

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

AMANDA GONÇALVES ZARDINI SILVEIRA

**POLIMORFISMO NO GENE QUE CODIFICA A PERILIPINA 1
E SUAS RELAÇÕES COM CONSUMO ALIMENTAR,
COMPOSIÇÃO CORPORAL E GLICEMIA DE INDIVÍDUOS
COM SÍNDROME DO OBESO EUTRÓFICO**

Goiânia
2016

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E
DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

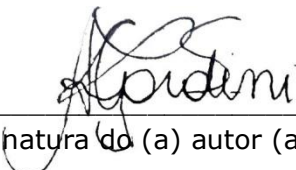
Nome completo do autor: Amanda Gonçalves Zardini Silveira

Título do trabalho: Polimorfismo no gene que codifica a perilipina 1 e suas relações com consumo alimentar, composição corporal e glicemia de indivíduos com síndrome do obeso eutrófico

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do (a) autor (a)

Data: 28 / 07 / 2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

POLIMORFISMO NO GENE QUE CODIFICA A PERILIPINA 1 E SUAS RELAÇÕES COM CONSUMO ALIMENTAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E GLICEMIA DE INDIVÍDUOS COM SÍNDROME DO OBESO EUTRÓFICO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Cristiane Cominetti

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Maria Aderuza Horst

Linha de pesquisa: Diagnóstico e Intervenção Nutricional e em Saúde

Financiamento: Bolsa de estudos da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior (CAPES)

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Silveira, Amanda Gonçalves Zardini

Polimorfismo no gene que codifica a perilipina 1 e suas relações com consumo alimentar, composição corporal e glicemia de indivíduos com síndrome do obeso eutrófico [manuscrito] / Amanda Gonçalves Zardini Silveira. - 2016.

100 f.: il.

Orientador: Profa. Cristiane Cominetti; co-orientadora Maria Aderuza Horst.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição (Fanut), Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas.

1. Distribuição da Gordura Corporal. 2. Polimorfismo Genético. 3. Consumo alimentar. I. Cominetti, Cristiane, orient. II. Título.

CDU 612.39

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

AMANDA GONÇALVES ZARDINI SILVEIRA

**POLIMORFISMO NO GENE QUE CODIFICA A PERILIPINA 1
E SUAS RELAÇÕES COM CONSUMO ALIMENTAR,
COMPOSIÇÃO CORPORAL E GLICEMIA DE INDIVÍDUOS
COM SÍNDROME DO OBESO EUTRÓFICO**

**Dissertação defendida e aprovada em 31 de maio de 2016, pela Banca
Examinadora constituída pelos membros:**

Profª Drª Sílvia Maria Salem Izacc
ICB/UFG

Profª Drª Rosana de Moraes Borges Marques
FANUT/UFG

Profª Drª Cristiane Cominetti
FANUT/UFG (orientador)

Membros suplentes:

Profª Drª Maria Luiza Ferreira Stringhini
FANUT/UFG

Prof Dr Gustavo Duarte Pimentel
FANUT/UFG

Dedico esse trabalho à minha mãe, Maria de Fátima Zardini Silveira, ao meu pai, Genésio Martins Silveira Neto e ao meu esposo Everton Santana Marin. Essa caminhada só foi possível com o apoio e amor de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder forças e motivos para ser sempre grata. Sem Ele nada seria possível.

À professora Cristiane Cominetti e à professora Maria Aderuza Horst, por terem me dado oportunidade de realizar esse sonho, por todo empenho, comprometimento e por todos os conselhos, sempre tão sábios e construtivos. Foi uma honra tê-las como orientadoras desse trabalho.

Aos meus amados pais Genésio e Fátima pelo amor, estímulo, dedicação. Eu não seria nada sem o apoio de vocês. Muito obrigada, por tudo.

Ao meu querido esposo Everton Marin, pela compreensão, amor e companheirismo. Por estar sempre ao meu lado, por ter me aguentado nos momentos mais difíceis, por entender minha ausência e ser sempre meu porto seguro.

À minha irmã Débora e meus sobrinhos Lucas e Izabella, por toda a alegria que me passam. Vocês não imaginam como o simples fato de existirem já é para mim motivo de muita gratidão.

A todos os meus amigos, por entenderem minha ausência e por fazerem dos momentos juntos os mais divertidos.

A todos os professores que contribuíram para a realização desse mestrado.

À banca examinadora, por toda contribuição.

A todos meus colegas de mestrado que fizeram parte dessa jornada. Obrigada por dividirem comigo as inseguranças, dificuldades e desafios do mestrado. Vocês tornaram esse caminho mais fácil. Agradeço em especial à minha amiga Lana, que esteve ao meu lado em todos os momentos e me socorreu em tantas vezes.

Ao Douglas, secretário do PPG-NUT, obrigada sempre estar disposto a ajudar e por todas conversas amigáveis. Você sem dúvidas faz diferença na FANUT.

Aos meus colegas de trabalho por acreditarem em mim, por me ajudarem com tudo que era possível e por todo o incentivo. Em especial agradeço à amiga Vanessa Roriz por todo apoio e por ter compartilhado comigo toda sua experiência.

Aos voluntários dessa pesquisa, obrigado por dedicarem seu tempo para que esse estudo pudesse ser realizado

À Capes pela concessão de bolsa de estudos e ao Centro de Genomas pelo grande apoio na realização dos testes genéticos

***“Aprenda como se você fosse viver para sempre.
Viva como se você fosse morrer amanhã”
Mahatma Gandhi***

RESUMO

Objetivo: Verificar se o polimorfismo 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* tem influência na resposta ao consumo alimentar, na composição corporal e no metabolismo da glicose e insulina em indivíduos com a Síndrome do Obeso Eutrófico.

Métodos: Estudo transversal realizado na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás (FANUT/UFG) com 116 indivíduos, entre 20 a 59 anos de idade, de ambos os sexos, com Índice de Massa Corporal eutrófico (entre 18,50 e 24,99 kg/m²) e percentual de gordura corporal acima da normalidade (20% para homens e 30% para mulheres), mensurado por Absorciometria Radiológica de Dupla Energia (DEXA). O polimorfismo 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* foi genotipado por meio do sistema qPCR Taqman. Foram avaliadas glicemia e insulina de jejum e hemoglobina glicada (HbA1C), por meio de metodologia clássica. Os índices QUICKI, HOMA-IR, HOMA-beta foram calculados. O consumo alimentar foi avaliado por três recordatórios de 24 horas, sendo um de final de semana. A interação entre a ingestão alimentar de macronutrientes e o polimorfismo foi calculada pelo modelo de regressão e ajustada para possíveis fatores de confusão. Análises de diferenças de médias foram feitas com os testes t de Student, Mann Whitney, ANOVA ou Kruskal-Wallis. P<0,05 foi considerado significativo.

Resultados: 27,4% (n=32) dos indivíduos avaliados eram do sexo masculino e a mediana de idade (intervalo interquartil) foi de 22,5 (20 – 50) anos. Em relação ao SNP, 56,0% (n=65) eram homocigotos selvagens, 38,8% (n=45), heterocigotos e 5,2% (n=6), homocigotos para variante. Não foram verificadas diferenças estatísticas nos marcadores bioquímicos e antropométricos quando os indivíduos foram separados por genótipo. A ingestão de carboidratos, de gordura saturada e a razão gordura saturada: carboidratos foram dicotomizadas em altas e baixas, de acordo com a mediana de ingestão da amostra (241,15 g; 29,71 g e 0,6 g, respectivamente). Indivíduos do sexo masculino portadores do alelo variante apresentaram menor circunferência da cintura somente quando o consumo de carboidratos foi maior que a mediana, além de menor peso e circunferência da cintura quando o consumo de gordura saturada e a razão gordura saturada: carboidratos foram classificadas como baixas. **Conclusão:** O polimorfismo *PLIN1* 11482G>A pode modular respostas nos marcadores antropométricos de homens com a Síndrome do Obeso Eutrófico dependendo da composição de macronutrientes da alimentação.

Palavras-chave: Distribuição da Gordura Corporal, Polimorfismo Genético, Consumo alimentar.

ABSTRACT

Polymorphism *PLIN1* 11482 G>A Interacts with Carbohydrate and Saturated Fat Intake to Modulate Anthropometric Measures in Brazilian Men with Normal-Weight Obesity Syndrome

Objective: To verify whether the polymorphism 11482G> A (rs894160) in *PLIN1* gene has influence on food intake, body composition and glucose and insulin metabolism in individuals with Normal-Weight Obesity Syndrome. **Methods:** Cross-sectional study conducted at the Faculty of Nutrition of Federal University of Goiás (FANUT / UFG) with 116 individuals aged 20 to 59, with eutrophic body mass index (between 18.50 and 24.99 kg/m²) and high body fat percentage (20% for men and 30% for women) measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA). The polymorphism 11482G> A (rs894160) in *PLIN1* gene was genotyped using qPCR Taqman[®] system. Fasting glucose and insulin, as well as glycosylated hemoglobin (HbA1c) were evaluated through classical methodology. QUICKI, HOMA-IR and HOMA-beta indexes were calculated. Food intake was evaluated from three 24 h food records, including a weekend day. The interaction between macronutrients intake and the SNP was determined by regression model and adjusted for potential confounders. Analyzes of mean differences were performed using Student's t test, Mann Whitney, ANOVA or Kruskal-Wallis. P<0.05 was considered significant. **Results:** 27.4% (n=32) of the sample were male and the median age (interquartile range) was 22.5 (20-50) years. Regarding the SNP, 56.0% (n = 65) carried two wild alleles, 38.8% (n = 45) were heterozygous and 5.2% (n = 6), carried two variant alleles. We did not verify statistical differences in biochemical and anthropometric biomarkers when subjects were separated according to genotype. Intake of carbohydrates and saturated fat, as well as the saturated fat:carbohydrates ratio were dichotomized into high and low according to the median intake of the sample (241.15 g; 29.71 g and 0.6 g, respectively). Males who carried the variant allele had lower waist circumference only when carbohydrate intake was higher than the median. They also presented lower weight and waist circumference when saturated fat consumption and saturated fat:carbohydrates ratio were low. **Conclusion:** The polymorphism *PLIN1* 11482G>A might modulate responses in anthropometric biomarkers in males with Normal-Weight Obesity depending on dietary macronutrient composition.

Key Words: Body Fat Distribution, Genetic Polymorphism, Food consumption.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG: ácido graxo
AGL: ácidos graxos livres
ATP: trifosfato de adenosina
CC: circunferência da cintura
CEP/HC-UFG: Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFG
CO₂: Dióxido de carbono
CQ: circunferência do quadril
DCNT: doenças crônicas não transmissíveis
DCV: doenças cardiovasculares
DM2: diabetes melito tipo 2
DRI: Dietary References Intakes
GJ: Glicemia de jejum
GSAT/CHO: Gordura saturada dividida por carboidratos
H₂O: Água
HbA1c: hemoglobina glicada
HOMA-beta: *Homeostasis Model Assessment Beta-Cell Function*
HOMA-IR: *Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance*
IJ: Insulina de Jejum
IL-1: interleucina-1 α
IL-6: interleucina-6
IL-8: interleucina 8
IL- β : interleucina 1 β
IMC: Índice de Massa Corporal
IPAQ: *International Physical Activity Questionnaire*
LHS: lipase hormônio sensível
MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1
MET: estimativa do equivalente metabólico
OMS: Organização Mundial de Saúde
PAD: pressão arterial diastólica
PAS: pressão arterial sistólica
PGH: Projeto Genoma Humano
PKA: proteína quinase A
PLIN: perilipina
PLIN1: gene que codifica a perilipina 1
QUICKI: *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*
RI: resistência à insulina
SBH: Sociedade Brasileira de Hipertensão
SNP: polimorfismo de nucleotídeo único
SOE: Síndrome do Obeso Eutrófico
TG: triacilgliceróis
TNF- α : fator de necrose tumoral alfa
UFG: Universidade Federal de Goiás
%GC: percentual de gordura corporal
%G androide: percentual de gordura androide
%G ginoide: percentual de gordura ginoide

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	12
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 EXCESSO DE GORDURA CORPORAL E SÍNDROME DO OBESO EUTRÓFICO	14
2.2 METABOLISMO DO TECIDO ADIPOSEO E RESISTÊNCIA à INSULINA	16
2.3 ALIMENTAÇÃO E METABOLISMO DA GLICOSE	20
2.4 NUTRIGENÉTICA, PERILIPINA E OBESIDADE	22
3 OBJETIVOS	28
3.1 OBJETIVO GERAL	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4 METODOLOGIA	29
4.1. TIPO DE ESTUDO E RECRUTAMENTO DE VOLUNTÁRIOS	29
4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	29
4.3 COLETA DE DADOS	30
4.3.1 Dados demográficos socioeconômicos	30
4.3.2 Avaliação antropométrica e de pressão arterial e de saúde	32
4.3.3 Avaliação do Consumo Alimentar	33
4.3.4 Métodos Laboratoriais	33
4.3.4.1 Dosagem de glicemia de jejum	34
4.3.4.2 Dosagem de insulina de jejum	34
4.3.4.3 Dosagem da hemoglobina glicada	34
4.3.4.4 Cálculo de HOMA-IR, HOMA-beta e QUICKI	34
4.3.5 Genotipagem	35
4.4 ANÁLISE DE DADOS	35
4.5 ASPECTOS ÉTICOS	36
REFERÊNCIAS	37
CAPÍTULO 2 – ARTIGO	45
METODOLOGIA	Erro! Indicador não definido.
DESENHO DO ESTUDO E PARTICIPANTES	Erro! Indicador não definido.

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA, DE ESTILO DE VIDA E DO CONSUMO ALIMENTAR.....	50
MÉTODOS LABORATORIAIS.....	Erro! Indicador não definido.
ANÁLISE ESTATÍSTICA	Erro! Indicador não definido.
RESULTADOS.....	Erro! Indicador não definido.
DISCUSSÃO	58
REFERÊNCIAS.....	Erro! Indicador não definido.
CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
APÊNDICES	67
ANEXOS	83

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada epidêmica e fator de risco para doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), incluindo o diabetes melito tipo 2 (DM2), e pode ser diagnosticada por valores elevados de Índice de Massa Corporal (IMC $> 30 \text{ kg/m}^2$) (WHO, 1995). No entanto, indivíduos classificados como eutróficos por meio do IMC também podem apresentar excesso de gordura corporal e, podem ainda, apresentar risco aumentado para o desenvolvimento de DCNT (STEEMBURGO; AZEVEDO; MARTINEZ, 2009). Essa constatação deu origem a descrição da Síndrome do Obeso Eutrófico (SOE) (do inglês: *Normal-Weight Obesity Syndrome*). Os critérios para diagnóstico da SOE são IMC eutrófico ($18,5 \text{ kg/m}^2$ a $24,99 \text{ kg/m}^2$ segundo WHO, 1995) e percentual elevado de gordura corporal (DE LORENZO et al., 2006).

A quantidade aumentada de gordura corporal apresentada pelos indivíduos com SOE coloca-os em um grupo de risco, pois sua classificação por meio do IMC indica, erroneamente, que estão menos propensos ao desenvolvimento de doenças relacionadas à obesidade (DE LORENZO et al., 2006; DE LORENZO et al., 2007; OLIVEROS et al., 2014; ROMERO-CORRAL et al., 2010). Tal situação dificulta a identificação de indivíduos que necessitam de intervenções e tratamentos para a redução do risco do desenvolvimento de DCNT (DE LORENZO et al., 2006; DE LORENZO et al., 2007; OLIVEROS et al., 2014).

Dentre os aspectos envolvidos na deposição de gordura corporal, destacam-se os fatores genéticos que vem sendo mais bem explorados e compreendidos após a publicação dos resultados do Projeto Genoma Humano (PGH). O PGH possibilitou o desenvolvimento de estudos de associação ampla do genoma (GWAS, do inglês *Genome-Wide Association Studies*), os quais resultam na identificação de genes relacionados com diversas doenças, incluindo a obesidade (FALCHI et al., 2014; LU et al., 2016). Nesse sentido, o gene *PLIN1* está localizado em uma região cromossômica relacionada à susceptibilidade à obesidade, ao DM2 e à resistência à insulina (RI), sendo considerado um gene candidato para estudos sobre essas condições (QI et al., 2004a)

Pesquisas em Genômica Nutricional vêm demonstrando que polimorfismos no gene *PLIN1* podem estar relacionados ao acúmulo excessivo de gordura corporal e a alterações no metabolismo de lipídios. Esta proteína tem ação específica nas gotículas lipídicas nos adipócitos, protegendo-as do acesso constante da lipase hormônio sensível (LHS) e, portanto, da degradação de triacilgliceróis (TG) em ácidos graxos livres (AGL) (BRASAEMLE, 2007; QI et al., 2004a).

Tendo em vista o exposto e considerando a escassez de trabalhos que avaliam indivíduos com SOE, sobretudo com relação às variações genéticas no gene *PLIN1*, estudos com esse público tornam-se relevantes para o melhor entendimento dessa síndrome e da inter-relação entre composição corporal, metabolismo da glicose e aspectos genéticos relacionados à SOE.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EXCESSO DE GORDURA CORPORAL E SÍNDROME DO OBESO EUTRÓFICO

A obesidade, doença que atinge mais de 600 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2016), é definida como o acúmulo excessivo de gordura corporal. Está fortemente relacionada ao desenvolvimento de DCNT associadas à alimentação, como DCV, hipertensão arterial, alguns tipos de câncer, RI e DM2 (BILLECKE et al., 2015; MADEIRA et al., 2013; OLIVEROS et al., 2014). Tais doenças, que já foram consideradas problemas apenas de países desenvolvidos, em decorrência do aumento do número de indivíduos acometidos, atualmente são consideradas problemas de saúde pública também em países emergentes e em desenvolvimento, principalmente em áreas urbanas (SHEA et al., 2012; WHO, 1995).

O excesso de gordura corporal pode ser identificado por meio de diferentes métodos antropométricos, tais como a determinação da circunferência da cintura (CC) e do percentual de gordura corporal e do IMC (DE LORENZO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009). Os resultados de CC são utilizados para determinar obesidade abdominal e risco para o desenvolvimento de DCV. Valores superiores a 94 cm em homens e a 80 cm em mulheres representam risco aumentado e medidas superiores a 102 cm para homens e a 88 cm para mulheres caracterizam risco muito aumentado (LEAN; HAN; MORRISON, 1995). Em relação ao percentual de gordura corporal, apesar de não haver consenso na literatura, os valores maiores que 20% para homens e que 30% para mulheres podem ser considerados acima da normalidade (KRUGER et al., 2015; OLIVEROS et al., 2014). Com relação ao IMC, valores entre 25 e 29,9 kg/m² caracterizam o sobrepeso, e indivíduos que apresentam valores iguais ou superiores a 30 kg/m², são classificados como obesos (WHO, 2016).

Dentre os métodos antropométricos, o IMC é o mais amplamente utilizado na classificação do sobrepeso e da obesidade, em função de sua simplicidade e validação em estudos epidemiológicos (MÄNNISTÖ et al., 2014; OLIVEROS et al., 2014). Apesar disso, esse não é o melhor método para identificar o excesso de gordura corporal, pois apesar de ter boa especificidade, tem baixa sensibilidade. Dessa forma, deixa de classificar como obesas pelo menos metade das pessoas com

excesso de gordura corporal (MADEIRA et al., 2013). Esse erro é justificado pelo fato de que o cálculo não considera a composição corporal do indivíduo (percentuais de massa gorda e massa livre de gordura). Assim, apresenta limitações na avaliação de indivíduos que apresentem IMC eutrófico e excesso de gordura corporal (KRUGER et al., 2015; ROMERO-CORRAL et al., 2010).

Neste sentido, De Lorenzo et al. (2006) descreveram a SOE, a qual é caracterizada pela presença de IMC eutrófico (18,50 kg/m² a 24,99 kg/m² segundo WHO, 1995) e percentual elevado de gordura corporal. Entretanto, não há consenso na literatura em relação aos pontos de corte que classificam a obesidade por meio do percentual de gordura corporal e esses valores variam de 20 a 25% para homens e de 30 a 37% para mulheres (OLIVEROS et al., 2014; KRUGER et al., 2015). No entanto, há evidências que percentuais acima de 20% para homens e de 30 % para mulheres já estão associados à maiores riscos de desenvolvimento de DCNT (OLIVEROS et al., 2014). Provavelmente, em função das diferenças nos pontos de corte, a prevalência da SOE em diferentes populações ainda não é bem estabelecida na literatura (MARQUES-VIDAL; CHIOLERO; PACCAUD, 2008).

Marques-Vidal, Chiolero e Paccaud (2008) avaliaram mais de 6.000 indivíduos na Suíça, com a utilização de diferentes pontos de corte para classificação do excesso de gordura corporal e demonstraram que a prevalência de SOE é maior entre as mulheres do que em homens e que essa prevalência aumenta de acordo com a idade. Os autores concluíram, ainda, que a adoção de pontos de corte específicos por idade e sexo é mais fidedigna que a utilização de um valor único.

Em estudo com 4.786 Finlandeses, que utilizou valores iguais ou superiores a 20% de gordura corporal para homens e iguais ou superiores a 30% para mulheres para classificação como SOE, verificou-se que 28% dos homens e 42% das mulheres apresentavam IMC normal e destes, respectivamente, 34% e 45% apresentavam a SOE, o que representou 10 e 19% da população total (MÄNNISTÖ et al., 2014). Na população brasileira, o único estudo publicado até o momento investigou 1.222 adultos jovens e mensurou a gordura corporal por meio de dobras cutâneas, adotando como percentuais elevados de gordura corporal valores superiores a 23% para homens e a 30% para mulheres. Foi encontrada prevalência da SOE em 9,2% da população masculina e 9,0% da população feminina (MADEIRA et al., 2013).

Apesar de apresentarem IMC eutrófico, os indivíduos com SOE tem maior risco de desenvolver prematuramente um conjunto de alterações metabólicas e fatores de risco para o desenvolvimento de DCNT, como altas concentrações sanguíneas de glicose de jejum e RI, com possibilidade de desenvolvimento de DM2, de maneira semelhante ao que ocorre com indivíduos com excesso de peso (BATSIS et al., 2014; DI RENZO et al., 2016; OLIVEROS et al., 2014; SHEA et al., 2012). Diante disso, esses indivíduos apresentam risco 2,2 vezes maior de morte por DCV em comparação com aqueles indivíduos com baixos percentuais de gordura corporal (ROMERO-CORRAL et al., 2010).

Além disso, concentrações das interleucinas 1 α (IL-1 α), 1 β (IL- β), 6 (IL-6) e 8 (IL-8) e do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) aparecem em concentrações significativamente maiores em indivíduos com SOE quando comparados com aqueles com peso e percentual de gordura adequado. Tais resultados sugerem que esse grupo apresenta estado pró-inflamatório precoce relacionado com disfunções metabólicas semelhante ao que ocorre em obesos (DE LORENZO et al., 2007; DI RENZO et al., 2010; OLIVEROS et al., 2014). Dessa forma, indivíduos com SOE podem constituir um grupo de risco, pois a determinação de obesidade baseada apenas no IMC não indica o excesso de gordura corporal, que pode passar despercebido durante anos.

2.2 METABOLISMO DO TECIDO ADIPOSEO E RESISTÊNCIA À INSULINA

O tecido adiposo tem como principal função a regulação do fluxo lipídico em todo o organismo e, conseqüentemente, atua no controle da homeostase da glicose. Descreve-se que um tecido adiposo funcional e adequado ao tamanho do corpo é fundamental para a secreção adequada de leptina e adiponectina, hormônios que aumentam a sensibilidade à insulina (GUILHERME et al., 2008).

Os adipócitos, células predominantes no tecido adiposo, são as únicas especializadas no armazenamento de lipídios, na forma de TG, em seu citoplasma sem que haja prejuízos em sua funcionalidade. Essas células sintetizam ácidos graxos, estocam TG em situações de abundância de alimentos e os mobilizam, por

meio da lipólise, quando ocorre déficit de ingestão energética ou quando as reservas de glicogênio se esgotam (FONSECA-ALANIZ et al., 2006).

De particular importância nesse contexto estão as PLIN, as fosfoproteínas mais abundantes em torno das gotículas de gordura (Figura 1) nos adipócitos. As PLIN desempenham papel fundamental no armazenamento dos lipídios e na lipólise de TG e, dependendo do estado de energia do organismo, se alimentado ou em jejum, podem limitar ou facilitar, respectivamente, a lipólise dos TG armazenados (SMITH; ORDOVAS, 2012).

O início da lipólise ocorre por influência das catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) quando estas se ligam aos receptores adrenérgicos presentes na membrana plasmática dos adipócitos. Esses receptores, por sua vez, estão ligados às proteínas G que regulam a adenilil ciclase, ocasionando aumento da produção de AMP cíclico e ativação da proteína quinase A (PKA) (GUIMARÃES, 2007). A PLIN é alvo da PKA de maneira semelhante a que ocorre com a lipase hormônio sensível (LHS). Uma vez fosforilada a PLIN perde a função de protetora da gotícula lipídica e permite o acesso da LHS aos TG, o que resultará no processo de lipólise liberando AGL e glicerol. No estado de jejum ou pós-atividade física intensa, a fosforilação da PLIN, via PKA, também ocorre em resposta à ação do glucagon (DENG et al., 2012; SMITH; ORDOVAS, 2012; TANSEY et al., 2003) (Figura 2).

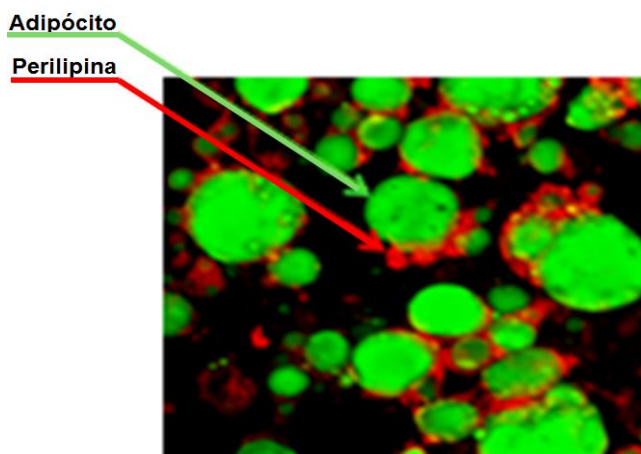


Figura 1. Perilipina contornando as gotículas de gordura nos adipócitos.
Fonte: Meijer e colaboradores (2011).

A lipólise de TG armazenados nas gotículas lipídicas é um processo importante que controla a concentração dos AGL circulantes e atua na regulação da homeostase energética (DENG et al., 2012). Em indivíduos magros, os adipócitos armazenam AG eficientemente como TG. Normalmente, nesse estado, a sensibilidade muscular à

insulina e a captação de glicose acontecem de forma adequada. Alterações nesse mecanismo, comuns em indivíduos que apresentam obesidade, podem resultar em aumento gradativo de volume e perda da capacidade de secretar peptídeos que regulam o metabolismo de TG e AGL. Essa situação ocasionará um estado inflamatório crônico, aumento da lipólise e diminuição da deposição de TG nos adipócitos, resultando no aumento de AGL circulantes (GUILHERME et al., 2008).

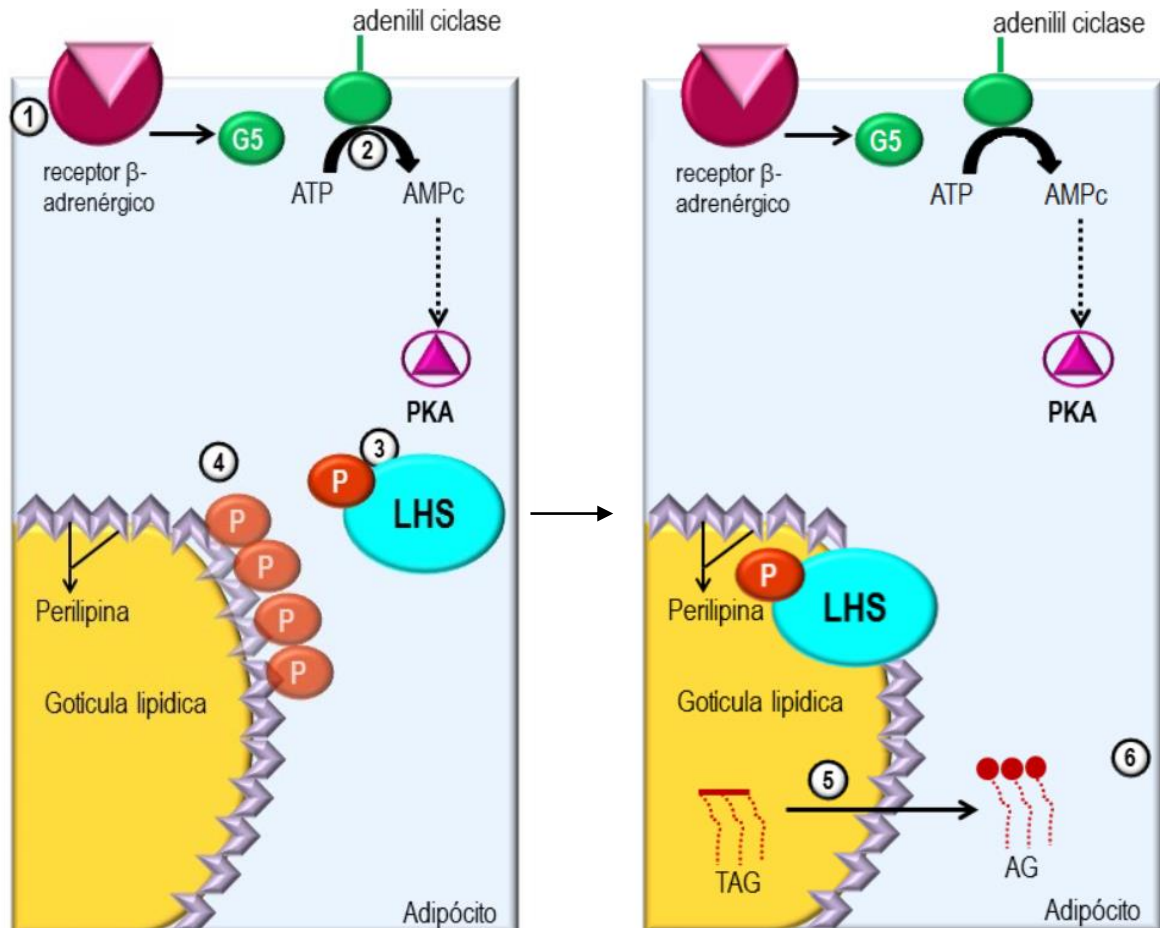


Figura 2. Fosforilação da perilipina no processo de lipólise.

Catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) se ligam aos receptores adrenérgicos presentes na membrana plasmática dos adipócitos (1). Esses receptores, ligados às proteínas G, regulam a adenilil ciclase, ocasionando aumento da produção de AMP cíclico (2) e ativação da proteína quinase A (PKA) (3). A PLIN é alvo da PKA (4). A PLIN perde a função protetora da gotícula lipídica e permite o acesso da LHS aos TAG (5). Ocorre então liberação de AGL e glicerol (6).

Adaptado de: NELSON; COX (2004).

Altas concentrações de AGL causam acúmulo de TG e AG de cadeia longa no músculo esquelético, no fígado e em células beta. Quando esse processo ocorre em células musculares, funções como a fosforilação oxidativa mitocondrial e o transporte de glicose estimulada pela insulina são prejudicadas, podendo desencadear a RI (GUILHERME et al., 2008; DENG et al., 2012; SMITH; ORDOVAS, 2012) (Figura 3).

A RI é uma condição em que o organismo apresenta habilidade reduzida em manter a homeostase de glicose. Essa condição pode ocorrer tanto pela deficiência na capacidade das células beta pancreáticas em produzir insulina, quanto pela baixa sensibilidade dos tecidos utilizadores da glicose, ou pela combinação de ambas. Essa condição torna necessária a maior produção de insulina (hiperinsulinemia compensatória) na tentativa de manter a glicemia em faixas adequadas. Esse estado é mantido até que ocorra defeito na secreção pancreática (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006; WANG; GOALSTONE; DRAZNIN, 2004).

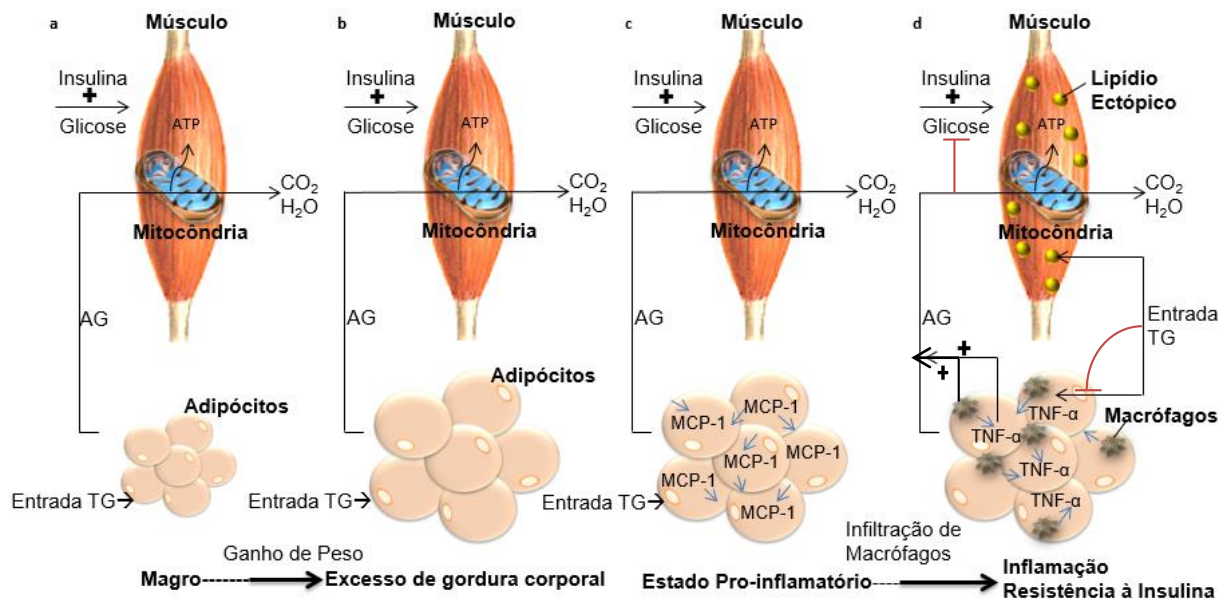


Figura 3. Alterações no metabolismo muscular da glicose em resposta a concentrações elevadas de ácidos graxos livres.

Em indivíduos magros, pequenos adipócitos armazenam eficientemente AG como TG, que podem ser recrutados para geração de ATP mitocondrial por meio da betaoxidação em período de necessidade energética. Normalmente, nesse estado, a sensibilidade muscular à insulina e a captação de glicose acontecem de forma adequada (a). No entanto, à medida que a ingestão calórica aumenta, há maior deposição de TG no interior dos adipócitos, resultando em um aumento do volume. Nesses estágios iniciais de alta ingestão calórica, o adipócito continua a armazenar TG e mantém as taxas lipolíticas normais e o músculo esquelético continua com alta sensibilidade à insulina (b). Contudo, se a adiposidade continua a aumentar, a capacidade dos adipócitos em secretar peptídeos que regulam o metabolismo de TG e AGL é prejudicada. Os adipócitos hipertrofiados induzem à maior infiltração de macrófagos, além de grandes quantidades de proteína quimiotática para monócitos-1 (MCP-1). A MCP-1 promove a infiltração de macrófagos adicionais no tecido adiposo e contribui para um estado pró-inflamatório do tecido (c). Os macrófagos infiltrados secretam grande quantidade de TNF- α e outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , o que ocasionará um estado inflamatório crônico, aumento da lipólise e diminuição da deposição de TG, resultando no aumento de AGL circulantes e acúmulo de TG e AGL no músculo esquelético (d). Essa situação pode desencadear a RI.

TG= triacilgliceróis; AG= ácido graxo; ATP= trifosfato de adenosina; CO₂= Dióxido de Carbono; H₂O= Água; MCP-1= proteína quimiotática para monócitos 1; TNF- α = Fator de Necrose Tumoral alfa.
 Adaptada de Guilherme e colaboradores (2008).

A deterioração na secreção da insulina produzida pela disfunção das células beta-pancreáticas, em consequência da redução da sensibilidade à insulina, é uma condição que se inicia anos antes do diagnóstico do DM2 (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006). No início do DM2, o aumento da secreção da insulina ocorre em razão do agravamento da RI e então os pacientes ainda apresentam tolerância normal à glicose. No entanto, quando essa doença se agrava, ocorre diminuição da função das células beta, o que culminará na deterioração da produção de insulina, não havendo hormônio suficiente para compensar a piora da RI (RHEE et al., 2007).

A prevenção do DM2 pode ser instituída por meio de diversas alterações no estilo de vida, como manutenção de composição corporal normal, prática de atividade física regular, diminuição da ingestão de álcool, além da adoção de hábitos alimentares saudáveis. Tais determinantes podem atrasar ou impedir as complicações associadas à essa doença (LI et al., 2015; PARK, 2015). Dessa forma, a alimentação é um fator ambiental de impacto na incidência e gravidade de DM2 (STEEMBURGO; AZEVEDO; MARTINEZ, 2009).

2.3 ALIMENTAÇÃO E METABOLISMO DA GLICOSE

A associação entre macronutrientes da alimentação, sobretudo de carboidratos e lipídios, tem se mostrado importante fator na modulação do metabolismo da glicose (CORELLA et al., 2006; DUE et al., 2008; SMITH et al., 2012). Durante várias décadas as recomendações alimentares oficiais foram baseadas em uma alimentação rica em carboidratos como parte de uma dieta saudável e eficaz na prevenção do ganho de peso e de desenvolvimento de DCNT (DUE et al., 2008). O baixo conteúdo de lipídios desse tipo de dieta tem sido apontado como responsável por esse fator de proteção (EVERT et al., 2013).

Apesar disso, novos padrões alimentares restritivos têm sido extensivamente defendidos, com base na teoria de que dietas pobres em carboidratos melhoram a RI e são eficazes para perda de peso (EVERT et al., 2013; WHEELER et al., 2012). No entanto, não há evidências suficientes para fazer recomendações a favor ou contra a restrição de carboidratos (ADA, 2013).

Por outro lado, teores elevados de gordura nas refeições podem alterar as concentrações e a sensibilidade à insulina mesmo em indivíduos que não tenham excesso de peso. Dentre os tipos de lipídios, a gordura saturada parece ser a mais prejudicial (MANSOOR et al., 2016). Dessa forma, não só a quantidade, mas também a qualidade de AG (saturados, monoinsaturados ou poli-insaturados) apresentam papel fundamental na modulação do metabolismo de glicídios (DEDOUSSIS; KALIORA; PANAGIOTAKOS, 2007; SMITH et al., 2012).

Praticamente todas as estratégias nutricionais que visam a diminuição do risco de DCV recomendam a diminuição da proporção de gordura saturada da alimentação, o que resultaria em aumento proporcional do consumo de outros nutrientes, como carboidratos ou outros tipos de lipídios. Todavia, a substituição isoenergética de gordura saturada por carboidratos simples pode ser responsável pelo aumento no risco de RI e DM2 (ZELMAN, 2011). Por outro lado, se a substituição de gordura saturada der lugar a gordura monoinsaturada ou poli-insaturada, pode resultar em padrão alimentar benéfico na prevenção e tratamento do DM2 (SIRI-TARINO et al., 2015).

Contraditoriamente, vale ressaltar que alguns autores defendem a premissa que dietas hiperlipídicas, independente da sua composição, são associadas com ganho de peso, o que facilitaria o desenvolvimento de alterações no metabolismo da glicose (DUE et al., 2008). Dessa forma, embora vários estudos tenham tentado identificar a combinação ideal de macronutrientes para planos alimentares de indivíduos com DM2 ou risco de desenvolvimento dessa doença, ainda não há uma combinação que seja aplicada amplamente (WHEELER et al., 2012). Sendo assim a Associação Americana de Diabetes (ADA), (2013) preconiza que a recomendação dietética desses macronutrientes deve ser individualizada e levar em consideração o estado metabólico do indivíduo e suas preferências alimentares.

Entre os indivíduos com SOE o consumo alimentar foi avaliado, até o momento, somente por um estudo com 4786 participantes finlandeses, com idade entre 25 e 74 anos dos quais 10% dos homens e 19% das mulheres tinham essa síndrome. Esse estudo sugeriu que a baixa ingestão de proteínas poderia ser fator de proteção para essa SOE enquanto que o alto consumo de álcool e açúcar e baixo consumo de fibras seriam fatores de risco (MÄNNISTÖ et al., 2014).

Nesse contexto, outro fator importante a ser observado é que poucos estudos que avaliaram a distribuição de macronutrientes da dieta levaram em consideração as características genéticas dos participantes. Estudos anteriores apontam que variações genéticas tem influência importante na modulação do efeito da alimentação sobre as características fenotípicas (CORELLA et al., 2006).

2.4 NUTRIGENÉTICA, PERILIPINA E OBESIDADE

Com a evolução da ciência no campo da genética, estudos na área da Genômica Nutricional têm sido impulsionados e, atualmente, é possível avaliar a relação complexa entre alimentação, variabilidade genética, expressão gênica e risco do desenvolvimento de DCNT. Nesse sentido, a Nutrigenética estuda os efeitos de variações genéticas entre os indivíduos na resposta a determinados padrões alimentares e nutrientes no risco do desenvolvimento de DCNT (CAMP; TRUJILLO, 2014; KAPUT; RODRIGUEZ, 2004).

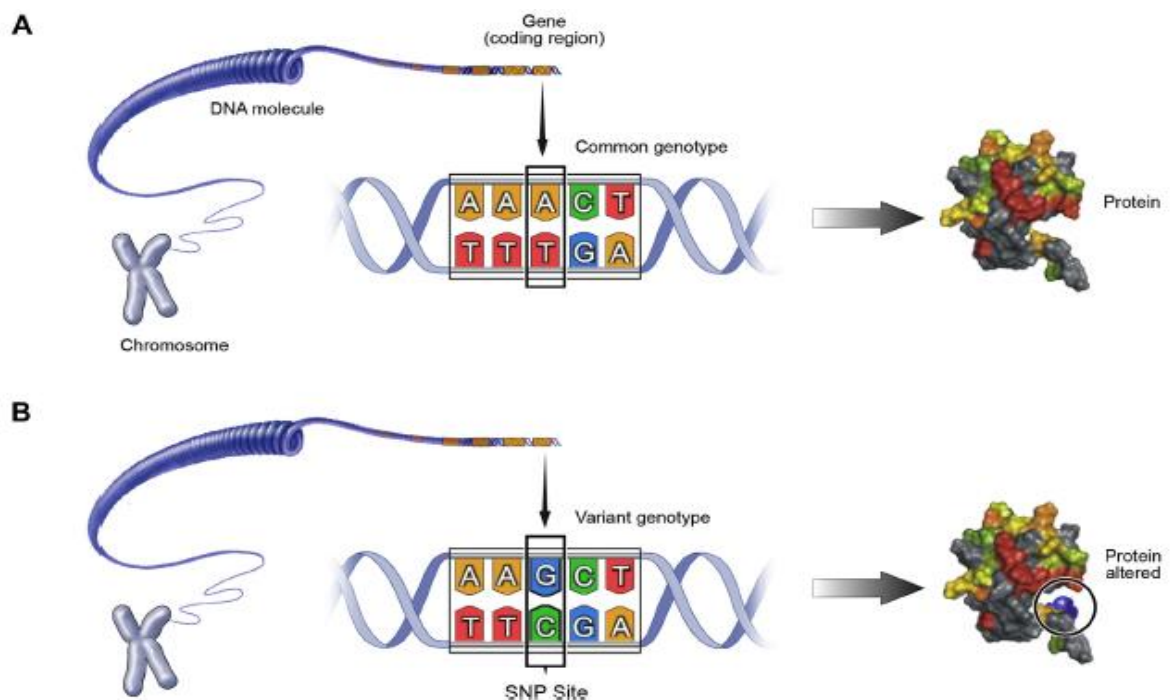
No que se refere à obesidade, há uma hipótese de que ao longo da evolução, alguns indivíduos herdaram genótipos caracterizados como poupadores de gordura (*thrifty gene hypothesis*), o que, no passado seria vantajoso. Tais genes conferiam maior resistência à desnutrição e melhor capacidade de sobrevivência em épocas de escassez de alimentos (AYUB et al., 2014). Entretanto, com a maior oferta de alimentos e a redução significativa nos níveis de atividade física, o ambiente tornou-se propício para que tais indivíduos acumulem gordura de forma excessiva (MARQUES-LOPES et al., 2004). Essa vulnerabilidade genética ao acúmulo de gordura corporal só será expressa se os fatores ambientais forem favoráveis (CAMP; TRUJILLO, 2014; HERRERA; LINDGREN, 2010).

Mais de 50 genes têm sido associados com parâmetros antropométricos que refletem a obesidade, como IMC e CC (MARTÍNEZ, 2014). Porém, considera-se que variações nesses genes, quando avaliadas de maneira individual, são responsáveis apenas por pequena parte da obesidade em nível populacional, podendo explicar menos de 2% da variação interindividual do IMC. No entanto a herdabilidade dessa doença é estimada entre 40 a 70%, o que sugere que deve haver muitos mais genes

e variações genéticas relacionadas à obesidade (HERRERA; LINDGREN, 2010; STEEMBURGO; AZEVEDO; MARTINEZ, 2009).

As variações mais estudadas em Nutrigenética são os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP, do inglês: *single nucleotide polymorphism*) (Figura 4), definidos como a variação em um único par de nucleotídeos em uma posição específica do DNA (CAMP; TRUJILLO, 2014; FENECH et al., 2011). Tal variação pode implicar em modificações na estrutura, função e quantidade de proteínas traduzidas, podendo resultar em fatores de risco ou de proteção para o desenvolvimento de DCNT. Os SNP constituem as principais variações genéticas que ocorrem no DNA humano e muitos deles estão intimamente relacionados com a composição corporal individual (FENECH et al., 2011). Nesse contexto, um gene de interesse na nutrição e que apresenta SNP relacionados à composição corporal é o *PLIN1* (QI et al., 2004a).

Figura 4: Polimorfismo de Nucleotídeo Único. Variação de uma única base em um local específico da sequência do DNA. No exemplo, um cromossomo com “A” (Adenina) em um local específico e outro com “G” (Guanina) no mesmo local, ocasionando uma alteração na proteína traduzida. É importante destacar que nem todos os SNP ocasionam diferença na proteína traduzida. Fonte: Camp; Trujillo (2014).



Em humanos o gene *PLIN1* é constituído por 9 éxons e 8 íntrons, contém 15.050 pares de bases e tem localização cromossômica 15q26.1, próxima a um dos *loci* relacionados ao aumento da susceptibilidade à obesidade, ao DM2 e à

hipertrigliceridemia (NISHIU; TANAKA; NAKAMURA, 1998; QI et al., 2004a). Em razão do processo de *splicing* alternativo, a partir do *PLIN1* podem ser traduzidas quatro isoformas diferentes de PLIN1: A, B, C, D, dentre essas, a PLIN1 A é a mais comum no tecido adiposo humano (QI et al., 2004b).

A função da PLIN foi inicialmente elucidada em um estudo realizado com camundongos *knockout* para o gene *Plin*. Os pesquisadores identificaram que tais animais, submetidos a dietas hipercalóricas, se mantinham magros e protegidos do excesso de gordura subcutânea, apresentando redução de 30% da massa adiposa e aumento da atividade lipolítica em comparação a camundongos *wild type* (com o gene *Plin*). Esse estudo revelou o papel importante da PLIN no metabolismo do tecido adiposo e a sugeriu como alvo molecular para o tratamento da obesidade. Entretanto, os camundongos *knockout para o Plin*, apesar de serem resistentes à obesidade induzida pela dieta, não eram protegidos da intolerância à glicose, com tendência a desenvolver essa condição, bem como RI (TANSEY et al., 2003).

Recentemente Noureldein (2014), por meio de um estudo *in silico*, testou um fármaco com capacidade de inibir a PLIN1 e sugeriu que esse medicamento pode tratar a obesidade por meio do aumento das taxas de lipólise. Entretanto, esse composto (*4-Nitrophenyl 2,3,4-Tri-O-levulinoyl- α -D-mannopyrano-side*) ainda não foi testado em estudos experimentais e clínicos.

A relação entre PLIN1, gordura corporal e alterações metabólicas pode também ser melhor compreendida se avaliadas as variações genéticas presentes no gene que codifica essa proteína. SNP nesse gene têm sido mais comumente associados com suscetibilidade ao acúmulo excessivo de gordura corporal e também estão fortemente relacionados à suscetibilidade ao desenvolvimento de RI e DM2 (BRASAEMLE et al., 2000; BRASAEMLE, 2007; QI et al., 2004b; SMITH; ORDOVAS, 2012).

Dentre os polimorfismos já descritos no gene *PLIN1*, o 11482G>A (rs894160), não ocasiona troca de aminoácidos por estar localizado em região não codificadora, no íntron 6. No entanto, a presença do alelo A está relacionada com menor expressão de PLIN1 no adipócito. Uma explicação plausível poderia ser o fato de que o SNP 11482G>A estaria em um sítio de ligação consenso para um fator de transcrição. Entretanto, em análise *in silico*, não foi encontrada nenhuma sequência consenso de ligação para fatores de transcrição conhecidos. Portanto, a causa da redução da expressão da proteína em razão desse polimorfismo ainda é desconhecida

(MOTTAGUI-TABAR et al., 2003). A frequência do alelo variante referente ao polimorfismo 11482 G>A do gene *PLIN1* foi estudada em diferentes populações (tabela1).

Mottagui-Tabar e colaboradores (2003) foram os primeiros a descrever a associação entre o SNP 11482G>A e alterações metabólicas. Especificamente, esses autores encontraram que o conteúdo de *PLIN1* nos adipócitos foi menor e a lipólise induzida por noradrenalina foi maior em carreadores do genótipo AA em comparação aos carreadores do genótipo GG e, ainda, que indivíduos heterozigotos apresentaram fenótipo intermediário. Nesse estudo as concentrações plasmáticas de glicose de jejum, insulina de jejum e TG não diferiram entre os três genótipos.

Tabela 1. Genotipagem e frequência do alelo variante- polimorfismo 11482A do gene da *PLIN1* em diferentes populações

População	GG n (%)	GA n (%)	AA n (%)	Frequência do alelo variante	Estudo
Americanos	500 (51,5)	376 (38,8)	94 (9,7)	0,290	SMITH et al. (2012)
Japoneses	73 (49,3)	63 (42,6)	12 (8,1)	0,294	SONE et al. (2010)
Brasileiros	116 (49,6)	118 (50,4)		0,300	DERAM et al. (2008)
Espanhóis	480 (53,1)	353 (39,0)	71 (7,8)	0,270	SMITH et al. (2008)
Chineses	962 (34,8)	1333 (48,2)	468 (16,9)	0,415	
Malaios	229 (30,7)	379 (50,8)	138 (18,5)	0,440	CORELLA et al. (2006)
Indianos	263 (44,0)	280 (46,8)	55 (9,2)	0,325	
Coreanos	72 (45,0)	68 (42,5)	20 (12,5)	0,338	KANG et al. (2006)
Coreanos	76 (42,9)	86 (48,6)	15 (8,5)	0,328	JANG et al. (2006)
Franceses	554 (49,7)	466 (41,8)	94 (8,4)	0,300	MEIRHAEGHE et al. (2006)
Espanhóis	94 (63,3)	56 (37,3)		0,240	CORELLA et al. (2005)
Espanhóis	451 (57,7)	330 (42,2)		0,262	QI et al. (2004a)
Americanos	189 (53,4)	131 (37,0)	34 (9,6)	0,299	QI et al. (2004b)

Posteriormente, Qi e colaboradores (2004a) avaliaram seis SNP no *PLIN1* em 1589 indivíduos espanhóis, sendo 801 mulheres, das quais 281 eram obesas. Foi identificada associação sexo-específica entre dois SNP (rs2289487 e rs894160) e parâmetros antropométricos e metabólicos. Dentre as mulheres eutróficas, as carreadoras do alelo variante para os dois SNP apresentavam menor IMC e risco duas vezes menor de desenvolvimento de obesidade além de menores concentrações plasmáticas de glicose e TG. Esse estudo sugeriu a hipótese de que o alelo variante

poderia ser associado a menor expressão do gene *PLIN1* em adipócitos ou resultar na atividade reduzida da PLIN.

Por outro lado, o SNP 11482G>A no *PLIN1* foi associado à resistência a perda de peso em pacientes com excesso de gordura corporal submetidos à dieta hipocalórica por um ano. Nesse estudo que avaliou 150 pacientes obesos, verificou-se que a interação entre gene e dieta hipocalórica foi estatisticamente significativa e que o alelo A apresentou efeito dominante, uma vez que não houve diferença significativa entre a dificuldade de perder peso entre indivíduos carreadores dos genótipos AA e GA. Apesar de esses exibirem menor peso corporal no início do estudo, apresentavam maior dificuldade de perda de peso quando comparados aos indivíduos que carregavam o genótipo GG (CORELLA et al., 2005).

Outro estudo com 970 participantes Norte Americanas, com sobrepeso e obesidade e média de 49 ± 16 anos, verificou interação significativa entre a proporção de gordura saturada e carboidratos consumidos com o polimorfismo do *PLIN1* 11482G>A e marcadores de RI. Indivíduos carreadores do alelo variante e que apresentavam ingestão elevada de carboidratos apresentaram aumento do HOMA-IR (SMITH et al., 2012).

Ainda nesse sentido, o consumo de carboidratos complexos foi associado ao polimorfismo *PLIN1* 11482 G>A e a circunferência da cintura em 920 indivíduos obesos, hispânicos residentes em Boston, com 45-74 anos. Quando a ingestão foi menor que 144 g/dia, a CC foi maior em indivíduos carreadores do alelo variante e quando o consumo foi maior ou igual a 144 g/dia, a CC e a circunferência do quadril foram menores nesses indivíduos. Esse estudo identificou que o alelo variante foi fator de proteção contra a obesidade nos indivíduos com maior consumo de carboidrato, sugerindo que essa relação pode ser importante no tratamento dessa doença (SMITH et al., 2008).

Outro estudo com 78 mulheres obesas avaliaram a resposta a uma restrição calórica diária de 600 kcal controlada por 12 semanas e observaram que as carreadoras do alelo variante em relação ao SNP *PLIN1* 11482G>A tiveram menor redução da CC, além de maior diminuição na taxa de oxidação lipídica após a intervenção. Estes resultados sugerem que este polimorfismo desempenha papel modulador sobre as alterações induzidas pela alimentação no armazenamento de lipídios no tecido adiposo e no metabolismo energético em indivíduos com excesso

de gordura corporal. Porém, também suscitam controvérsias a respeito da real influência do SNP *PLIN1* 11482G>A na obesidade e nas alterações metabólicas relacionadas (RUIZ et al.,2011).

Considerando que os indivíduos com SOE constituem um grupo de alto risco para o desenvolvimento de doenças relacionadas ao excesso de gordura corporal, como o DM2, bem como a escassez relativa de estudos relacionados a essa população, sobretudo no que se refere a variações genéticas no gene da *PLIN1*, é importante que esta condição seja investigada, inclusive do ponto de vista de Nutrigenética, para fornecer melhor compreensão dessa condição clínica.

A partir do exposto, a hipótese deste trabalho é a de que o SNP 11482G<A (rs894160) no gene *PLIN1* se relaciona com a resposta ao consumo alimentar, a composição corporal e o metabolismo da glicose e da insulina em indivíduos diagnosticados com SOE.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se o polimorfismo 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* interfere na resposta individual ao consumo alimentar, na composição corporal e no metabolismo da glicose e da insulina em indivíduos com a Síndrome do Obeso Eutrófico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a frequência do polimorfismo 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* em indivíduos com SOE;
- Determinar as concentrações de glicose, de hemoglobina glicada (HbA1c) e de insulina de jejum;
- Determinar índices associados ao metabolismo da insulina, como o *Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance* (HOMA-IR), o *Homeostasis Model Assessment Beta-Cell Function* (HOMA-beta) e o *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index* (QUICKI);
- Avaliar o consumo alimentar habitual da população estudada.

4 METODOLOGIA

4.1. TIPO DE ESTUDO E RECRUTAMENTO DE VOLUNTÁRIOS

Foi realizado estudo observacional, analítico, do tipo transversal na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás (FANUT/UFG). O recrutamento de voluntários foi realizado por meio da distribuição de folders (Apêndice A) em todo o campus da Universidade Federal de Goiás (UFG) e pelas redes sociais e pelo envio de e-mails para alunos, funcionários e professores desta instituição.

Considerando que estudos da frequência do polimorfismo no gene do *PLIN1* ainda são escassos na população brasileira, há dificuldades em se estabelecer critérios para cálculo do número amostral e, portanto, a amostra foi constituída por conveniência.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

A amostra do estudo foi constituída por indivíduos de ambos os sexos, adultos (20-59 anos de idade) (WHO, 1995), com IMC eutrófico (entre 18,50 e 24,99 kg/m²) (WHO, 1995) e percentual de gordura corporal acima da normalidade (20% para homens e 30% para as mulheres), estimados por Absorciometria Radiológica de Dupla Energia (DEXA) (OLIVEROS et al., 2014).

Os critérios de exclusão foram: indivíduos que estavam em uso de fármacos hipolipemiantes, anti-hipertensivos, antidiabéticos, insulina, suplementação de vitaminas/minerais; que estavam em tratamento nutricional ou que mudaram a sua alimentação habitual nos seis meses que antecederam a pesquisa; mulheres gestantes, lactantes, na menopausa ou em terapia de reposição hormonal; indivíduos que apresentassem condições clínicas agudas como infecção, inflamação, febre ou diarreia; ou doenças crônicas, como DM2, hipertensão arterial sistêmica moderada/grave, câncer, artrite reumatoide; indivíduos tabagistas ou que praticassem atividade física intensa (WHO, 2010). Professores e alunos de Nutrição não foram incluídos no estudo. Tais indivíduos podem apresentar alterações nos padrões

alimentares promovidas pelo conhecimento adquirido ao longo do curso/profissão. Além disso, foram excluídos das análises aqueles pacientes que faltaram alguma etapa do processo de coleta de dados. No final desse processo a amostra foi constituída por 116 pacientes. O fluxograma da fase amostral está representado na figura 5.

4.3 COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi iniciada em maio de 2015 e finalizada em setembro de 2015. Essa coleta ocorreu em dois encontros após o recrutamento dos voluntários. Na primeira consulta os indivíduos receberam todas as informações sobre a pesquisa e foi apresentado o TCLE (Apêndice B). Os indivíduos que se enquadraram nos critérios de inclusão e aceitaram participar da pesquisa, responderam aos questionários socioeconômico, demográfico, de estilo de vida e de saúde, e foram encaminhados para a avaliação antropométrica, da composição corporal e do consumo alimentar (Apêndice C).

4.3.1 Dados demográficos socioeconômicos

Os questionários demográficos e socioeconômicos abordaram os seguintes dados: idade, sexo, escolaridade, renda familiar, renda *per capita*, condições de moradia e hábitos de vida. Ainda, foi realizada a estimativa de atividade física pelo método de equivalentes metabólicos (MET), de acordo com *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), por meio da fórmula: MET/minutos por semana = categoria da atividade física x minutos de atividade x eventos por semana. Considerando-se a categoria da atividade física quando leve ou caminhada (3,3 METs), moderada (4,0 METs) ou intensa (8,0 METs). A classificação da atividade física final foi atribuída somando-se todas as atividades do indivíduo na semana. Considerou-se o indivíduo como sedentário quando a pontuação foi menor que 600 METs; moderadamente ativo quando entre 600 e 2999 METs e com atividade física intensa quando a pontuação foi maior que 3000 METs/semana (MATSUDO et al., 2012).

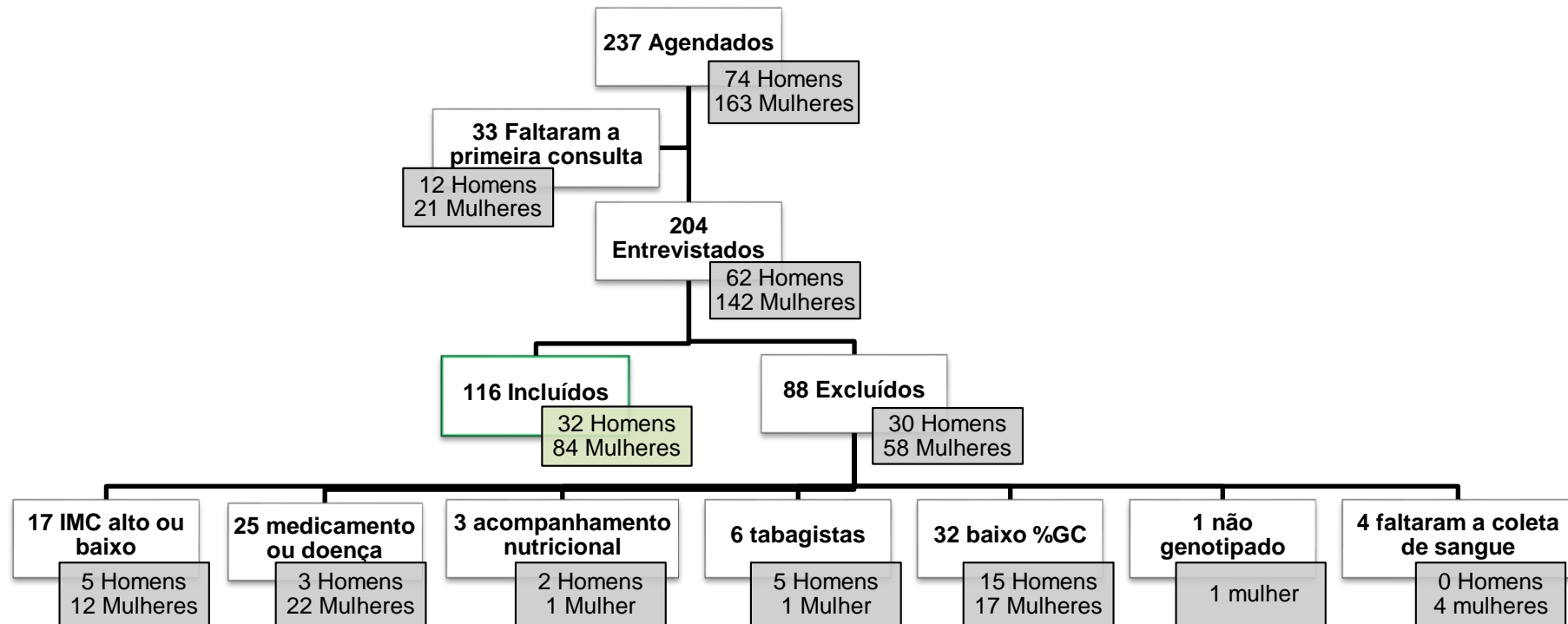


Figura 5. Fluxograma do recrutamento de voluntários do estudo

4.3.2 Avaliação antropométrica e de pressão arterial e de saúde

Em relação às medidas antropométricas foram avaliadas as seguintes variáveis

- Peso atual (kg): peso no momento da avaliação, o qual foi utilizado para o cálculo do IMC. Foi obtido por meio da pesagem em balança eletrônica da marca Tanita®, portátil, com capacidade de 150 kg, graduação de 100 g, sendo obedecido o protocolo estabelecido por Gibson (2005) e Lohman, Roche e Martorell, (1998).
- Estatura (m): foi utilizado um estadiômetro com haste móvel, com base no protocolo de Gibson (2005) e Lohman, Roche e Martorell (1998).
- Circunferência da cintura (cm): foi avaliada utilizando-se fita métrica inelástica, conforme protocolo instituído por Lohman, Roche e Martorell (1998);
- Dobras cutâneas: foram mensuradas com uso do adipômetro científico Sanny® e segundo protocolo instituído por Lohman, Roche e Martorell (1998). Indivíduos com alto percentual de gordura, classificados pelo protocolo de sete dobras de Pollock e Wilmore, (1993), separados por sexo e idade (Tabela 2), foram direcionados para a próxima avaliação da composição corporal;
- Composição corporal: os indivíduos vestidos com roupas leves e sem acessórios, submetidos ao exame de Absorciometria Radiológica de Dupla Energia (DEXA), utilizando-se o modelo Lunar DPX NT (General Electric Medical Systems Lunar®, Madison, EUA).

Tabela 2: Classificação da porcentagem de gordura mínima, de acordo com sexo e idade, para que os voluntários fossem encaminhados para a próxima etapa da pesquisa

Idade	18 – 25	26 – 35	36 – 45	46 – 55	> 55
%Gordura para homens	11 a 3	16 a 18	19 a 21	21 a 23	22 a 23
%Gordura para mulheres	20 a 22	21 a 23	24 a 26	26 a 28	27 a 29

Adaptado de: Pollock e Wilmore (1993).

Pressão arterial: a pressão arterial sistólica (PAS) e a pressão arterial diastólica (PAD) foram aferidas em ambos os braços e então foi selecionado aquele com maior valor para a medida final. Foi assegurado que o paciente estivesse pelo menos cinco minutos em repouso, confortavelmente sentado, com as pernas descruzadas e os pés encostados no chão, com o braço posicionado na altura do coração e livre de roupas, com o cotovelo ligeiramente fletido e a palma da mão virada para a cima. O procedimento foi repetido três vezes, em intervalos de cinco minutos. Os pontos de corte utilizados foram aqueles propostos pela VI Diretriz Brasileira de Hipertensão (SBC; SBH; SBN,

2010), considerada ótima quando PAS está abaixo de 120 e PAD abaixo de 80; normal quando PAS é menor que 130 e PAD menor que 85 e limítrofe quando estão entre os valores de 130 a 139 para PAS e de 85 a 89 para PAD. Foi considerada hipertensão arterial quando os valores encontrados foram superiores ao limítrofe.

A segunda consulta foi agendada previamente e os voluntários foram orientados a comparecer em jejum de 12 horas para a coleta das amostras para a realização dos exames bioquímicos e de genotipagem. Depois de realizados os procedimentos, cada participante recebeu um lanche

Todos os pesquisadores da equipe de pesquisa foram capacitados e passaram por uma padronização quanto ao protocolo de atendimento nutricional para assegurar a qualidade dos dados coletados. Também foi realizado treinamento prévio para a realização das medidas antropométricas, conforme técnica de padronização de antropometria preconizada por Habicht (1974). Os atendimentos aos pacientes foram supervisionados pelo coordenador e/ou vice coordenador do projeto.

4.3.3 Avaliação do Consumo Alimentar

O consumo alimentar foi avaliado por meio de três recordatórios alimentares de 24 horas, sendo dois dias da semana e um de final de semana, de modo a cobrir a variabilidade e a quantidade de alimentos consumidos rotineiramente (TUCKER et al., 2013). O primeiro recordatório alimentar foi aplicado pessoalmente e o segundo e o terceiro coletado por telefone. Tais recordatórios foram aplicados por nutricionista capacitado e posteriormente avaliados com o auxílio de software AVANUTRI® (Rio de Janeiro, Brasil). O consumo de energia, carboidratos, proteínas, gorduras totais e fibra alimentar foi avaliado quanto à adequação de acordo com as *Dietary References Intakes* (DRI) (IOM, 2005). Para que não houvesse interferência da ingestão energética nas análises estatísticas, quando necessário, o consumo de nutrientes foi ajustado ao valor energético de acordo com o método proposto Willett, Howe, Kushi (1997).

4.3.4 Métodos Laboratoriais

O sangue foi coletado por técnico especializado com materiais descartáveis e ambiente rigorosamente higienizado. Foram coletados cerca de 10 mL de sangue da veia cubital mediana para determinação da glicemia de jejum, insulina de jejum e hemoglobina glicada (HbA1C) e, a partir dos resultados desses exames, foram calculados os valores de *Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance* (HOMA-IR), *Homeostasis Model Assessment Beta-Cell Function* (HOMA-beta) e *Quantitative Insulin*

Sensitivity Check Index (QUICKI). Amostras de 1 mL de sangue total foram armazenadas para posterior extração do DNA e genotipagem do polimorfismo.

4.3.4.1 Dosagem de glicemia de jejum

Para valores da glicemia de jejum foi utilizado o método enzimático colorimétrico e adotados os valores de referência entre 70 e 100 mg/dL como glicemia normal; > 100 a < 126 mg/dL para tolerância à glicose diminuída e \geq 126mg/dL para DM2 (SBD, 2014).

4.3.4.2 Dosagem de insulina de jejum

A concentração sérica de insulina foi determinada utilizando-se o método de eletroquimioluminescência e o valor entre 2,6 a 24,9 mU/L foi adotado como referência para a normalidade

4.3.4.3 Dosagem da hemoglobina glicada

Para determinação da concentração de hemoglobina glicada foi utilizada a metodologia imunoturbidimétrica de inibição e o percentual calculado pela equação $[(28,7 \times \text{HbA1c}) - 46,7]$. Como critério para valores alterados utilizou-se o ponto de corte superior a 6,5% como estado hiperglicêmico. Aqueles indivíduos que apresentaram valores de HbA1c entre 5,7% e 6,4% foram considerados com alto risco para o desenvolvimento de DM (ADA, 2013).

4.3.4.4 Cálculo de HOMA-IR, HOMA-beta e QUICKI

O HOMA-IR foi calculado de acordo com a equação proposta por Matthews et al. (1985): $\text{HOMA-IR} = (\text{IJ} \times \text{GJ}) / 22,5$, na qual IJ refere-se à insulina de jejum e GJ, à glicemia de jejum. Esse índice avalia a resistência à insulina e foi considerado acima da normalidade quando maior que o percentil 90 da amostra, o qual foi de 2,61.

O índice HOMA-beta estima a capacidade funcional das células beta pancreáticas e foi calculado de acordo com a equação proposta por Matthews et al. (1985): $\text{HOMA-beta} = (20 \times \text{IJ}) / (\text{GJ} - 3,5)$. Valores acima do percentil 90 da amostra foram considerados acima da normalidade. Para a amostra do estudo esse ponto de corte foi >201,08.

O índice QUICKI foi calculado a partir de resultados de insulinemia e glicemia de jejum por meio da equação: $[1/(\log \text{IJ} + \log \text{GJ})]$. Esse índice é quantitativo de sensibilidade insulínica de forma semelhante ao HOMA-IR (SBD, 2014). O valor adotado como referência para valores alterados nesse índice foi menor que o percentil 10 da amostra. Para a amostra do estudo esse ponto de corte foi 0,33.

4.3.5 Genotipagem

As análises de DNA foram realizadas no Centro de Genomas[®] (São Paulo, Brasil). Para genotipagem do polimorfismo *PLIN* 11482G>A, alíquotas de 1 mL de sangue total foram acondicionadas em tubos livres de DNAs e armazenadas em ultrafreezer para extração do DNA. Foram isoladas amostras de DNA genômico a partir de sangue total, com a utilização kit comercial (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, DE). O DNA extraído foi submetido a técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para amplificação e detecção dos alelos variantes na região do gene da *PLIN* em que se encontra o polimorfismo 11482G>A (rs894160), com a utilização de ensaios TaqMan[®] SNP Genotyping (Life Technologies, California, EUA).

4.4 ANÁLISE DE DADOS

O banco de dados foi elaborado com as variáveis de interesse no software Excel 2010, com dupla entrada para checagem de consistência dos resultados. A análise estatística foi realizada com o auxílio dos softwares Statistica versão 10.0. Os dados foram testados quanto a sua distribuição por meio do teste de Shapiro-Wilk. Todos os resultados apresentaram análise descritiva, com média \pm desvio-padrão ou mediana (intervalo interquartil) de acordo com a presença ou ausência de distribuição normal, respectivamente.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testado por meio do teste de Qui-Quadrado. A fim de determinar se os resultados referentes aos marcadores bioquímicos diferiram entre os genótipos, estes foram separados em homocigotos selvagens, heterocigotos e homocigotos para a variante (G/G, G/A e A/A) para o polimorfismo *PLIN* 11482G>A. Nesta abordagem, os resultados foram avaliados com o teste de ANOVA ou Kruskal-Wallis, em casos de variáveis paramétricas ou não paramétricas, respectivamente.

Posteriormente, os genótipos heterocigotos e homocigotos para a variante foram agrupados e, então, a análise estatística foi realizada com os testes t de Student ou Mann-Whitney, dependendo da distribuição dos dados.

O consumo de macronutrientes foi expresso em gramas por dia e então foi classificado em dois grupos de acordo com a ingestão mediana da população. Nessa etapa, os dados de consumo alimentar foram incluídos na análise estatística como

variáveis categóricas. A interação entre a ingestão alimentar dos macronutrientes e *PLIN1 11482 G> A* foi calculada pelo modelo de regressão simples e ajustada para os possíveis fatores de confusão.

O nível de significância adotado como padrão foi de 5%. Quando este nível se apresentou entre 6 e 10%, foi considerado como marginal ou tendência.

4. 5 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo contemplou os aspectos éticos contidos nas resoluções do Conselho Nacional de Saúde nº 466/2012, nº 340/2004 e nº 441/2011 e as normas previstas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFG (CEP/HC-UFG) e foi apreciado e aprovado sob o parecer número 834.649, no dia 16 de outubro de 2014 (Anexo A).

Os participantes que concordaram em participar do estudo e assinaram o TCLE tiveram o benefício de realizar avaliação antropométrica e exames bioquímicos e genéticos assim como a vantagem de receber os resultados dos exames bioquímicos acompanhados de orientações alimentares quanto a hábitos de vida saudável, assim como orientação caso algum exame estivesse alterado (Apêndice D). Receberam também os resultados dos exames genéticos juntamente com a interpretação e orientação de acordo com o genótipo do paciente (Apêndice E). A todos os indivíduos foram garantidos a liberdade para desistir da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo pessoal e o sigilo sobre as informações coletadas na pesquisa.

REFERÊNCIAS

ADA- American Diabetes Association. **Standards of medical care in diabetes-2013**. Alexandria, 2013. p.11-66, v. 36, s. 1

AYUB, Q.; MOUTSIANAS, L.; CHEN, Y.; PANOUTSOPOULOU, K.; COLONNA, V.; PAGANI, L.; PROKOPENKO, I.; RITCHIE, G. R. S.; TYLER-SMITH, C.; MCCARTHY, M. I.; ZEGGINI, E.; XUE, Y. Revisiting the thrifty gene hypothesis via 65 loci associated with susceptibility to type 2 diabetes. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 94, n. 2, p. 176–85, 2014.

BATSI, J. A.; SAHAKYAN, K. R.; RODRIGUEZ-ESCUADERO, J. P.; BARTELS, S. J.; LOPEZ-JIMENEZ, F. Normal weight obesity and functional outcomes in older adults. **European Journal of Internal Medicine**, Amsterdam, v. 25, n. 6, p. 517–522, 2014.

BILLECKE, N.; BOSMA, M.; ROCK, W.; FLEISSNER, F.; BEST, G.; SCHRAUWEN, P.; KERSTEN, S.; BONN, M.; HESSELINK, M. K. C.; PAREKH, S. H. Perilipin 5 mediated lipid droplet remodelling revealed by coherent Raman imaging. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 467–476, 2015.

BRASAEMLE, D. L. Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. **Journal of lipid research**, Bethesda, v. 48, n. 12, p. 2547–2559, 2007.

BRASAEMLE, D. L.; RUBIN, B.; HARTEN, I. A.; GRUIA-GRAY, J.; KIMMEL, A. R.; LONDOS, C. Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore v. 275, n. 49, p. 38486–38493, 2000.

CAMP, K. M.; TRUJILLO, E. Position of the academy of nutrition and dietetics: Nutritional genomics. **Academy of Nutrition and Dietetics**, Chicago v. 114, n. 2, p. 299–312, 2014.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo v. 50, n. 2, p. 190–197, 2006.

CORELLA, D.; QI, L.; SORLÍ, J. V.; GODOY, D.; PORTOLÉS, O.; COLTELL, O.; GREENBERG, A. S.; ORDOVAS, J. M. Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, São Paulo v. 90, n. 9, p. 5121–5126, 2005.

CORELLA, D.; QI, L.; TAI, E. S.; DEURENBERG-YAP, M.; CHEE, E. T.; SUOK, K. C.; ORDOVAS, J. M. Perilipin gene variation determines higher susceptibility to insulin resistance in Asian women when consuming a high-saturated fat, low-carbohydrate diet. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 29, n. 6, p. 1313–1319, 2006.

DE LORENZO, A.; DEL GOBBO, V.; PREMROV, M. G.; BIGIONI, M.; GALVANO, F.; DI RENZO, L. Normal-weight obese syndrome: Early inflammation? **American Journal of**

Clinical Nutrition, Bethesda, v. 85, n. 1, p. 40–45, 2007.

DE LORENZO, A.; MARTINOLI, R.; VAIA, F.; DI RENZO, L. Normal weight obese (NWO) women: An evaluation of a candidate new syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, Milano, v. 16, n. 8, p. 513–523, 2006.

DEDOUSSIS, G. V. Z.; KALIORA, A. C.; PANAGIOTAKOS, D. B. Genes, diet and type 2 diabetes mellitus: a review. **The review of diabetic studies**, Atenas, v. 4, n. 1, p. 13–24, jan. 2007.

DENG, J.; LIU, S.; ZOU, L.; XU, C.; GENG, B.; XU, G. Lipolysis response to endoplasmic reticulum stress in adipose cells. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 287, n. 9, p. 6240–6249, 2012.

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

DI RENZO, L.; GALVANO, F.; ORLANDI, C.; BIANCHI, A.; DI GIACOMO, C.; LA FAUCI, L.; ACQUAVIVA, R.; DE LORENZO, A. Oxidative stress in normal-weight obese syndrome. **Obesity**, Silver Spring, v. 18, n. 11, p. 2125–2130, 2010.

DI RENZO, L.; TYNDALL, E.; GUALTIERI, P.; CARBONI, C.; VALENTE, R.; CIANI, A. S.; TONINI, M. G.; DE LORENZO, A. Association of body composition and eating behavior in the normal weight obese syndrome **Eating and Weight Disorders**, Milano, v. 21, n. 11, p. 99-106, 2016.

DUE, A.; LARSEN, T. M.; HERMANSEN, K.; STENDER, S.; HOLST, J. J.; TOUBRO, S.; MARTINUSSEN, T.; ASTRUP, A. Comparison of the effects on insulin resistance and glucose tolerance of 6-mo high-monounsaturated-fat, low-fat, and control diets. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 87, n. 4, p. 855–862, 2008.

EVERT, A. B.; BOUCHER, J. L.; CYPRESS, M.; DUNBAR, S. A.; FRANZ, M. J.; MAYER-DAVIS, E. J.; NEUMILLER, J. J.; NWANKWO, R.; VERDI, C. L.; URBANSKI, P.; YANCY, W. S. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. **Diabetes care**, Alexandria, v. 36, n. 11, p. 3821–42, 1 nov. 2013.

FALCHI, M.; EL-SAYED MOUSTAFA, J. S.; TAKOUSIS, P.; PESCE, F.; BONNEFOND, A.; ANDERSSON-ASSARSSON, J. C.; SUDMANT, P. H.; DORAJOO, R.; AL-SHAFI, M. N.; BOTTOLO, L.; OZDEMIR, E.; SO, H.-C.; DAVIES, R. W.; PATRICE, A.; DENT, R.; MANGINO, M.; HYSI, P. G.; DECHAUME, A.; HUYVAERT, M.; SKINNER, J.; PIGEYRE, M.; CAIAZZO, R.; RAVERDY, V.; VAILLANT, E.; FIELD, S.; BALKAU, B.; MARRE, M.; VISVIKIS-SIEST, S.; WEILL, J.; POULAIN-GODEFROY, O.; JACOBSON, P.; SJOSTROM, L.; HAMMOND, C. J.; DELOUKAS, P.; SHAM, P. C.; MCPHERSON, R.; LEE, J.; TAI, E. S.; SLADEK, R.; CARLSSON, L. M. S.; WALLEY, A.; EICHLER, E. E.; PATTOU, F.; SPECTOR, T. D.; FROGUEL, P. Low copy number of the salivary amylase gene predisposes to obesity. **Nature Genetics**, Nova York, v. 46, n. 5, p. 492–7, 2014.

FENECH, M.; EL-SOHEMY, A.; CAHILL, L.; FERGUSON, L. R.; FRENCH, T. A. C.; TAI,

E. S.; MILNER, J.; KOH, W. P.; XIE, L.; ZUCKER, M.; BUCKLEY, M.; COSGROVE, L.; LOCKETT, T.; FUNG, K. Y. C.; HEAD, R. Nutrigenetics and nutrigenomics: Viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, Boston, v. 4, n. 2, p. 69–89, 2011.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 216–229, 2006.

GIBSON, R. S.; GIBSON, R. S. Anthropometric assessment. In: **Principles of nutritional assessment**. 2. ed. Nova York: Oxford University Press, 2005. cap. 10, p. 233-244.

GUILHERME, A.; VIRBASIUŠ, J. V.; PURI, V.; CZECH, M. P. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature Reviews-Molecular Cell Biology**, London, v. 9, n. 5, p. 367–377, 2008.

GUIMARÃES, D. E. D. Adipocitocinas : uma nova visão do tecido adiposo Adipokines : a new view of adipose tissue. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, p. 549–559, 2007.

HABICHT, J. HEIGHT AND WEIGHT STANDARDS FOR PRESCHOOL CHILDREN HOW RELEVANT ARE ETHNIC DIFFERENCES IN GROWTH POTENTIAL? **The Lancet**, Minneapolis, v. 303, n. 7858, p. 611–615, 1974.

HERRERA, B. M.; LINDGREN, C. M. The genetics of obesity. **Current Diabetes Reports**, Philadelphia, v. 10, n. 6, p. 498–505, 2010.

IOM- INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy**. Washington, National Academy, 2005. 1331p.

JANG, Y.; KIM, O. Y.; LEE, J. H.; KOH, S. J.; CHAE, J. S.; KIM, J. Y.; PARK, S.; CHO, H.; LEE, J. E.; ORDOVAS, J. M. Genetic variation at the perilipin locus is associated with changes in serum free fatty acids and abdominal fat following mild weight loss. **International journal of obesity**, London, v. 30, n. 11, p. 1601–8, 2006.

KANG, E. S.; CHA, B. S.; KIM, H. J.; KIM, S. H.; HUR, K. Y.; LEE, H. J.; SHIM, W. S.; AHN, C. W.; LEE, H. C. The 11482G >A polymorphism in the perilipin gene is associated with weight gain with rosiglitazone treatment in type 2 diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 29, n. 6, p. 1320–1324, 2006.

KAPUT, J.; RODRIGUEZ, R. L. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. **Physiological Genomics**, Bethesda, v. 16, n. 2, p. 166–77, 15 jan. 2004.

KRUGER, R.; SHULTZ, S. P.; MCNAUGHTON, S. A.; RUSSELL, A. P.; FIRESTONE, R. T.; GEORGE, L.; BECK, K. L.; CONLON, C. A.; VON HURST, P. R.; BREIER, B.; JAYASINGHE, S. N.; O'BRIEN, W. J.; JONES, B.; STONEHOUSE, W. Predictors and risks of body fat profiles in young New Zealand European, Māori and Pacific women: study protocol for the women's EXPLORE study. **SpringerPlus**, London, v. 4, p. 128. 2015.

LEAN, M. E.; HAN, T. S.; MORRISON, C. E. Waist circumference as a measure for

indicating need for weight management. **British Medical Association (Clinical research ed.)**, London, v. 311, n. 6998, p. 158–61, 1995.

LI, C.; NORSTEDT, G.; HU, Z.; YU, P.; LI, D. Effects of a Macro-Nutrient Preload on Type 2 Diabetic Patients, **Frontiers in Endocrinology**, Lausanne.v. 6, n.1, p1-8, 2015 .

LOHMAN, TIMOTHY G; ROCHE, ALEX. F.; MARTORELL, REYNALDO {EDS}. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign, IL, Human Kinetics.1998, 25 p.

LU, Y.; DAY, F. R.; GUSTAFSSON, S.; BUCHKOVICH, M. L.; NA, J.; BATAILLE, V.; COUSMINER, D. L.; DASTANI, Z.; DRONG, A. W.; ESKO, T.; EVANS, D. M.; FALCHI, M.; FEITOSA, M. F.; FERREIRA, T.; HEDMAN, Å. K.; HARING, R.; HYSI, P. G.; ILES, M. M.; JUSTICE, A. E.; KANONI, S.; LAGOU, V.; LI, R.; LI, X.; LOCKE, A.; LU, C.; MÄGI, R.; PERRY, J. R. B.; PERS, T. H.; QI, Q.; SANNA, M.; SCHMIDT, E. M.; SCOTT, W. R.; SHUNGIN, D.; TEUMER, A.; VINKHUYZEN, A. A. E.; WALKER, R. W.; WESTRA, H.-J.; ZHANG, M.; ZHANG, W.; ZHAO, J. H.; ZHU, Z.; AFZAL, U.; AHLUWALIA, T. S.; BAKKER, S. J. L.; BELLIS, C.; BONNEFOND, A.; BORODULIN, K.; BUCHMAN, A. S.; CEDERHOLM, T.; CHOH, A. C.; CHOI, H. J.; CURRAN, J. E.; DE GROOT, L. C. P. G. M.; DE JAGER, P. L.; DHONUKSHE-RUTTEN, R. A. M.; ENNEMAN, A. W.; EURY, E.; EVANS, D. S.; FORSEN, T.; FRIEDRICH, N.; FUMERON, F.; GARCIA, M. E.; GÄRTNER, S.; HAN, B.-G.; HAVULINNA, A. S.; HAYWARD, C.; HERNANDEZ, D.; HILLEGE, H.; ITTERMANN, T.; KENT, J. W.; KOLCIC, I.; LAATIKAINEN, T.; LAHTI, J.; LEACH, I. M.; LEE, C. G.; LEE, J.-Y.; LIU, T.; LIU, Y.; LOBBENS, S.; LOH, M.; LYYTIKÄINEN, L.-P.; MEDINA-GOMEZ, C.; MICHAËLSSON, K.; NALLS, M. A.; NIELSON, C. M.; OZGAGEER, L.; PASCOE, L.; PATERNOSTER, L.; POLAŠEK, O.; RIPATTI, S.; SARZYNSKI, M. A.; SHIN, C. S.; NARANČIĆ, N. S.; SPIRA, D.; SRIKANTH, P.; STEINHAGEN-THIESSEN, E.; SUNG, Y. J.; SWART, K. M. A.; TAITTONEN, L.; TANAKA, T.; TIKKANEN, E.; VAN DER VELDE, N.; VAN SCHOOR, N. M.; VERWEIJ, N.; WRIGHT, A. F.; YU, L.; ZMUDA, J. M.; EKLUND, N.; FORRESTER, T.; GRARUP, N.; JACKSON, A. U.; KRISTIANSOON, K.; KUULASMAA, T.; KUUSISTO, J.; LICHTNER, P.; LUAN, J.; MAHAJAN, A.; MÄNNISTÖ, S.; PALMER, C. D.; RIED, J. S.; SCOTT, R. A.; STANCÁKOVÁ, A.; WAGNER, P. J.; DEMIRKAN, A.; DÖRING, A.; GUDNASON, V.; KIEL, D. P.; KÜHNEL, B.; MANGINO, M.; MCKNIGHT, B.; MENNI, C.; O'CONNELL, J. R.; OOSTRA, B. A.; SHULDINER, A. R.; SONG, K.; VANDENPUT, L.; VAN DUIJN, C. M.; VOLLENWEIDER, P.; WHITE, C. C.; BOEHNKE, M.; BOETTCHER, Y.; COOPER, R. S.; FOROUHI, N. G.; GIEGER, C.; GRALLERT, H.; HINGORANI, A.; JØRGENSEN, T.; JOUSILAHTI, P.; KIVIMAKI, M.; KUMARI, M.; LAAKSO, M.; LANGENBERG, C.; LINNEBERG, A.; LUKE, A.; MCKENZIE, C. A.; PALOTIE, A.; PEDERSEN, O.; PETERS, A.; STRAUCH, K.; TAYO, B. O.; WAREHAM, N. J.; BENNETT, D. A.; BERTRAM, L.; BLANGERO, J.; BLÜHER, M.; BOUCHARD, C.; CAMPBELL, H.; CHO, N. H.; CUMMINGS, S. R.; CZERWINSKI, S. A.; DEMUTH, I.; ECKARDT, R.; ERIKSSON, J. G.; FERRUCCI, L.; FRANCO, O. H.; FROGUEL, P.; GANSEVOORT, R. T.; HANSEN, T.; HARRIS, T. B.; HASTIE, N.; HELIÖVAARA, M.; HOFMAN, A.; JORDAN, J. M.; JULA, A.; KÄHÖNEN, M.; KAJANTIE, E.; KNEKT, P. B.; KOSKINEN, S.; KOVACS, P.; LEHTIMÄKI, T.; LIND, L.; LIU, Y.; ORWOLL, E. S.; OSMOND, C.; PEROLA, M.; PÉRUSSE, L.; RAITAKARI, O. T.; RANKINEN, T.; RAO, D. C.; RICE, T. K.; RIVADENEIRA, F.; RUDAN, I.; SALOMAA, V.; SØRENSEN, T. I. A.; STUMVOLL, M.; TÖNJES, A.; TOWNE, B.; TRANAH, G. J.; TREMBLAY, A.; UITTERLINDEN, A. G.; VAN DER HARST, P.; VARTIAINEN, E.; VIIKARI, J. S.; VITART, V.; VOHL, M.-C.; VÖLZKE, H.; WALKER, M.; WALLASCHOFSKI, H.; WILD, S.; WILSON, J. F.; YENGO, L.; BISHOP, D. T.; BORECKI,

I. B.; CHAMBERS, J. C.; CUPPLES, L. A.; DEHGHAN, A.; DELOUKAS, P.; FATEMIFAR, G.; FOX, C.; FUREY, T. S.; FRANKE, L.; HAN, J.; HUNTER, D. J.; KARJALAINEN, J.; KARPE, F.; KAPLAN, R. C.; KOONER, J. S.; MCCARTHY, M. I.; MURABITO, J. M.; MORRIS, A. P.; BISHOP, J. A. N.; NORTH, K. E.; OHLSSON, C.; ONG, K. K.; PROKOPENKO, I.; RICHARDS, J. B.; SCHADT, E. E.; SPECTOR, T. D.; WIDÉN, E.; WILLER, C. J.; YANG, J.; INGELSSON, E.; MOHLKE, K. L.; HIRSCHHORN, J. N.; POSPISILIK, J. A.; ZILLIKENS, M. C.; LINDGREN, C.; KILPELÄINEN, T. O.; LOOS, R. J. F. New loci for body fat percentage reveal link between adiposity and cardiometabolic disease risk. **Nature Communications**, London, v. 7, p. 10495, 2016.

MADEIRA, F. B.; SILVA, A. A.; VELOSO, H. F.; GOLDANI, M. Z.; KAC, G.; CARDOSO, V. C.; BETTIOL, H.; BARBIERI, M. A. Normal Weight Obesity Is Associated with Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Young Adults from a Middle-Income Country. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 3, p. 1–9, 2013.

MÄNNISTÖ, S.; HARALD, K.; KONTTO, J.; LAHTI-KOSKI, M.; KAARTINEN, N. E.; SAARNI, S. E.; KANERVA, N.; JOUSILAHTI, P. Dietary and lifestyle characteristics associated with normal-weight obesity: the National FINRISK 2007 Study. **British Journal of Nutrition**, London, v. 111, n. 05, p. 887–894, 2014.

MANSOOR, N.; VINKNES, K. J.; VEIERØD, M. B.; RETTERSTØL, K. Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**, London, v. 115, n. 3, p. 1–14, 2016.

MARQUES-LOPES, I.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M. J.; MARTÍNEZ, A. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista de Nutricao**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 327–338 e-SPEN, 2004.

MARQUES-VIDAL, P.; CHIOLERO, A.; PACCAUD, F. Large differences in the prevalence of normal weight obesity using various cut-offs for excess body fat. **e-SPEN**, London, v. 3, n. 4, p. 159–162, 2008.

MARTÍNEZ, J. A. Perspectives on Personalized Nutrition for Obesity. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, Boston, v. 7, n. 1, p 1-5, 2014.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, Berlin, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985.

MATSUDO, S.; ARAÚJO, T.; MATSUDO, V.; ANDRADE, D.; ANDRADE, E.; OLIVEIRA, L. C.; BRAGGION, G. Questionário Internacional De Atividade Física (Ipaq): Estupo De Validade E Reprodutibilidade No Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, Londrina, v. 6, n. 2, p. 5–18, 2012.

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

MOTTAGUI-TABAR, S.; RYDÉN, M.; LOFGREN, P.; FAULDS, G.; HOFFSTEDT, J.; BROOKES, A. J.; ANDERSSON, I.; ARNER, P. Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. **Diabetologia**, Berlin, v. 46, n. 6, p. 789–797, 2003.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger, Principles of Biochemistry**. 4. ed, Nova York: Freeman and Company, 2004

NISHIU, J.; TANAKA, T.; NAKAMURA, Y. Isolation and chromosomal mapping of the human homolog of perilipin (PLIN), a rat adipose tissue-specific gene, by differential display method. **Genomics**, San Diego, v. 48, n. 2, p. 254–7, 1998.

NOURELDEIN, M. H. In silico discovery of a perilipin 1 inhibitor to be used as a new treatment for obesity. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, Roma, v. 18, n. 4, p. 457–60, 2014.

OLIVEIRA, L. P. M.; ASSIS, A. M. O.; SILVA, M. da C. M. da; SANTANA, M. L. P. de; SANTOS, N. S. dos; PINHEIRO, S. M. C.; BARRETO, M. L.; SOUZA, C. de O. Fatores associados a excesso de peso e concentração de gordura abdominal em adultos na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 570–582, 2009.

OLIVEROS, E.; SOMERS, V. K.; SOCHOR, O.; GOEL, K.; LOPEZ-JIMENEZ, F. The concept of normal weight obesity. **Progress in Cardiovascular Diseases**, Nova York, v. 56, n. 4, p. 426–433, 2014.

PARK, K. Trends in adherence to dietary recommendations among Korean type 2 diabetes mellitus patients. **Nutrition Research and Practice**, Korea, v. 9, n. 6, p. 658–66, 2015.

POLLOCK, M.L; WILMORE, J. H. **Exercícios na saúde e na doença**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1993.

QI, L.; CORELLA, D.; SORLÍ, J. V.; PORTOLÉS, O.; SHEN, H.; COLTELL, O.; GODOY, D.; GREENBERG, A. S.; ORDOVAS, J. M. Genetic variation at the perilipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in white women. **Clinical Genetics**, Copenhagen, v. 66, n. 4, p. 299–310, 2004a.

QI, L.; SHEN, H.; LARSON, I.; SCHAEFER, E. J.; GREENBERG, A. S.; TREGOUET, D. a; CORELLA, D.; ORDOVAS, J. M. Gender-specific association of a perilipin gene haplotype with obesity risk in a white population. **Obesity Research**, Baton rouge, v. 12, n. 11, p. 1758–65, 2004b.

RHEE, S. Y.; CHON, S.; OH, S.; KIM, S. W.; KIM, J. W.; KIM, Y. S.; WOO, J. taek. Insulin secretion and insulin resistance in newly diagnosed, drug naive prediabetes and type 2 diabetes patients with/without metabolic syndrome. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Edinburh, v. 76, n. 3, p. 397–403, 2007.

ROMERO-CORRAL, A.; SOMERS, V. K.; SIERRA-JOHNSON, J.; KORENFELD, Y.; BOARIN, S.; KORINEK, J.; JENSEN, M. D.; PARATI, G.; LOPEZ-JIMENEZ, F. Normal weight obesity: A risk factor for cardiometabolic dysregulation and cardiovascular

mortality. **European Heart Journal**, London, v. 31, n. 6, p. 737–746, 2010.

RUIZ, J. R.; LARRARTE, E.; MARGARETO, J.; ARES, R.; LABAYEN, I. Role of β_2 -adrenergic receptor polymorphisms on body weight and body composition response to energy restriction in obese women: preliminary results. **Obesity**, Silver Spring, v. 19, n. 1, p. 212–5, 2011.

SARTORELLI, D. S.; FRANCO, L. J.; CARDOSO, M. A. Intervenção nutricional e prevenção primária do diabetes mellitus tipo 2: uma revisão sistemática. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1, p. 7–18, 2006.

SBC; SBH; SBN – Sociedade Brasileira de Cardiologia. Sociedade Brasileira de Hipertensão. Sociedade Brasileira de Nefrologia. **IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão**. Campos de Jordão; 2002.

SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 12, p. 1–422, 2014.

SHEA, J. L.; KING, M. T. C.; YI, Y.; GULLIVER, W.; SUN, G. Body fat percentage is associated with cardiometabolic dysregulation in BMI-defined normal weight subjects. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, Milano, v. 22, n. 9, p. 741–747, 2012.

SIRI-TARINO, P. W.; CHIU, S.; BERGERON, N.; KRAUSS, R. M. Saturated Fats Versus Polyunsaturated Fats Versus Carbohydrates for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 35, p. 517–43, 2015.

SMITH, C. E.; ARNETT, D. K.; CORELLA, D.; TSAI, M. Y.; LAI, C. Q.; PARNELL, L. D.; LEE, Y. C.; ORDOVÁS, J. M. Perilipin polymorphism interacts with saturated fat and carbohydrates to modulate insulin resistance. **Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases**, Milano, v. 22, n. 5, p. 449–55, 2012.

SMITH, C. E.; ORDOVAS, J. M. Update on perilipin polymorphisms and obesity. **Nutrition Reviews**, Nova York, v. 70, n. 10, p. 611–621, 2012.

SMITH, C. E.; TUCKER, K. L.; YIANNAKOURIS, N.; GARCIA-BAILO, B.; MATTEI, J.; LAI, C.-Q.; PARNELL, L. D.; ORDOVÁS, J. M. Perilipin polymorphism interacts with dietary carbohydrates to modulate anthropometric traits in hispanics of Caribbean origin. **The Journal of Nutrition**, Nova York, v. 138, n. 10, p. 1852–1858, 2008.

SONE, Y.; YAMAGUCHI, K.; FUJIWARA, A.; KIDO, T.; KAWAHARA, K.; ISHIWAKI, A.; KONDO, K.; MORITA, Y.; TOMINAGA, N.; OTSUKA, Y. Association of lifestyle factors, polymorphisms in adiponectin, perilipin and hormone sensitive lipase, and clinical markers in Japanese males. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 56, n. 2, p. 123–131, 2010.

STEEMBURGO, T.; AZEVEDO, M. J.; MARTINEZ, J. A. Interação entre gene e nutriente e sua associação à obesidade e ao diabetes melito. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 497–508, 2009.

TANSEY, J. T.; HUML, A. M.; VOGT, R.; DAVIS, K. E.; JONES, J. M.; FRASER, K. A.;

BRASAEMLE, D. L.; KIMMEL, A. R.; LONDOS, C. Functional studies on native and mutated forms of perilipins: A role in protein kinase a-mediated lipolysis of triacylglycerols in Chinese hamster ovary cells. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 278, n. 10, p. 8401–8406, 2003.

TUCKER, K. L.; SMITH, C. E.; LAI, C.-Q.; ORDOVAS, J. M. Quantifying diet for nutrigenomic studies. **Annual Review of Nutrition**, Palo alto, v. 33, p. 349–71, 2013.

WANG, C. C. L.; GOALSTONE, M. L.; DRAZNIN, B. Molecular mechanisms of insulin resistance that impace cardiovascular biology. **Diabetes**, Nova York, v. 53, n. 11, p. 2735–2740, 2004.

WHEELER, M. L.; DUNBAR, S. A.; JAACKS, L. M.; KARMALLY, W.; MAYER-DAVIS, E. J.; WYLIE-ROSETT, J.; YANCY, W. S. Macronutrients, food groups, and eating patterns in the management of diabetes: a systematic review of the literature, 2010. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 35, n. 2, p. 434–45, 2012.

WHO – Word Health Organization **Physical status**: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO, 1995

WHO – Word Health Organization **Obesity and overweight**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 18 fev. 2016.

WHO – Word Health Organization. **Global recommendations on physical activity for health**. Geneva: n, p. 60, 2010.

ZELMAN, K. The great fat debate: a closer look at the controversy-questioning the validity of age-old dietary guidance. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 111, n. 5, p. 655–8, 2011.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO

O manuscrito será submetido ao periódico Diabetologia, cujo fator de impacto é de 6,206, Qualis Capes A1. As instruções aos autores para submissão de manuscritos neste periódico estão apresentadas no Anexo B.

Polymorphism *PLIN1* 11482 G>A Interacts with Carbohydrate and Saturated Fat Intake to Modulate Anthropometric Measures in Brazilian Men with Normal-Weight Obesity Syndrome

Amanda G Z Silveira¹, Lana P Franco¹, Rochelle S D A V Lima¹, Maria A Horst¹, Cristiane Cominetti¹

¹ Nutritional Genomics Research Group, Faculty of Nutrition, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil

Corresponding author:

Cristiane Cominetti, PhD

Nutritional Genomics Research Group, Faculty of Nutrition

Federal University of Goiás

Rua 227, s/n, Quadra 68, Leste Universitário, CEP 74605080, Goiânia, GO, Brazil

Phone: +55-62-32096270 ext. 210

Fax: + 55-62-32096273

e-mail: ccominetti@ufg.br

Word count = abstract (225), main text (3394)

Abstract

Aims/hypothesis To verify whether the polymorphism *PLIN1* 11482G>A (rs894160) has influence on food intake, body composition and glucose and insulin metabolism in individuals with Normal-Weight Obesity Syndrome.

Methods Cross-sectional study of 116 individuals aged 20 to 59, with body mass index between 18.50 and 24.99 kg/m² and high percentage of body fat (20% for men and 30% for women). Weight, height, waist circumference, body fat; glycaemia, insulin, glycated hemoglobin, indexes Quicki, HOMA-IR and HOMA-beta; SNP *PLIN1* 11482 G>A; and food intake were evaluated. Interactions between macronutrients intake and the SNP were determined by regression model and adjusted for potential confounders.

Results Important percentages of changes in biochemical markers were found. The SNP frequency was 56.0% GG, 38.8% GA and 5.2% AA. Biochemical and anthropometric markers were not different according to genotype. However, interactions between the SNP and food intake were observed. When carbohydrates and saturated fat intake was dichotomized into high and low according to the median intake, men carrying the variant allele had lower waist circumference only when carbohydrate intake was higher. They also presented lower weight and waist circumference when saturated fat consumption and saturated fat to carbohydrates ratio were low.

Conclusions/interpretation The SNP *PLIN1* 11482G>A seems to modulate responses in anthropometric biomarkers in men with Normal-Weight Obesity depending on dietary macronutrient composition, which may exert long-term influence on glycaemia and insulin biomarkers.

Keywords Body Fat Distribution • Food habits • Genetic polymorphism • Insulin resistance • Nutrigenetics

Abbreviations

NWO – normal-weight obesity

Introduction

Obesity affects more than 600 million people worldwide and is defined as the excessive accumulation of adipose tissue in a way that the individual's health may be impaired [1]. The Body Mass Index (BMI) is the most widely used method in the classification of obesity, due to its simplicity and validation in epidemiological studies [2, 3]. However, it is not the best method to identify excess of body fat because it does not consider the individual's body composition (fat mass percentage and fat free mass) and, therefore, has limitations in the assessment of individuals who have normal BMI and excess of body fat [4, 5].

De Lorenzo et al. (2006) [6] described the Normal-Weight Obesity (NWO) syndrome, which is characterized by the presence of BMI in normal ranges (18.50 kg/m² to 24.99 kg/m²) [1] and a high percentage of body fat. However, there is no consensus regarding the cutoffs to classify obesity based on the percentage of body fat and these values range from 20 to 25% for men and 30-37% for women [3, 4]. The prevalence of NWO in different populations is not well established, probably due to differences in the cutoff points [7]. There is evidence that percentages above 20% for men and 30% for women, however, are associated with a major risk of development of chronic noncommunicable diseases [3].

Despite presenting a normal BMI, individuals with NWO have a higher risk of developing a set of metabolic disorders related to the development of chronic noncommunicable diseases, such as high blood levels of fasting glucose and insulin resistance, with possibility of developing type 2 diabetes mellitus, similar to overweight individuals [3, 7-9].

Among the aspects involved in the accumulation of body fat, genetic factors stand out. Researches in the field of Nutritional Genomics have shown that polymorphisms in

the gene encoding perilipin 1 (*PLIN1*) may be related to excessive accumulation of body fat and to changes in lipid metabolism. This protein has a specific action on the lipid droplets in adipocytes, protecting the droplets from the constant access of hormone-sensitive lipase and, therefore, preventing triacylglycerol degradation into non-esterified fatty acids (NEFA), especially in situations in which there is no need to activate lipolysis [11, 12].

In humans, *PLIN1* are located at 15q26.1 chromosomal region, near one of the loci related to increased susceptibility to obesity, type 2 diabetes mellitus and hypertriglyceridemia [12, 13]. Among the polymorphisms already described in *PLIN1*, the 11482G> A (rs894160) is associated with lower expression of PLIN in adipocytes and with an increased noradrenaline-induced lipolysis process in individuals who carry the AA genotype compared to those who carry the GG genotype [14].

In addition, a sex-specific association between two SNP (rs2289487 and rs894160) in *PLIN1* was related to a lower BMI, to an obesity development risk two-fold lower, and to reduced levels of plasma glucose and triacylglycerol. These results suggest that the SNP rs894160 is associated with diet-induced changes in fat storage and energy metabolism in subjects with excess of body fat [15]. On the other hand, they also raise controversy about the real influence of this genetic variation in obesity and related metabolic disorders [16].

Assuming that individuals with NWO present a high risk for the development of high body fat-related diseases, including type 2 diabetes mellitus, this condition has to be investigated, even from the Nutrigenetics viewpoint. Moreover, considering the lack of studies addressing this population, mainly concerning genetic variations in *PLIN1*, the aim of this study, therefore, was to evaluate the relationships between the SNP *PLIN1* 11482G>A (rs894160), food intake, body composition and insulin and glucose

metabolism in adults with NWO. We hypothesized that the SNP plays an important influence on anthropometric parameters and on glucose and insulin metabolism.

Material and Methods

Study Design, Participants and Ethics

This was a cross-sectional study, with adults (20 to 59 years) males and females, who presented normal BMI (between 18.50 and 24.99 kg/m²) [1] and increased percentage of body fat (20% for men and 30% for women) [3], recruited at Federal University of Goiás, from May to September 2015. Considering that studies of PLIN1 genetic variants do not exist in the Brazilian adult population, the sampling was by convenience. Exclusion criteria were intake of medicines, hormones, vitamin and mineral supplements; smoking habit; nutritional treatment; acute or severe diseases; pregnancy and lactation; intense physical activity; Nutritionists or nutrition students. The final sample was composed by 116 individuals (Fig. 1). The study was approved by the Ethics Committee of the Clinical Hospital of the Federal University of Goiás (protocol number 834.649) and it was conducted under good clinical practice and in accordance with the Declaration of Helsinki. All participants gave written informed consent.

Anthropometry, Lifestyle and Food Intake Measurements

Participants answered a questionnaire of socioeconomic and lifestyle data that addressed data such as age, sex, education level, household income, per capita income, living conditions and life habits. Weight, height and waist circumference (WC) were collected. BMI was calculated and Dual-energy X-ray absorptiometry (Lunar DPX NT – General Electric Medical Systems Lunar®; Madison, EUA) was used to determine the percentage of body fat.

Three 24-hour food records, including a weekend day, were applied in order to evaluate usual food intake [17]. Information was collected in household measures, transformed into grams or milliliters and analyzed by the software Avanutri® (Três Rios, RJ, Brazil).

Biochemical Markers

Blood samples (10 mL) were collected from the median cubital vein for the quantification of fasting glucose (enzymatic colorimetric method), fasting insulin (electrochemiluminescence method), and glycated hemoglobin (HbA_{1c}) (immunoturbidimetric method). From the results of these markers, the Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), Homeostasis Model Assessment of Beta-Cell Function (HOMA-beta) and Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) were calculated. Samples of 1 mL of whole blood were frozen at -80°C until DNA extraction and genotyping.

Fasting glucose values higher than 100 mg/dL, fasting insulin values outside the range of 2.6 and 24.9 mU/L, and HbA_{1c} higher than 6.5% (47.5 mmol/mol) were considered as altered results [18]. Values above percentile 90 for HOMA-IR and HOMA-beta indexes (2,61 and 201,08, respectively) and under percentile 10 for QUICKI index (0,33) were also considered altered.

Extraction of DNA was performed using a commercial kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, DE). Genotyping was performed by real-time polymerase chain reaction (qPCR) using inventoried assays (TaqMan SNP Genotyping Assays) for the SNP *PLIN1* 11482G>A in a 7500HT Fast Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific, California USA) at Centro de Genomas® Laboratory (São Paulo, Brazil).

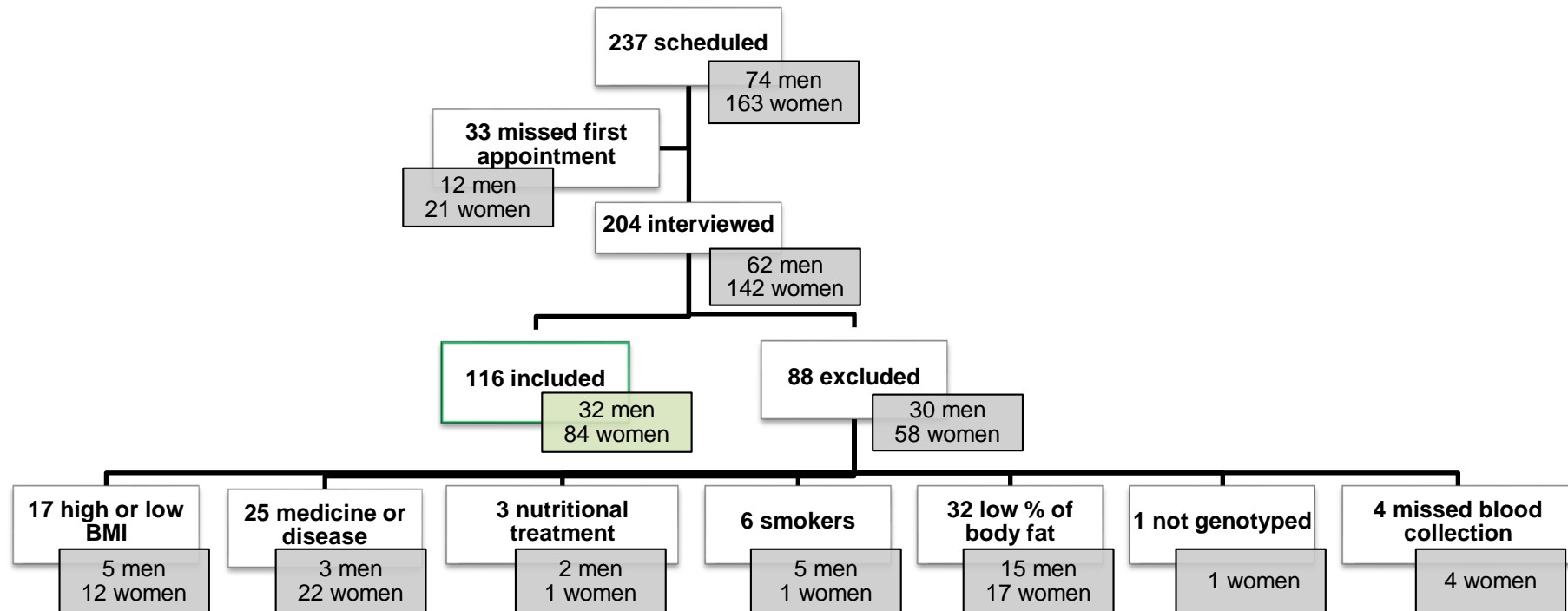
Statistical Analyses

The database has been double entered to check the consistency of the results. Distribution was verified by the Shapiro-Wilk's *W* test and all reported values are mean \pm standard deviation or median (interquartile range), according to the distribution.

The Hardy-Weinberg equilibrium was checked using the chi-square test. In order to determine whether the results of biochemical markers differed among genotypes, they were separated into wild homozygous (GG), heterozygous (GA) and variant homozygous (AA) for the SNP *PLIN1* 11482G>A. In this approach, the results were evaluated using ANOVA or Kruskal-Wallis tests. In addition, the heterozygous and variant homozygous genotypes were grouped and statistical analysis was performed using the Student *t* test or Mann-Whitney test.

Data of macronutrients consumption were adjusted to the energy intake using the residual method [19]. Consumption of macronutrients and the ratio saturated fat by carbohydrate were expressed in grams per day and classified into two groups (low and high) according to the median intake of the sample, as proposed by Smith et al. (2008) [15] and Smith et al. (2012) [20]. The interaction between the intake of macronutrients and the SNP *PLIN1* 11482 G>A was calculated using linear regression model and adjusted for potential confounders. A *p* value <0.05 was taken to indicate statistical significance.

Fig. 1 Flowchart of participants' recruitment



Results

Men represented 27.4% (n=32) of the total sample. The median age (interquartile interval) was 22.5 years (20 – 50). Anthropometry, body composition, biochemical and food consumption data are described in Table 1. There were significant differences between sexes in weight, height, BMI and WC, higher in men. On the other hand, percentage of body fat, gynoid and android fat were higher in women. The ratio between gynoid and android fat, however, was lower in women, pointing to a higher accumulation of abdominal fat in men.

The intake of energy, carbohydrate, protein and lipids was higher in men. In addition, the mean consumption of all micronutrients was inadequate when compared to the recommendation proposed by the World Health Organization [21]. Although the alcohol consumption was different between men and women, the mean intake for both was under the maximum daily limit proposed by the World Health Organization [22]. Among the biochemical markers, there was difference only in HbA_{1c} levels, higher in women.

The prevalence of changes in markers of glycemic profile are presented in Fig. 2. It is worth to note that at least one alteration in these markers was found in 38.5% of the participants.

Frequencies relative to the SNP *PLIN1* 11482G>A are described in Table 2. Genotype frequency was in agreement with Hardy-Weinberg equilibrium ($X^2= 0.252$; $p=0.615$).

Table 1 Anthropometry, body composition and biochemical markers, and food intake data for the total sample and according to sex ^a

	Male (n= 32 – 27.4%)	Female (n= 84 – 72.6%)	Total (n= 116 – 100.0%)
Body weight (kg)	71.0 ± 5.7	57.6 ± 6.1 #	59.9 (45.5 – 83.7)
Height (m)	1.8 ± 0.05	1.6 (1.5 – 1.6) #	1.6 (1.5 – 1.9)
WC (cm)	79.2 ± 4.9	71.9 ± 4.5 #	73.9 ± 5.6
BMI (kg/m ²)	23.0 (19.2 – 24.9)	21.8 (19.0 – 24.8) #	21.9 (19.0 – 24.9)
% BF	24.8 (20.4 – 38.7)	39.0 ± 5.0 #	35.9 (20.4 – 53.1)
% android BF	31.8 ± 6.0	41.2 ± 7.0 #	38.6 ± 8.0
% gynoid BF	31.8 (27.0 – 47.7)	49.8 ± 4.3 #	47.2 (27.0 – 62.7)
% A/G ratio	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1 #	0.9 ± 0.1
Fasting glucose (mg/dL)	85.9 ± 7.2	84.6 ± 8.2	85.0 ± 7.9
HbA _{1c} (%)	5.1 ± 0.6	5.4 ± 0.7 #	5.3 ± 0.7
HbA _{1c} (mmol/mol)	32.0 ± 6.7	35.3 ± 7.8 #	34.4 ± 7.6
Fasting insulin (µU/mL)	6.6 ± 2.7	7.0 (4.5 – 10.0)	6.3 (0.6 – 17.7)
HOMA-IR index	1.2 (0.4 – 3.1)	1.4 (0.9 – 2.1)	1.3 (0.1 – 3.6)
HOMA-beta index	97.0 (39.7 – 253.0)	115.2 (81.6 – 154.6)	112.9 (21.4 – 395.9)
QUICKI index	0.4 ± 0.03	0.4 (0.3 – 0.4)	0.4 (0.3 – 0.6)
Energy (kcal/day)	2284.5 (1839.8 – 2619.6)	1881.2 (1468.8 – 2170.6) #	1914.9 (1595.7 – 2413.5)
Carbohydrate (g)	282.8 (224.8 – 341.8)	230.7 (191.3 – 266.1) #	241.2 (195.0 – 296.4)
Protein (g)	103.9 ± 22.4	85.3 ± 29.3 #	90.0 ± 28.7
Protein (g/kg)	1.5 (1.2 – 1.8)	1.4 (1.1 – 1.8)	1.5 (1.1 – 1.8)
Lipids (g)	82.0 ± 25.9	65.4 (50.2 – 82.4) #	68.5 (52.6 – 85.8)
Fiber (g/day)	16.9 (11.1 – 18.9)	11.7 (8.6 – 14.6)	12.2 (9.1 – 16.5)
Alcohol intake (g/day)	7.0 ± 12.9	2.4 ± 5.2 #	0.0 (0.0 – 3.2)

^a Data are mean ± standard deviation or median (interquartile interval).

Significant difference between males and females, p<0.05; Student t test or Mann-Whitney test.

BMI = body mass index; WC = waist circumference; % BF = percentage of body fat; % android BF = percentage of android body fat; % gynoid BF = percentage of gynoid body fat; % A/G ratio = ratio between android body fat and gynoid body fat; HbA_{1c} = glycated hemoglobin; HOMA-IR index = Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance; HOMA-beta index = Homeostasis Model Assessment of Beta-Cell Function; QUICKI index = Quantitative Insulin Sensitivity Check Index.

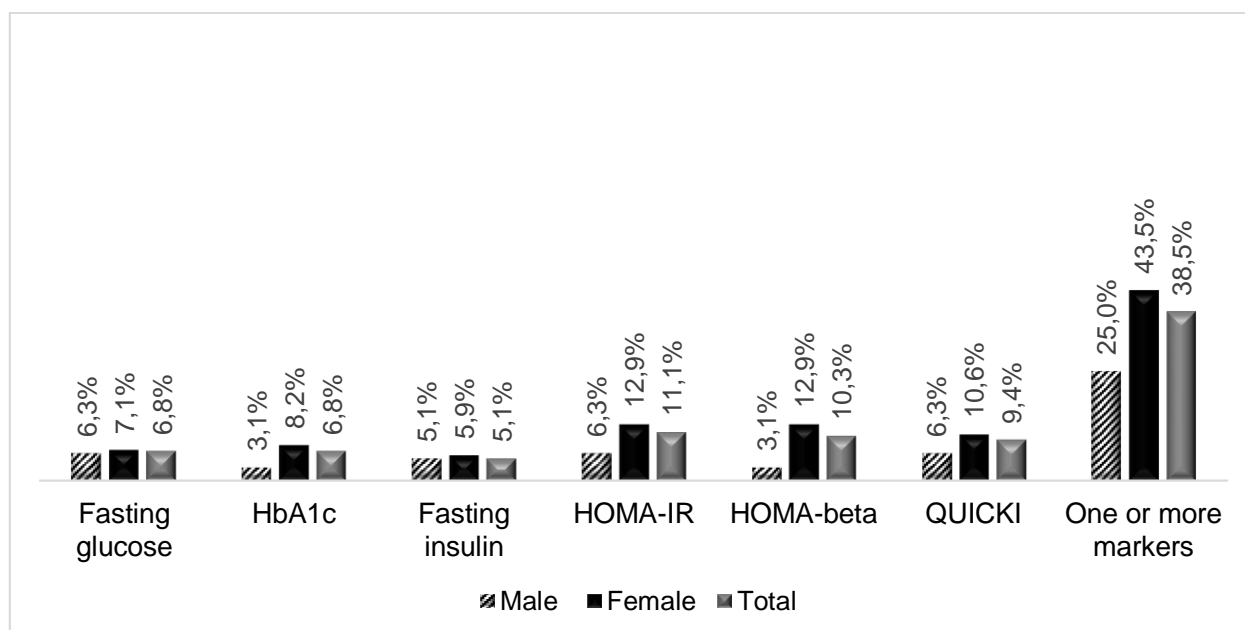


Fig. 2 Percentage of participants with alterations in markers of glycemic control.

Table 2 Distribution of wild homozygous (GG), heterozygous (GA) and variant homozygous (AA) genotypes and allele frequency of the SNP *PLIN1* 11482G>A according to sex.

	Genotypes			Allele frequency	
	GG n (%)	GA n (%)	AA n (%)	G	A
Total	65 (56.0)	45 (38.8)	6 (5.2)	0.750	0.250
Female	48 (57.1)	31 (36.9)	5 (6.0)	0.760	0.240
Male	17 (53.1)	14 (43.8)	1 (3.1)	0.750	0.250

When anthropometry, body composition or biochemical markers were evaluated according to the three possible genotypes (data not shown) and also when heterozygous and variant homozygous individuals were grouped and compared to wild homozygous, we did not verify any significant difference (data not shown). In addition, there was no difference when subjects were separated according genotype and sex (data not shown).

When the intake of total fat, protein and dietary fiber was evaluated in the total sample (n=116), significant interactions between genotype and glycemic or anthropometry markers were not verified (data not shown).

Afterwards, values of consumption of macronutrients and dietary fiber were classified into high and low, based on the median intake of the sample. Interestingly, carriers of the variant allele with higher consumption of carbohydrates (≥ 241.2 g/day) presented a lower WC compared to wild homozygous ($p < 0.05$). Interactions between genotype and WC were calculated and adjusted for possible confounders, such as sex, age, weight, BMI, percentage of body fat, gynoid fat and HbA_{1c} and remained significant ($p = 0.012$) (Table 3). When this approach was applied according to sex, men who carried the variant allele also presented lower WC ($p = 0.023$) with higher intake of carbohydrate, however, after adjusting data for age, the interaction became a trend ($p = 0.056$). In women, there were no significant results (data not shown).

When consumption of saturated fat was dichotomized into high and low, individuals carrying the variant allele with higher consumption (> 29.71 g) had higher BMI, while those with lower consumption showed lower WC (total sample and men) and lower weight (men). When the results were adjusted for the confounders, interaction with WC was no longer significant; however, the other interactions remained significant.

Finally, values of consumption of saturated fat were divided for the values of intake of carbohydrates and the ratio was dichotomized into high and low, according to the median intake of the total sample (0.6) (Table 3). When the ratio was lower, men who carried the variant allele presented lower weight compared to the wild homozygous ($p = 0.046$). After the adjustment, this interaction became a trend ($p = 0.065$). In addition, when the ratio was lower, the total sample and men carrying the variant allele presented a trend to lower values of WC and after the adjustment for confounders, this trend remained for the total sample ($p = 0.093$), but not for men separately ($p = 0.136$).

Table 3 Interactions between anthropometry markers and carbohydrate, saturated fat and saturated fat to carbohydrate ratio according to genotype of the SNP *PLIN1* 11482G>A

	Total sample				Male			
	GG	GA+AA	P value	P*	GG	GA+AA	P value	P*
CHO(g)								
Weight								
<241.2	58.9 ± 7.5	61.4 ± 9.0	0.261	0.262	72.3 ± 3.9	74.6 ± 4.1	0.394	0.394
≥241.2	63.8 ± 10.2	62.0 ± 7.1	0.420	0.420	71.7 ± 5.8	67.6 ± 5.9	0.121	0.121
WC								
<241.2	72.2 ± 4.7	73.6 ± 6.2	0.368	0.368	77.4 ± 1.8	80.4 ± 6.7	0.357	0.357
≥241.2	76.8 ± 6.6	73.8 ± 4.6	0.042	0.012^a	81.4 ± 4.5	76.7 ± 4.4	0.023	0.056^f
BMI								
<241.2	21.9 ± 1.8	22.4 ± 1.7	0.275	0.275	22.9 ± 1.8	24.0 ± 1.5	0.335	0.335
≥241.2	22.1 ± 1.6	22.0 ± 1.6	0.808	0.808	22.5 ± 1.3	22.1 ± 2.1	0.645	0.645
G SAT(g)								
Weight								
<29.7	62.4 ± 10.2	60.0 ± 6.6	0.318	0.318	73.6 ± 5.1	67.6 ± 4.9	0.029	0.040^g
≥29.7	59.6 ± 7.6	63.6 ± 8.6	0.065	0.056	69.3 ± 4.6	71.9 ± 6.9	0.413	0.413
WC								
<29.7	75.1 ± 5.8	72.3 ± 4.4	0.046	0.285 ^c	80.1 ± 3.1	75.9 ± 4.6	0.038	0.045^h
≥29.7	73.3 ± 6.1	75.2 ± 5.6	0.216	0.216	80.5 ± 5.5	79.8 ± 5.9	0.827	0.827
BMI								
<29.7	22.4 ± 1.8	21.9 ± 1.6	0.214	0.214	23.0 ± 1.3	22.1 ± 2.2	0.351	0.351
≥29.7	21.5 ± 1.5	22.5 ± 1.7	0.031	0.021^d	22.1 ± 2.0	23.3 ± 1.5	0.233	0.233
GSAT/CHO(g)								
Weight								
<0.6	61.6 ± 9.7	60.3 ± 6.8	0.555	0.556	73.5 ± 5.7	66.8 ± 3.9	0.046	0.065ⁱ
≥0.6	60.3 ± 8.3	63.4 ± 8.5	0.172	0.172	69.3 ± 4.6	71.0 ± 7.0	0.589	0.589
WC								
<0.6	74.6 ± 5.7	72.2 ± 4.5	0.084	0.093 ^e	79.5 ± 3.4	75.3 ± 4.0	0.078	0.136 ^j
≥0.6	73.6 ± 6.2	75.2 ± 5.5	0.318	0.319	80.4 ± 5.9	78.9 ± 5.8	0.612	0.612
BMI								
<0.6	22.1 ± 1.7	22.0 ± 1.5	0.784	0.784	22.9 ± 1.2	22.1 ± 2.2	0.468	0.468
≥0.6	22.3 ± 1.7	21.9 ± 1.8	0.283	0.283	22.1 ± 1.5	22.9 ± 2.1	0.388	0.388

Data are mean ± standard deviation.

P value; Student t test. P* = P interaction; Linear regression test

CHO = carbohydrate; WC = waist circumference; BMI = body mass index; GSat = saturated fat; GSAT/CHO = saturated fat to carbohydrate ratio.

a: adjusted for sex, age, weight, BMI, % of body fat, % of gynoid fat and glycated hemoglobin.

b: adjusted for age, WC, % of body fat, % of android fat and % of gynoid fat.

c: adjusted for age, BMI, weight, % of body fat and % of gynoid fat.

d: adjusted for % of body fat, % of android fat and % of gynoid fat.

e: adjusted for weight, BMI, % of body fat, % of android fat and % of gynoid fat.

f: adjusted for age.

g: adjusted for % of body fat.

h: adjusted for % of body fat and % of gynoid fat.

i: adjusted for age, weight, BMI, % of body fat and % of gynoid fat.

j: adjusted for age, % of body fat and % of android fat.

Discussion

The SNP *PLIN1* 11482G>A was related to the effects of macronutrients consumption on anthropometric markers in men with NWO. It is important to highlight that only one study analyzing Brazilian individuals with NWO was published, which, however, did not assess genetic variation in this population [23]. In addition, there is also only one study addressing the SNP *PLIN1* 11482G>A in Brazilian children [24]. Thus, this is the first study to assess the relationships of this genetic variation with food intake, body composition and glucose and insulin metabolism in individuals with NWO.

Although presenting a normal BMI, individuals with NWO are characterized as a group of risk, as they have high percentages of body fat and important risk factors for developing insulin resistance and type 2 diabetes mellitus, and frequently the real condition is not detected [23].

High percentages of body fat are associated with higher concentrations of circulating NEFA from adipose tissue, resulting in increased NEFA uptake by the skeletal muscle. When maintained long-term, this mechanism, called lipotoxicity, interferes in the intracellular insulin signaling pathway, resulting in the development of insulin resistance [25]. In our study, we verified that 38.5% of individuals with NWO show at least one disturbance in glucose profile, especially in the HOMA-IR and HOMA-beta indexes.

A reduced sensitivity to insulin and an increase in pancreatic beta cell function have been reported in individuals with NWO [23, 26]. Possibly, the high insulin secretion is a compensatory response to the low insulin sensitivity found in these individuals. However, when this condition aggravates, there is a reduction of pancreatic beta cell function, which may lead to the deterioration of insulin production [27].

Disorders in biochemical markers of glycemic control, such as HOMA-IR and HOMA-beta could indicate a risk for type 2 diabetes mellitus development in the near future [28]. This fact highlights the importance of our results and indicates the need for early identification and intervention, aiming at controlling the percentage of body fat and the biochemical markers related to the metabolic health of individuals with NWO.

Inadequate eating habits together with the prevalence of changes in glucose profile result in greater risk for individuals with NWO. In our study, the mean consumption of all macronutrients was dissonant to the recommended values for healthy eating. Carbohydrate intake was below the minimum recommended, while lipid and protein consumption were higher than the maximum [21]. Similar data of inadequate food consumption were observed in a study of 4,786 Finnish subjects, of whom 697 had NWO. Carbohydrate intake was too low and protein intake was higher compared with the recommendations [2]. Inadequate dietary habits, mainly high-fat diets, may be related to excessive accumulation of body fat in individuals with NWO [29]. However, it is important to highlight the influence of genetic variability in the phenotypic response to eating patterns.

In our study, the frequency of the variant allele of the SNP *PLIN1* 11482G>A was 24.6%, and ranged from 24.0% to 44.0% in previous publications [30, 31]. In a study of 1,589 Spanish (781 women), lower BMI, weight, waist-to-hip ratio and fasting glucose levels were observed in women who carried the variant allele (GA + AA) compared to the wild homozygous (GG) [12]. Another study of 150 Spanish individuals found out that carriers of the variant allele had lower weight and BMI [31]. In contrast, similar to our results, a study of 234 obese Brazilian children and adolescents did not associate the variant allele with changes in anthropometric or biochemical markers [24]. These studies, however, did not evaluate food consumption.

On the other hand, most studies that addressed food consumption did not consider genetic characteristics [15]. It is reasonable to assume, however, that effects of eating patterns on the responses on anthropometric markers may be different depending on the individual genotype. In our study, important interaction between the SNP *PLIN1* 11482G>A and consumption of carbohydrates and saturated fat was identified. This result suggests a protective effect of the variant allele regarding the risk of changes in anthropometric markers only when the mean intake of carbohydrates was higher and, conversely, when the intake of saturated fat was lower than the median intake of the sample. However, the results were significant only for men. Different from our study, other authors found association of the SNP *PLIN1* 11482G>A with anthropometric markers only in women [12, 15, 30, 32].

Nevertheless, our results are in agreement with those from a study of 920 obese Caribbean in which individuals who carried the variant allele and had high intake of complex carbohydrates presented lower WC and hip circumference. Those with lower intake of complex carbohydrates had higher WC [15].

Another study of 4107 individuals from Singapore with NWO, overweight or obesity, found that genetic variations in *PLIN1* are able to modulate the effects of saturated fat and carbohydrates consumption on insulin resistance, as women who carried the variant allele for the SNP *PLIN1* 1182G>A and had higher consumption of saturated fat and lower intake of carbohydrate showed higher HOMA-IR [30].

Almost all well-accepted nutritional strategies recommend the reduction of saturated fat intake because of the relationship with higher risk for cardiovascular disease [29]. Replacing any macronutrient, however, results in a proportional increase in consumption of the other [33, 34]. Thus, it must be considered that the isocaloric

replacement of saturated fat with simple carbohydrates may be responsible for an increased risk of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus [33].

Our results disagree with one study of 970 overweight North American, which identified interaction between the variant allele of the SNP *PLIN1* 11482G>A and the saturated fat to carbohydrates ratio on biochemical markers related to the development of insulin resistance [20]. Those individuals, however, had higher mean age (48.5 years) and BMI (28.3 kg/m²) than our participants. This observation suggests that metabolic alterations due to the interaction between genotype and diet may depend on the time of exposure to a particular eating habit. To our knowledge, there are no studies addressing such characteristics in individuals with NWO.

Limitations of our study include the homogeneity of anthropometry and age data, and the lack of standard cutoffs for percentage of body fat and for some biomarkers. However, it is noteworthy that this study was the first to evaluate the influence of the SNP *PLIN1* 11482G>A on body composition and metabolism of glucose and insulin in subjects with NWO.

In conclusion, although a direct association of the SNP *PLIN1* 11482G>A with biochemical parameters was not verified, this study revealed that macronutrient composition of the diet can modulate responses in anthropometry parameters in males with NWO and carriers of the variant allele. Similar to other studies of Nutrigenetics, our findings need to be cautiously generalized to other populations, as the results may be influenced by differences in racial and ethnic attitudes related to lifestyle. Certainly, studies including larger number of participants are necessary to endorse our results.

Acknowledgements We are very grateful to all the volunteers for their participation. We also thank Cintia Vilhena, CEO of the Centro de Genomas[®] Laboratory, for

donating the genotyping kits and to Monica Yamada and Alexandra Reis for the aid in the genotype interpretation.

Funding This study was funded by the researchers.

Duality of interest MAH is a consultant of Centro de Genomas[®] Laboratory. All other authors declare that there is no duality of interest associated with their contribution to this manuscript.

Contribution statement AGZ and LPF participated in data acquisition, analysis and interpretation. MAH participated in data acquisition and interpretation, provided laboratory expertise and reviewed the first version of the manuscript. CC was responsible for the study conception, participated in data acquisition, analysis and interpretation, and reviewed the whole manuscript. All authors approved the final version.

References

1. World Health Organization (1995) Physical status: the use and interpretation of anthropometry. World Health Organization, Geneva.
2. Männistö S, Harald K, Kontto J et al (2014) Dietary and lifestyle characteristics associated with normal-weight obesity: the National FINRISK 2007 Study. *Br J Nutr* 111:887–894.
3. Oliveros E, Somers VK, Sochor O, Goel K, Lopez-Jimenez F (2014) The concept of normal weight obesity. *Prog Cardiovasc Dis* 56:426–433.
4. Kruger R, Shultz SP, McNaughton SA et al (2015) Predictors and risks of body fat profiles in young New Zealand European, Māori and Pacific women: study protocol for the women's EXPLORE study. *Springerplus* 4:128.
5. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J et al (2010) Normal weight obesity: A risk factor for cardiometabolic dysregulation and cardiovascular mortality. *Eur Heart J* 31:737–746.
6. De Lorenzo A, Martinoli R, Vaia F, Di Renzo L (2006) Normal weight obese (NWO) women: An evaluation of a candidate new syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16:513–523.
7. Marques-Vidal P, Chioloro A, Paccaud F (2008) Large differences in the prevalence of normal weight obesity using various cut-offs for excess body fat. *e-SPEN Journal* 3:159–162.
8. Batsis JA, Sahakyan KR, Rodriguez-Escudero JP, Bartels SJ, Lopez-Jimenez F (2014) Normal weight obesity and functional outcomes in older adults. *Eur J Intern Med* 25:517–522.
9. Di Renzo L, Tyndall E, Gualtieri P et al (2016) Association of body composition and eating behavior in the normal weight obese syndrome. *Eat Weight Disord* 21:99-106.
10. Shea JL, King MTC, Yi Y, Gulliver W, Sun G (2012) Body fat percentage is associated with cardiometabolic dysregulation in BMI-defined normal weight subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22:741–747.
11. Brasaemle DL (2007) Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. *J Lipid Res* 48:2547–2559.
12. Qi L, Corella D, Sorlí JV et al (2004) Genetic variation at the perilipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in White women. *Clin Genet* 66:299–310.
13. Nishiu J, Tanaka T, Nakamura Y (1998) Isolation and chromosomal mapping of the human homolog of perilipin (PLIN), a rat adipose tissue-specific gene, by differential display method. *Genomics* 48:254–257.
14. Mottagui-Tabar S, Rydén M, Lofgren P et al (2003) Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. *Diabetologia* 46:789–797.
15. Smith CE, Tucker KL, Yiannakouris N et al (2008) Perilipin polymorphism interacts with dietary carbohydrates to modulate anthropometric traits in hispanics of Caribbean origin. *J Nutr* 138:1852–1858.
16. Ruiz JR, Larrarte E, Margareto J, Ares R, Labayen I (2011) Role of β_2 -adrenergic receptor polymorphisms on body weight and body composition response to energy restriction in obese women: preliminary results. *Obesity (Silver Spring)* 19:212–215.
17. Tucker KL, Smith CE, Lai C-Q, Ordovas JM (2013) Quantifying diet for

- nutrigenomic studies. *Annu Rev Nutr* 33:349–371.
18. American Diabetes Association (2016) Standards of Medical Care in Diabetes – 2016. *Diabetes Care* 39(Suppl):S1–S112.
 19. Willett WC, Howe GR, Kushi LH (1997) Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 65:1220S-1228S.
 20. Smith CE, Arnett DK, Corella D et al (2012) Perilipin polymorphism interacts with saturated fat and carbohydrates to modulate insulin resistance. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22:449–455.
 21. World Health Organization (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization, Geneva.
 22. World Health Organization (2000). International guide for monitoring alcohol consumption and related harm. World Health Organization, Geneva.
 23. Madeira FB, Silva AA, Veloso HF et al (2013) Normal Weight Obesity Is Associated with Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Young Adults from a Middle-Income Country. *PLoS One* 8:1–9.
 24. Deram S, Nicolau CY, Perez-Martinez P et al (2008) Effects of perilipin (PLIN) gene variation on metabolic syndrome risk and weight loss in obese children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4933–4940.
 25. Guilherme A, Virbasius J V., Puri V, Czech MP (2008) Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9:367–377.
 26. Kosmala W, Jedrzejuk D, Derzhko R, Przewlocka-Kosmala M, Mysiak A, Bednarek-Tupikowska G (2012) Left ventricular function impairment in patients with normal-weight obesity: Contribution of abdominal fat deposition, profibrotic state, reduced insulin sensitivity, and proinflammatory activation. *Circ Cardiovasc Imaging* 5:349–356.
 27. Rhee SY, Chon S, Oh S et al (2007) Insulin secretion and insulin resistance in newly diagnosed, drug naive prediabetes and type 2 diabetes patients with/without metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 76:397–403.
 28. Silva AAM, Santos CJN, Amigo H et al (2012) Birth weight, current body mass index, and insulin sensitivity and secretion in young adults in two Latin American populations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22:533–539.
 29. Mansoor N, Vinknes KJ, Veierød MB, Retterstøl K (2016) Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* 115:1–14.
 30. Corella D, Qi L, Tai ES et al (2006) Perilipin gene variation determines higher susceptibility to insulin resistance in Asian women when consuming a high-saturated fat, low-carbohydrate diet. *Diabetes Care* 29:1313–1319.
 31. Corella D, Qi L, Sorlí JV et al (2005) Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 90:5121–5126.
 32. Qi L, Shen H, Larson I et al (2004) Gender-specific association of a perilipin gene haplotype with obesity risk in a white population. *Obes Res* 12:1758–1765.
 33. Zelman K (2011) The great fat debate: a closer look at the controversy-questioning the validity of age-old dietary guidance. *J Am Diet Assoc* 111:655–658.
 34. Siri-Tarino PW, Chiu S, Bergeron N, Krauss RM (2015) Saturated Fats Versus Polyunsaturated Fats Versus Carbohydrates for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment. *Annu Rev Nutr* 35:517–543.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo foi identificada uma importante relação entre o polimorfismo *PLIN1* 11482G>A e a resposta da ingestão de carboidratos e gordura saturada na qual os efeitos genéticos sobre marcadores antropométricos foram dependentes da ingestão desses nutrientes em homens com a SOE. Tendo em vista a alta frequência do alelo variante nessa população e as importantes modulações que esse polimorfismo causa na resposta a ingestão de macronutrientes, enfatiza-se a importância da incorporação de informações genéticas na prática clínica.

Indivíduos com a SOE são caracterizados como um grupo de e, muitas vezes, não são diagnosticados quanto a sua real condição. Dessa forma medidas de identificação e intervenção precoces são fundamentais para conscientização e diminuição dos riscos aos quais estão submetidos.

É importante destacar que este é o primeiro estudo que avaliou as relações do polimorfismo 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* com consumo alimentar, composição corporal e metabolismo de glicose e insulina em indivíduos com SOE. Além disso é o segundo estudo realizado no Brasil com indivíduos com SOE e o segundo que avalia o polimorfismo da 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* nessa população.

Em conclusão, apesar de não ter sido verificada associação direta do SNP com os parâmetros bioquímicos, esse estudo revelou que a composição de macronutrientes da alimentação pode modular respostas nos marcadores antropométricos em indivíduos do sexo masculino diagnosticados com SOE e carreadores do alelo variante em relação ao polimorfismo *PLIN1* 11482G>A.

Dentre as limitações desse estudo pode-se destacar a homogeneidade antropométrica e de idade da amostra e as dificuldades em se estabelecer pontos de corte para percentual de gordura corporal alterado e para alguns biomarcadores. Dessa forma, estudos que avaliem o polimorfismo 11482G>A (rs894160) no gene *PLIN1* em populações com SOE, eutróficos e com sobrepeso/obesidade podem ajudar a minimizar as controvérsias existentes na literatura quanto a influência que esse polimorfismo exerce em marcadores antropométricos ou bioquímicos.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Folder utilizado para recrutamento de voluntários para participar da pesquisa

Você é um falso magro?



O falso magro parece estar saudável e com peso ideal, mas possui o percentual de gordura aumentado e, por isso, pode ter maior risco de desenvolver doenças!

Quer medir seu percentual de gordura?

E fazer um teste genético?

Venha participar do nosso estudo!

Você precisa ter entre 20 e 59 anos, ter o IMC adequado (18,5-24,99 kg/m²)* e estar aparentemente saudável.

*Não sabe seu IMC? Nós calculamos para você! Entre em contato.



Ficou interessado? Entre em contato conosco:
(62)8141-8888 / (62)8161-8358
lana_pacheco@hotmail.com
amandazardini.nutri@gmail.com



APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, da pesquisa “Polimorfismo no gene que codifica a perilipina e suas relações com composição corporal e glicemia em indivíduos com Síndrome do Obeso Eutrófico”. Meu nome é Amanda Gonçalves Zardini Silveira, sou nutricionista, mestranda em Nutrição e Saúde (FANUT/UFG) e responsável por este estudo. Abaixo estão algumas informações importantes que você precisa saber sobre a pesquisa. Caso concorde em participar, assine na última página e rubriche em todas as demais páginas das duas vias deste documento (você receberá uma e a outra ficará comigo).

Em caso de dúvidas sobre esta pesquisa você poderá consultar os pesquisadores responsáveis: Amanda Gonçalves Zardini Silveira – Telefone: (62) 8161-8358 / Email: amandazardini.nutri@gmail.com e professora Cristiane Cominetti – Telefone: (62) 9216-7346. / Email: ccominetti@ufg.br. Estas ligações poderão ser feitas a cobrar. Em caso de dúvidas acerca dos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. Telefone: (62)3269-8338 ou 2169-8426. E-mail: cephcufig@yahoo.com.br

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

O excesso de gordura corporal é responsável pelo desenvolvimento de muitas doenças como diabetes, pressão alta e doenças do coração. Por isso, esta pesquisa pretende avaliar algumas características de saúde que podem estar relacionadas a essas doenças, como: polimorfismos genéticos, composição corporal (peso, altura, IMC, porcentagem de gordura corporal), alimentação, hábitos de vida e exame de sangue.

Esta pesquisa será importante para ampliar o conhecimento sobre os polimorfismos envolvidos com o excesso de gordura corporal assim como a sua associação com a quantidade de açúcar no sangue (glicemia), podendo atuar de maneira mais específica na redução do risco de doenças e na melhor qualidade de vida da população.

PROCEDIMENTOS NECESSÁRIOS

A coleta de dados para a pesquisa será realizada em três etapas, todas na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás. A primeira delas será uma consulta, de aproximadamente 1 hora, na qual você será informado quanto a todos os procedimentos necessários para a pesquisa e demais questionamentos que você tiver. Ainda na primeira consulta, serão realizados os seguintes procedimentos:

- a) Aplicação de questionário para coleta de dados socioeconômicos (dados pessoais, estado civil, escolaridade, renda, etc.) e de estilo de vida (alimentação, atividade física, histórico médico, etc.);
- b) Recordatório alimentar: você receberá um caderno para anotar tudo o que consumir durante três dias, para que sua alimentação possa ser avaliada. A partir deste formulário será possível avaliar a quantidade de calorias, açúcar, gordura, proteína, vitaminas e minerais que você ingere. Você receberá instruções de como preenchê-lo e poderá tirar suas dúvidas a qualquer momento;
- c) Avaliação da composição corporal: seus dados serão aferidos e avaliados para que possam ser relacionados ao seu estado de saúde. Serão aferidas as seguintes medidas:
 - **Peso**: para a aferição do peso você deverá estar descalço e ficar ereto por alguns segundos em cima de uma balança;
 - **Altura**: sua altura será aferida utilizando-se um estadiômetro com haste móvel, que é um aparelho próprio para isto. Você deverá permanecer descalço, em pé, ereto, encostado no aparelho e olhando para frente por alguns segundos;
 - **Circunferência da cintura**: a circunferência da sua cintura será medida utilizando-se uma fita métrica inelástica. Você precisará levantar a blusa e permanecer em pé e ereto por alguns segundos;

- **Estimativa do percentual de gordura corporal:** seu percentual de gordura corporal será estimado utilizando-se um aparelho de Absorciometria Radiológica de Dupla Energia. Você deverá deitar no aparelho, utilizando roupas leves e sem acessórios e permanecer imóvel por alguns minutos;
- d) **Aferição de pressão arterial:** sua pressão arterial será medida utilizando-se um aparelho semiautomático. Você deverá permanecer sentado, com o braço posicionado na altura do coração. O aparelho será posicionado ao redor do seu braço. A medida será repetida três vezes, com intervalo de cinco minutos entre cada repetição.

Caso você apresente os critérios necessários para participar da pesquisa e não haja nenhum outro impedimento, você passará para a próxima etapa, que será a coleta de sangue. Esta coleta será agendada pela manhã, em um dia conveniente para você. Para esta coleta, você deverá ficar em jejum por 8-12 horas. Serão coletados 10 mL do seu sangue para avaliação do perfil glicêmico. Além disso, será verificada a presença de um polimorfismo no gene da perilipina (uma alteração no gene), o qual pode estar relacionado ao acúmulo excessivo de gordura corporal.

A terceira etapa da coleta de dados será uma nova consulta para que você receba os resultados dos seus exames e avaliações, bem como as orientações necessárias.

DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS

Os riscos aos quais você está exposto são pequenos. Pode ocorrer formação de pequena mancha no local da inserção da agulha para coleta de sangue, assim como desconforto ou mal estar durante este procedimento. Para evitar isso, a coleta será feita por profissional especializado e você receberá um lanche logo após.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS, RECUSA E SIGILO

Você estará livre para recusar-se a participar da pesquisa em qualquer momento. Você também poderá tirar dúvidas sobre qualquer procedimento quantas vezes precisar, com os pesquisadores ou com o Conselho de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFG(CEP/HC-UFG).

Você não será identificado em nenhum momento da divulgação dos resultados deste estudo, nem sofrerá qualquer tipo de constrangimento.

Fica ao seu critério receber ou não todos os resultados de suas avaliações e exames (composição corporal, exame de sangue, perfil genético e perfil nutricional). Caso opte por receber, você será orientado quanto às recomendações necessárias para manutenção da saúde.

RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO

Você não terá nenhum gasto para participar desta pesquisa e, em caso de danos comprovadamente relacionados à pesquisa, você terá direito à indenização. Caso ocorra qualquer problema relacionado à pesquisa, você receberá a devida assistência.

DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS DA PESQUISA

Os resultados desta pesquisa serão divulgados, sejam eles favoráveis ou não, por meio de publicação de artigos em revistas científicas, apresentações em congressos da área e divulgação da dissertação de mestrado no site da FANUT/UFG.

Os resultados das suas avaliações estarão à sua disposição, caso deseje recebê-los. Em hipótese alguma eles serão divulgados sem a sua autorização.

- Você deseja receber os resultados da sua avaliação antropométrica, exame de sangue e quanto à presença ou ausência do polimorfismo avaliado?

Sim Não

Parcialmente. Citar os resultados que deseja receber:

POSSÍVEIS BENEFÍCIOS AO PARTICIPAR DA PESQUISA

Participando desta pesquisa, você poderá receber o resultado da avaliação antropométrica e alimentar, do exame de sangue e da identificação do polimorfismo genético. Desta forma, você saberá se possui algum fator de risco relacionado às doenças do coração e as devidas medidas preventivas ou de tratamento poderão ser tomadas.

ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

Ao assinar este documento, você estará autorizando o armazenamento de uma amostra do seu sangue juntamente com todos os seus dados para futuras pesquisas, ciente de que novas pesquisas serão realizadas somente após nova aprovação do Comitê de Ética. Seus dados são confidenciais e não serão divulgados sem autorização prévia.

Para isto, você precisa responder a autorização abaixo:

• Autorizo o armazenamento e a utilização do material biológico (amostra de sangue) para outras pesquisas, desde que eu seja previamente consultado.

Sim Não

• Quero saber os resultados das futuras pesquisas.

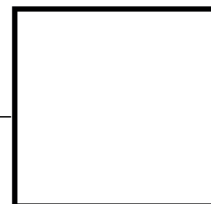
Sim Não

***Todas as páginas deste documento deverão ser rubricadas pelo pesquisador responsável e pelo voluntário, devendo ambos assinar a última página.**

CONSENTIMENTO EM PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO

Eu, _____,
 (RG: _____ / _____; CPF: _____), após a leitura deste documento e esclarecimento de minhas dúvidas, declaro que concordo em participar desta pesquisa. Para isso, fui informado (a) sobre os objetivos e todos os procedimentos necessários, bem como os riscos aos quais estou exposto. Recebi todas as informações de forma clara e detalhada e não tenho nenhuma dúvida. Ficou claro para mim que minha participação nesta pesquisa é voluntária e que posso me recusar a participar em qualquer momento. Sei, também, da garantia de confidencialidade e de esclarecimentos sempre que precisar. Uma cópia deste documento me foi fornecida.

 ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO



Assinatura Dactiloscópica

Goiânia, ____ de _____ de _____.

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ CPF: _____

Assinatura: _____

Nome: _____ CPF: _____

Assinatura: _____

 ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

APÊNDICE C – Questionário padronizado

QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E DE ESTILO DE VIDA (PREENCHER À LAPIS)		
	NÚMERO DO QUESTIONÁRIO	
	ENTREVISTADOR: (1) AMANDA (2) CARLA (3) LANA (4) ROCHELLE	ENTREV
IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE		
1	Nome:	
2	Endereço:	
3	Telefones para contato: ()	
4	Data do atendimento: ____/____/____	DATA
5	Sexo: (1) Masculino (2) Feminino	SEXO
6	Qual a cor da sua pele? (1) Branco (2) Pardo (3) Negro (4) Japonês / Chinês (9) Sem informação	CORPELE
7	Qual é a data do seu nascimento? ____/____/____	DN
8	Qual é a sua idade? _____ anos completos	IDADE
9	Você mora no município de Goiânia ou na grande Goiânia? (0) Sim (1) Não (9) Sem informação Se não, em qual município:	MUN
10	Qual é o seu estado civil? (1) Solteiro (2) Casado ou união consensual (3) Viúvo (4) Desquitado ou separado (9) Sem informação	ESTCIVIL
11	Qual a sua profissão? _____	PROF
12	Quantas pessoas moram na sua casa? _____	NUCLEOFAM
13	Quem é o responsável por seu domicílio? _____	RESP
14	Qual o tipo de seu domicílio? (1) Apartamento (2) Casa (3) Barracão (9) Sem informação	TIPODOM
15	Este domicílio é: (1) Próprio (2) Alugado (3) Emprestado (9) Sem informação	SITUADOM
16	A água utilizada neste domicílio é proveniente de: (1) Rede de distribuição (saneago) (2) Poço artesanal (9) Sem informação	AGUA
17	Neste domicílio há rede coletora de esgoto? (1) Sim (2) Não (9) Sem informação	ESGOTO
18	Qual a renda total familiar? R\$ _____ (99,999) Sem informação	RENDAF
19	Qual a sua renda per capita? R\$ _____ (99,999) Sem informação	RENDAPC
20	Qual o seu nível de escolaridade? Até (série/grau completo) _____ (99) Sem informação	ESCOL
CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO		
21	Você já recebeu diagnóstico de doença do coração? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	DCV
22	Você utiliza algum medicamento para controle do colesterol? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação Qual? _____	HIPOL
	Você utiliza algum medicamento para controle da glicemia? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação Qual? _____	HIPOGLIC
23	Você utiliza suplementos de vitaminas e minerais? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação Qual? _____	SUP
24	Você utiliza algum tipo de medicamento ou suplemento? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação Qual? _____	MED

25	Você está realizando acompanhamento com nutricionista? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	NUT
26	Você já realizou acompanhamento com nutricionista? Se sim, em qual período? Exclusão: 6 meses? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação Período (data):	NUT2
27	Você está ou já passou pelo período da menopausa? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	MENOP
28	Você realiza algum tipo de reposição hormonal? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	REPHORM
29	Você está com algum tipo de infecção, inflamação, diarreia, febre ou alguma condição aguda? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	DAGUDA
30	Você apresenta diabetes, hipertensão, câncer ou artrite reumatoide? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	DCNT
31	Você apresenta alguma outra doença ou condição de saúde? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação Qual? _____	DOENÇA
32	Você é fumante? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	FUMO
33	Você pratica atividade física intensa? (0) Não (1) Sim (9) Sem informação	ATFIS
ANTECEDENTES FAMILIARES		
Na sua família existe caso de? (Ler as opções) – Parente de 1º grau (pais)		
34	Câncer? (0) Não (1) Sim (9) Ignorado	CA
35	Colesterol alto e/ou triglicérides alto? (0) Não (1) Sim (9) Ignorado	DISLIP
36	Obesidade? (0) Não (1) Sim (9) Ignorado	OBES
37	Pressão alta? (0) Não (1) Sim (9) Ignorado	HAS
38	Doença do coração? (0) Não (1) Sim (9) Ignorado	DCV
39	Diabetes? (0) Não (1) Sim (9) Ignorado	DIAB
ESTILO DE VIDA		
FAZER A PRIMEIRA AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL		
As próximas perguntas são sobre as atividades físicas que o(a) Sr.(a) faz. Atividade física é qualquer movimento realizado, que aumente sua respiração, batimentos do coração ou te faça suar. Isso inclui as atividades no trabalho, por lazer, por esporte, para ir de um lugar a outro ou nas tarefas domésticas. Para responder as perguntas, pense em todas as atividades que o(a) Sr.(a) faz por pelo menos 10 minutos seguidos, sem parar, em uma semana comum .		
40	Em quantos dias de uma semana comum o(a) sr.(a) caminha por pelo menos 10 minutos seguidos em casa, no trabalho, como forma de transporte de um lugar para outro, por lazer ou como forma de exercício? _____ dias na semana (9) Não soube responder	DESLOC
41	Nos dias em que o(a) sr.(a) caminha por pelo menos 10 minutos seguidos, quanto tempo no total o(a) sr.(a) gasta caminhando? ____:____ Horas e minutos (9) Não soube responder	DESLOCT
Para responder as próximas perguntas, pense que: · ATIVIDADES MODERADAS são aquelas que precisam de ALGUM esforço físico, fazem o(a) Sr.(a) respirar UM POUCO mais forte do que o normal e o coração bater UM POUCO mais rápido. · ATIVIDADES INTENSAS são aquelas que precisam de um GRANDE esforço físico, fazem o(a) Sr.(a) respirar MUITO mais forte do que o normal e o coração bater MUITO mais rápido.		
42	Você pratica atividade física? Se sim, quantas vezes por semana? _____ vezes por semana Não () Tipo e intensidade da atividade: _____	AF
43	Pratica atividade física intensa - que deixa você MUITO cansado(a), com a respiração MUITO mais forte ou o coração batendo MUITO mais rápido? (correr, futebol, pedalar pesado, carregar grandes pesos, trabalho pesado em casa) Qual? _____ Não () Por quanto tempo? _____ Quantas vezes por semana? _____	AFINT

DADOS ANTROPOMÉTRICOS E PRESSÃO ARTERIAL FAZER A TERCEIRA AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL						
51	Pressão sistólica 01 _____					PAS1
52	Pressão diastólica 01 _____					PAD1
53	Pulso 01 _____					PULSO1
54	Pressão sistólica 02 _____					PAS2
55	Pressão diastólica 02 _____					PAD2
56	Pulso 02 _____					PULSO2
57	Pressão sistólica 03 _____					PAS3
58	Pressão diastólica 03 _____					PAD3
59	Pulso 03 _____					PULSO3
60	Pressão sistólica MÉDIA _____					PASM
61	Pressão diastólica MÉDIA _____					PADM
62	Pulso MÉDIA _____					PULSOM
63	Qual o seu peso habitual? _____					PHAB
65	Peso: _____					PESO
66	Estatura: _____					EST
67	IMC: _____					IMC
68	Circunferência Cintura _____					CC
PERCENTUAL DE GORDURA CORPORAL						
		Medida 1	Medida 2	Medida 3	MÉDIA	
69	DC tricipital					DCT
70	DC subescapular					DCSE
71	DC peitoral					DCP
72	DC axilar média					DCAX
73	DC supraílica					DCSI
74	DC abdominal					DCAB
75	DC coxa					DCCX
	Percentual de gordura (DC): _____					%G
Critério Inclusão ("na média" - segundo Pollock e Wilmore, 1993)						
	Idade (anos)	Homens	Mulheres	Idade (anos)	Homens	Mulheres
	18-25	14	23	46-55	24	29
	26-35	18	24	56-59	24	30
	36-45	21	27	-	-	-
69	Percentual de gordura (DXA) _____					%GDXA
EXAMES BIOQUÍMICOS						
	EXAME	RESULTADO	REFERÊNCIA	DATA EXAME		
	Colesterol total				CT	
	HDL				HDL	
	LDL				LDL	
	VLDL				VLDL	
	Triglicérides				TG	
	LDL oxidada				LDLOX	
	ApoA1				APOA1	
	ApoB				APOB	
70	Glicemia de Jejum				GJ	
71	Insulinemia				INSUL	
72	HemoglobinaGlicada				HBA1C	
73	HOMA IR					
74	HOMA Beta					
TESTE GENÉTICO						
	Polimorfismoavaliado				Genótipo	
	APOE (rs429358 + rs7412)					APOE
	LDLR (rs688)					LDLR
75	PLIN (rs894160)					PLIN

Apêndice D – Modelo de resultado dos exames bioquímicos entregue ao paciente



Prezado **NOME DO PACIENTE**,

No primeiro semestre de 2015 você participou da coleta de dados para a pesquisa "Falso Magro". Desde já agradecemos por sua valiosa participação, você foi essencial para o sucesso do trabalho!!!

Os resultados da sua avaliação antropométrica, de composição corporal e dos seus exames bioquímicos estão logo abaixo. Realizamos, também, algumas orientações sobre estes resultados. Os testes genéticos ainda não foram realizados e, portanto, os resultados serão entregues posteriormente. Caso tenha alguma dúvida, estamos à disposição!

RESUMO DOS RESULTADOS:

PARABENS! Seu perfil lipídico e glicêmico está adequado. Mas o seu percentual de gordura está elevado e futuramente pode aumentar o risco de doenças crônicas como doenças do coração, obesidade e diabetes. Veja seus resultados nas tabelas abaixo e siga as orientações propostas para a manutenção da sua saúde!

Ou

Observamos alterações no seu perfil lipídico e/ou glicêmico. Além disso, o seu percentual de gordura está elevado e pode aumentar o risco de doenças crônicas como doenças do coração, obesidade e diabetes. Veja seus resultados nas tabelas abaixo e leia atentamente as orientações propostas!

O NUTRICIONISTA É O PROFISSIONAL CAPACITADO PARA CUIDAR DA SUA ALIMENTAÇÃO, PROCURE ATENDIMENTO REGULARMENTE!

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA, DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E DA PRESSÃO ARTERIAL

	Resultado	Valor de Referência
Peso (kg)		-
Estatura (m)		-
IMC (kg/m ²) ¹		18,5 – 24,99
Circunferência da cintura (cm) ²		< 94
% gordura por dobras cutâneas ³		<
% de gordura por DEXA ⁴		< 20%
Pressão arterial sistólica (mmHg) ⁵		< 130
Pressão arterial diastólica (mmHg) ⁵		< 85

¹OMS, 1995; ²SBC, 2013; ³POLLOCK; WILMORE, 1993; ⁴OLIVEROS et al., 2014; ⁵SBC; SBH; SBN, 2010.

ORIENTAÇÕES PARA ALIMENTAÇÃO ADEQUADA E SAUDEL

- ❖ Prefira alimentos *in natura*;
- ❖ Evite alimentos industrializados pois são ricos em sal, gordura e/ou açúcares (Ex. biscoitos recheados, salgadinhos de pacote, refrigerantes, macarrão instantâneo, nuggets, pizzas congeladas, salsichas, conservas, sorvetes, suco de saquinho ou caixinha, etc.);
- ❖ Utilize óleos, gorduras, sal e açúcar em pequenas quantidades;
- ❖ Não troque a “comida feita na hora” por produtos prontos (“sopas de pacote”, “macarrão instantâneo”, pratos industrializados congelados, sanduíches, frios e embutidos, maioneses e molhos industrializados, etc.);
- ❖ Frutais e hortaliças são alimentos muito saudáveis. São excelentes fontes de várias vitaminas e minerais. Consuma-os diariamente e de forma variada;
- ❖ As nozes e castanhas são ricas em minerais, vitaminas, fibras e gorduras saudáveis. Inclua-as em sua alimentação em pequenas porções diárias (ex: 2 castanhas do Pará ou 2 nozes ou 8 amêndoas ou 3 castanhas de caju);
- ❖ Prefira alimentos integrais e evite os refinados;
- ❖ Prefira carnes magras e evite as ricas em gordura; sempre retire a gordura visível das carnes;
- ❖ Prefira leite e derivados desnatados ou zero gordura;
- ❖ Prefira alimentos cozidos ou grelhados e evite os fritos;
- ❖ Evite fast foods, como hambúrgueres, sanduíches gordurosos, batatas fritas, etc.;
- ❖ Não esqueça de beber água durante o dia;
- ❖ Evite “beliscar” entre as refeições e coma sempre devagar, em horários regulares, em lugares adequados e, se possível, com companhia.

**RECOMENDAMOS QUE PROCURE UM EDUCADOR FÍSICO PARA TE AUXILIAR
NA PRÁTICA DE EXERCÍCIOS E MELHORAR A SUA COMPOSIÇÃO CORPORAL!**

PERFIL LIPÍDICO
(gorduras no sangue)

	Resultado	Valor de Referência
Colesterol total (mg/dL) ¹		< 200
HDL (mg/dL) ¹		≥ 40
LDL (mg/dL) ¹		< 130
VLDL (mg/dL) ¹		< 30
Triacilgliceróis (mg/dL) ¹		< 150
Colesterol não HDL (mg/dL) ¹		< 160
Índice de Castelli I ¹		< 5,1
Índice de Castelli II ¹		< 3,3
ApoA1 (mg/dL) ¹		≥ 120
ApoB (mg/dL) ³		< 104
Razão ApoB/ApoA1 ⁴		< 0,70

¹SBC, 2013; ²CASTELLI et al., 1983; ³CONNELLY et al., 1999; ⁴WALLDIUS et al., 2001; YUSUF et al., 2004 IN: LIMA; CARVALHO; SOUZA, 2007

ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS PARA MELHORAR O PERFIL LIPÍDICO

As gorduras no sangue aumentam quando há exagero no consumo de colesterol, de carboidratos (açúcares), de gorduras saturadas, de gorduras trans e de calorias (energia). Por isso a escolha certa destes itens poderá ajudar a manter um perfil lipídico adequado. Para isso, seguem algumas orientações:

- ❖ Prefira sempre os cereais integrais e evite os refinados e ricos em açúcar (pão branco, arroz branco, massas brancas, biscoitos e cereais açucarados, doces em geral);
- ❖ Consuma frutas e verduras todos os dias;
- ❖ Prefira carnes magras (peixe, peito de frango sem pele, patinho, lagarto, músculo, maminha) e evite as gordurosas (frango com a pele, carnes com gorduras aparentes ou ricas em gorduras – picanha, cupim, salame, salsicha, costela, vísceras, torresmo);
- ❖ Se possível, consuma peixes pelo menos duas vezes por semana;
- ❖ Prefira leite e derivados desnatados ou zero gordura e evite os leite e iogurtes integrais e os queijos amarelos;
- ❖ Prefira óleos vegetais e evite gorduras de origem animal, como a banha de porco;
- ❖ Evite utilizar o óleo de coco, pois é rico em gordura saturada, que eleva o colesterol;
- ❖ Utilize óleos com moderação (1 L é suficiente para 4 pessoas durante o mês);
- ❖ Prefira alimentos cozidos, assados ou grelhados e evite os fritos e refogados;

**RECOMENDAMOS QUE CONSULTE O SEU MÉDICO PARA
ACOMPANHAMENTO DOS EXAMES QUE ESTÃO ALTERADOS!**

PERFIL GLICÍDICO
(açúcares no sangue)

	Resultado	Valores de Referência
Glicemia de jejum (mg/dL) ¹		<100 mg/dL
Insulina de jejum (uU/mL)		Entre 2,6 a 24,9mU/L
HbA1C (%) ¹		< 6,5%
HOMA IR ³		< 2,71
HOMA Beta ⁴		167- 175
Índice Quicki ⁵		≥ 0,357

¹SBD 2013- 2014; ²GELONEZE et al, 2009; ³WALLACE; MATTHEWS, 2002; ⁴HREBICEK et al., 2002

ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS PARA MELHORAR O PERFIL GLICÍDICO

- ❖ Estabeleça horários para as refeições distribuindo-as em 5 a 6 ao dia;
- ❖ Prefira alimentos ricos em fibras: verduras, frutas com casca ou bagaço, legumes, leguminosas (feijões), cereais integrais (arroz, pão e farinhas);
- ❖ Evite os alimentos ricos em açúcares como doces, refrigerantes, sorvetes, bolachas, chocolates, balas e outras guloseimas;
- ❖ Evite fumo e as bebidas alcoólicas.
- ❖ Não esqueça de beber água durante o dia.

**RECOMENDAMOS QUE CONSULTE O SEU MÉDICO PARA
ACOMPANHAMENTO DOS EXAMES QUE ESTÃO ALTERADOS!**

ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: POLIMORFISMO NO GENE QUE CODIFICA A PERILIPINA E SUAS RELAÇÕES COM COMPOSIÇÃO CORPORAL E GLICEMIA EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME DO OBESO EUTRÓFICO

Pesquisador: Amanda Gonçalves Zardini Silveira

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 2

CAAE: 34814514.7.0000.5078

Instituição Proponente: Faculdade de Nutrição

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 834.649

Data da Relatoria: 30/09/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo observacional, analítico, do tipo transversal, que será realizado na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás (FANUT/UFG). Indivíduos da comunidade UFG constituirão a população de estudo. Partindo da população em questão, a amostra do estudo será constituída por conveniência, incluindo todos os pacientes entre 19 a 50 anos que concordarem em participar do estudo. Na abordagem, serão realizadas consultas, sendo a primeira delas de caráter informativo acerca da pesquisa. Caso o indivíduo apresente interesse em participar do estudo, serão aplicados questionários socioeconômico e demográfico, de estilo de vida, avaliação antropométrica, clínica e bioquímica, bem como orientação acerca da avaliação do consumo alimentar. O paciente será incluído no estudo somente após realização de avaliação antropométrica e verificação da presença de IMC e percentual de gordura estabelecidos como critérios de inclusão. Após a triagem inicial, serão agendadas datas para a realização dos exames bioquímicos. Ao final das análises, os pacientes serão convidados a retornar para receber todos os seus resultados, bem como as orientações necessárias e individualizadas. Para avaliação dos dados demográficos serão aplicados

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIÂNIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8428 E-mail: cephoufg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Protocolo: 024.049

questionários com relação aos seguintes dados: idade, gênero, escolaridade, renda familiar, renda per capita. Na avaliação antropométrica, as variáveis avaliadas serão: peso atual (kg); estatura (m); composição corporal (percentual de massa gorda e de massa magra). Além disso, será avaliada a pressão arterial. A Organização Mundial de Saúde define a obesidade como o acúmulo excessivo de tecido adiposo de forma que a saúde possa ser prejudicada

(WHO, 1998). É uma condição clínica crônica e epidêmica que vem apresentando aumento rápido de prevalência nas últimas décadas, tanto em países desenvolvidos, quanto nos emergentes, sendo considerada uma epidemia global do século XXI (OLIVEIRA et al., 2004). Estudos mostram associação positiva entre valores elevados de Índice de Massa Corporal (IMC) e mortalidade. Entretanto, este índice não diferencia massa corporal magra da gordura e, por isso, apresenta acurácia limitada no diagnóstico de indivíduos com excesso de gordura corporal e peso eutrófico (ROMERO -CORRAL et al., 2010; PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004). 2014).

Pesquisas nesta área vêm demonstrando que polimorfismos no gene que codifica a perilipina (PLIN) podem estar relacionados ao acúmulo excessivo de gordura corporal (Qi et al., 2004; BRASAEMLE, 2000; BRASAEMLE, 2007). Este trabalho justifica-se em face da necessidade de um melhor entendimento da Síndrome do Obeso Eutrófico, com vistas a diminuição dos riscos a que estes indivíduos estão expostos, além da melhor compreensão da interrelação entre composição corporal, metabolismo da glicose e aspectos genéticos relacionados a PLIN. Desta forma, no futuro, tais informações poderão auxiliar no direcionamento de intervenções nutricionais individualizadas.

A partir disso, em determinado momento tal direcionamento individualizado poderá também refletir em benefícios no âmbito da Saúde Pública.

O consumo alimentar será avaliado por meio de registro alimentar de três dias não consecutivos, incluindo um dia do fim de semana (BASIoTIS et al., 1987). Os registros serão conferidos por nutricionista capacitado na ocasião do recebimento e avaliados com o auxílio de software apropriado. Será avaliada a adequação do consumo de energia, macronutrientes, colesterol, fibra total, vitaminas e minerais, de acordo com as Dietary References Intakes (DRIs) (IOM, 2005). Para realização dos exames bioquímicos, serão coletadas amostras de sangue de jejum (12 horas) por profissional capacitado e em ambiente adequado, com uso de materiais descartáveis. As amostras serão destinadas à determinação da glicemia de jejum e da glicemia pós-prandial, bem como da insulinemia. Serão isoladas amostras de DNA genômico a partir de sangue total, com a utilização kits comerciais (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, DE). O DNA extraído será submetido à técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) para amplificação e detecção

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8428 E-mail: caphucg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Protocolo: 034.646

dos alelos variantes na região do gene da PLIN em que se encontra o polimorfismo rs894160 (11482G>A), com a utilização do sistema TaqMan® SNP Genotyping (Life Technologies, California, EUA).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Verificar a influência do polimorfismo rs894160 no gene da PLIN sobre a composição corporal e a glicemia em indivíduos com a Síndrome do Obeso Eutrófico.

Objetivo Secundário:

Caracterizar a população estudada quanto às variáveis sociodemográficas e de estilo de vida, presença de comorbidades, perfil antropométrico e de composição corporal; Determinar a frequência do polimorfismo no gene da PLIN (rs894160); Determinar as concentrações de glicose e de insulina de jejum; Avaliar o consumo alimentar habitual da população estudada; Avaliar possíveis associações do polimorfismo com as variáveis analisadas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A pesquisa não apresentará riscos significativos aos sujeitos, poderá ocorrer formação de hematoma no local da inserção da agulha para coleta de sangue, assim como desconforto ou mal estar durante este procedimento.

Benefícios:

Ao final das análises, os pacientes terão o benefício de retomar para receber todos os seus resultados, bem como as orientações necessárias e individualizadas. Aqueles pacientes que não se enquadrarem nos critérios de inclusão poderão receber orientação nutricional individualizada, a seu critério.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não se aplica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos foram apresentados ao CEP não havendo nenhum óbice ético para aprovação da pesquisa.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora atendeu com êxito a pendência solicitada.

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8428 E-mail: cep@ufg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 004.648

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Aprovação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, a Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas/UFG - CEP/HC/UFG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Após início, o pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/HC/UFG, via Plataforma Brasil, relatórios trimestrais/semestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusões e publicações. O CEP/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 466/12 e suas complementares.

Situação: Protocolo aprovado.

GOIANIA, 16 de Outubro de 2014

Assinado por:

JOSE MARIO GOELHO MORAES
(Coordenador)

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3260-8338 Fax: (62)3260-8428 E-mail: cephcufg@yahoo.com.br

ANEXO B – Normas para envío de manuscrito para o periódico *Diabetologia*

Types of articles

ORIGINAL ARTICLES

A maximum of 4000 words in the main text plus up to 50 references **and including figure legends in this word count**. The abstract, references and tables are excluded from the word count, as are acknowledgements and details of funding, duality of interest and contribution statements. Please go to [Organisation and content of papers](#) below for information on structuring your article.

SHORT COMMUNICATIONS

A maximum of 1500 words in the main text plus up to ten references and normally no more than two illustrations (tables or figures or one of each). Please go to [Organisation and content of papers](#) below for information on structuring your article.

REVIEWS

Full reviews: a maximum of 5000 words in the main text plus up to 100 references.
Mini reviews: a maximum of 2500 words in the main text plus up to 40 references.
Reviews are usually invited, although unsolicited reviews may be considered for publication. Authors hoping to submit an unsolicited review should first consult the Editor-in-Chief at diabetologia-j@bristol.ac.uk. Proposals should include an abstract or detailed summary and a full outline of the review, along with the keywords and a full author list with titles, affiliations and areas of expertise; please state which sections of the review each author will be responsible for. Please be aware that even if you are given the go-ahead to submit your review to *Diabetologia*, your manuscript will undergo peer review and there can be absolutely no guarantee of eventual acceptance. If you are considering using figures, data etc from another paper in your review, please note that it will be your responsibility to secure permission to use this material before submission. In most cases permission can be obtained by going to the paper online and navigating via Rightslink.

SYSTEMATIC REVIEWS

A maximum of 4000 words in the main text with unlimited references. We recommend that authors register their study and submit the study protocol as supplementary material.

For systematic reviews of randomised controlled trials, follow [PRISMA reporting guidelines](#) – include a [flow diagram](#) in your manuscript and submit a completed [checklist](#).

For systematic reviews of observational studies in epidemiology, follow [MOOSE reporting guidelines](#) and submit a completed [checklist](#).

There is no need to contact the Editor-in-Chief before submitting a systematic review; please upload at <https://mc.manuscriptcentral.com/diabetologia> in the usual way.

META-ANALYSES

A maximum of 4000 words in the main text with unlimited references. We recommend that authors register their study and submit the study protocol as supplementary material.

For meta-analyses of randomised controlled trials, follow [PRISMA reporting guidelines](#) – include a [flow diagram](#) in your manuscript and submit a completed [checklist](#).

For meta-analyses of observational studies in epidemiology, follow [MOOSE reporting guidelines](#) and submit a completed [checklist](#).

There is no need to contact the Editor-in-Chief before submitting a meta-analysis; please upload at <https://mc.manuscriptcentral.com/diabetologia> in the usual way.

FOR DEBATE

A maximum of 3000 words in the main text plus up to 50 references and two illustrations (tables or figures or one of each). These will normally be solicited by the Editor-in-Chief although unsolicited articles will be considered.

LETTERS TO THE EDITOR

A maximum of 1000 words, plus 8 references and normally no more than one table or one figure. Letters will be considered for publication in the Correspondence section and are the forum for either: (1) Correspondence – comments with critical assessment of papers recently published in Diabetologia which, at the Editor-in-Chief's discretion, will be sent to the authors of the original paper for comment and both letter and reply published together; or (2) Research letters – observations providing concise and important new information. Research letters are formatted as letters, i.e. in individual paragraphs with no headings and no abstract. The lead authors of Letter-responses are responsible for contacting all authors of the original paper to ascertain whether they wish to be included in the reply.

COMMENTARIES

Commentaries are usually invited, although unsolicited commentaries may be considered for publication. There is no need to contact the Editor-in-Chief before submitting an unsolicited commentary; please upload at <https://mc.manuscriptcentral.com/diabetologia> in the usual way. As a guide, commentaries should be approximately 1500 words in the main text, with usually no more than 20 references. An unstructured abstract is encouraged but not mandatory.

[Back to top](#)

Organisation and content of papers

In this section:

- [a\) Title page](#)
- [b\) Abstract](#)
- [c\) Introduction](#)
- [d\) Methods](#)
- [e\) Footnotes](#)
- [f\) Results](#)
- [g\) Discussion](#)
- [h\) Acknowledgements](#)
- [i\) Funding](#)
- [j\) Duality of interest](#)
- [k\) Contribution statement](#)
- [l\) References - including Endnote style template](#)
- [m\) Tables](#)
- [n\) Figures](#)
- [o\) Figure format](#)
- [p\) Legends for figures](#)

A) TITLE PAGE

This page should state: (1) title of paper (including animal species if appropriate); (2) authors' names (given name, initials and family name – no qualifications); (3) institution(s) of origin; (4) corresponding author plus his/her address, telephone and fax numbers and e-mail address; (5) word count (of both Abstract and main text).

[Back to top of section](#)

B) ABSTRACT

Abstracts should be structured into four paragraphs as follows: (1) Aims/hypothesis; (2) Methods; (3) Results; (4) Conclusions/interpretation. The Abstract should not contain unexplained abbreviations. There is no upper word limit, however the online submission system does not allow abstracts of over 250 words due to technical limitations of the site. Therefore if your abstract is over this word limit please simply enter an abridged version in the appropriate section in the online submission site. For **clinical trials**, the trial registry number should be included at the end of the Abstract.

For **randomised controlled trials (RCTs)**, abstracts should include the checklist items set out in the CONSORT guidelines (see <http://www.consort-statement.org/index.aspx?o=1190>)

If data have been deposited in a public repository authors should include the dataset name and repository name and number at the end of the Abstract.

Keywords. Up to ten keywords (suitable for Index Medicus listing) should be provided at the end of the Abstract.

Abbreviations. Excluding Diabetologia's [standard abbreviations](#), please define

abbreviations used throughout the manuscript, in alphabetical order, after the keywords.

C) INTRODUCTION

The Introduction should contain a clear statement of the aim and novelty of the study. It should include neither results nor conclusions.

[Back to top of section](#)

D) METHODS

Diabetologia endorses the [NIH guidelines for reporting preclinical research](#). The Methods section must be sufficiently detailed so that others with access to the data would be able to reproduce the results. If results in a paper published in Diabetologia cannot be reproduced the journal will consider publication of refutations of that paper. If an organisation was paid or otherwise contracted to help conduct the research (e.g. data collection and management) then this should be detailed in the methods.

Randomised controlled trials Reports of randomised controlled trials (RCTs) should include the checklist items set out in the [CONSORT guidelines](#), as well as a [patient flow diagram](#). Authors must submit a completed checklist (available from www.consort-statement.org/index.aspx?o=2965). For reports of non-pharmacologic treatment interventions, please use the [extension to the CONSORT statement](#).

Observational studies (cohort, case-control, or cross-sectional designs) should include the items detailed in the [STROBE checklist](#). Authors must submit a completed checklist and, if the study protocol is available, this should be uploaded as a supplemental file.

Clinical trials mentioned in the text The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) recommends that, where trials are mentioned, for example in secondary analyses or meta-analyses, the trial registration number should be included at first mention of the trial in the manuscript.

Description of patients The terms type 1 diabetes mellitus and type 2 diabetes mellitus should normally be used. Detailed descriptions should be provided of the patients' clinical characteristics upon which the classification was made. Note: diabetic should not be used as a noun, i.e. use 'diabetic patients' not 'diabetics'. Relative body weight should be expressed in terms of body mass index, i.e. $(\text{weight in kg})/(\text{height in metres})^2$ (not % ideal body weight).

Informed consent and ethics committee approval A paper describing experimental work in humans must (1) indicate that informed consent has been obtained from patients where appropriate, (2) include a statement that the responsible ethics committee (institutional review board) has given approval, and/or indicate that the reported investigations have been carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki as revised in 2008. Do not use patients' names, initials or hospital numbers, especially in illustrative material. Uniform requirements should be

followed for ethical standards
[\[http://www.wma.net/en/20activities/10ethics/index.html\]](http://www.wma.net/en/20activities/10ethics/index.html).

Experimental animals Age, sex, source and, where appropriate, the genetic background of the animals used should be given. The Editorial Board will pay particular attention to the ethical aspects of animal experimentation. Reports of animal experiments must state that the *Guide for the care and use of laboratory animals*, Eighth edition (2011) (<http://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>) was followed, as well as specific national laws where applicable. The editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. The authors will be held responsible for false statements or for failure to fulfil the above-mentioned requirements. Animals should be described as being killed rather than sacrificed.

Abbreviations A list of accepted abbreviations to be used without definition is available [here](#). Please use other abbreviations only when necessary and define them in a separate list given after the keywords. Abbreviations should not normally appear in the title or Abstract. Endocrine pancreatic cells should be designated as beta cells (not β cells or b cells), alpha cells, delta cells or PP cells.

Equipment Manufacturer, city, state (if applicable) and country must be given.

Chemical substances must be properly identified. Except for standard laboratory chemicals, the source of supply must be given. Drugs must be identified by the generic or official name wherever possible. Proprietary names should be avoided.

qPCR. The journal supports the use of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments (MIQE) [guidelines](#) for the reporting of quantitative real-time PCR experiments.

Genes and proteins Italic characters should be used for gene symbols including genotypes, alleles, mRNA etc. Upright font and upper case letters are generally used for protein abbreviations. For example:
 Human gene: XYZ
 Rat/mouse gene: Xyz
 Protein (any species): XYZ
 For further details see the guidelines recommended by the Human Gene Nomenclature Committee, (<http://www.genenames.org>) or by the Jackson Laboratory, (<http://www.informatics.jax.org/mqihome/nomen/gene.shtml>).

Radioisotopes Isotopically labelled chemicals should be identified by the atomic number and symbol of the isotope and its location in the molecule. The specific activity of the starting material should be given in terms of becquerels (Bq: disintegrations/second) per molar weight.

Bioassays and radioimmunoassays An appropriate measure of the precision in terms of standard deviation (SD), standard error of the mean (SEM), coefficient of variation or 95% confidence intervals should be given. Reference to the original technique should be included.

Buffers and incubation media Compositions of incubation media should be described, or a reference supplied, together with the pH. Concentrations of solutions should be described in molar terms (mol/l and subunits thereof), equivalents or percentage weight/volume or weight/weight. Mass concentration should be expressed as g/l (or subunits thereof – mg/l or µg/l). It should always be made clear whether concentrations in a mixture are final concentrations or those of solutions added. In the case of insulin, mU/l is acceptable.

Units of measurement. Units should conform to the SI convention, except for blood pressure (which should be expressed in mmHg) and haemoglobin (g/l). Gas or pressure values should be given as mmHg with kPa in parentheses or vice versa. Where molecular weight is known, the amount of a substance should be expressed in mol or appropriate subunit (mmol etc.). Energy should be expressed in kJ. NB: The solidus may be used in a unit but not more than once (e.g. mmol/l is acceptable, but ml/min/kg is not acceptable and should be replaced with ml min⁻¹ kg⁻¹).

HbA_{1c} In line with current recommendations, Diabetologia includes dual reporting of HbA_{1c} units. Please include values for HbA_{1c} in percentage units with International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) units (mmol/mol) in parentheses. e.g. HbA_{1c} level was 5% (31 mmol/mol) For details of the conversion from NGSP (DCCT) percentage units (used in the UK, USA and many other countries) to IFCC units, see <http://www.ngsp.org/docs/IFCCstd.pdf>

Note that values <2.15% cannot be directly converted to IFCC units. To calculate IFCC units for small values or changes in HbA_{1c}, please go back to the original data if possible. If not, values below 2.15% can just be given in percentage units. Some countries, notably Sweden, have traditionally used the Mono-S method for expressing HbA_{1c} in percentage units, which gives values approximately 1% lower than NGSP units. For details of converting Mono-S units to IFCC units, see <http://www.ngsp.org/docs/IFCCstd.pdf>.

Percentage HbA_{1c} measured using the Japan Diabetes Society (JDS) methods requires a slightly different conversion: see <http://www.ngsp.org/docs/IFCCstd.pdf>.

Statistical analyses Describe statistical methods in sufficient detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. Computer software packages that are used for anything other than widely known standard statistical procedures should be identified by name or acronym and by author or organisation of origin. Reference for statistical methods should preferably be to standard works (with pages stated) rather than to papers in which designs or methods were originally reported. When variability is expressed in terms of the SEM or SD, the number of observations (*n*) must also be given. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Both the sample size and statistical significance should be predefined; *p* values should be given.

Common errors (1) Using one-tailed instead of two-tailed tests; (2) inappropriate use of parametric analyses; and (3) lack of *p* correction when using multiple comparisons. If necessary, professional statistical advice will be sought by the Editor-in-Chief.

[Back to top of section](#)

E) FOOTNOTES

Footnotes should not be used.

[Back to top of section](#)

F) RESULTS

The Results should be stated concisely without discussion and should not normally contain any references. The same data should not be presented in figures and tables. Do not repeat all the data that are set out in the tables or figures in the text; emphasise or summarise only important observations.

[Back to top of section](#)

G) DISCUSSION

The Discussion should deal with the interpretation of the results and not recapitulate them. We encourage authors to write their Discussion in a structured way, as follows:

- statement of principal findings;
- strengths and weaknesses of the study;
- strengths and weaknesses in relation to other studies;
- discussion of important differences in results; meaning of the study;
- unanswered questions and future research.

[Back to top of section](#)

H) ACKNOWLEDGEMENTS

Acknowledgements should be as brief as possible. Any grant support that requires acknowledgement should be mentioned. Any editorial assistance should be acknowledged. For individuals thanked in this section, or acknowledged elsewhere in the text, please provide full names and affiliations. Acknowledgements are not included in the maximum word count.

[Back to top of section](#)

I) FUNDING

Please include a separate Funding section after your Acknowledgements which details your sources of funding. The names of funding organisations should be written in full. Funding details are not included in the maximum word count.

[Back to top of section](#)

J) DUALITY OF INTEREST

Authors are responsible for recognising and disclosing conflicts of interest that might bias their work. They should acknowledge in the manuscript all financial support for

the work and other personal connections. Duality of interest details are not included in the maximum word count.

[Back to top of section](#)

K) CONTRIBUTION STATEMENT

The [ICMJE uniform requirements for manuscripts submitted to medical journals](#) state that authorship credit should be based on:

1. substantial contributions to conception and design, acquisition of data or analysis and interpretation of data
2. drafting the article or revising it critically for important intellectual content
3. final approval of the version to be published.

All three conditions must be met by all authors. Participation solely in the acquisition of funding or data or general supervision of the research group does not constitute authorship.

Please include a statement listing each author's contribution. Please ensure that this is discussed with your co-authors and agreement is reached prior to manuscript submission. Post-acceptance changes to the author list will not be permitted. The contribution statement is not included in the maximum word count.

[Back to top of section](#)

L) REFERENCES

References to the literature should be credited to the original findings and be in numerical order in the text, the number being given in square brackets on the line, and should be typed and numbered in the same order at the end of the manuscript. References should not be used by authors, editors or peer-reviewers to promote self-interests. There must be only one reference per number. Reference may only be made to Abstracts published in the current or preceding year.

Reference list In accordance with Springer publishing policy, all references should be in the ELSE-Ciba style. The following formats should be used:

Articles in journals Names of up to six authors with initials (seven authors or more should be abbreviated to et al after the third author's name); (year); title of paper in full; abbreviated name of journal (according to Index Medicus see <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>); volume number; first and last page numbers, e.g.: Tanaka Y, Tran PO, Harmon J, Robertson RP (2002) A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic β cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. Proc Natl Acad Sci U S A 99:12363–12368

Whole book Names of all authors with initials; (year); title of book; edition; name and city of publisher, e.g.: Ekoé JM, Zimmet P, Williams R (2001) The epidemiology of diabetes mellitus. An international perspective. Wiley, Chichester

Chapter from a book Names of all authors with initials; (year); chapter title; In: editors' names with initials (eds); title of book; volume number; name and city of publisher; pp first and last page numbers, e.g.: Hopper JL (2000) Why 'common environmental effects' are so uncommon in the literature. In: Spector TD, Snieder H, MacGregor AJ (eds) *Advances in twin and sib-pair analysis*. Oxford University Press, London, pp 151–165

Letters to the Editor As for articles in journals: e.g.: t'Hart LM, Dekker JM, Heine RJ, Maassen JA (2003) Lack of association between gene variants in the ALMS1 gene and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 46:1023–1024

Abstracts As for articles in journals, with (Abstract) after the page numbers: e.g. Khalifah RG, Chen Y, Price DL, Booth AA (2002) Mechanism of inhibition of advanced glycation endproducts by Pyridorin™, a novel therapeutic for diabetic complications. *Diabetologia* 45 [Suppl 2]: A1222 (Abstract)

Website Authors; (year); title; URL; date accessed, e.g.: Regional Office for the Western Pacific of the World Health Organization, International Association for the Study of Obesity and the International Obesity Task Force (2000) The Asia-Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. Available from <http://www.obesityasiapacific.com>, accessed 10 October 2003

Papers quoted as 'in press' Authors should provide an electronic version of any manuscripts cited as 'in press' when they submit their manuscript to *Diabetologia*. If an accepted paper contains references to a manuscript 'in press', written evidence that the manuscript has been accepted will be requested. Numbered references to personal communications, unpublished data and manuscripts either 'in preparation' or 'submitted for publication' are unacceptable. If essential, such references may be incorporated in parentheses in the appropriate place in the text, but written consent to publication must be provided.

The references are the responsibility of the authors. They must be written correctly and be rechecked by the authors in the proofs. References to abstracts (only current and preceding year), letters to the editor, congress proceedings, and non-peer-reviewed publications should be kept to a minimum.

ENDNOTE STYLE TEMPLATE:

A *Diabetologia* style template is available for EndNote. It can be downloaded from <http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>. Save the file in the appropriate folder in your EndNote program directory, usually: Windows—C:\Program Files\EndNote or Mac OS X—Harddrive:Applications:Endnote. The style template will be available when you select 'Output Styles' in the Edit menu.

[Back to top of section](#)

M) TABLES

Use the table function of your word processing program, not spreadsheets, to create tables. Tables should be numbered with Arabic numerals. Each table should have a short informative heading which is self-explanatory without reference to the text. Footnotes should be kept to a minimum. Describe the method used in the text of the Methods section and not in a footnote. Only conditions specific to the particular experiment can be stated. The units in which the results are expressed should be given in parentheses at the head of each column and not repeated on each line of the table. Avoid abbreviations. Superscripts 'a', 'b', 'c' should be used for footnotes (not asterisks or any other symbols). See a recent issue of the journal for examples. Large amounts of additional information can be submitted for publication electronically as supplementary material.

[Back to top of section](#)

N) FIGURES

Figures should be provided in separate files (and not embedded in the main document). Figure legends should be included at the end of your article. See the [current issue](#) of Diabetologia for general style and layout.



Diabetologia offers its authors free use of colour where this is essential for understanding.

Our [artwork guidelines](#) should be referred to and followed where possible, and further advice can be obtained from the Editorial Office if needed. The guidelines are given to ensure that figures can be published as clearly as possible, and following our style will mean fewer changes during typesetting.

Image manipulation: Diabetologia has adopted the following statement developed by Cell Press as its policy on the manipulation of digital images: Authors should make every attempt to reduce the amount of post-acquisition processing of data. Some degree of processing may be unavoidable in certain instances and is permitted provided that the final data accurately reflect the original. In the case of image processing, alterations must be applied to the entire image (e.g. brightness, contrast, colour balance). In rare instances where this is not possible (e.g. alterations to a single colour channel on a microscopy image), any alterations must be clearly stated in the figure legend and in the methods section. Groupings and consolidation of data (e.g. cropping of images or removal of lanes from gels and blots) must be made apparent by the arrangement of figures (e.g. dividing lines) and should be explicitly indicated in the text of the figure legend. Data comparisons should only be made from comparative experiments, and individual data should not be utilised across multiple figures. In cases where data are used multiple times (e.g. multiple experiments were performed simultaneously with a single control experiment), this must be clearly

stated within each figure legend. In the event that it is deemed necessary for proper evaluation of the manuscript, authors will be required to make the original unprocessed data available to the editor.

Permissions: If the figure has previously been published, please see our section on [Permissions](#).

What happens to figures if your paper is accepted?: If your paper is accepted or provisionally accepted, you may be asked to make certain changes to your figures to comply with journal style. In addition, we may make further changes to figures at the copy-editing stage, either by editing them ourselves, marking up the images to be changed by our typesetters, or requesting that you make additional amendments yourself and supply replacement figures. This process will help to ensure that your data are clear and accessible to readers, and that images are consistent between different articles in *Diabetologia*. You will be given the opportunity to review the figures, with the rest of the article, at the proof stage. It is important to take care when checking the proofs, as changes cannot be made once the article has been published online.

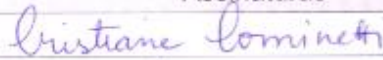


[Back to top of section](#)

O) LEGENDS FOR FIGURES

Figure legends should be concise and self explanatory and contain enough information to identify the figures and enable them to stand as a separate entity from the text. However, legends should not give methodological detail—this should be included in the Methods—and repetition of information in the main text should be avoided. Headings, keys to symbols and statistical analysis should be included in the legend rather than the figure. **For original full-length papers, legends are included in the word count so should be kept as concise as possible.**

Ata número cento e oito de defesa de dissertação do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás. Às oito horas do dia trinta e um de maio de dois mil e dezesseis, reuniu-se no(a) Miniauditório Jatobá, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação apresentado (a) pelo (a) Pós-Graduando (a) Amanda Gonçalves Zardini Silveira intitulada: Polimorfismo no gene que codifica a perilipina 1 e suas relações com consumo alimentar, composição corporal e glicemia de indivíduos com síndrome do obeso eutrófico, apresentado para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde, junto à Área de Concentração: Nutrição e Saúde, desta Universidade. O (A) Presidente da Comissão Julgadora Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Cominetti, iniciando os trabalhos, concedeu a palavra ao (a) candidato (a) para exposição em trinta minutos do seu trabalho. A seguir, o (a) senhor (a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de trinta minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu julgamento, considerando o (a) candidato (a) Aprovada [Aprovado (a) ou Reprovado (a)]. Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o (a) candidato (a), Habilitada [Habilitado (a) ou não Habilitado (a)]. Nada mais havendo a tratar, eu Secretário Douglas Antônio Rocha Prado lavrei a presente ata que, após lida e aprovada, foi por todos assinada em três vias de igual teor. Esta ata tem validade de trinta dias a partir da data de defesa. A expedição do diploma fica condicionada a entrega do volume final da dissertação com correções e demais documentos previstos em regulamento.

Goiânia, trinta e um de maio de dois mil e dezesseis.

Banca Examinadora	Assinaturas
PROF ^ª . DR ^ª . CRISTIANE COMINETTI	
PROF ^ª . DR ^ª . SÍLVIA MARIA SALEM IZACC FURLANETO	
PROF ^ª . DR ^ª . ROSANA DE MORAIS BORGES MARQUES	

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da dissertação:
