelas V e VI construíram-se as respetivas curvas ROC. Pela observação da figura IX, conclui-se que o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala não é um bom teste (em relação à sensibilidade e especificidade) para detetar a presença da obesidade, porque a linha de estudo está muito próxima da linha a tracejado (linha com resultados ao acaso). A mesma conclusão se tira da análise da figura X. Assim, o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala não é um bom teste (em relação à sensibilidade e especificidade) para detetar a presença da DM2.

Como não se obtiveram resultados conclusivos da análise das curvas ROC, procedeu-se ao cálculo dos OR e do valor p, pelo teste do Qui-Quadrado. Nas tabelas VII e VIII é possível verificar o valor p para a obesidade e a DM2, respetivamente. Nas tabelas IX e X encontra-se a estimativa de risco – OR – para as variáveis utilizadas na meta análise, com um IC de 95%, para a obesidade e DM2, respetivamente.

No que respeita à associação entre o polimorfismo e a obesidade, nota-se que os indivíduos obesos possuem 1,196 vezes mais chance de possuir o polimorfismo do que os não obesos (OR = 1,196 com IC 95%; 1,009- 1,417 p < 0,004).

No que respeita à associação entre o polimorfismo e a DM2, nota-se que os indivíduos diabéticos possuem 0,702 vezes menos chance de possuir o polimorfismo do que os não diabéticos (OR = 0,702 com IC 95%; 0,622 - 0,791; p < 0,001).

Assim, o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene do PPAR $\gamma$ 2 atua como um fator de risco para a obesidade (p < 0,05 e OR de 1,196 com IC com valores que nunca incluem o 1) e atua como fator protetor para a DM2 (p < 0,05 e OR de 0,702, com IC com valores que nunca incluem o 1), pela evidência estatística significativa.

Comparando os resultados obtidos na presente meta análise com os resultados obtidos, particularmente, em cada estudo incluído neste trabalho, verifica-se que existem algumas diferenças. Existem estudos que concluem que o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala é um fator de risco e outros que é um fator protetor para a obesidade, assim como, existem determinados estudos que apontam o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala como fator de risco para a DM2 e outros como fator protetor. Existem, ainda, estudos que não possuem dados estatísticos significativos para concluir nem uma nem outra coisa.

Ali e colaboradores, Ghousaini e colaboradores e Oh e colaboradores com os seus estudos não conseguiram associar a presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com a obesidade. Sánchez e colaboradores associaram a presença do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com um maior risco de ser obeso. Erekat e colaboradores associaram o polimorfismo ao metabolismo lipídico de indivíduos palestinos obesos e com DM2, concluindo que a presença do alelo Ala pode influenciar o risco cardiovascular.

Relativamente ao papel do polimorfismo na DM2, Boussida e colaboradores, Lindi e colaboradores, Malecki e colaboradores e Oh e colaboradores não obtiveram resultados significativos e, conseqüentemente, não associaram o polimorfismo à presença da doença. Chistiakov e colaboradores, Mori e colaboradores e Pinterová e colaboradores possuem resultados concordantes com os obtidos na presente meta análise, apontando o

polimorfismo como fator protetor para a DM2. Contrariamente, Ghoussaini e colaboradores afirmam que o polimorfismo desempenha um fator de risco para a DM2.

Para que se conheça realmente o papel do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene PPAR $\gamma$ 2 nestas duas desordens metabólicas é necessário que mais estudos sejam realizados, com um número maior de participantes, e que não seja estudado este polimorfismo isoladamente, mas sim cruzando os dados com outros polimorfismos e com fatores ambientais. Pois, provavelmente, este polimorfismo associado com fatores ambientais e outras mutações de outros genes possui um efeito sobre a obesidade e a DM2 mais significativo.



## **CONCLUSÃO**



Ainda não se clarificou a razão pela qual uma única mutação possa resultar em conflitos genéticos em diferentes populações étnicas. Dado o papel proadipogénico do PPAR $\gamma$ 2, pode-se esperar que a redução moderada da função de transactivação do PPAR $\gamma$ 2 resulte num IMC inferior em indivíduos possuidores do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene PPAR $\gamma$ 2. Estudos de associação mostram claramente que a regulação do gene do PPAR  $\gamma$ 2 no tecido adiposo é um processo complexo. Vários estudos sugerem que a genética ou o ambiente (tais como a dieta), participam na formação dos padrões de associações do polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala com composição corporal em diferentes populações humanas.

Diversos estudos, também, mostram nitidamente os efeitos heterogéneos do polimorfismo na suscetibilidade de possuir risco de diabetes em várias populações.

Em relação à nossa meta análise pode-se concluir que o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene do PPAR $\gamma$ 2 é um fator protetor para a DM2. Em relação à obesidade, o polimorfismo Pro<sup>12</sup>Ala do gene do PPAR $\gamma$ 2 desempenha um papel de risco nesta patologia. Contudo, como se tratam de patologias multifatoriais é difícil de clarificar o papel do polimorfismo nestes distúrbios metabólicos. É necessário, assim, que mais estudos sejam realizados, associando este polimorfismo com outros polimorfismos e com fatores ambientais.

Nota-se, assim, que as meta análises são ferramentas muito importantes para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos, epidemiologia e para o desenvolvimento de terapêuticas e a análise estatística é uma área muito nobre com um peso cada vez maior na sociedade científica médica. Com pouco investimento de recursos materiais consegue-se o que, por vezes, no laboratório é impossível.



## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- Adamo, K. B., Dent, R., Langefeld, C. D., Cox, M., Williams, K., Carrick, K. M., . . . Tesson, F. (2007). Peroxisome Proliferator-activated Receptor 2 and Acyl-CoA Synthetase 5 Polymorphisms Influence Diet Response. *Obesity*, 1068-1075.
- Alberti, K. G., Zimmet, P., & DeFronzo, R. A. (1997). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Chichester: John Wiley.
- Ali, S. B., Yahia, F. B., Sediri, Y., Kallel, A., Ftouhi, B., Feki, M., . . . Kaabachi, N. (2009). Gender-specific effect of Pro12Ala polymorphism in peroxisome. *Clinical Biochemistry*, 1642–1647.
- Andrulionyte, L., Zacharova, J., Chiasson, J. L., & Laakso, M. (2004). Common polymorphisms of the PPAR-gamma 2 and -1 alfa genes are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes in the STOP-NIDDM trial. *Diabetologia*, 47, 2176-2184.
- Banerji, A. M., Chaiken, R. L., Huey, H., Tuomi, T., Norin, A. J., Mackay, I. R., . . . Lebovitz, H. E. (1994). GAD antibody negative NIDDM in adult black subjects with diabetic ketoacidosis and increased frequency of human leukocytes antigen DR3 and DR4: flatbush diabetes. *Diabetes*, 741-45.
- Barbieri, M., Rizzo, M. R., Papa, M., Acampora, R., De Angelis, L., Olivieri, F., . . . Paolisso, G. (2005). Role of interaction between variants in the PPARG and interleukin-6 genes on obesity related metabolic risk factors. *Experimental Gerontology*, 599-604.
- Beamer, B. A., Yen, C. J., Andersen, R. E., Muller, D., Elahi, D., Cheskin, L. J., . . . Shuldiner, A. R. (1998). Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator-activated receptor-g2 gene with obesity in two Caucasian population. *Diabetes*, 47, 1806-1808.
- Bogardus, C., Lillioja, S., Mott, D. M., Hollenbeck, C., & Reaven, G. (1985). Relationship between degree of obesity and in vivo insulin action in man. *Am J Physiol*, 248: 286-91.
- Bouassida, K. Z., Chouchane, L., Jellouli, K., Chérif, S., Haddad, S., Gabbouj, S., & Danguir, J. (2005). The peroxisome proliferator activated receptor gamma2 Pro12Ala variant: lack of association with type 2 diabetes in obese and non obese Tunisian patients. *Diabetes and Metabolism*, 31, 119-123.

- Buzzetti, R., Petrone, A., Caiazzo, M., Alemanno, I., Zavarella, S., Capizzi, M., . . . di Mario, U. (2005). PPAR-gamma2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity in childhood obesity. *Pediatric Research*, 57, 138-140.
- Buzzetti, R., Petrone, A., Ribaud, M., Alemanno, I., Zavarella, S., Mein, C. A., . . . di Mario, U. (2004). The common PPAR-gamma2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity. *European Journal of Human Genetics*, 12, 1050-1054.
- Campbell, P. J., & Carlson, M. G. (1993). Impact of obesity on insulin action in NIDDM. *Diabetes*, 42:405-10.
- Chistiakov, D. A., Potapov, V. A., Khodirev, D. S., Shamkhalova, M. S., Shestakova, M. V., & Nosikov, V. V. (2010). The PPAR $\gamma$  Pro12Ala variant is associated with insulin sensitivity in Russian normoglycaemic and type 2 diabetic subjects. *Diabetes & Vascular Disease Research*, 56-62.
- Czepielewski, M. A. (2003). Diabetes. In L. ABC da Saúde e Prevenção, *Grande Enciclopédia Médica da Saúde da Família - volume 4* (pp. 74-87). Matosinhos: QuidNovi - Edições e Conteúdos, S.A.
- Czepielewski, M. A. (2003). Obesidade. In L. ABC da Saúde e Prevenção, *Grande Enciclopédia Médica Saúde da Família - volume 10* (pp. 24-35). Matosinhos: QuidNovi - Edição e Conteúdos, S.A.
- Damcott, C. M., Moffett, S. P., Feingold, E., Barmada, M. M., Marshall, J. A., Hamman, R. F., & Ferrell, R. E. (2004). Genetic variation in fatty acid-binding protein-4 peroxisome proliferator-activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in males. *Metabolism*, 303-9.
- Danawati, C. W., Nagata, M., Moriyama, H., Hara, K., Yasuda, H., Nakayama, M., . . . Yokono, K. (2005). A possible association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 gene with obesity in native Javanese in Indonesia. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 21, 465-469.
- Delarue, J., & Magnan, C. (2007). Free fatty acids and insulin resistance. *Current opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 10, 142-148.
- Diabetologia, S. P. (12 de Julho de 2012). Definição, Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus. Portugal.
- Dietz, W. H., & Bellizzi, M. C. (1999). Introduction: the use of body mass index to assess obesity in children. *The American Journal of Clinical Nutrition*, pp. 1235-1255.

- Doney, A., Fischer, B., Frew, D., Cumming, A., Flavell, D. M., World, M., . . . Palmer, C. N. (2002). Haplotype analysis of the PPAR $\gamma$  Pro12Ala and C1431T variants reveals opposing associations with body weight. *BMC Genetics*, 1-8.
- Douglas, J. A., Erdos, M. R., Watanabe, R. M., Braun, A., Johnston, C. L., Oeth, P., . . . Tuomilehto, J. (2001). The Peroxisome Poliferator-Activated Receptor-g2 Association With Type 2 Diabetes and Trait Differences. *Diabetes*, 886-890.
- Ereqat, S., Nasereddin, A., Azmi, K., Abdeen, Z., & Amin, R. (2009). Impact of the Pro12Ala Polymorphism of the PPAR-Gamma 2. *Hindawi Publishing Corporation PPAR Research*, 1-5.
- Evans, D., Mann, W., Heer, J., Michel, U., Wendt, D., Kortner, B., . . . Beisiegel, U. (2000). Variation in the gene for human peroxisome proliferator activated receptor PPAR $\gamma$  does not play a major role in the development of morbid obesity. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 24, 647-651.
- Ferreira, M. G., Costa, C. D., & Amaral, R. (2010). Obesidade infantil e juvenil. *Acta Médica Portuguesa*, 379-384.
- Fiotito, M., Torrente, I., De Cosmo, S., Guida, V., Colosimo, A., Prudente, S., . . . Dallapiccola, B. (2007). Interaction of DIO2 T92A and PPAR $\gamma$ 2 P12A polymorphisms in the modulation of metabolic syndrome. *Obesity*, 15, 2889-2895.
- Florez, J., Jablonski, K., Sun, M., Bayley, N., Kahn, S., Shamon, H., . . . Altshuler, D. (2007). Effects of the type 2 diabetes associated PPAR $\gamma$  P12A polymorphism on progression to diabetes and response to troglitazone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92, 1502-1509.
- Formiguera, X., & Cantón, A. (2004). Obesity, epidemiology and clinical aspects. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 1125-1146.
- Fornage, M., Jacobs Jr, D. R., Steffes, M. W., Gross, M. D., Bray, M. S., & Schreiner, P. J. (2005). Inverse effects of the PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala Polymorphism on measures of adiposity over 15 years in African Americans and whites: the CARDIA study. *Metabolism*, 910-917.
- Franks, P., Luan, J., Browne, P., Harding, A., O'Rahilly, S., Chatterjee, V., & Wareham, N. (2004). Does peroxisome proliferator activated receptor gamma genotype modify the association of physical activity and dietary fat with fasting insulin level. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 53, 11-16.
- Frederiksen, L., Brodbæk, K., Fenger, M., Jorgensen, T., Borch-Johnsen, K., Madsbad, S., & Urhammer, S. (2002). Studies of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-

- gamma gene in the Danish MONICA cohort: homozygosity of the Ala allele confers a decreased risk of the insulin resistance syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87, 3989-3992.
- Friedrich, R. R. (2011). *Intervenções na prevenção da obesidade no âmbito escolar, uma revisão sistemática com metanálise*. Porto Alegre.
- Ghoussaini, M., Meyre, D., Lobbens, S., Charpentier, G., Clément, K., Charles, M., . . . Froquel, P. (2005). Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population. *BMC Medical Genetical*, 6, 6-11.
- Ghoussaini, M., Meyre, D., Lobbens, S., Charpentier, G., Clément, K., Charles, M.-A., . . . Froguel, P. (2005). Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2. *BMC Medical Genetics*, 1-8.
- Gouda, H. N., Sagoo, G. S., Harding, A.-H., Yates, J., Sandhu, M. S., & Higgins, J. P. (2010). The Association Between the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 (PPARG2) Pro12Ala Gene Variant and Type 2 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. *American Journal of Epidemiology*, 645-655.
- Goyenechea, E., Parra, M. D., & Martinez, J. A. (2006). Weight regain after slimming induced by an energy-restricted diet depends on interleukin-6 and peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ 2 gene polymorphisms. *British Journal of Nutrition*, 965-972.
- Hara, K., Okada, T., Tobe, K., Yasuda, K., Mori, Y., Kadowaki, H., . . . Kadowaki, T. (2000). The Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma 2 may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 271, 212-216.
- Harris, M., Cowie, C., Stern, M., Boyko, E., Reiber, G., & Bennett, P. (1995). Diabetes in America. 2nd ed. Washington DC: US Government Printing Office.
- He, W. (2009). PPAR $\gamma$ 2Pro12Ala Polymorphism and Human Health - Review Article. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-15.
- Helwig, U., Rubin, D., Kiosz, J., Schreiber, S., Fölsch, U., Nothnagel, M., . . . Schrezenmeir, J. (2007). The minor allele of the PPAR gamma 2 Pro12Ala polymorphism is associated with lower postprandial TAG and insulin levels in non-obese healthy men. *British Journal of Nutrition*, 97, 847-854.
- Herder, C., Rathmann, W., Straussburger, K., Finner, H., Grallert, H., Huth, C., . . . Illig, T. (2008). Variants of the PPARG, IGF2BP2, CDKAL1, HHEX and TCF7L2 genes

- confer risk of type diabetes independently of BMI in the Germa KORA studies. *Hormone and Metabolic Research*, 40, 722-726.
- Heuvel, J. P. (2007). The PPAR resource page. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1108-1112.
- Horiki, M., Ikegami, H., Fujisawa, T., Kawabata, Y., Ono, M., Nishino, M., . . . Ogihara, T. (2004). Association of Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism of PPAR gamma gene with insulin resistance and related diseases. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 66, S63-S67.
- Jaziri, R., Lobbens, S., Aubert, R., Péan, F., Lahmidi, S., Vaxillaire, M., . . . Fumeron, F. (2006). The PPARG Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism is associated with a decreased risk of developing hyperglycemia over 6 years and combines with the effect of the APM1 G-11391A single nucleotide polymorphism: the data from an epidemiological study on the insulin resistance. *Diabetes*, 55, 1157-1162.
- Kahara, T., Takamura, T., Hayakawa, T., Nagay, Y., Yamauchi, H., Katsuki, T., . . . Kobayashi, K. (2003). PPAR gamma gene polymorphism is associated with exercise-mediated changed of insulin resistance in healthy men. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 52, 209-212.
- Kahn, B. B., & Flier, J. S. (2000). Obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 473-481.
- Kang, E., Park, S., Kim, H., Kim, C., Ahn, C., Cha, B., . . . Lee, H. (2005). Effects of Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene on rosiglitazone response in type 2 diabetes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 202-208.
- Kilpeläinen, T., Lakka, T., Laaksonen, D., Lindström, J., Eriksson, J., Valle, T., . . . Laakso, M. (2008). SNPs in PPARG associate with type 2 diabetes and interact with physical activity. *Medicine and Science in Sport and Exercise*, 40, 25-33.
- Kim, K., Choi, S., Shin, S., Yang, H., & Yoon, Y. (2004). Effects of peroxisome proliferator-activated receptor-g2 Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism on body fat distribution in female Korean subjects. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 53, 1538-1543.
- Kim, K., Lee, S., & Valentine, R. (2007). Association of Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism in the peroxisome proliferative-activated receptor gamma 2 gene with obesity and hypertension in Korean women. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53, 239-246.

- Kissebah, A., Vydellingum, N., Murray, R., Evans, D., Kalkhoff, R., & Adams, P. W. (1982). Relationship of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 254-60.
- Koch, M., Rett, K., Maerker, E., Volk, A., Haist, K., Deninger, M., . . . Häring, H. (1999). The PPAR-gamma2 amino acid polymorphism Pro12Ala is prevalent in offspring of type II diabetic patients and is associated to increased insulin sensitivity in a subgroup of obese subjects. *Diabetologia*, 42, 758-762.
- Lin, P., Vance, J., Pericak-Vance, M., & Martin, E. (2007). No gene is an island: the flip flop phenomenon. *American Journal of Human Genetics*, 80, 531-538.
- Lindi, V. I., Uusitupa, M. I., Lindström, J., Louheranta, A., Eriksson, J. G., Valle, T. T., . . . Tuomilehto, J. (2002). Association of the Pro12Ala Polymorphism in the PPAR- $\gamma$ 2 Gene With 3-Year Incidence of Type 2 Diabetes and Body Weight Change in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*, 2581-2586.
- Luan, J., Browne, P., Harding, A., Halssall, D., O'Rahilly, S., Chatterjee, V., & Wareham, N. (2001). Evidence for gene-nutrient interaction at the PPAR gamma locus. *Diabetes*, 50, 686-689.
- Ludovico, O., Pellegrini, F., Di Paola, R., Minenna, A., Mastroianno, S., Cardellini, M., . . . Trischitta, V. (2007). Heterogeneous effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Ala12 variant on type2 diabetes risk. *Obesity*, 15, 1076-1081.
- M, S., Wahl, H., & Loblein, K. (2001). Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene is associated with increased antilipolytic insulin sensitivity. *Diabetes*, 50, 876-881.
- Malecki, M., Frey, J., Klupa, T., Skupien, J., Walus, M., Mlynarski, W., & Sieradzki, J. (2003). The Pro12Ala polymorphism of PPAR gamma2 gene and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 62, 105-111.
- Mancini, F., Vaccaro, O., Sabatino, L., Tufano, A., Rivellese, A., Riccardi, G., & Colantuoni, V. (1999). Pro12Ala substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 is not associated with type 2 diabetes. *Diabetes*, 48, 1466-1468.
- Mangelsdorf, D. j., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schutz, P., Umesono, K., . . . Evans, R. M. (1995). The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell*, 835-839.

- Mattevi, V., Zembruski, V., & Hutz, M. (2007). Effect of a PPARG gene variant on obesity characteristics in Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 927-932.
- Meirhaeghe, A., Tanck, M., Fajas, L., Janot, C., Helbecque, N., Cottel, D., . . . Dallongeville, J. (2005). Study of a new PPAR $\gamma$ 2 promoter polymorphism and haplotype analysis in a French population. *Molecular Genetics and Metabolism*, 85, 140-148.
- Memisoglu, A., Hu, F., Hankinson, S., Manson, J., De Vivo, I., Willett, W., & Hunter, D. (2003). Interaction between a peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene polymorphism and dietary fat intake in relation to body mass. *Human Molecular Genetics*, 12, 2923-2929.
- Meshkani, R., Taghikhani, M., Larijani, B., Bahrami, Y., Khatami, S., Khoshbin, E., . . . Adeli, K. (2007). Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 gene is associated with greater insulin sensitivity and decreased risk of type 2 diabetes in an Iranian population. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 45, 477-482.
- Moibak, A. G., Christau, B., Marner, B., Borch-Johnsen, K., & Nerup, J. (1994). Incidence of insulin dependent diabetes mellitus in age groups over 30 years in Denmark. *Diabetes Med*, 650-55.
- Moon, M., Cho, Y., Jung, H., Park, Y., Yoon, K., Sung, Y., . . . Shin, H. (2005). Genetic polymorphisms in peroxisome proliferator-activated gamma are associated with type 2 diabetes mellitus and obesity in the Korean population. *Diabetic Medicine*, 22, 1161-1166.
- Mooy, J. M., Grootenhuys, P. A., de Vries, H., Valkenburg, H. A., Bouter, L. M., & Kostense, P. J. (1995). Prevalence and determinants of glucose intolerance in Dutch population. The Hoorn Study. *Diabetes Care*, 1270-73.
- Mori, H., Ikegami, H., Kawaguchi, Y., Seino, S., Yokoi, N., Takeda, J., . . . Kasuga, M. (2001). The Pro12Ala substitution in PPAR gamma 2 is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*, 50, 891-894.
- Mori, Y., Kim-Motoyama, H., Katakura, T., Yasuda, K., Kadowaki, H., Beamer, B., . . . Kadowaki, T. (1998). Effect of the Pro12Ala variant of the human peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 gene on adiposity, fat distribution, and insulin

- sensitivity in Japanese men. *Biochemical and Biophysical and Research Communications*, 251, 195-198.
- Morini, E., Tassi, V., Capponi, D., Ludovico, O., Dllapicola, B., Trischitta, V., & Prudente, S. (2008). Interaction between PPAR $\gamma$ 2 variants and gender on the modulation of body weight. *Obesity*, 16, 1467-1470.
- Nicklas, B., Van Rossum, E., Berman, D., Ryan, A., Dennis, K., & Shuldiner, A. (2001). Genetic variation in the peroxisome proliferator-activated receptor-g2 gene (Pro12Ala) affects metabolic responses to weight loss and subsequent weight regain. *Diabetes*, 50, 2172-2176.
- Ochoa, M., Marti, A., Azcona, C., Chueca, M., Oyarzábal, M., Pelach, R., . . . Martínez, J. (2004). Gene-gene interaction between PPAR $\gamma$ 2 and ADRB3 increases obesity risk in children and adolescents. *International Journal of Obesity*, 28, 37-41.
- Oh, E. Y., Min, K. M., Chung, J. H., Min, Y., Lee, M.-S., Kim, K.-W., & Lee, M.-K. (2000). Significance of Pro12Ala Mutation in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- gamma2 in Korean Diabetic and Obese Subjects. *he Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* , 1801-1804.
- Oh, E., Min, K., Chung, J., Min, Y., Lee, M., Kim, K., . . . Lee, M. (2000). Significance of Pro12Ala mutation in peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 in Korean diabetic and obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85, 1801-1804.
- Oliveira, T., Coelho, M., & Fernandes, R. (2012). Adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of Medical Science*.
- Paracchini, V., Pedotti, P., & Taioli, E. (2005). Genetics of leptin and obesity: a Huge review. *American Journal of Epidemiology*, 101-114.
- Pintérová, D., Cerná, M., Kolostová, K., Novota, P., Cimburová, M., Romzová, M., . . . Andel, M. (2004). The Frequency of Alleles of the Pro12Ala Polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 Is Different between Healthy Controls and Patients with Type 2 Diabetes. *Folia Biologica*, 153-156.
- Pisabarro, R., Sanguinetti, C., Stoll, M., & Prendez, D. (2004). High incidence of type 2 diabetes in peroxisome proliferator activated receptor gamma2 Pro12Ala carriers exposed to a high chronic intake of trans fatty acids and saturated fatty acids. *Diabetes Care*, 27, 2251-2252.

- Polonsky, K., Sturis, J., & Bell, G. (1996). Non-insulin-dependent diabetes mellitus: genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. *N Engl J Med*, 334: 777-84.
- Porter, R. S. (2011). *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 19th Edition*. Merck Sharp & Dohme Corp. Obtido em Janeiro de 2011, de <http://www.manualmerck.net>
- Radha, V., Vimalaswaran, K., Babu, H., Abate, N., Chandalia, M., Satija, P., . . . Ghosh, S. (2006). Role of genetic polymorphism peroxisome proliferator activated receptor-gamma2 Pro<sup>12</sup>Ala on ethnic susceptibility to diabetes in South-Asian and CAucasian subjects: evidence for heterogeneity. *Diabetes Care*, 29, 1046-1051.
- Robitaille, J., Despres, P., Perusse, L., & Vohl, M. (2003). The PPAR-gamma P12A polymorphism modulates the relationship between dietary fat intake and components of the metabolic syndrome: results from the quebec Famaly study. *Clinical Genetics*, 63, 109-116.
- Rooij, S., Painter, R., Phillips, D., Osmond, C., Tanck, M., Defesche, J., . . . Roseboom, T. (2006). The effects of the Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene on glucose/insulin metabolism interact with prenatal exposure to famine. *Diabetes Care*, 29, 1052-1057.
- Rosado, E. L., Bressan, J., Martins, M. F., & Cecon, P. R. (2007). Polymorphism in the PPARgamma2 and beta2-adrenergic genes and diet lipid effects on body composition, energy expenditure and eating behavior of obese women. *Appetite*, 635-43.
- Sanchez, J., Rios, M., Perez, C., Laakso, M., & Larrad, M. (2002). Effect of the Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism of the peroxisome proliferatoractivated receptor g2 gene on adiposity, insulin sensitivity and lipid profile in the spanish population. *European Journal of Endocrinology*, 147, 495-501.
- Sanghera, D., Ortega, L., Han, S., Singh, J., Ralhan, S., Wander, G., . . . Kamboh, M. (2008). Impact of nine common type2 diabetes risk polymorphism in Asian Indian Sikhs: PPARG2 (Pro<sup>12</sup>Ala), IGF2BP2, TCF7L2 and FTO variants confer a significant risk. *BMC Medical Genetics*, 9, 1-9.
- Scacchi, R., Pinto, A., Rickars, O., Pacella, A., De Stefano, G., Cannella, C., & Corbo, R. (2007). An analysis of peroxisome proliferator activated receptor gamma Pro<sup>12</sup>Ala polymorphism distribution and prevalence of type 2 diabtes mellitus in worl populations in relation to dietary habits. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 17, 632-641.

- Scaglioni, S., Verduci, E., Salvioni, M., Biondi, M., Radaelli, G., Agostoni, C., & Giovannini, M. (2006). PPAR-gamma2 Pro12Ala variant, insulin resistance and plasma long-chain polyunsaturated fatty acids in childhood obesity. *Pediatric Research*, 60, 485-489.
- Schneider, J., Kreuzer, J., Hamann, A., Naweoth, & Dugi, K. (2002). The proline 12 alanine substitution in the peroxisome proliferator activated receptor gamma 2 associated with low lipoprotein lipase activity in vivo. *Diabetes*, 51, 867-870.
- Simonson, D., Ferrannini, E., Bevilacqua, S., Smith, D., Barrett, E., Carison, R., & DeFronzo, R. (1984). Mechanism of improvement in glucose metabolism after chronic glyburide therapy. *Diabetes*, 33:838-45.
- Soriguer, F., Morcillo, S., & Cardona, F. (2006). Pro12Ala polymorphism of the PPARG2 gene is associated with type 2 diabetes mellitus and peripheral insulin sensitivity in a population with a high intake of oleic acid. *The Journal of Nutrition*, 136, 2325-2330.
- Soriguer, F., Morcillo, S., Cardona, F., Rojo-Martínez, G., de la Cruz Almaráz, M., Ruiz de Adana Mde, L., . . . Esteve, I. (2006). Pro12Ala polymorphism of the PPARG2 gene is associated with type 2 diabetes mellitus and peripheral insulin sensitivity in a population with a high intake of oleic acid. *The Journal of Nutrition*, 136, 2325-2330.
- Stefan, N., Fritsche, A., Haring, H., & Stumvoll, M. (2001). Effect of experimental elevation of free fatty acids on insulin secretion and insulin sensitivity in healthy carriers of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene. *Diabetes*, 50, 1143-1148.
- Stefanski, A., Majkowska, L., Ciechanowicz, A., Frankow, M., Safranow, K., Parczewski, M., & Pilarska, K. (2006). Lack of association between the Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma 2 gene and body weight changes, insulin resistance and chronic diabetic complications in obese patients with type 2 diabetes. *Archives of Medical Research*, 37, 736-743.
- Stumvoll, M., & Haring, H. (2002). Reduced lipolysis as possible cause for greater weight gain in subjects with the Pro12Ala polymorphism in PPARgamma2. *Diabetologia*, 45, 152-153.
- Tan, G., Neville, M., Liverani, E., Humphreys, S., Currie, J., Dennis, L., . . . Karpe, F. (2006). The in vivo effects of the Pro12Ala PPARgamma2 polymorphism on

- adipose tissue NEFA metabolism: the first use of the Oxford Biobank. *Diabetologia*, 49, 158-168.
- Tavares, V., Hirata, M. H., & Hirata, R. D. (2007). Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama: Estudo Molecular na Homeostase da Glicose, Metabolismo de Lipídeos e Abordagem Terapêutica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 526-531.
- Tavares, V., Hirata, R., Rodrigues, A., Monte, O., Salles, J., Scalissi, N., . . . Hidrata, M. (2005). Association between Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma2 gene and insulin sensitivity in Brazilian patients with type-2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7, 605-611.
- Tonjes, A., Scholz, M., Loeffler, M., & Stumvoll, M. (2006). Association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma with pre-diabetic phenotypes: metaanalysis of 57 studies on nondiabetic individuals. *Diabetes Care*, 29, 2489-2497.
- Umpierrez, G., Casals, M., Gebhardt, S., Mixon, P., Clark, W., & Philips, L. (1995). Diabetic ketoacidosis in obese African-Americans. *Diabetes*, 44: 790-95.
- Valve, R., Sivenius, K., Miettinen, R., Pihlajamäki, J., Rissanen, A., Deeb, S., . . . Laakso, M. (1999). Two polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor-g-gene are associated with severe overweight among obese women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84, 3708-3712.
- Vanttinen, M., Nuutila, P., Pihlajamäki, J., Hällsten, K., Virtanen, K., Lautamäki, R., . . . Laakso, M. (2005). The effect of the Ala12 allele of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 on skeletal muscle glucose uptake depends on obesity: positron emission tomography study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90, 4249-4254.
- Verge CF, C. F., Gianani, R., Kawasaki, E., Yu, L., Pietropaolo, M., & Jackson, R. A. (1996). Predicting type 1 diabetes in first-degree relatives using combination of insulin, GAD, and IGA512bde/IA-2 autoantibodies. *Diabetes*, 926-33.
- Vieira-Filho, J., Reis, A., Kasamatsu, T., Tavares, E., Franco, L., Matioli, S., & Moisés, R. (2004). Influence of the polymorphisms Tpr64Arg in the beta3-adrenergic receptor gene Pro12Ala in the PPARgamma2 gene on metabolic syndrome related phenotypes in a indigenous population of the Brazilian Amazon. *Diabetes Care*, 27, 621-622.

- Vogels, N., Mariman, E. C., Bouwman, F. G., Kester, A. D., Diepvens, K., & Westerp-Plantenga, M. S. (2005). Relation of weight maintenance and dietary restraint to peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ 2, glucocorticoid receptor, and ciliary neutrophic factor polymorphism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 740-746.
- Wakil, S., Rubeaan, K., Alsmadi, O., Imtiaz, F., Carroll, P., Rajab, M., . . . Meyer, B. (2006). The peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 P12A polymorphism and type 2 diabetes in a Arab population. *Diabetes Care*, 29, 171-172.
- Wei, Q., Jacobs Jr, D. R., Schreiner, P. J., Siscovick, D. S., Steffes, M. W., & Fornage, M. (2006). Patterns of association between PPAR $\gamma$  genetic variation and indices of adiposity and insulin action in African-Americans and whites: the CARDIA Study. *Journal of Molecular Medicine*, 955-965.
- WHO. (1980). *WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus*. Geneva: Second Report.
- WHO. (1985). *Diabetes Mellitus: Report of WHO Study Group*. Geneva: Technical Report Series 727.
- WHO. (2012). *WHO - World Health Organization*. Obtido em 15 de Agosto de 2012, de <http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>
- Wild, S. H., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 1047-1053.
- Wing, R., Biair, E., Bononi, P., Marcus, M., Watanabe, R., & Bergman, R. (1994). Caloric restriction per se is significant factor in improvements in glycemic control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients. *Diabetes Care*, 17:30-36.
- Yen, C. J., Beamer, B. A., Negri, C., Silver, K., Brown, K. A., Yarnall, D. P., . . . Shuldiner, A. R. (1997). Molecular Scanning of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\gamma$  (hPPAR $\gamma$ ) Gene in Diabetic Caucasians: Identification of a Pro12Ala PPAR $\gamma$ 2 Missense Mutation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 270-274.
- Zimmet, P. (1992). Kelly West Lecture 1991: challenges in diabetes epidemiology: from West to the rest. *Diabetes Care*, 15:232-52.
- Zimmet, P., Alberti, K. G., & Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 782-787.

