

JOSIANE NOVETI MORAIS ORTIZ

**ADIPONECTINA, TNF- α E IL-6 EM PACIENTES
PORTADORES DE OBESIDADE GRAVE.
RELAÇÃO COM A SENSIBILIDADE À INSULINA
E COM A TOLERÂNCIA À GLICOSE**

CAMPINAS

Unicamp

2007

JOSIANE NOVETI MORAIS ORTIZ

**ADIPONECTINA, TNF- α E IL-6 EM PACIENTES
PORTADORES DE OBESIDADE GRAVE.
RELAÇÃO COM A SENSIBILIDADE À INSULINA
E COM A TOLERÂNCIA À GLICOSE**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção de título de Mestre em Clínica Médica,
área de concentração Ciências Básicas

ORIENTADORA: PROFA. DRA. SARAH MONTE ALEGRE

CAMPINAS

Unicamp

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Or8a Ortiz, Josiane Noveti Moraes
 Adiponectina, TNF- α e IL-6 em pacientes portadores de obesidade grave. Relação com sensibilidade à insulina e com a tolerância à glicose / Josiane Noveti Moraes Ortiz. Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientador: Sarah Monte Alegre
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Obesidade mórbida. 2. Citocinas. 3. Resistência à insulina.
I. Alegre, Sarah Monte. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

**Título em inglês: Adiponectin, TNF- α and IL- 6 in severe obese patients: relation to
insulin sensitivity and glucose tolerance**

Keywords: • Morbid obesity
 • Cytokines
 • Insulin resistance

Titulação: Mestre em Clínica Médica

Área de concentração: Ciências Básicas

Banca examinadora:

Profa. Dra. Sarah Monte Alegre

Profa. Dra. Dora Maria Grassi-Kassisse

Profa. Dra. Walkyria de Paula Pimenta

Data da defesa: 08 - 10 - 2007

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

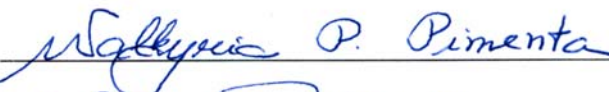
Orientador(a): Prof. Dr. Sarah Monte Alegre

Membros:

1. Prof(a). Dr(a) . Dora Maria Grassi-Kassisse



2. Prof(a). Dr(a). Walkyria de Paula Pimenta



3. Prof(a). Dr(a). Sarah Monte Alegre



Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Ciências Básicas, da Faculdade de Clínica Médica da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 08/10/2007

*Aos
meus pais
José e Assunta
que me deram a vida.*

*Ao
Marlon
pelo seu amor,
carinho e
compreensão.*

*Ao
João Lucas
que a cada dia
me ensina a ser
uma pessoa melhor.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que tudo permite e a tudo conduz.

À minha irmã Fabiana, que sempre foi minha companheira e amiga.

Ao meu irmão Samuel, que mudou minha forma de ver o mundo.

À Dra. Elza que mesmo à distância soube estar presente.

À Dra. Sarah pela sua compreensão, apoio e paciência.

À Dra. Regina Inocência que primeiro me acolheu.

À Daniela, pela sua dedicação, incentivo, amizade e paciência.

À Conceição que me ensinou a lutar e perseverar.

Ao Aglécio pela sua competência e disponibilidade.

Ao Brenno por seu apoio, criatividade e colaboração.

Aos amigos do laboratório: Rose, Paula, Cristiane, Bia, Fernanda, Márcia, Camila e Ricardo.

Aos amigos do Instituto de Biologia, especialmente à Dora e à Elaine.

A todos os voluntários que se dispuseram a colaborar com este trabalho.

Aos pacientes e profissionais do ambulatório de cirurgia da obesidade do HC.

Às agências financiadoras que deram suporte a este trabalho.

*“Há um momento para tudo e
um tempo para todo propósito debaixo do céu.
Tempo de nascer e tempo de morrer;
tempo de plantar e tempo de colher.”*

Ecl. 3, 1-2

	Pág.
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xviii
1- INTRODUÇÃO.....	20
1.1- Histórico.....	21
1.2- Incidência/prevalência.....	22
1.3- Riscos da obesidade.....	23
1.4- A resistência à insulina.....	24
1.5- Obesidade e resistência à insulina.....	25
1.6- A síndrome metabólica.....	26
1.7- O Tecido adiposo.....	28
1.8- As citocinas.....	29
1.9- O TNF-α.....	30
1.10- Interleucina-6 e proteína C-reativa.....	31
1.11- Adiponectina.....	34
1.12- O Universo deste estudo.....	35
2- OBJETIVOS.....	36
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1- Tipo, população e local de estudo.....	39
3.2- Métodos de convocação.....	39
3.3- Critérios de inclusão e exclusão.....	39

3.4- Aspectos éticos.....	40
3.5- Variáveis.....	40
3.6- Protocolo experimental.....	40
3.7- Medidas antropométricas.....	40
3.8- Avaliação da composição corporal.....	41
3.9- Avaliação da pressão arterial.....	41
3.10- Estudos metabólicos.....	41
3.10.1- Teste oral de tolerância à glicose (TOTG).....	41
3.10.2- <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico.....	42
3.11- Acondicionamento e estocagem de amostras.....	44
3.12- Métodos analíticos.....	44
3.13- Cálculos e fórmulas.....	46
3.14- Critérios de classificação.....	47
3.15- Análise dos dados.....	48
4- RESULTADOS.....	49
4.1- Características gerais.....	50
4.2- Resultados do teste oral de tolerância à glicose.....	52
4.3- Resultados do <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico.....	55
4.4- Citocinas e marcadores inflamatórios durante o <i>Clamp</i>	58
5- DISCUSSÃO.....	66
6- CONCLUSÃO.....	72
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
8- ANEXOS.....	90

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ac Úrico	Ácido Úrico
AGL	Ácidos Graxos Livres
ASC	Área sob a curva
BIA	Bioimpedância Elétrica
bpm	Batimentos por minuto
Clamp	<i>Clamp</i> Euglicêmico Hiperinsulinêmico
clearance	do inglês: depuração
cm	centímetros
Cols	Colaboradores
CQ	Relação Cintura/Quadril
CRP	Proteína C-reativa
dl	Decilitro
DM	<i>Diabetes Mellitus</i> tipo 2
ELISA	do inglês: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EUA	Estados Unidos da América
f	Feminino
FC	Frequência cardíaca
HC	Hospital das Clínicas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corpórea

Incr	Área incremental
IRS	Substrato do Receptor de Insulina
IT	Intolerância à glicose
JNC	do inglês: <i>Joint National Committee</i>
Kcal	Quilocalorias
kg	Quilogramas
l	Litro
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipase Lipoprotéica
M	Índice de Sensibilidade à Insulina
m	Masculino
m²	Metro quadrado
mEq	Miliequivalente
mg	Miligramas
min	minuto
ml	Mililitro
MM	Massa Magra
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de Mercúrio
mmol	Milimol
µg	Microgramas
µmol	Micromol
NIH	do inglês: <i>National Institutes of Health</i>
nmol	Nanomol

ns	não significativo (relação estatística)
NT	Tolerância normal à glicose
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PAI-1	Fator de Inibição do Plasminogênio Ativado
PI 3-quinase	Fosfatidilinositol 3-quinase
pmol	picomol
rpm	rotações por minuto
SC	Superfície Corporal
SS	do inglês: <i>Steady State</i> (período de estabilidade durante o <i>Clamp</i>)
TIEG	Taxa de Infusão Exógena de Glicose
TMB	Taxa Metabólica Basal
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TOTG	Teste Oral de Tolerância à Glicose
UI	Unidades Internacionais
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
WHO	<i>World Health Organization</i>
°C	Graus Celsius

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 Características antropométricas dos obesos e grupo controle.....	50
Tabela 2 Perfil lipídico, ácido úrico e creatinina séricos no período basal dos obesos e grupo controle.....	51
Tabela 3 PA E FC basais dos obesos e grupo controle.....	52
Tabela 4 Resultados do teste oral de tolerância à glicose.....	53
Tabela 5 Resultados do <i>CLAMP</i> euglicêmico hiperinsulinêmico e ácidos graxos livres medidos no período basal e após a infusão de insulina.....	56
Tabela 6 Citocinas e marcadores inflamatórios durante o <i>CLAMP</i> medidos no período basal e após a infusão de insulina.....	59
Tabela 7 Correlações entre as variáveis (SPEARMAN).....	62

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Resultados do Teste Oral de Tolerância à Glicose: obesos divididos de acordo com o grau de tolerância à glicose vs. controles.....	54
Figura 1A Glicemia.....	54
Figura 1B Insulinemia.....	54
Figura 2 Resultados do <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico: obesos divididos de acordo com o grau de tolerância à glicose vs. controles.....	57
Figura 2A Valor M (sensibilidade à insulina).....	57
Figura 2B Ácidos graxos livres durante <i>Clamp</i>	57
Figura 3 Citocinas e marcadores inflamatórios durante o <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico: obesos divididos de acordo com o grau de tolerância à glicose vs. controles. Medidas basais e após infusão de insulina.....	60
Figura 3A TNF- α durante <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico.....	60
Figura 3B IL-6 durante <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico.....	60
Figura 3C CRP durante <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico.....	61
Figura 3D Adiponectinemia durante <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico.....	61
Figura 4 Resultados da regressão linear simples.....	63
Figura 4A Regressão linear simples entre a sensibilidade à insulina e a insulinemia basal.....	63
Figura 4B Regressão linear simples entre a sensibilidade à insulina e a adiponectinemia basal.....	63

Figura 4C	Regressão linear simples entre a área sob a curva de glicose do teste oral e a adiponectinemia basal.....	64
Figura 4D	Regressão linear simples entre insulinemia basal e $\text{TNF-}\alpha$	64
Figura 4E	Regressão linear simples entre IMC e IL-6.....	65
Figura 4F	Regressão linear simples entre IMC e CRP.....	65



RESUMO

A obesidade é uma doença cuja prevalência vem aumentando de forma global em todas as faixas etárias, raças e em ambos os sexos, e está associada a altas taxas de morbidade e mortalidade. Obesos desenvolvem também hiperinsulinemia e resistência à insulina, o que pode levar ao aparecimento de diabetes tipo 2 (DM). Recentemente foi demonstrado que o tecido adiposo, mais que um local de acúmulo de reservas energéticas, desempenha papel de um verdadeiro órgão secretor de moléculas sinalizadoras (adipocinas) que atuam em diversos locais do organismo. O acúmulo de tecido adiposo causado pela obesidade acarreta um aumento da produção de adipocinas, como o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e a Interleucina-6 (IL-6), que ao estimular a produção de proteínas de fase aguda pelo fígado, conduzem a um estado inflamatório subclínico, associado ao surgimento das comorbidades presentes na obesidade. A adiponectina, produzida pelo tecido adiposo, ao contrário, exerce um papel protetor, diminuindo a resistência à insulina, porém encontra-se paradoxalmente diminuída em obesos. Ajudar a entender as interações existentes entre obesidade, adipocinas e resistência à insulina, avaliando concentrações séricas de adiponectina, TNF- α , IL-6, Proteína C-reativa (CRP) em pacientes obesos graves com (IT) ou sem (NT) intolerância à glicose, bem como em controles, antes e após infusão de insulina, é o objetivo deste trabalho. Para tanto, 32 indivíduos obesos (15 NT, 11 IT e 6 DM; IMC=50,2 $\pm$ 2,2; 48,3 $\pm$ 2,2 e 51,0 $\pm$ 3,0Kg/m²) e 9 indivíduos eutróficos (CT=22,3 $\pm$ 0,6Kg/m²) classificados a partir de teste oral de tolerância à glicose, pareados por idade e sexo, realizaram *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico (180 min; infusão de insulina - 40 μ U/min·m²). Adiponectina, TNF- α , IL-6, e CRP foram dosados em jejum e aos 180 minutos do *clamp*. Antes do início do estudo foi realizada bioimpedância elétrica (BIA) para determinação da composição corporal. Os pacientes obesos eram resistentes à insulina (sensibilidade à insulina ou “M”: NT=28,5 $\pm$ 3,4 IT=23,3 $\pm$ 1,6 e DM=16,8 $\pm$ 3,4; todos $p < 0,001$ vs. CT=52,5 $\pm$ 2,7 μ mol/min/Kg_{MM}). As concentrações basais de TNF- α , IL-6 e CRP eram similares entre os subgrupos de obesos, maiores que nos controles (todos $p < 0.01$) e relacionadas independentemente ao IMC e/ou à % gordura corporal. As concentrações basais de adiponectina eram menores nos obesos (NT=7,5 $\pm$ 1,4; IT=5,6 $\pm$ 0,9; DM=3,3 $\pm$ 0,7 vs. CT=11,6 $\pm$ 1,4 μ g/ml) e direta e independentemente relacionadas à sensibilidade à insulina e inversamente com as medidas de adiposidade, glicemia e insulinemia. A infusão de insulina diminuiu a adiponectinemia nos obesos

independentemente do grau de tolerância à glicose ($p = 0,009$) e exerceu pouco efeito sobre as demais citocinas. Portanto, as concentrações circulantes elevadas de TNF- α , IL-6 e CRP em pacientes com obesidade grau III não dependem do grau de tolerância à glicose e não se modificam sob infusão aguda de insulina. As concentrações circulantes de adiponectina encontram-se diminuídas, variando de acordo com o grau de tolerância à glicose, e sofrem ação inibitória da insulina. A hiperinsulinemia presente nos pacientes obesos pode contribuir para diminuir a adiponectinemia acarretando um aumento ainda maior da resistência à insulina e da conseqüente hiperinsulinemia.



ABSTRACT

Obesity is associated with a cluster of metabolic alterations such as insulin resistance, hypertension, and dyslipidemia and with a low-grade systemic inflammation, which is presumed to play a role in the development of insulin resistance, cardiovascular disease (CVD) and type 2 diabetes mellitus (DM). Adipocytokines or adipokines are synthesized by adipose tissue, released into the circulation and may act as signaling molecules. High circulating levels of Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6) in adipose tissue have been demonstrated in obesity. Adiponectin, abundantly expressed in white adipose tissue, seems to play a protective role against atherosclerosis and insulin resistance but is decreased in obesity. The role of insulin sensitivity and insulin levels on the modulation of adiponectin concentrations in humans remains unclear. Aim: to evaluate the acute insulin effect on circulating adiponectin, TNF- α , IL-6 and C-reactive protein (CRP) and their relationship with insulin resistance in normal subjects and in class III obese subjects with normal (NGT) or impaired glucose tolerance (IGT). Methods: 32 obese, 15 NGT, 11 IGT and 6 DM subjects (BMI=50.2 $\pm$ 2.2; 48.3 $\pm$ 2.2 and 51.0 $\pm$ 3.0Kg/m²) and 9 lean subjects (CT 22.3 $\pm$ 0.6Kg/m²) received an OGTT and a 3h-euglycemic clamp (insulin infusion - 40 μ U/min·m²). Adiponectin, TNF- α , IL-6 and CRP were assayed at fasting and at 180min of insulin infusion. BIA was performed before the study to assess body composition. Results: Obese patients were insulin resistant (M:NGT=28.5 $\pm$ 3.4; IGT=23.3 $\pm$ 1.6 and DM=16.8 $\pm$ 3.4; all p <0.001 vs. CT=52.5 $\pm$ 2.7 μ mol/Kg_{FFM}·min). Fasting TNF- α IL-6 and CRP were similar among obese subgroups, higher than CT (p <0.01) and related to BMI and/or fat mass. Adiponectin was lower in obese (NGT=7.55 $\pm$ 1.26; IGT=5.55 $\pm$ 0.95; DM=3.31 $\pm$ 0.75 vs. CT=11.56 $\pm$ 1.37 μ g/ml) and directly and independently related to M after adjustment for waist, fat mass and BMI (p <0.001). Insulin infusion lowered adiponectin only in obese subjects and little affected the other cytokines. Discussion: In severely obese subjects, TNF- α , IL-6 and CRP are increased independently of glucose tolerance status, and are not affected in the short-term by insulin. Adiponectin levels are decreased in these subjects, according to the glucose tolerance degree, and are downregulated by insulin infusion. More importantly, the persistent hyperinsulinemia can contribute to reduce the adiponectin expression, contributing to further insulin resistance and hyperinsulinemia.



1- INTRODUÇÃO

1.1- Histórico

O excesso de peso esteve presente na sociedade humana desde os primórdios de sua história. Em muitas civilizações a obesidade era considerada sinônimo de saúde por simbolizar, entre outras coisas, a fecundidade. Esta idéia pode ter se originado da observação de que o baixo peso leva à interrupção do ciclo menstrual e, portanto, da fertilidade (BROWNELL, 1995). Do ponto de vista cultural, isto é compreensível levando-se em conta que durante a história dos diferentes grupos humanos sempre houve grande dificuldade para a obtenção de alimentos, e o risco de escassez era muito grande. Portanto, possuir um estoque energético era visto como vantajoso, um sinal de saúde e riqueza (SOBAL, 1995). Igual vantagem seria observável do ponto de vista biológico, segundo o postulado pela teoria do “*thrifty genotype*”, ou genótipo poupador: determinadas populações poderiam apresentar uma maior prevalência de genes que condicionariam um menor gasto energético, provavelmente selecionados durante períodos de escassez de alimentos (COUTINHO, 1998).

A definição clássica de obesidade é o acúmulo de tecido adiposo no organismo. Este acúmulo se deve, de uma maneira simplista, ao excesso de ingestão calórica em relação ao dispêndio energético. Um critério de classificação amplamente adotado é o índice de massa corpórea (IMC) que divide o peso, em quilogramas, pela altura, em metros, elevada ao quadrado. Um IMC abaixo de 18,50 Kg/m² é classificado como subpeso. Valores entre 18,50 e 24,99 Kg/m² indicam peso normal, e igual ou maiores que 25Kg/m² indicam sobrepeso. Os indivíduos com valores entre 25 e 29,99 Kg/m² são classificados como portadores de pré-obesidade e acima de 30Kg/m² como obesos. Os IMCs correspondentes aos diferentes graus de obesidade são: **Classe I:** de 30 a 34,99 Kg/m², **Classe II:** de 35 a 39,99 Kg/m² e **Classe III:** igual ou maior que 40 Kg/m² (WHO 2000).

A obesidade é atualmente uma doença epidêmica, tratada como um problema complexo, e diversos fatores podem estar implicados em sua etiologia, incluindo fatores genéticos, evolutivos e ambientais. Observações em gêmeos idênticos demonstraram que a influência da hereditariedade no ganho de peso pode chegar a 40% (BOUCHARD, 1995). Cabe aqui ressaltar o conceito de transição nutricional, processo que se refere às mudanças cíclicas no perfil nutricional das populações humanas, que incluem alterações nos padrões

de dieta e de gasto energético, determinadas basicamente pela interação das mudanças econômicas, demográficas, ambientais e culturais ocorridas na sociedade (POPKIN, 1993). Assim, as sociedades modernas parecem convergir em direção a um padrão de dieta rica em gordura (principalmente de origem animal), açúcares e alimentos refinados, com reduzido teor de fibras, conhecido como dieta ocidental ou “western diet” (POPKIN, 2002).

São notáveis as mudanças ocorridas nas atividades humanas durante o último século, representadas pela industrialização, migração rural e pelo rápido crescimento urbano e a forte influência de tais mudanças nos hábitos alimentares e no grau de sedentarismo. Particularmente em países em desenvolvimento, o considerável aumento da urbanização, associado à adoção da chamada cultura ocidental, acarretou mudanças nos padrões de dieta e atividade física, favorecendo o aparecimento da obesidade (MONTEIRO e cols, 2002).

1.2- Incidência/Prevalência

A prevalência da obesidade vem aumentando de forma global, em todas as faixas etárias, raças e em ambos os sexos. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o aumento da incidência também é generalizado entre os países (WHO, 2000). Nos Estados Unidos, por exemplo, a prevalência de obesidade aumentou nas últimas quatro décadas. Estima-se que cerca de 60% da população adulta apresente sobrepeso, enquanto a prevalência de obesidade clinicamente significativa é maior que 25%. Em alguns grupos da população americana como homens brancos não-hispânicos com idade entre 50 e 59 anos, a prevalência de sobrepeso e obesidade é 72,9%. A prevalência em mulheres negras não-hispânicas na mesma faixa etária é de 78,1% (FLEGAL, 1998). Esta tendência mundial tem sido atribuída, tanto nos países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento, ao rápido declínio no gasto energético decorrente de mudanças no trabalho que exigem menor esforço físico, bem como a atividades de lazer sedentárias, ao lado da mudança nos padrões alimentares já mencionada (MONTEIRO e cols, 2002).

No Brasil, a incidência de obesidade também vem aumentando significativamente, atingindo valores de 10 a 20% da população adulta, dependendo da faixa etária e região geográfica avaliada (MONTEIRO e cols, 1995). Dados da Pesquisa de

Orçamentos Familiares realizada entre 2002 e 2003 pelo Ministério da Saúde apontam uma prevalência da obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) de 11,1% da população adulta (Ministério da Saúde, 2005). Um estudo realizado com informações coletadas junto ao banco de dados do Exército, na Região Nordeste, entre 1980 e 2000, concluiu que, em duas décadas, houve um incremento de 4,5 vezes na prevalência da obesidade entre adolescentes na faixa etária de 17 a 19 anos de idade (VASCONCELOS, 2003). Monteiro e colaboradores, em um levantamento realizado no período de 1975 a 1997 demonstraram como a obesidade vem rapidamente tomando o lugar da desnutrição em nosso país. Em 1975 para cada caso de obesidade havia de dois a quatro casos de peso abaixo do normal, enquanto que em 1996 havia quase dois adultos obesos para cada adulto com baixo peso. Em termos de porcentagem, no mesmo período, os índices de obesidade triplicaram para os homens (2,1% a 6,4%) e mais que dobraram para as mulheres (6,0% a 12,4%). Assim, o conceito de transição nutricional é aplicável às transformações que estão ocorrendo em nossa população, por várias razões, como mudanças demográficas, sócio-econômicas, ambientais e culturais que ocorreram principalmente no final do século 20. Uma interessante comparação demonstrou que no período de 1989 a 1997 a obesidade feminina aumentou significativamente nas regiões menos desenvolvidas do Nordeste (7,8 a 12,5%) ao passo que, na Região Sudeste mostrou uma tendência a diminuir (14,0 a 12,3%). Nesta última região, a obesidade tendeu a aumentar entre mulheres de baixa renda (11,2 a 14,1%), mas diminuiu significativamente entre as mulheres de alta renda (14,4 a 8,9%) (MONTEIRO e cols, 2002), demonstrando a complexidade dos múltiplos fatores implicados na incidência e prevalência da obesidade.

1.3- Riscos da Obesidade

A necessidade de entendermos a obesidade em seus múltiplos aspectos fisiopatológicos decorre de sua associação com alta incidência de morbi-mortalidade (LEE e cols, 1993; LISSNER e cols, 1991), principalmente relacionadas ao aparelho cardiovascular, onde são descritas hipertrofia cardíaca (MUSCELLI e cols, 1997; LAUER e cols, 1991), arritmias e aumento do débito cardíaco (MESSERLI e cols, 1982). Há, ainda, uma forte associação com hipertensão arterial e diabetes mellitus tipo 2

(THE DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH GROUP, 2002; MODAN e cols, 1985), acidente vascular cerebral, dislipidemias, apnéia do sono e outras disfunções respiratórias e ortopédicas, artrites e colecistopatias (NIH, 1998; BRAY, 2004), assim como alguns tipos de neoplasias de mama, cólon, próstata e endométrio (BRAY, 2002). A obesidade é o maior fator de risco para o diabetes tipo 2. O “Nurses Health Study” demonstrou que o risco de desenvolver diabetes aumenta exponencialmente com o aumento do índice de massa corporal: 40 vezes maior nas mulheres com IMC de 35 Kg/m², em relação àquelas com IMC de 22 Kg/m² (COLDITZ e cols, 1990; BRAY, 2004).

1.4- A Resistência à Insulina

A insulina é o hormônio anabólico mais conhecido e é essencial para a manutenção da homeostase da glicose e para o crescimento e diferenciação celular. É secretada pelas células beta das ilhotas pancreáticas, em resposta à elevação da concentração plasmática de glicose ou de outros substratos energéticos como aminoácidos. Esta secreção é continuamente ajustada de acordo com a variação das concentrações sanguíneas de glicose, e modulada direta ou indiretamente por hormônios, neurotransmissores e agentes farmacológicos (BOSCHERO, 1996).

Possui uma ampla variedade de ações, como transporte de glicose em músculo e nos adipócitos, inibição da lipólise e aumento da lipogênese no tecido adiposo, da síntese de glicogênio e da inibição da glicogenólise no fígado, inibição da secreção de glucagon, aumento da síntese e diminuição da degradação protéica. E ainda ações sobre o sistema nervoso central, sobre os sistemas cardiovascular e renal, e sobre o transporte iônico através das membranas (BERNE e cols, 2004).

As ações da insulina iniciam-se após sua ligação à porção extracelular do seu receptor, localizado nos tecidos-alvo. Trata-se de uma proteína transmembrana composta de duas subunidades alfa e duas subunidades beta, com atividade tirosina-quinase intrínseca, ou seja, capaz de se autofosforilar. Esta atividade tirosina-quinase da subunidade beta se inicia após a ligação da insulina à subunidade alfa do receptor, o que leva a uma mudança

de conformação e autofosforilação do receptor em múltiplas tirosinas. Depois de ativado, o receptor passa a fosforilar em tirosina vários substratos intracelulares. Existem mais de dez substratos identificados. Dentre os mais conhecidos estão as proteínas conhecidas como substratos do receptor de insulina (IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4) (HUNTER e col, 1998).

Em situações em que a resposta biológica aos níveis insulinêmicos normais ou elevados encontra-se atenuada ou prejudicada, estabelece-se a denominada resistência à insulina (KAHN, 1978).

A princípio, qualquer situação em que ocorra menor ação deste hormônio, pode ser chamada de resistência à insulina. Entretanto, este termo é convencionalmente utilizado para designar uma menor captação de glicose pelos tecidos periféricos que dele dependem, como músculo e tecido adiposo (CEFALU, 2001).

As causas da resistência à insulina em geral e aquela presente na obesidade, bem como suas conseqüências, não são completamente definidas. Uma explicação possível envolve um aumento de ácidos graxos livres ao fígado, associado a menor supressão da lipólise pela insulina. Blüher e colaboradores demonstraram que em obesos intolerantes e resistentes à insulina, as concentrações séricas de ácidos graxos livres estão mais elevadas que em obesos não resistentes (BLÜHER e cols, 2001). É importante ainda observar que os mecanismos de resistência à insulina envolvem os seus receptores e principalmente as diversas etapas da via de sinalização da insulina (BIRNBAUM, 2001) através de modificações nos mecanismos moleculares da cascata de sinalização após a ligação do hormônio ao seu receptor (WHITE, 2003).

1.5- Obesidade e Resistência à insulina

Embora possua um componente genético (HUNTER e col, 1998), a resistência à insulina também pode ser modulada por influência ambiental, e está fortemente associada ao sedentarismo e à obesidade (REAVEN, 1988). A resistência à insulina é freqüentemente associada à hiperinsulinemia, que em obesos parece causada por hipersecreção hormonal primária e compensatória à resistência tecidual à insulina (MUSCELLI e cols, 2001; POLONSKI e cols, 1988)

Além da resistência às ações da insulina na musculatura esquelética, os portadores de obesidade apresentam inadequada supressão da produção endógena de glicose (BONADONNA e cols, 1990; GASTALDELLI, 2004) e, no que se refere às vias metabólicas das gorduras, menor supressão da lipólise pela insulina (TAPPY e cols, 1991).

Confirmando a influência da obesidade no desenvolvimento da resistência à insulina, diversos estudos demonstram que a perda de peso leve (MUSCELLI, e cols 1997; SU e cols, 1995) ou considerável (GRECO e cols, 2002; LETIEXHE, 1994), a resistência à insulina diminui, a secreção de insulina passa a ser melhor regulada e os parâmetros metabólicos, como por exemplo, pressão arterial, perfil lipídico, ácidos graxos livres e adiponectinemia tendem a retornar aos níveis normais (CAMASTRA, S e cols, 2005).

1.6- A Síndrome Metabólica

A Síndrome Metabólica, Plurimetabólica ou Síndrome X inicialmente descrita por Reaven, é caracterizada por um conjunto de alterações metabólicas que incluem resistência à insulina, intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento do VLDL colesterol, diminuição do HDL colesterol e hipertensão arterial. Segundo Reaven, a resistência à insulina seria o fator inicial que desencadearia as demais alterações metabólicas, levando finalmente a um risco aumentado de doenças cardiovasculares, bem como ao surgimento do diabetes tipo 2 (REAVEN, 1988). Há várias tentativas de padronizar uma definição da síndrome metabólica. Uma das mais utilizadas é a estabelecida pelo *Adult Treatment Panel III* (ATP III - NIH, 2002), segundo o qual a síndrome metabólica seria identificada pela presença concomitante de 3 ou mais dos fatores listados na tabela abaixo:

Identificação clínica da Síndrome Metabólica	
Fator de Risco	Nível de Definição
Obesidade central	Circunferência de cintura
Homem	>102 cm
Mulher	>88 cm
Triglicérides	≥150 mg/dl (1,69 mmol/l)
HDL cholesterol	
Homem	<40 mg/dl (1,04 mmol/l)
Mulher	<50 mg/dl (1,29 mmol/l)
Pressão Arterial	≥130/85 mmHg
Glicemia de Jejum	≥100 mg/dl (6,1mmol/l)

Utilizando estes critérios, Ford e colaboradores relataram, em adultos participantes do *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III), uma prevalência em torno de 6,7% na faixa etária dos 20 aos 30 anos, alcançando aproximadamente 43% na faixa dos 60 aos 70 anos (FORD e cols, 2002). O estudo *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) realizou um acompanhamento por 11 anos em americanos de meia-idade (40-65 anos), utilizando os mesmos critérios, e encontrou uma prevalência da Síndrome Metabólica de aproximadamente 23% no início do seguimento. Os indivíduos portadores de Síndrome Metabólica apresentaram uma probabilidade 1,5 a duas vezes maior de desenvolver doença cardiovascular e acidente vascular cerebral em relação aos demais (McNEILL e cols, 2005).

Nas diversas classificações da síndrome metabólica, a obesidade, caracterizada metabolicamente por hiperinsulinemia e resistência à insulina (BONADONNA e cols, 1990; POLONSKI e cols, 1988) é freqüentemente incluída como um de seus componentes. E, segundo Wajchenberg, embora não se possa ainda estabelecer uma relação de causa e efeito, a obesidade, principalmente com distribuição corporal central é um elo de ligação importante entre os vários componentes da síndrome metabólica. Embora se discuta a heterogeneidade encontrada entre obesos com graus semelhantes de acúmulo de tecido

adiposo abdominal, foi proposto que este acúmulo seria um fator modulador para uma eventual susceptibilidade genética aos componentes da síndrome metabólica (WAJCHENBERG, 2000).

Também se inclui atualmente como componente da síndrome um estado pró-inflamatório, que está geralmente associado à obesidade central (ATP III - NIH, 2002). De fato, algumas citocinas e hormônios secretados pelas células adiposas têm sido associados à resistência à insulina favorecendo o desenvolvimento do diabetes tipo 2 (PRADHAN e cols, 2001; HUBE, 1999; YUDKIN e cols, 1999). Quanto mais componentes da síndrome metabólica estão presentes em um indivíduo, maiores as concentrações de marcadores inflamatórios detectadas (PICKUP, 2004).

Portanto, o que se pode afirmar é que a síndrome metabólica é um conjunto de múltiplos fatores ou marcadores de risco que apresentam uma grande interação entre si, embora uma relação direta de causa e efeito entre tais componentes ainda não tenha sido comprovada (FERRANNINI, 2007; KAHN e cols, 2005).

1.7- O Tecido Adiposo

É um tipo especial de tecido conjuntivo constituído por células denominadas adipócitos, e seus precursores, os pré-adipócitos, por células endoteliais, pois é ricamente vascularizado e por um tecido de sustentação (estroma) composto de fibras reticulares. Em pessoas com IMC normal (eutróficos) o tecido adiposo corresponde a 20-25% do peso corporal na mulher e a 15-20% no homem. Na obesidade ocorre um aumento do tecido adiposo tanto pela capacidade de armazenamento dos adipócitos (hipertrofia) como pelo número de adipócitos que se diferenciam a partir dos pré-adipócitos (hiperplasia).

A função mais conhecida e compreendida deste tecido é o acúmulo de energia na forma de triglicérides, que em situações de necessidade como no jejum, podem ser liberados rapidamente na forma de ácidos graxos livres e glicerol, garantindo assim a manutenção da homeostase. O controle da estocagem e da liberação de lipídeos se dá graças à inervação simpática do tecido adiposo, e à presença, na membrana dos adipócitos, de receptores para diversos hormônios como glicocorticóides, insulina e hormônios tireoideanos (BERNE e cols, 2004).

Por outro lado, desde a identificação da leptina, um polipeptídeo produzido no tecido adiposo que relata ao cérebro o estado dos estoques de energia do corpo, (ZHANG e cols, 1994) o tecido adiposo vem sendo considerado um verdadeiro órgão multifuncional, secretor de hormônios, peptídeos e citocinas, como angiotensinogênio, estrógeno, cortisol, PAI-1 (fator inibidor de ativação do plasminogênio) (HE e cols, 2000), adiponectina, (MAEDA e cols, 1996) TNF- α (Fator de Necrose Tumoral Alfa) (KERN e cols, 1995) e IL-6 (Interleucina-6) (MOHAMED-ALI e cols, 1998). Alterações das concentrações circulantes destes produtos de secreção foram relatadas em pessoas obesas (KERN e cols, 2001; BASTARD e cols, 2000; YUDKIN e cols, 1999; ARITA e cols, 1999) voltando-se o foco de investigação para a ligação existente entre tais variações, o aumento da massa adiposa e suas conseqüências metabólicas.

1.8- As Citocinas

Citocinas são proteínas de sinalização celular que controlam as interações entre as células do sistema imunológico, onde foram primeiramente identificadas. Formam um grupo diversificado e regulam não apenas as respostas inflamatórias locais e sistêmicas, mas também a cicatrização de feridas, a hematopoese e outros processos biológicos. Até hoje foram identificadas mais de cem citocinas estruturalmente distintas e geneticamente não-relacionadas. Trata-se de compostos extremamente potentes, que atuam em baixíssimas concentrações (10^{-9} – 10^{-5} M) através de sua ligação a receptores específicos nas células-alvo. A maioria delas parece atuar apenas localmente, de maneira parácrina (isto é, em células adjacentes) ou autócrina (na própria célula que a produz). Muitas são funcionalmente redundantes, isto é, verifica-se uma extensa superposição de suas atividades. Além disso, uma citocina pode induzir a secreção de outras ou de mediadores, produzindo assim uma cascata de efeitos biológicos (OPPENHEIM e col, 2000). São produzidas e liberadas por várias células como macrófagos, monócitos, linfócitos, adipócitos e células endoteliais (WAJCHENBERG, 2000; YUDKIN e cols, 1999). Vários estudos demonstraram que algumas citocinas encontram-se elevadas em obesos, e que com o emagrecimento suas concentrações circulantes decaem (ZICCARDI e cols, 2001; BASTARD e cols, 2000).

O mecanismo básico pelo qual as citocinas, secretadas pelo tecido adiposo ao serem lançadas na circulação, desencadeariam o processo inflamatório seria através de estímulo para a produção de proteínas de fase aguda pelo fígado, o que levaria a uma inflamação sistêmica de intensidade variável (BASTARD e cols, 2006; TATARANNI, e cols, 2005).

Dentre as principais citocinas relacionadas à obesidade, também conhecidas como adipocinas e que vêm sendo largamente estudadas estão a adiponectina, o TNF- α e a IL-6.

1.9- O TNF- α

O Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) humano é produzido predominantemente por macrófagos ativados, monócitos e também pelo tecido adiposo (HOTAMISLIGIL e cols, 1995).

Possui várias ações pró-inflamatórias e imuno-regulatórias como aumento da ativação dos linfócitos T-auxiliares (T-helper) e da produção de imunoglobulinas e indução da resposta de fase aguda pelo fígado. Nesta situação, os hepatócitos aumentam a produção de proteínas plasmáticas importantes para a defesa inespecífica do hospedeiro contra infecções, como por exemplo, a Proteína C-reativa (CRP) (OPPENHEIM e col, 2000).

Diferentes estudos demonstraram que a obesidade correlaciona-se com um aumento da expressão de TNF- α pelos adipócitos, em animais (HOTAMISLIGIL e cols, 1993) e em humanos (BASTARD e cols, 2000; DANDONA e cols, 1998), sugerindo que esta citocina desempenhe um papel importante no desenvolvimento dos distúrbios metabólicos associados ao excesso de peso. Observa-se, porém que alguns trabalhos não encontraram aumento significativo das concentrações circulantes de TNF- α (KERN e cols, 2001; MOHAMED-ALI e cols, 1997), o que leva a propor a hipótese de que o TNF- α expresso pelos adipócitos exerceria uma ação predominantemente parácrina ou autócrina. Assim, o tecido adiposo seria a fonte e o principal alvo desta citocina (WAJCHENBERG, 2000). No tecido adiposo de roedores obesos observou-se uma infiltração de macrófagos que seria responsável pela alta produção de marcadores inflamatórios, como o TNF- α .

Tal alteração também foi constatada no tecido adiposo de pacientes obesos (BASTARD e cols, 2006).

O TNF- α age sobre o tecido adiposo estimulando a lipólise (ZHANG e cols, 2002; FEINGOLD e cols, 1992) por aumentar a atividade da lipase hormônio-sensível (KERN e cols, 1995; PATTON e cols, 1986) enzima que retira os lipídeos estocados no tecido adiposo, liberando-os na circulação, bem como através de inibição da lipase lipoprotéica (LPL) (OPPENHEIM e col, 2000), enzima que remove os lipídeos da circulação depositando-os nos adipócitos. Estes efeitos, em conjunto, podem acarretar aumento das concentrações circulantes de ácidos graxos livres (AGL), contribuindo para a resistência à insulina (KERN e cols, 2001). O TNF- α do tecido adiposo induz a produção de IL-6 (MOHAMED-ALI e cols, 1997) que, por sua vez induz a produção de Proteína C-reativa, acarretando o surgimento de um estado de inflamatório subclínico presente na obesidade.

Em relação ao metabolismo dos carboidratos, o TNF- α diminui a expressão do transportador de glicose GLUT4 (MINGRONE e cols, 2002), e é capaz de inibir a sinalização da insulina em adipócitos humanos *in vitro* (LIU e cols, 1998). Os mecanismos propostos envolvem a fosforilação da serina do IRS-1, impedindo sua associação com a PI 3-quinase (fosfatidilinositol 3-quinase) (KANETY e cols, 1995) ou ainda a redução da ação tirosina-quinase do receptor de insulina (HOTAMISLIGIL e cols, 1994 e 1996). Em modelos experimentais utilizando ratos obesos e resistentes à insulina, a neutralização do TNF- α , através da administração de um receptor recombinante (TNFR-IgG), provocou um aumento considerável na captação de glicose, sem, no entanto causar qualquer modificação na produção hepática, sugerindo que o TNF- α é capaz de induzir resistência à insulina nos tecidos periféricos (HOTAMISLIGIL e cols, 1993).

1.10- Interleucina-6 e proteína C-reativa

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina com múltiplas atividades biológicas produzida por muitos tipos celulares como linfócitos T e B ativados, monócitos, fibroblastos, células endoteliais e adipócitos. O tecido adiposo é uma importante fonte de

IL-6 para a circulação sistêmica existindo uma correlação direta entre produção de IL-6 e massa adiposa (MOHAMED-ALI e cols, 1997) e havendo evidências de que o tecido adiposo visceral seja o maior responsável por esta produção (FRIED e cols, 1998). Por outro lado, uma redução da massa adiposa através do emagrecimento, conforme demonstrado por Bastard e colaboradores (2000) se acompanha de uma redução das concentrações circulantes de IL-6.

Dentre os fatores que induzem a expressão da IL-6 estão o TNF- α , a interleucina-1 (IL-1) e outros agentes que ativam linfócitos e macrófagos (OPPENHEIM e col, 2000). A secreção de desta citocina pelos adipócitos é estimulada pela administração de insulina (VICENNATI e cols, 2002) e de catecolaminas, via receptores beta-adrenérgicos (MOHAMED-ALI e cols, 2001).

Uma das funções mais conhecidas e estudadas da IL-6 é estimular a produção Proteína C-reativa (CRP), pelos hepatócitos. Esta proteína é a principal mediadora da resposta inflamatória de fase aguda, e possui funções imuno-reguladoras como o recrutamento e ativação do sistema complemento, o aumento da reatividade leucocitária, e o estímulo da liberação de citocinas como a IL-1, IL-18, a própria IL-6 e o TNF- α (BLACK e cols, 2004). Paralelamente à função de defesa, a Proteína C-reativa, possui também diversas ações que estariam implicadas na patogênese de doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, intolerância à glicose e diabetes tipo 2, como tem sido demonstrado por diversos estudos que correlacionam concentrações circulantes discretamente elevadas de CRP, e o risco aumentado de desenvolver tais doenças (BULLÓ e cols, 2003; MATSUBARA e cols, 2003; TAN e cols, 2003; PRADHAN e cols, 2001). A Proteína C-reativa, aumenta, por exemplo, a expressão de moléculas de adesão endotelial (PASCERI e cols, 2000) e a captação de LDL colesterol pelos macrófagos (ZWAKA e cols, 2001) e inibe a óxido-nítrico-sintetase endotelial (VENUGOPAL e cols, 2002). E ainda há trabalhos demonstrando a correlação existente entre CRP e medidas de obesidade (IMC e relação C/Q), evidenciando a forte contribuição da adiposidade aumentada na etiologia da inflamação crônica associada a estes distúrbios (BULLÓ e cols, 2003; CHAN e cols, 2002; YUDKIN e cols, 1999).

Sendo a IL-6 a principal responsável pela produção hepática de CRP, suas concentrações circulantes estão igualmente associadas à resistência à insulina (FESTA e cols, 2003), IMC (VOZAROVA e cols, 2001), risco aumentado de doença cardiovascular (YUDKIN e cols, 1999), e ao surgimento do diabetes tipo 2 (PRADHAN e cols, 2001; PICKUP e cols, 1997). A correlação direta entre as concentrações circulantes de IL-6 e resistência à insulina (BASTARD e cols, 2000) sugere que ela pode ser importante como um regulador local da ação da insulina ou ainda, como um hormônio circulante, levando a um aumento da resistência à insulina no tecido muscular (KERN e cols, 2001). Em pacientes com diabetes tipo 2 tanto as concentrações séricas de IL-6 como de TNF- α encontram-se elevadas (PICKUP e cols, 2000). Em humanos, a administração subcutânea de IL-6 recombinante provocou pequenos aumentos dose-dependentes da glicemia de jejum (TSIGOS e cols, 1997).

Experimentos em animais têm evidenciado as múltiplas ações desta citocina. Roedores que tiveram o gene que codifica a IL-6 desligado desenvolveram obesidade, parcialmente revertida, apenas nos transgênicos, com a administração exógena de IL-6. Apresentaram, ainda, diminuição da tolerância à glicose e aumento dos triglicérides. Já a administração intracerebroventricular de IL-6 em ratos Wistar aumentou o gasto energético (WALLENIUS e cols, 2002b) e em outro estudo, a administração central reduziu a massa adiposa, e diminuiu a ingestão alimentar, sem gerar reação de fase aguda (WALLENIUS e cols, 2002a). Portanto há evidências de que a ação da IL-6 no sistema nervoso central difere de sua ação periférica. Por sua vez, a administração endovenosa, em ratos, aumentou as concentrações séricas de ácidos graxos livres e a secreção hepática de triglicérides (NONOGAKI e cols, 1995). Já em humanos eutróficos aumentou a reesterificação de ácidos graxos e a oxidação lipídica sem causar aumento de triglicérides (HALL e cols, 2003). Tal como o TNF- α , a IL-6 possui efeito lipolítico, pois reduz a expressão e atividade da LPL (lipase lipoprotéica) (TRUJILLO e cols, 2004).

Os mecanismos moleculares de ação da IL-6 ainda não estão totalmente esclarecidos. Bastard e cols (2002) demonstraram pela primeira vez em humanos que o tecido adiposo subcutâneo abdominal expressa o receptor de IL-6, o que sugere que esta citocina estaria envolvida em mecanismos de regulação parácrinos ou autócrinos dos adipócitos. Em estudos de adipócitos *in vitro*, a administração de IL-6 além de comprovar

esta estimulação autócrina, induziu resistência à insulina através de uma inibição aguda da fosforilação dos componentes da cascata de sinalização da insulina, mais precisamente na subunidade beta do receptor de insulina (LAGATHU e cols, 2003). Em tecido adiposo de indivíduos resistentes à insulina, ficou demonstrado que a expressão gênica da IL-6 encontra-se exacerbada, exercendo efeitos inibitórios na transcrição do IRS-1, do GLUT4 e do PPAR γ (ROTTER e cols, 2003).

1.11- Adiponectina

A adiponectina foi descoberta simultaneamente por diferentes grupos de estudos, recebendo diferentes denominações como apM1, ACRP30, ou adipoQ. Trata-se de uma adipocina produzida abundantemente pelo tecido adiposo e que circula em altas concentrações plasmáticas (ARITA e cols, 1999). Tais concentrações circulantes podem ser afetados por fatores como sexo, idade e estilo de vida e, ao contrário de outras adipocinas, encontram-se diminuídas em portadores de obesidade (KADOWAKI e col, 2005) bem como de diabetes tipo 2 (HOTTA e cols, 2000) e doença cardiovascular (OUCHI e cols, 1999). E correlacionam-se positivamente com a sensibilidade à insulina e negativamente com a produção endógena de glicose (WEYER e cols, 2001; STEFAN e cols, 2003).

Esta adipocina possui algumas particularidades que a diferenciam dos demais produtos secretados pelo tecido adiposo. Tem a capacidade de aumentar a sensibilidade à insulina, a oxidação de lipídeos e a captação de glicose pelo músculo, e diminuir a liberação hepática de glicose (KADOWAKI e col, 2005). Seus efeitos são mediados via AMPK, um regulador do balanço energético do organismo, que controla importantes enzimas como a acetil-CoA carboxilase, essencial no processo de beta oxidação de ácidos graxos, a fosfoenolpiruvato carboxiquinase e a glicose-6-fosfatase, duas enzimas chaves no processo de neoglicogênese (YAMAUCHI e cols, 2002). Dois receptores da adiponectina foram identificados por Kadowaki e colaboradores: adipoR1 expresso em grande quantidade em músculo esquelético e adipoR2, expresso principalmente no fígado.

Possui efeito protetor contra aterogênese, pois inibe moléculas de adesão (VCAM-1 e ICAM-1) e diminui adesão de monócitos às células endoteliais (OUCHI e cols, 1999), dois processos cruciais no surgimento de doenças cardiovasculares.

E ainda propriedades antiinflamatórias, pois é capaz de inibir a atividade fagocitária e a produção de TNF- α pelos macrófagos (BASTARD e cols, 2006; YOKOTA e cols, 2000). Por sua vez, IL-6 e TNF- α reduzem a expressão do RNA mensageiro da adiponectina (BRUUN e cols, 2003) sendo esta talvez mais uma forma pela qual estas citocinas induziriam resistência à insulina e aterosclerose.

Quanto aos efeitos da insulina sobre adiponectina em humanos, os resultados são controversos, pois há um estudo demonstrando a supressão da adiponectina pela administração de insulina (BRAME e cols, 2005) e outro que demonstrou o estímulo da expressão de adiponectina após infusão de insulina (WESTERBACKA e cols, 2006).

Diante de todo o exposto, fica evidente que a função metabólica do tecido adiposo e das adipocinas a ele associadas é objeto de intensa investigação, sendo que a importância de cada um desses componentes em relação à obesidade grave e à resistência à insulina não está totalmente esclarecida.

Este trabalho tem o objetivo de contribuir com elementos para a elucidação das inter-relações entre obesidade, resistência à insulina, hiperinsulinemia, adiponectinemia, TNF- α , IL-6 e CRP.

1.12- O Universo deste Estudo

Apesar de todas as alterações mencionadas, a fisiopatologia da obesidade não está totalmente esclarecida. Além disto, o sucesso terapêutico nos pacientes obesos, a obtenção e manutenção do peso ideal através de dietas em associação ou não com aumento da atividade física e com a administração de fármacos ocorrem em pequeno número de casos, pois envolvem complexas modificações do estilo de vida. Estas dificuldades se multiplicam nos pacientes portadores de obesidade grave. A abordagem que tem apresentado os melhores resultados em relação à perda de peso, e em relação à morbi-mortalidade, com menores taxas de recidivas é a cirurgia bariátrica (DEMARIA, 2005).

A avaliação destes pacientes com diferentes graus de tolerância à glicose, antes da cirurgia, com investigação detalhada da sensibilidade à insulina, das concentrações séricas de adipocinas e suas correlações é o objetivo maior deste trabalho.



2- OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Avaliar as concentrações séricas de adiponectina, TNF- α , IL-6, Proteína C-reativa e sensibilidade à insulina em pacientes obesos graves portadores de diferentes graus de tolerância à glicose e em voluntários com peso corporal normal (eutróficos - grupo controle), submetidos ao *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico e verificar a correlação entre estas variáveis.

Objetivos Específicos

- Avaliar as concentrações séricas de adiponectina, TNF- α , IL-6, Proteína C-reativa e ácidos graxos livres em pacientes com obesidade grave, portadores de diferentes graus de tolerância à glicose e em voluntários com peso normal (eutróficos - grupo controle) em condições de jejum e em resposta à infusão de insulina;
- Avaliar a sensibilidade à insulina;
- Avaliar o perfil lipídico, ácido úrico e creatinina séricos;
- Comparar todos os resultados obtidos em pacientes obesos com aqueles dos indivíduos eutróficos;
- Avaliar a correlação de adiponectina, TNF- α , IL-6, e Proteína C-reativa com a sensibilidade à insulina nos pacientes obesos, no grupo controle, bem como no conjunto de todos os participantes.



3- MATERIAL E MÉTODOS



3.1- Tipo, População e Local de Estudo

O estudo, do tipo corte transversal foi realizado em adultos entre 22 e 54 anos com obesidade grave (n=32), atendidos no ambulatório de cirurgia da obesidade do HC-UNICAMP, antes de serem submetidos à cirurgia bariátrica, no período de outubro de 2002 a agosto de 2004 e em indivíduos eutróficos (n=9) pareados aos pacientes obesos quanto a sexo e idade. As características gerais dos dois grupos constam da Tabela 1.

3.2- Métodos de Convocação

Os pacientes agendados para realização da cirurgia bariátrica, com características clínicas e antropométricas compatíveis com os critérios de inclusão e exclusão do protocolo de pesquisa, foram convidados a participar do estudo. Os indivíduos eutróficos foram selecionados entre a comunidade universitária, e entre as pessoas que procuram os ambulatórios do departamento de medicina interna.

3.3- Critérios de Inclusão e Exclusão

O estudo foi realizado com os indivíduos que aceitaram participar e que tivessem entre 18 e 60 anos idade, e para os indivíduos obesos, IMC entre 40 e 50Kg/m². Os critérios de exclusão utilizados foram: uso de reposição hormonal, insuficiência renal e hepática, uso de corticóides ou outros fármacos que interferissem na sensibilidade ou na secreção de insulina e hipertensão arterial grave ou sem controle. Hipertensão arterial foi definida como pressão sistólica maior ou igual a 140 mmHg ou pressão diastólica maior ou igual a 90 mmHg, e hipertensão arterial grave como pressão sistólica maior ou igual a 160 mmHg ou pressão diastólica maior ou igual a 100 mmHg, de acordo com os critérios do *Joint National Committee VII* (NIH, 2003). Inicialmente realizamos um Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) para a classificação dos diferentes graus de tolerância à glicose, de acordo com os critérios revisados da *American Diabetes Association*, 2003.

3.4- Aspectos Éticos

Todos os voluntários incluídos foram informados e esclarecidos previamente sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

3.5- Variáveis

Os pacientes foram avaliados quanto às medidas antropométricas, de composição corporal, sensibilidade à insulina, pressão arterial, frequência cardíaca e foram efetuadas dosagens bioquímicas em sangue coletado durante os exames. Demais informações coletadas foram: idade, sexo, antecedentes de doenças pessoais e familiares.

3.6- Protocolo Experimental

Os voluntários compareceram em duas ocasiões à Unidade Metabólica para a realização dos exames. No primeiro dia, foram submetidos ao Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG), avaliação antropométrica e a avaliação da pressão arterial. Em uma outra data foi realizado o *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico, com duração de 180 minutos, havendo um intervalo mínimo de sete dias entre cada um dos estudos.

3.7- Medidas Antropométricas

A mensuração de peso foi realizada através da utilização de balança mecânica da marca Welmy com precisão de 100g, sendo que o voluntário encontrava-se vestindo roupas leves e sem sapatos. Para a medida da altura foi utilizado estadiômetro acoplado à balança com divisão de 0.5 cm. A medição foi realizada com o indivíduo descalço.

A circunferência da cintura foi medida no ponto mais estreito entre a última costela e a crista ilíaca, com fita métrica com escala milimétrica. Os valores encontrados foram arredondados para o centímetro mais próximo. A circunferência do quadril foi determinada com a mesma fita métrica, na porção mais larga da região glútea, sendo arredondada para o centímetro mais próximo (KISSEBAH, 1997).

3.8- Avaliação da Composição Corporal

A avaliação da composição corporal por bioimpedância elétrica (BIA) foi realizada utilizando-se aparelho Biodynamics Modelo 310 (Biodynamics Corp, Seattle, WA) (FULCHER, 1991), após um jejum mínimo de 4 horas. Além disso, os pacientes foram orientados a não ingerir bebida alcoólica, café, coca cola, guaraná, chá mate ou preto e a não praticar exercícios físicos no dia anterior ao estudo (MATTAR, 1995). No exame de bioimpedância, os valores de massa magra, peso de água, gordura corporal e porcentagem de gordura corporal foram estimados através de equações contidas no software do próprio aparelho, utilizando os valores de bio-resistência obtidos em cada paciente.

3.9- Avaliação da Pressão Arterial

A pressão arterial foi medida através de esfigmomanômetro de mercúrio, após repouso mínimo de 15 minutos em decúbito dorsal. Quando o diâmetro do braço era maior que 30 cm, foram utilizadas braçadeira e manguito apropriados, ou seja, mais longos (RASTAM, 1990). Foram obtidas três medições, com intervalo de 1 minuto entre elas e a média das duas últimas medidas foi computada.

3.10- Estudos Metabólicos

3.10.1- Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)

Os voluntários compareceram pela manhã, em jejum de dez a doze horas. O exame foi realizado com o voluntário em repouso, em ambiente tranquilo com temperatura constante ao redor de 25 °C. O teste foi precedido de um período basal de 60 minutos. Antes do estudo, os voluntários foram orientados a esvaziar a bexiga, momento este considerado como o início do período basal. A seguir foram realizados os seguintes procedimentos: preenchimento de ficha cadastral, assinatura do termo de consentimento, verificação do peso e da altura, medida de cintura e quadril e realização da BIA.

Em seguida, foi puncionada uma veia na região antecubital de um dos membros superiores para a coleta das amostras de sangue. Nesta fase, foram coletadas duas amostras de sangue para dosagens basais de glicemia e insulinemia (tempos -30' e 0'). De dez a quinze minutos após a punção venosa foram aferidas a pressão arterial e a frequência do pulso. A seguir, os indivíduos ingeriram 75 gramas de glicose em solução aquosa com volume total de 300 ml, em até 5 minutos (tempo zero – início da ingestão). Seguiu-se então, um período experimental de 120 minutos, durante o qual foram coletadas amostras de sangue nos tempos, 30, 60, 90 e 120 minutos após a ingestão da glicose, para as análises séricas de insulina e glicose.

3.10.2- *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico

O *clamp* foi realizado seguindo a técnica previamente proposta por DEFRONZO e cols, 1979. Seu objetivo é a avaliação da sensibilidade à insulina. Os participantes foram orientados a comparecer à Unidade Metabólica em jejum de alimentos por um período de 12 horas, com livre ingestão de água. O exame incluiu 120 minutos de período basal, 180 minutos de período experimental, ou seja, de infusão de insulina e 60 minutos para a observação do paciente após o término da infusão insulínica, com o objetivo de evitar hipoglicemia. Os períodos de 60' a 120' e 120' a 180' foram considerados respectivamente “*Steady State 1*” (SS1) e “*Steady State 2*” (SS2).

O estudo tinha início com a mensuração do peso e o horário, considerado como início do período basal, era anotado. A seguir, oferecíamos 200 ml de água e puncionávamos 2 veias periféricas utilizando-se cateter de teflon agulhado número 20GA ou 22GA, de preferência homolateral no membro superior, sendo a primeira punção em sentido retrógrado em veia antecubital e a segunda no antebraço, próximo ao cotovelo. Cada cateter foi fixado a um sistema de três vias. A mão onde foi puncionada a veia antecubital permanecia em caixa aquecida entre 50 e 60° C, para diminuir a diferença artério-venosa (“arterialização” do sangue venoso) (Mc GUIRE, 1976). O sistema era mantido permeável através da injeção de 3ml de solução salina ou, quando necessário, 1ml de solução de heparina (1000 UI diluídas em 20ml de SF). Durante todo o

experimento, as amostras de sangue eram coletadas desta veia, sendo desprezados 2ml iniciais, por estarem diluídos com a solução de heparina. A dose de insulina foi calculada para obter uma administração intravenosa de $40 \mu\text{UI}/\text{m}^2$ de superfície corporal por minuto. A insulina regular humana era colocada numa seringa contendo 56 ml de soro fisiológico e 4 ml de sangue do próprio paciente, a fim de evitar que o hormônio aderisse à parede interna da seringa. Foram coletadas amostras basais de sangue para dosagens (tempo-120 e 0) de glicemia, insulinemia, adiponectina, TNF- α , IL-6, e Proteína C-reativa.

Foram realizadas três medidas da pressão arterial e da frequência cardíaca no período basal do *clamp*. Foi considerado o período experimental ou “*clamp*” o intervalo entre o início e o final da infusão de insulina. De 0 a 4 minutos, esta foi mantida em 45,6 ml/h, correspondente a quatro vezes a velocidade de $40\mu\text{U}/\text{m}^2\text{SC}/\text{min}$. Aos 4 minutos foi reduzida para 22,8 ml/h, correspondente a 2 vezes o valor calculado e por fim, a partir do sétimo minuto, para de 11,4 ml/h, constante até o fim do período experimental, (tempo 180 minutos).

A infusão de glicose foi iniciada simultaneamente à de insulina. De 0 a 4 min foram infundidos 0,5 mg/kg/min; de 4 a 7 min 1,0 mg/kg/min e de 7 a 10 min 1,5 mg/kg/min. A partir deste tempo, a velocidade de infusão dependeu dos valores das glicemias medidas a intervalos de cinco a dez minutos, em amostras de 1 ml de sangue. O objetivo do ajuste da infusão foi manter a glicemia o mais próximo possível da média das glicemias medidas no período basal (variação $\leq 10\%$). No caso dos diabéticos a infusão de glicose foi iniciada quando a glicemia atingiu valores entre 100 e 120 mg/dl.

A solução contendo a insulina regular e a solução de glicose a 10% foram infundidas na veia antecubital. Para a glicose usou-se uma bomba de infusão (AVI 270, 3M Health Care, EUA) e a insulina foi administrada através de bomba de infusão com precisão de frações decimais (AVI syringe pump, modelo 600, 3M Health Care, EUA).

Foram coletadas amostras de sangue nos tempos 30, 60, 90, 120 e 180 minutos para dosagens bioquímicas de insulina, colesterol, uréia, creatinina, ácido úrico, ácidos graxos livres, adiponectina, TNF- α , IL-6 e Proteína C-reativa.

Foi então oferecida uma refeição para o voluntário, e durante a alimentação reduziu-se progressivamente a infusão de glicose sempre para a metade do valor que estivesse sendo infundido, mantendo o controle através da glicemia. Este procedimento foi mantido até que a glicemia estivesse estável, sem a necessidade de administração de glicose, e se estendeu, em média, por uma hora.

3.11- Acondicionamento e Estocagem de Amostras

As amostras de sangue e urina coletadas, exceto aquelas para glicemia, foram colocadas imediatamente na geladeira e, ao término do estudo, foram centrifugadas em centrífuga refrigerada a 4°C (Eppendorf Centrifuge 5804 R, Alemanha), a 3.000 rpm, por 15 minutos. Foram a seguir divididas em alíquotas e armazenadas em *freezer* a -20° C, para dosagem posterior.

3.12- Métodos Analíticos

-Ácido úrico, colesterol total e frações lipídicas, uréia e creatinina:

As dosagens foram realizadas em soro utilizando-se reagentes Wiener (Argentina) em equipamento automatizado Cobas Mira Plus (Roche). O controle de qualidade para essas análises foi realizado com o *kit* Standatrol SE 2 níveis, marca Wiener.

-Citocinas: Foram dosadas em soro, pelo método ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), sendo que as leituras foram realizadas em leitor de microplacas da marca Bio-Rad, modelo 680 (Japão).

-Para o TNF- α : foi utilizado o reagente Quantikine HS – HSTA00C (R&D Systems, Minneapolis, MN), com sensibilidade de 0,06-0,32 pg/ml. Valores de referência: 0,5 a 4,71 pg/ml.

-Para a **Interleucina-6 (IL-6)**: foi utilizado o reagente Quantikine HS – HS600B (R&D Systems, Minneapolis, MN), com sensibilidade de 0,016-0,110 pg/ml. Valores de referência: 0,447 a 9,96 pg/ml.

-Para a **Adiponectina**: foi utilizado o *kit* Human Adiponectin ELISA, (Linco Research Inc., Missouri, USA) com sensibilidade de 0,78 ng/ml. Valores de referência: 1,9-17mg/ml (ARITA e cols, 1999).

-**Proteína C-reativa**: Foi dosada em soro pelo método de imunonefelometria por concentração de partículas, em nefelômetro Array 360 da marca Beckman Instruments, Inc., modelo 4480, utilizando-se o reagente N High Sensitivity CRP (Dade Behring, Alemanha). A sensibilidade do método é de 0,017mg/dl. Valor de referência $\leq 0,03$ mg/dl para indivíduos saudáveis.

-**Insulina**: Foi dosada por radioimunoensaio em soro, em duplicata, utilizando-se reagentes da Linco Research Inc (EUA). A reação cruzada com a pró-insulina é menor que 0,2% e os valores de referência para pacientes em jejum são: 5-15 μ U/ml (30-90 pmol/l). A leitura foi realizada em contador gama Marca Beckman Instruments Inc.

-**Ácidos graxos livres**: Foram dosados por método colorimétrico-enzimático, em soro, utilizando *kit* da marca Wako Chemicals (Alemanha), e a leitura realizada em leitor de microplacas da marca Bio-Rad, modelo 680. A sensibilidade do método é de 0,075 mEq/l. Valores de referência para pacientes em jejum: 0,1-0,6mEq/L.

-**Glicose sérica**: Foi dosada em duplicata por técnica de oxidação de glicose em equipamento automatizado, *glucose analyser* da marca Beckman Instruments Inc. Modelo 6517. Coeficiente de variabilidade do fornecedor $\pm 3\%$.

3.13- Cálculos e Fórmulas

-Índice de Massa Corpórea (IMC): Foi calculado pela divisão do peso, em quilos, pela altura, em metros, ao quadrado. A classificação do estado nutricional por IMC foi realizada, para ambos os sexos, através dos critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO 2000).

-Área sob as curvas (ASC) de glicose e insulina no Teste Oral: As áreas sob as curvas de insulina e glicose no teste oral (TOTG) foram obtidas através do cálculo da área do trapézio considerando-se toda a área sob as respectivas curvas (POTTEIGER, 2002). Áreas incrementais foram calculadas como a diferença entre a ASC total e a área que seria obtida se o valor basal de insulina ou glicose fossem mantidos ao longo do tempo experimental (ASC incr = ASC total – (valor basal x tempo experimental em min)).

-Sensibilidade à insulina (valor de M): Foi calculada pela taxa de infusão exógena de glicose (TIEG) durante o período do *clamp*. Pressupondo-se que nas concentrações circulantes de insulina atingidas durante o *clamp* ocorreu a total supressão da produção endógena de glicose (BONADONNA, 1990). O valor obtido foi corrigido pelas variações da glicemia, considerando-se o volume de distribuição corporal da glicose de 250 ml/Kg de peso corporal (DEFRONZO, 1979). Os valores foram corrigidos pelo peso corporal ou pela massa magra (MM).

-Clearance de insulina

Avaliado durante o *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico de acordo com a fórmula:

$$\text{Clearance de Insulina} = \frac{\text{Taxa de infusão de insulina}}{\text{Ins SS} - (\text{Ins basal} * 0,5)}$$

(ELAHI, 1982)

Onde SS: *Steady State*, foram considerados os períodos experimentais de 60 a 120 minutos como SS1 e de 120 a 180 minutos como SS2.

-Lipídeos: A fração de colesterol LDL foi calculada a partir da fórmula de Friedewald: $\text{COLESTEROL TOTAL} - (\text{HDL} + (\text{TRIGLICÉRIDES}/5))$; e para a fração de colesterol VLDL foi utilizada a fórmula de Friedewald: $\text{COLESTEROL VLDL} = \text{TRIGLICÉRIDES}/5$.

3.14- Critérios de Classificação

-Tolerância aos carboidratos: A tolerância aos carboidratos e o diagnóstico de diabetes foram definidos de acordo com os critérios revisados da *American Diabetes Association*, 2003, a partir do Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG):

	Glicemia de Jejum	Glicemia após 2h (TOTG)
Normal (NT)	<110 mg/dl (6,1 mmol/l)	<140 mg/dl (7,8 mmol/l)
Intolerante à glicose (IT)	110-126 mg/dl (6,1 e 7,0 mmol/l)	140-200 mg/dl (7,8 e 11,1 mmol/l)
Diabético (DM)	>126 mg/dl (7,0 mmol/l)	≥200 mg/dl (11,1 mmol/l)

-Valores de pressão arterial: Foram aplicados os critérios do *Joint National Committee VII* para a classificação quanto aos valores de pressão arterial (NIH, 2003).

Classificação da Pressão Arterial em Adultos		
Classificação	Sistólica (mmHg)	Diastólica (mmHg)
Normal	<120	e <80
Pré-hipertensão	120-139	ou 80-89
Estágio 1	140-159	ou 90-99
Estágio 2	≥ 160	ou ≥ 100

-Grau de obesidade: Para a classificação do grau de obesidade, foram utilizados os critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO 2000).

Classificação de Adultos de acordo com o IMC	
Classificação	IMC (em Kg/m ²)
Subpeso	< 18,50
Eutrófico	18,50-24,99
Sobrepeso	25-29,99
Obesidade Classe I	30-34,99
Obesidade Classe II	35-39,99
Obesidade Classe III	≥40

3.15- Análise dos Dados

Todas as informações obtidas e os resultados laboratoriais foram digitados em banco de dados, utilizando-se o programa Excel. A análise estatística foi realizada através do programa Statview®. Inicialmente foi realizada uma análise descritiva de todas as variáveis obtidas e depois comparações entre os tempos (intragrupo) e entre os grupos. Todos os parâmetros coletados e os calculados foram comparados entre eutróficos e obesos através do teste não paramétrico de Mann-Whitney. A comparação intragrupo foi realizada através do teste não paramétrico de Wilcoxon. A relação das variáveis entre si foi avaliada através de teste de Correlação de Spearman e de Regressão Múltipla. Para a comparação das curvas entre os grupos foi efetuada a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas. Os resultados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos.



4- RESULTADOS

4.1- Características Gerais

Todos os 32 pacientes obesos, bem como os 9 controles realizaram o estudo completo. Entretanto, dois estudos de *clamp* (um paciente obeso e um controle) não puderam ser realizados até o final, ficando com um tempo total de 120 minutos.

Os dois grupos eram comparáveis quanto à idade e altura e, por definição experimental diferiam quanto a peso e IMC. A gordura corporal, massa magra e as medidas de cintura e quadril também eram significativamente maiores nos obesos, como se pode observar na Tabela 1.

Tabela 1- Características antropométricas dos obesos e grupo controle

	CT	OB-NT	OB-IT	OB-DM	p^1 IT vs NT	p^2 DM vs NT
Número (m/f)	5/4	5/10	2/9	2/4		
Idade (anos)	35±4	36±2	37±2	41±2	ns	ns
Peso (Kg)	62±3	145±10 ^a	127±9 ^a	133±12 ^b	ns	ns
Altura (cm)	166±3	169±3	161±3	161±4	ns	ns
IMC (Kg/m ²)	22,3±0,6	50,2±2,2 ^a	48,3±2,2 ^a	51,0±3,0 ^b	ns	ns
Cintura (cm)	80±3	130±6 ^a	128±6 ^b	140±6 ^b	ns	ns
Quadril (cm)	98±2	150±5 ^a	141±5 ^b	141±4 ^b	0,05	ns
% gordura	18±2	44±1 ^a	44±1 ^a	43±2 ^b	ns	ns
Massa magra (Kg)	51±3	80±6 ^b	71±5 ^b	75±7 ^b	ns	ns
Gordura (Kg)	11±1	64±5 ^a	57±5 ^a	58±6 ^b	ns	ns
TMB (Kcal/dia)	1557±86	2440±184 ^b	2139±163 ^b	2280±207 ^b	ns	ns

Valores de *p* para comparação entre os grupos através da análise não paramétrica de *Mann Whitney*:

^a – $p \leq 0,0001$; ^b – $p \leq 0,01$ e ^c – $p \leq 0,05$ vs. CT.

p^1 e p^2 - comparação entre os obesos.

Em relação às características metabólicas, (Tabela 2) o perfil lipídico dos grupos foi semelhante, havendo uma pequena diferença apenas em relação às concentrações séricas de triglicérides, que se encontravam maiores em obesos. As concentrações de creatinina, ao contrário, foram mais altas no grupo controle, embora estivessem dentro da faixa de normalidade em todos os voluntários eutróficos ou obesos. O grupo dos diabéticos apresentou, ainda, maiores concentrações de ácido úrico em relação ao grupo controle e, em relação ao subgrupo OB-IT, maiores concentrações de triglicérides, ácido úrico e VLDL-colesterol (todos $p < 0,05$).

Tabela 2- Perfil lipídico, ácido úrico e creatinina séricos no período basal dos obesos e grupo controle

	CT	OB-NT	OB-IT	OB-DM	p^1 IT vs NT	p^2 DM vs NT
Colesterol total (mmol/l)	4,3±0,2	4,9±0,4	4,8±0,2	5,5±0,7	ns	ns
HDL-colesterol (mmol/l)	1,3±0,1	1,2±0,1	1,3±0,1	1,3±0,3	ns	ns
LDL-colesterol (mmol/l)	2,8±0,2	3,5±0,4	3,3±0,2	3,5±0,7	ns	ns
VLDL-colesterol (mmol/l)	0,1±0,1	0,2±0,1 ^b	0,2±0,1 ^c	0,7±0,2 ^b	ns	0,01
Triglicérides (mmol/l)	0,7±0,1	1,2±0,1 ^b	1,0±0,1 ^c	3,4±1,0 ^b	ns	0,01
Ácido úrico (μmol/l)	318,6±29,2	376,3±36,4	340,7±29,4	468,5±25,5 ^b	ns	ns
Creatinina (μmol/l)	82,2±4,9	64,1±5,4 ^c	66,9±6,1 ^c	70,9±5,9	ns	ns

Valores de p para comparação entre os grupos através da análise não paramétrica de *Mann Whitney*:

^a – $p \leq 0,0001$; ^b – $p \leq 0,01$ e ^c – $p \leq 0,05$ vs. CT.

p^1 e p^2 - comparação entre os obesos.

A média das medidas de PAS, PAD e a frequência cardíaca foi semelhantes entre os grupos (Tabela 3). Considerando-se os novos critérios do JNC VII, 7 obesos e 5 controles eram normotensos; 20 obesos e 4 controles foram classificados como portadores de pré-hipertensão e 5 obesos como portadores de hipertensão arterial estágio 1.

Tabela 3- PA e FC basais dos obesos e grupo controle

	CT	OB-NT	OB-IT	OB-DM	p^1 IT vs NT	p^2 DM vs NT
PAS basal (mmHg)	117±3	130±5	123±8	127±5	ns	ns
PAD basal (mmHg)	84±2	77±3	78±3	87±5	ns	ns
FC (bpm)	68±3	74±2	76±2	81±6	ns	ns

Valores de p para comparação entre os grupos através da análise não paramétrica de *Mann Whitney*:

^a – $p \leq 0,0001$; ^b – $p \leq 0,01$ e ^c – $p \leq 0,05$ vs. CT.

p^1 e p^2 - comparação entre os obesos.

4.2- Resultados do Teste Oral de Tolerância à Glicose

Na Tabela 4 são mostrados os resultados da glicemia, insulinemia e os cálculos derivados destas medidas durante o teste oral. Com exceção dos diabéticos, obesos e controles apresentaram glicemia de jejum semelhante. Entretanto, as concentrações séricas de insulina diferiram largamente entre os grupos (Figura 1), chegando a alcançar nos obesos aproximadamente o triplo dos valores dos controles. A área sob a curva de glicose resultante do teste oral demonstrou um aumento progressivo a partir dos controles em direção ao subgrupo de obesos diabéticos. Diferenças significativas foram encontradas ainda entre as áreas sob a curva de insulina, bem como entre as áreas incrementais, muito maiores nos obesos.

Tabela 4- Resultados do teste oral de tolerância à glicose

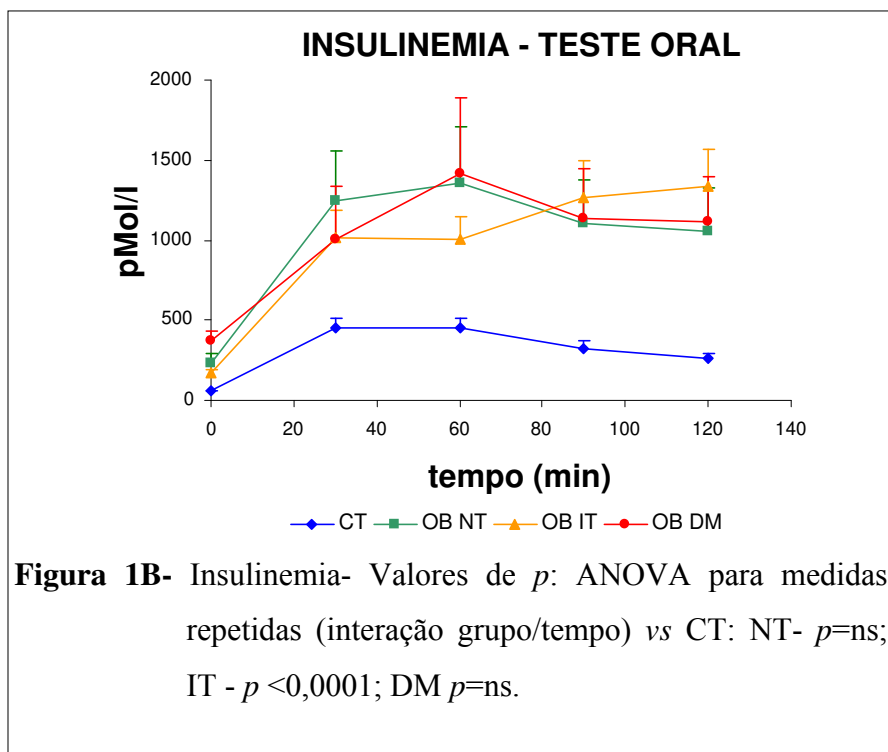
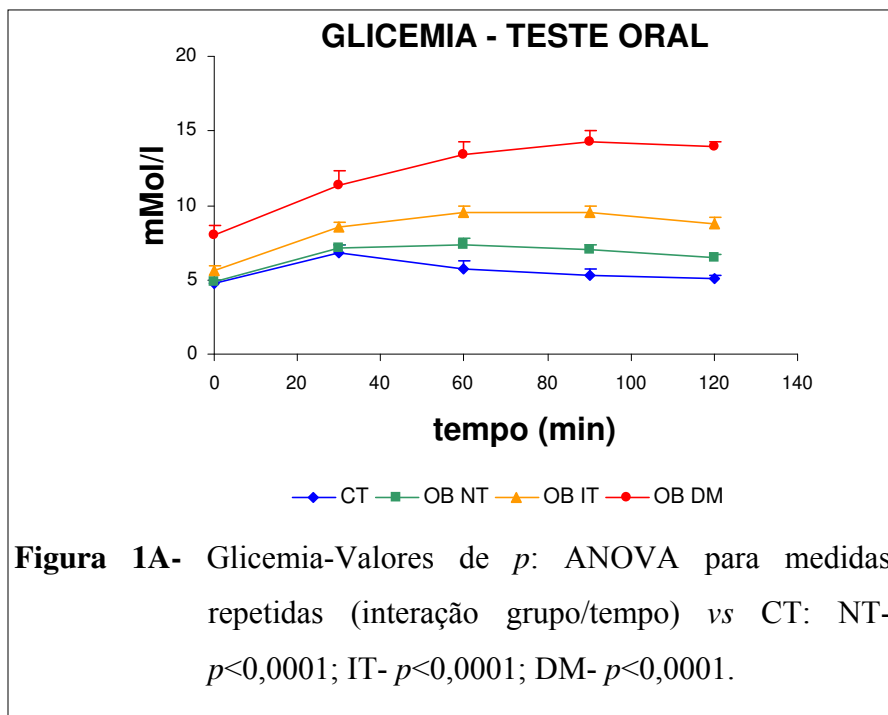
	CT	OB-NT	OB-IT	OB-DM	p^1 <i>IT vs NT</i>	P^2 <i>DM vs NT</i>
Glicemia basal (mmol/l)	4,8±0,2	4,9±0,1	5,6±0,3	8,0±0,6 ^b	0,05	0,0005
Insulinemia basal (pmol/l)	60±5	236±58 ^b	170±21 ^b	375±61 ^b	ns	0,04
ASC glicose (mmol/l.2h)	684±48	814±32 ^c	1042±41 ^b	1500±87 ^b	0,0008	0,0005
ASC insulina (nmol/l.2h)	41,6±4,3	130,7±31,5 ^b	121,1±18,2 ^b	128,9±35,1 ^b	ns	ns
ASC glicose Incr (mmol/l.2h)	106±42	224±25 ^c	375±38 ^b	542±32 ^b	0,003	0,0005
ASC insulina Incr (nmol/l.2h)	34,5±4,2	102,3 ± 27,6 ^c	100,7±16,7 ^b	83,9±31,7 ^b	ns	ns

Valores de p para comparação entre os grupos através da análise não paramétrica de *Mann Whitney*:

^a – $p \leq 0,0001$; ^b – $p \leq 0,01$ e ^c – $p \leq 0,05$ vs. CT.

p^1 e p^2 - comparação entre os obesos.

Figuras 1- Resultados do Teste Oral de Tolerância à Glicose: obesos divididos de acordo com o grau de tolerância à glicose vs. controles



4.3- Resultados do *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico

Durante os períodos de estabilidade do estudo (SS1 e SS2), os valores glicêmicos se mantiveram estáveis com variações menores que 10% em relação à glicemia basal. A infusão de insulina elevou suas concentrações séricas para valores similares entre os grupos, ao redor de 800 pmol/l no grupo controle e ao redor de 1000 pmol/l no grupo dos obesos. Embora *clearance* de insulina tenha sido maior em obesos, após ajuste pela superfície corporal esta diferença deixou de existir. Estes resultados são mostrados na Tabela 5. A sensibilidade à insulina, medida pela quantidade de glicose infundida durante o estudo e ajustada pelo peso corporal e pela massa magra foi estatisticamente diferente, mesmo após tais ajustes, permanecendo menor nos obesos (Figura 2A). As concentrações circulantes basais de ácidos graxos livres eram semelhantes entre os grupos e diminuíram após a infusão de insulina (todos $p < 0,05$). A supressão encontrada no subgrupo dos diabéticos foi menor que nos demais (DM vs NT – $p = 0,003$; DM vs IT – $p = 0,05$) (Figura 2B).

Tabela 5- Resultados do *CLAMP* euglicêmico hiperinsulinêmico e ácidos graxos livres medidos no período basal e após a infusão de insulina

	CT	OB-NT	OB-IT	OB-DM	p^1 <i>IT vs NT</i>	p^2 <i>DM vs NT</i>	p^3 <i>DM vs IT</i>
Glicemia basal (mmol/l)	5,1±0,2	4,9±0,1	5,1±0,2	6,7±0,5 ^b	ns	0,001	0,007
Glicemia SS1 (mmol/l)	5,2±0,2	4,9±0,1	5,1±0,2	6,4±0,5 ^b	ns	0,001	0,02
Glicemia SS2 (mmol/l)	4,9±0,2	4,8±0,1	5,2±0,2	6,5±0,6 ^b	ns	0,002	0,02
Insulinemia basal (pmol/l)	59±3	221±56 ^a	154±19 ^b	357±94 ^b	ns	ns	0,03
Insulinemia SS1 (pmol/l)	775±68	975±91	817±55	1106±157	ns	ns	ns
Insulinemia SS2 (pmol/l)	853±53	1033±77	858±79	1176±148	ns	ns	ns
Clearance Insulina/SC (ml/min.m ²)	302±22	274±16	330±30	253±24	ns	ns	ns
M SS1 (μmol/KgMM.min)	49±3	25±3 ^b	21±5 ^b	16±3 ^b	ns	0,04	ns
M SS2 (μmol/KgMM.min)	56±2	32±4 ^b	26±2 ^b	18±4 ^b	ns	ns	ns
AGL basal (mEq/l)	0,74±0,17	1,03±0,2	0,72±0,09	0,86±0,22	ns	ns	ns
AGL SS1 (mEq/l) 30-90	0,32±0,05	0,45±0,08	0,34±0,05	1,08±0,34 ^c	ns	0,04	0,04
AGL SS2 (mEq/l) 120-180	0,22±0,03	0,29±0,05	0,26±0,05	0,63±0,21	ns	ns	ns

Valores de *p* para comparação entre os grupos através da análise não paramétrica de *Mann Whitney*:

^a – $p \leq 0,0001$; ^b – $p \leq 0,01$ e ^c – $p \leq 0,05$ vs. CT.

p^1 p^2 p^3 – comparação entre os obesos.

Figuras 2- Resultados do Clamp Euglicêmico Hiperinsulinêmico: obesos divididos de acordo com o grau de tolerância à glicose vs. controles

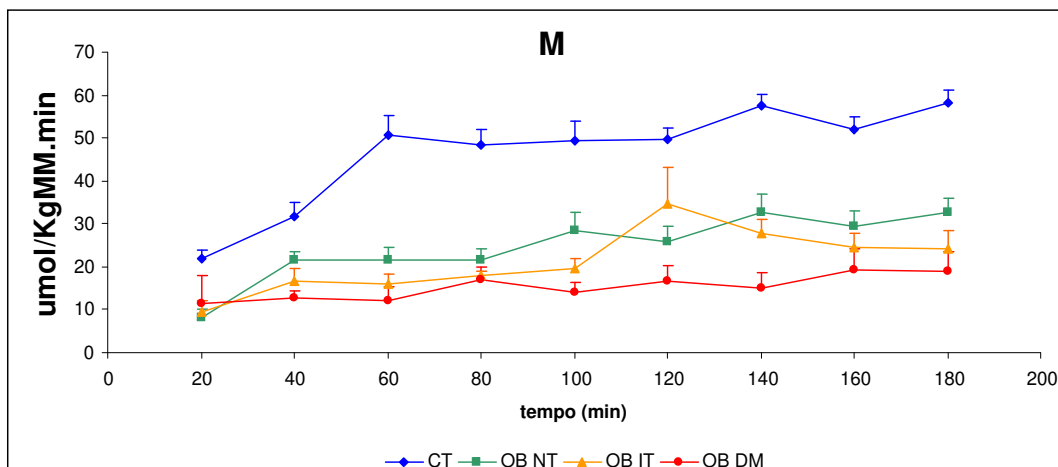


Figura 2A- Valor M (sensibilidade à insulina)

Valores de p : ANOVA para medidas repetidas (interação grupo/tempo) vs CT: NT- $p=\text{ns}$; IT - $p=\text{ns}$; DM $p=\text{ns}$. Comparação entre os obesos: DM vs NT - $p=0,03$; DM vs IT- $p=0,03$.

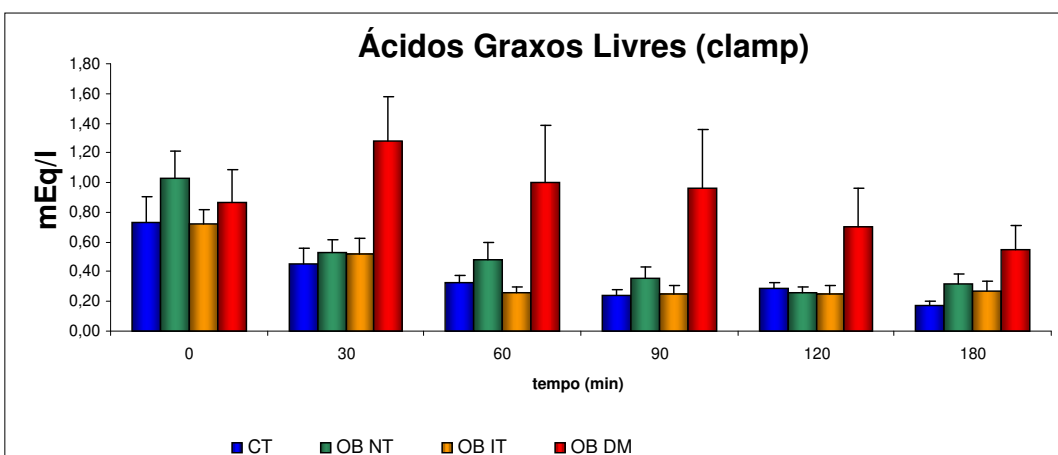


Figura 2B- Ácidos Graxos Livres durante *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico.

Valores de p : ANOVA para medidas repetidas (interação grupo/tempo) vs CT: NT- $p=\text{ns}$; IT - $p=\text{ns}$; DM $p=\text{ns}$. Comparação entre os obesos: DM vs NT - $p=0,003$; DM vs IT- $p=0,05$.

4.4- Citocinas e Marcadores Inflamatórios Durante o *Clamp*

As concentrações circulantes de TNF- α , IL-6 e Proteína C-reativa, medidas no período basal, foram significativamente maiores nos obesos quando comparados ao grupo controle (todos $p < 0,05$ vs. CT). Porém, com exceção da Proteína C-reativa, não foram encontradas diferenças significativas entre os obesos com diferentes graus de tolerância à glicose (Figuras 3A, 3B e 3C). A infusão de insulina durante o *clamp* não exerceu efeito significativo sobre as concentrações de IL-6. Em relação ao TNF- α , somente nos obesos normotolerantes foi detectada uma redução das concentrações circulantes durante o *clamp*, e para a Proteína C-reativa, um comportamento semelhante foi observado no grupo dos obesos diabéticos (Tabela 6).

A adiponectinemia basal encontrava-se reduzida em todos os subgrupos de obesos quando comparados aos controles (Figura 3D), bem como entre obesos diabéticos comparados aos normotolerantes e aos intolerantes. A infusão de insulina durante o *clamp* baixou as concentrações circulantes de adiponectina nos três subgrupos de obesos (NT= -11,1%; IT=-11,1%; DM=-15,2%; 180min vs basal; $p=0,009$).

Com os dados dos obesos e controles analisados em conjunto, a adiponectina e a sensibilidade à insulina correlacionaram-se diretamente entre si, mesmo após ajuste para cintura, % gordura corporal e IMC ($p < 0,001$) e inversamente com as medidas de adiposidade, glicemia e insulinemia de jejum e após teste oral de tolerância à glicose (Figura 4 e Tabela 7).

As citocinas TNF- α , IL-6 e a Proteína C-reativa exibiram correlação direta com medidas de adiposidade e inversa com a sensibilidade à insulina e com a insulinemia (Tabela 7). Em um modelo de regressão múltipla, onde foram incluídos idade, sexo, IMC, adiponectina, TNF- α , IL-6 e Proteína C-reativa, *versus* a sensibilidade, esta se correlacionou independentemente com a adiponectina e o IMC ($r^2=0,72$; $p=0,0001$). Já a área sob a curva de glicose correlacionou independente e inversamente com a adiponectina e a sensibilidade à insulina, mesmo após correção por IMC, idade e sexo ($r^2=0,59$; $p < 0,0001$).

Por outro lado, depois de efetuados ajustes para porcentagem de gordura ou cintura, a IL-6 e a Proteína C-reativa não mais apresentaram correlação com os parâmetros metabólicos, enquanto que o TNF- α permaneceu correlacionado à insulinemia de jejum ($r^2=0,47$; $p<0,0005$).

A diminuição da adiponectinemia observada durante o *clamp* correlacionou-se diretamente com o IMC, inversamente com adiponectinemia de jejum e não sofreu influência do grau de tolerância à glicose ($r^2=0,21$; $p=0,02$).

Tabela 6- Citocinas e marcadores inflamatórios durante o *CLAMP* medidos no período basal e após a infusão de insulina

	CT	OB-NT	OB-IT	OB-DM	P^1 <i>IT vs NT</i>	p^2 <i>DM vs NT</i>
Adiponectina basal ($\mu\text{g/ml}$)	11,6 $\pm$ 1,4	7,5 $\pm$ 1,3 ^c	5,6 $\pm$ 0,9 ^b	3,3 $\pm$ 0,7 ^b	<i>ns</i>	0,04
Adiponectina <i>clamp</i> ($\mu\text{g/ml}$)	11,2 $\pm$ 1,3	6,4 $\pm$ 1,1 ^c	4,5 $\pm$ 0,6 ^b	2,7 $\pm$ 0,8 ^b	<i>ns</i>	0,008
p^p	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0,04	<i>ns</i>		
Proteína C-reativa basal (mg/dl)	0,06 $\pm$ 0,01	0,88 $\pm$ 0,14 ^b	0,99 $\pm$ 0,24 ^b	1,02 $\pm$ 0,20 ^b	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Proteína C-reativa <i>clamp</i> (mg/dl)	0,06 $\pm$ 0,02	0,82 $\pm$ 0,14 ^b	0,99 $\pm$ 0,29 ^b	0,81 $\pm$ 0,17 ^b	<i>ns</i>	<i>ns</i>
p^p	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0,03		
IL-6 basal (pg/ml)	1,28 $\pm$ 0,27	4,07 $\pm$ 0,76 ^b	3,29 $\pm$ 0,89 ^c	3,20 $\pm$ 0,37 ^b	<i>ns</i>	<i>ns</i>
IL-6 <i>clamp</i> (pg/ml)	1,14 $\pm$ 0,48	3,26 $\pm$ 0,55 ^b	3,68 $\pm$ 0,82 ^b	4,94 $\pm$ 1,31 ^b	<i>ns</i>	<i>ns</i>
p^p	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>		
TNF- α basal (pg/ml)	2,08 $\pm$ 0,73	3,77 $\pm$ 1,02 ^c	2,37 $\pm$ 0,48	3,59 $\pm$ 1,03	<i>ns</i>	<i>ns</i>
TNF- α <i>clamp</i> (pg/ml)	1,95 $\pm$ 0,63	2,71 $\pm$ 0,56	2,39 $\pm$ 0,49	4,78 $\pm$ 1,43 ^c	<i>ns</i>	<i>ns</i>
p^p	<i>ns</i>	0,01	<i>ns</i>	<i>ns</i>		

Valores de p para a comparação entre os grupos através da análise não paramétrica de *Mann Whitney*:

^a – $p\leq 0,0001$; ^b – $p\leq 0,01$ e ^c – $p\leq 0,05$ vs. CT; p^1 e p^2 – comparação entre os obesos.

p^p – comparação intragrupo *clamp* vs basal (Wilcoxon signed rank test);

Figuras 3- Citocinas e Marcadores Inflamatórios Durante o *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico: obesos divididos de acordo com o grau de tolerância à glicose vs. controles. Medidas basais e após infusão de insulina

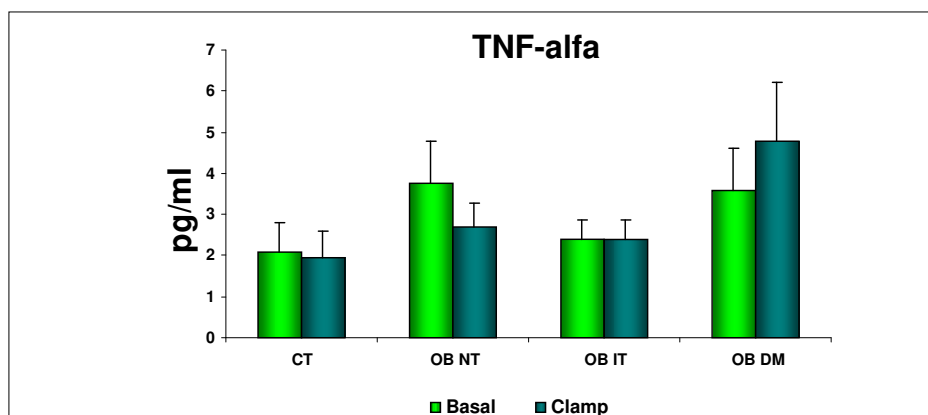


Figura 3A- TNF- α durante *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico.
Valores de p : ANOVA para medidas repetidas (interação grupo/tempo) vs CT: NT- p =ns; IT - p =ns; DM p =ns. Comparação entre os obesos: DM vs NT – p =ns; DM vs IT- p =ns

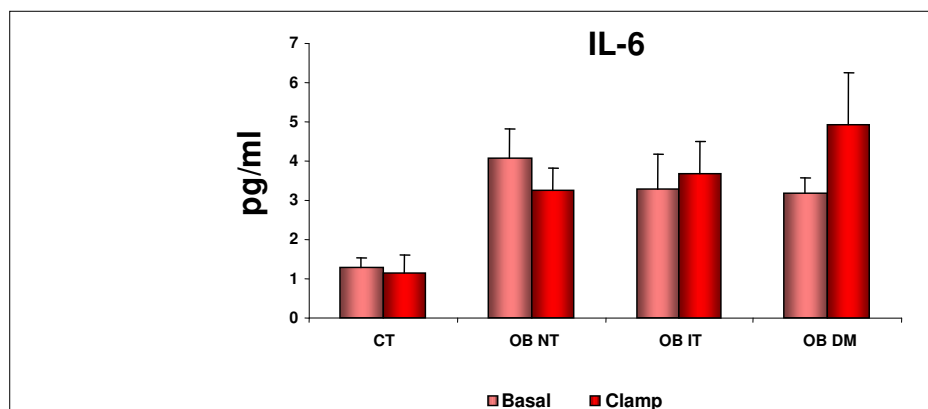


Figura 3B- IL-6 durante *Clamp* Euglicêmico Hiperinsulinêmico.
Valores de p : ANOVA para medidas repetidas (interação grupo/tempo) vs CT: NT- p =ns; IT - p =ns; DM p =ns. Comparação entre os obesos: DM vs NT – p =ns; DM vs IT- p =ns

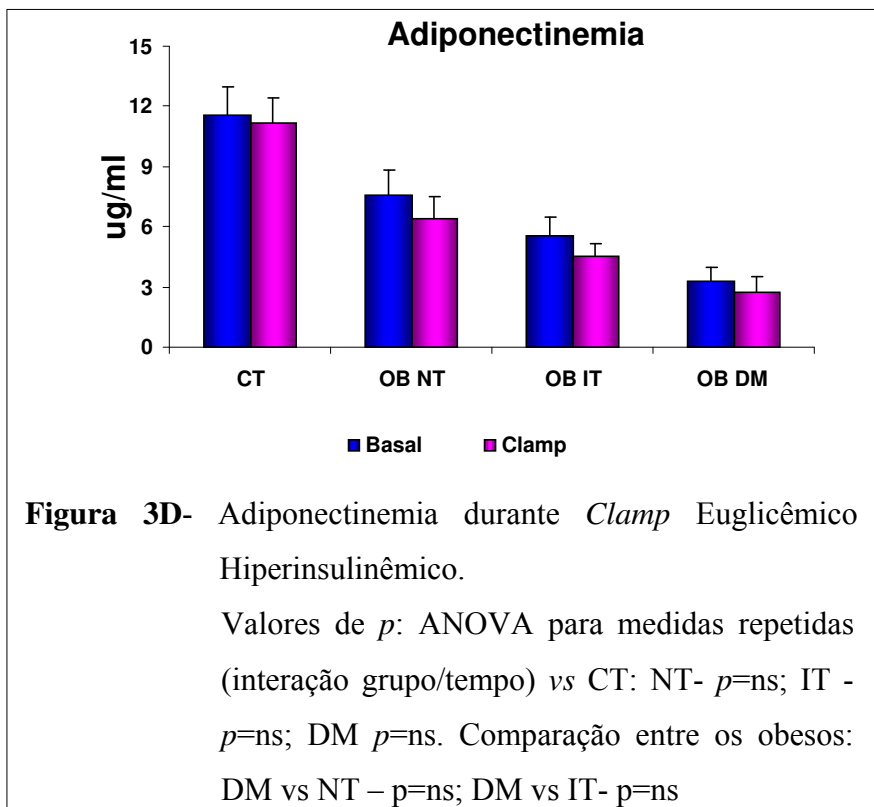
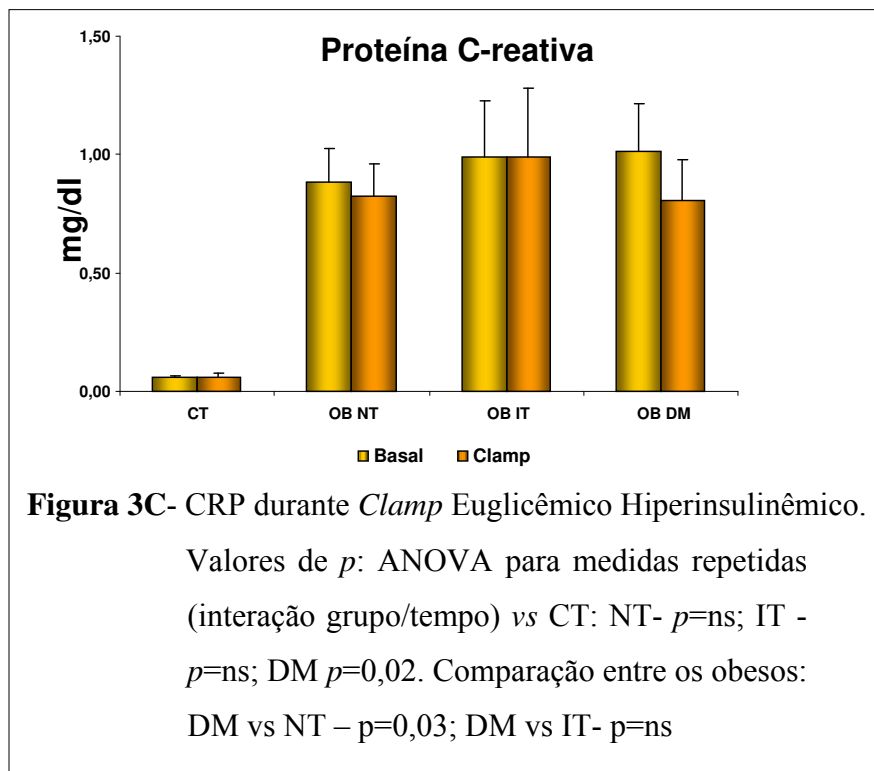
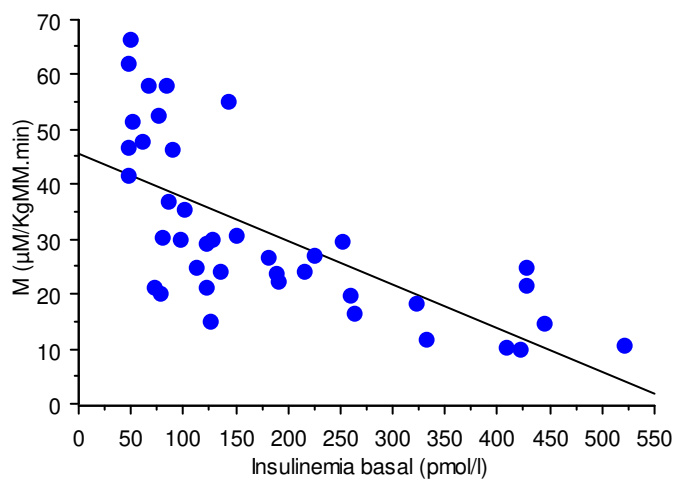


Tabela 7- Correlações entre as variáveis (SPEARMAN)

	M		Adiponectina		TNF-α		IL-6		CRP	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
M	-	-	0,63	<0,0001	-0,34	0,03	-0,45	0,005	-0,48	0,002
Glicemia basal	-0,49	0,002	-0,51	0,001	0,46	Ns	0,17	ns	0,14	ns
Insulinemia basal	-0,87	<0,0001	-0,61	0,0001	0,41	0,01	0,41	0,01	0,51	0,001
ASC Insulina	-0,80	<0,0001	-0,55	0,0005	0,13	ns	0,34	0,03	0,42	0,007
ASC Glicose	-0,65	<0,0001	-0,66	<0,0001	0,14	ns	0,16	ns	0,40	0,01
IMC	-0,63	<0,0001	-0,43	0,007	0,35	0,02	0,58	0,0003	0,45	0,005
% Gordura	-0,31	0,05	-0,14	ns	0,26	ns	0,51	0,001	0,58	0,0002
HDL	0,39	0,01	0,51	0,001	-0,10	Ns	-0,37	ns	-0,19	ns
AGL	-0,40	0,01	-0,32	0,04	0,14	Ns	0,15	ns	0,02	ns
TNF- α	-	-	-0,19	ns	-	-	0,45	0,005	0,29	ns
IL-6	-	-	-0,06	ns	-	-	-	-	0,50	0,001
CRP	-	-	-0,25	ns	-	-	-	-	-	-

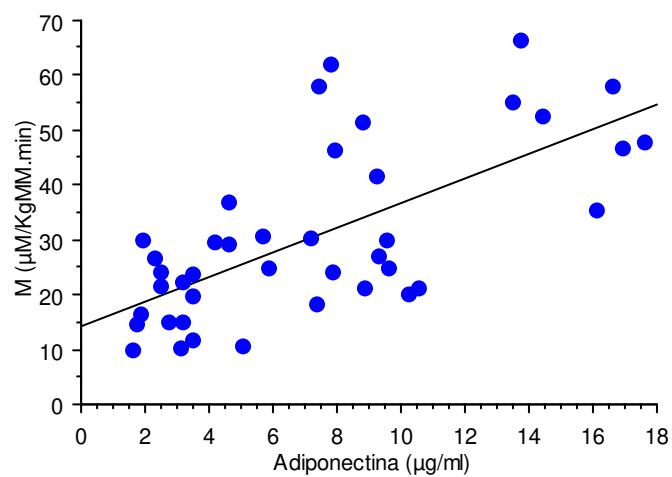
Valores de *r* e *p* para correlação entre as variáveis obtidos através de Correlação de Spearman.

Figuras 4- Resultados da Regressão Linear Simples



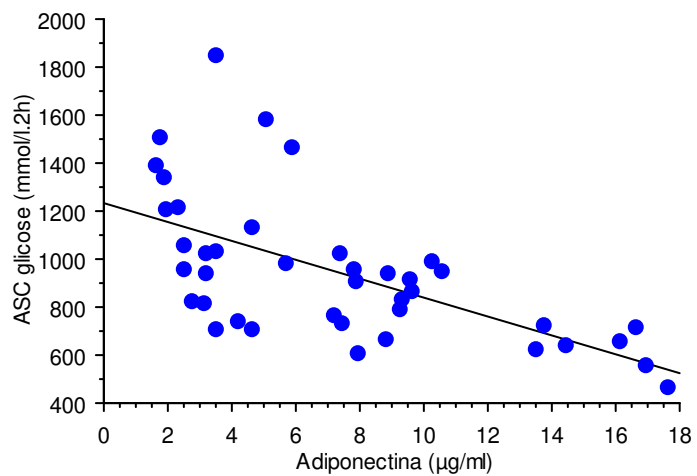
$$r = -0,87 \text{ } p < 0,0001$$

Figura 4A- Regressão Linear Simples entre a sensibilidade à insulina e a insulinemia basal



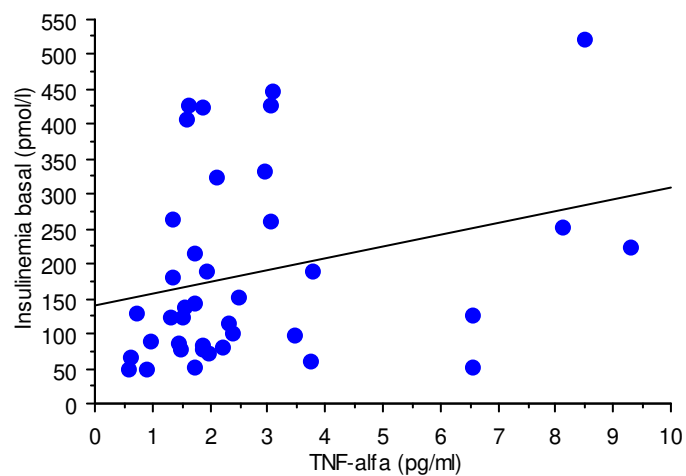
$$r = 0,63 \text{ } p < 0,0001$$

Figura 4B- Regressão Linear Simples entre a sensibilidade à insulina e a adiponectinemia basal



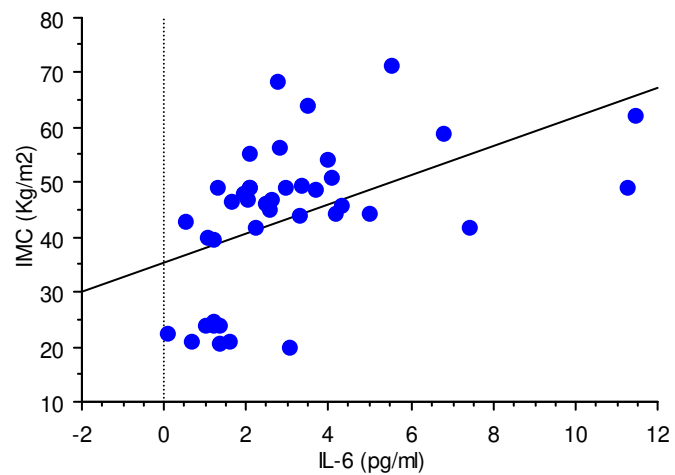
$$r = -0,66; p < 0,0001$$

Figura 4C- Regressão Linear Simples entre a área sob a curva de glicose do teste oral e a adiponectinemia basal



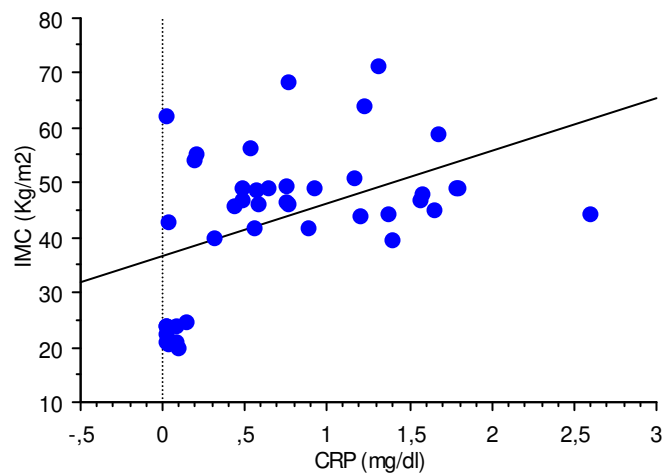
$$r = 0,41; p = 0,01$$

Figura 4D- Regressão Linear Simples entre insulinemia basal e TNF- α



$r = 0,58; p = 0,0003$

Figura 4E- Regressão Linear Simples entre IMC e IL-6



$r = 0,45; p = 0,005$

Figura 4F- Regressão Linear Simples entre IMC e CRP



5- DISCUSSÃO

Este estudo permitiu comparar adipocinas em indivíduos portadores de obesidade severa, que apresentavam considerável resistência à insulina, porém, com diferentes graus de tolerância à glicose, e ainda, avaliar o efeito da infusão aguda de insulina sobre estas adipocinas. Pudemos verificar uma interação aditiva entre a obesidade e o grau de tolerância à glicose em relação às concentrações de adiponectina, pois os pacientes diabéticos apresentaram menor adiponectinemia, apesar de possuírem adiposidade, resistência à insulina e concentrações circulantes de marcadores pró-inflamatórios semelhantes aos demais grupos de obesos. Um resultado interessante refere-se à diminuição da adiponectinemia durante a infusão aguda de insulina, permitindo-nos propor a existência de um ciclo no qual a hiperinsulinemia crônica poderia piorar a resistência à insulina através da inibição da expressão da adiponectina.

Concentrações circulantes elevadas dos marcadores inflamatórios e reduzidas de adiponectina no grupo dos obesos, em comparação ao controles, eram esperadas. Entretanto, ainda é desconhecida a exata contribuição de cada um destes componentes em relação à fisiopatologia da obesidade, resistência à insulina e grau de tolerância à glicose. O aumento dos marcadores inflamatórios encontrado nos obesos pode ser atribuído ao aumento da massa adiposa, porém, não observamos influência do grau de tolerância à glicose sobre as concentrações circulantes de TNF- α , IL-6 e CRP e tampouco o contrário, ou seja, destes sobre a tolerância à glicose. As concentrações basais de TNF- α correlacionaram-se independentemente com a insulinemia de jejum, o que está de acordo com os estudos que encontraram correlação entre obesidade e resistência à insulina (KERN e cols, 1995; GRECO e cols, 2002), embora alguns não tenham encontrado concentrações circulantes elevadas desta citocina em obesos (KOISTINEN e cols, 2000) e tampouco diferença em relação aos diferentes graus de tolerância à glicose (BLÜHER e cols, 2001). Sabe-se que em ratos, o TNF- α inibe o RNA mensageiro do transportador de glicose GLUT4 (HOTAMISLIGIL e cols, 1993), tendo sido confirmado o mesmo efeito em humanos (MINGRONE e cols, 2002), e, portanto a correlação encontrada pode refletir uma contribuição do TNF- α para uma hiperinsulinemia compensatória à resistência periférica à insulina. Em relação à adiposidade, um estudo que analisou indivíduos com diferentes graus de adiposidade, encontrou baixas concentrações de TNF- α

naqueles com IMC acima de 45 Kg/m², como os nossos pacientes, o que poderia explicar a pequena diferença encontrada em relação aos controles (KERN e cols, 1995). Quanto à ação da insulina sobre o TNF- α , o efeito pouco expressivo encontrado pode ser atribuído ao tempo relativamente curto de infusão de insulina (180 minutos) já que foi demonstrado em um estudo de *clamp* que a ativação do RNA mensageiro do TNF- α pôde ser observada apenas após quatro horas de infusão, e ainda assim em indivíduos eutróficos (KROGH-MADSEN e cols, 2004). Igualmente possível seria a hipótese de que o TNF- α exerceria uma função localizada no tecido adiposo, e que suas concentrações circulantes não necessariamente reflitam a verdadeira extensão de sua ação parácrina e/ou autócrina (KERN e cols, 2001).

Em contraposição, a correlação positiva existente entre os as elevadas concentrações séricas de IL-6 e medidas de obesidade já foi demonstrada por vários estudos, e embora ainda não tenham sido esclarecidos os mecanismos exatos, foi proposta uma ligação entre concentrações elevadas desta citocina e o grau de resistência à insulina (LAGATHU e cols, 2003). Neste estudo, a IL-6 correlacionou-se de maneira independente à obesidade e não à resistência à insulina. De fato, suas concentrações eram similares entre os subgrupos dos obesos e, após a correção pelo IMC ou porcentagem de gordura corporal, desapareceu qualquer correlação com os parâmetros metabólicos. Semelhantes resultados foram obtidos por Vozarova e seu grupo em estudos realizados em índios Pima (VOZAROVA e cols, 2001) sugerindo que a associação entre esta citocina e a resistência à insulina perpassa obrigatoriamente pela obesidade.

Embora a secreção de IL-6 possa ser estimulada pela insulina, durante o nosso estudo suas concentrações séricas não sofreram mudanças significativas. Estudos que detectaram estímulo da IL-6 por insulina foram feitos *in vitro* com longos períodos de incubação (24 horas) (VICENNATI e cols, 2002) ou analisaram o RNA mensageiro da IL-6 em biópsias de tecido adiposo (KERN e cols, 2001), ou ainda, não incluíram obesos (KROGH-MADSEN e cols, 2004). Um estudo que realizou *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico também não encontrou modificações nas concentrações de IL-6 ou de TNF- α mesmo após 8 horas de infusão de insulina, havendo resposta somente quando associada à infusão de LPS (lipopolissacarídeo de E. Coli) (SOOP e cols, 2002).

Portanto, a falta de efeito da insulina sobre as concentrações circulantes de IL-6 não pode ser atribuída a um tempo insuficiente de infusão. Em função das múltiplas associações descritas entre obesidade, resistência à insulina e do estímulo da insulina sobre a secreção de IL-6, a hipótese de que a hiperinsulinemia decorrente da resistência à insulina levaria a uma amplificação do estado pró-inflamatório não pôde ser comprovada pelos nossos resultados durante a infusão aguda de insulina (3 horas).

A análise da Proteína C-reativa neste estudo encontrou padrão semelhante ao da IL-6; isto é, maiores concentrações séricas nos obesos, independentemente do grau de tolerância à glicose e de resistência à insulina e ausência de resposta à infusão insulínica. Como um dos principais efeitos da IL-6 é induzir a produção hepática de CRP, é possível que padrão encontrado seja um reflexo desta ação da IL-6. De fato, as concentrações de IL-6 e CRP eram correlacionados entre si ($r=0,50$; $p= 0,001$). É interessante ressaltar que nossos resultados para a CRP estão de acordo com um estudo populacional realizado em obesos diabéticos recém diagnosticados que relatou a obesidade como a principal responsável pela correlação da Proteína C-reativa com os componentes da síndrome metabólica (KAHN e cols, 2006).

Um achado importante, conforme descrito, foi a redução progressiva e paralela da adiponectinemia nos subgrupos dos obesos a partir dos normotolerantes passando pelos intolerantes até os diabéticos, apesar de todos apresentarem o mesmo grau de obesidade. A adiponectina correlacionou-se fortemente e independentemente com a sensibilidade à insulina e com a glicemia durante o teste oral de tolerância à glicose, mesmo após a correção pelos índices de adiposidade e pelo gênero. Tais resultados sugerem um predominante papel da adiponectina em melhorar a sensibilidade à insulina e a tolerância à glicose. Estes resultados estão de acordo com um estudo que encontrou menores concentrações de adiponectina em diabéticos independentemente do IMC (HOTTA e cols, 2000).

Muitos efeitos fisiológicos estão envolvidos na relação existente entre adiponectina e a sensibilidade à insulina. Através da ativação da AMPK, esta adipocina tem a capacidade de suprimir a produção hepática de glicose, diminuir o conteúdo de triglicerídeos em músculo esquelético, por aumentar oxidação lipídica e promover a

captação de glicose (YAMAUCHI e cols, 2002), bem como a síntese de glicogênio, através do estímulo da atividade da enzima glicogênio sintetase (HØJLUND e cols, 2006). Altas concentrações de triglicérides interferem na cascata de sinalização da insulina, podendo levar à resistência e ao reverter este quadro, ocorre uma melhora na sinalização e conseqüentemente na sensibilidade à insulina (KADOWAKI e col, 2005).

Igualmente importante seria a diminuição exercida pela adiponectina sobre a secreção de TNF- α pelos macrófagos (BASTARD e cols, 2006). É possível que os efeitos da adiponectina sobre a sensibilidade sejam, em parte, afetados pela interação com as citocinas especialmente com o TNF- α e a IL-6 que por sua vez são capazes de diminuir a secreção de adiponectina pelos adipócitos (KIM e cols, 2006).

Embora não tenha sido encontrada nenhuma modificação nas concentrações circulantes de TNF- α IL-6, ou CRP durante os 180 minutos de infusão do *clamp*, uma diminuição significativa foi observada para as concentrações de adiponectina. Tal efeito não sofreu influência do grau de tolerância à glicose e correlacionou-se diretamente com o IMC e inversamente à adiponectinemia de jejum. Um estudo que analisou tecido adiposo subcutâneo de mulheres, coletado durante *clamp*, sugeriu a existência de uma resposta diferenciada da expressão gênica ao estímulo da insulina, de acordo como grau de sensibilidade à insulina, havendo um aumento da expressão do RNA mensageiro da adiponectina após infusão de insulina em indivíduos sensíveis, mas não nos resistentes (WESTERBACKA e cols, 2006). Em relação às concentrações circulantes, um trabalho relatou supressão da adiponectinemia pela infusão de insulina tanto em eutróficos como em obesos (BRAME e cols, 2005). Outros não encontraram qualquer ação da insulina sobre a expressão de marcadores inflamatórios (KOISTINEN e cols, 2000, SEWTER e cols 1999) ou mesmo sobre o RNA mensageiro da adiponectina (KOISTINEN e cols, 2004). As diferentes características dos estudos podem explicar as diferenças, em relação ao gênero, pois nosso grupo de pacientes era composto por ambos os sexos, possuíam IMC maior e ainda analisamos as diferenças entre diferentes graus de tolerância. Além disso, as concentrações circulantes de adiponectina se originam não só do depósito subcutâneo, mas também do tecido adiposo visceral, e já foi relatada uma resposta diferenciada ao estímulo insulinêmico por parte dos adipócitos derivados destes dois locais

(MOTOSHIMA e cols, 2002), o que justificaria uma resposta aparentemente distinta entre grupos com diferentes padrões de distribuição de gordura.

Por sua vez a baixa adiponectinemia, a obesidade e a resistência à insulina demonstraram estar inter-relacionados. A correlação independente encontrada entre a sensibilidade a insulina e a área sob a curva de glicose com as concentrações de adiponectina sugerem um papel importante desta adipocina em melhorar a sensibilidade à insulina e o grau de tolerância à glicose. A correlação independente entre tolerância à glicose e adiponectina mesmo após correção para a resistência à insulina e obesidade sugere que esta adipocina possa melhorar a tolerância à glicose através de mecanismos fisiopatológicos diversos, como por exemplo suas ações sobre os lipídeos. Além disso, a diminuição das concentrações de adiponectina observada durante o *clamp* sugere um efeito inibitório da insulina sobre esta adipocina *in vivo*. O fato de haver sido encontrada uma maior correlação da adiponectinemia com o grau de resistência à insulina e a hiperinsulinemia em comparação à adiposidade pode sugerir que suas reduzidas concentrações encontradas na obesidade e diabetes tipo 2 decorram do fato de que ambos representam estados de resistência à insulina.

Portanto, o conjunto dos resultados apresentados demonstra uma interação prejudicial entre hiperinsulinemia e adiponectina, e quando consideramos os fatores obesidade e intolerância à glicose, tal interação tende a ser ainda mais danosa.



6- CONCLUSÃO

- Em obesos graves (classe III), as concentrações circulantes de TNF- α , IL-6 e CRP encontram-se elevadas independentemente do grau de intolerância à glicose ou de resistência à insulina.
- A curto-prazo, a infusão de insulina não afeta as concentrações circulantes destas citocinas.
- Concentrações circulantes de adiponectina encontram-se diminuídas em obesos, principalmente nos portadores de intolerância à glicose ou *diabetes mellitus* tipo 2 e relacionam-se de forma independente com a sensibilidade à insulina.
- A tolerância à glicose é relacionada, independentemente da obesidade e da resistência à insulina, com a adiponectinemia, sugerindo que mecanismos diversos destes dois fatores estejam presentes na progressão da intolerância.
- Nestes indivíduos obesos, o efeito inibitório da insulina sobre a adiponectina pode contribuir para que suas concentrações permaneçam baixas e para o agravamento da resistência à insulina.



7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Clinical Practice Recommendations 2003: Committee Report. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: **Diabetes Care**, 26(1): S4-S20, 2003.
2. ARITA, Y.; KIHARA, S.; OUCHI, N.; TAKAHASHI, M.; MAEDA, K.; MIYAGAWA, J.; et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. **BBRC** 257(1): 79-83, 1999.
3. BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; NHIEU, J. T. V.; JARDEL, C.; BRUCKERT E.; GRIMALDI, A. et al. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both *in vivo* and *in vitro*. **J Clin Endocrinol Metab**, 87(5): 2084-89, 2002.
4. BASTARD, J. P.; JARDEL, C.; BRUCKERT E.; BLONDY, P.; CAPEAU, J.; LAVILLE, M.; et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. **J Clin Endocrinol Metab**, 85(9): 3338-42, 2000.
5. BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; LAGATHU, C.; KIM, M. J.; CARON, M.; VIDAL, H.; et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **Eur Cytokine Netw**, 17(1): 4-12, 2006.
6. BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. Hormônios das ilhotas pancreáticas. In: BERNE, R. M.; LEVY, M.N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B.A. Fisiologia 5ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2004. p.815-42.
7. BIRNBAUM, M. J. Turning down insulin signaling. **J Clin Invest**, 108: 655-59, 2001.
8. BLACK S, KUSHNER I, E SAMOLS D. C-Reactive Protein. **J Biol Chem**, 279(47) 48487-90, 2004.
9. BLÜHER, M. KRATZSCH, J.; PASCHKE, R. Plasma levels of tumor necrosis factor alpha, angiotensin II, growth hormone, and IGF-I are not elevated in insulin resistant obese individuals with impaired glucose tolerance. **Diabetes Care**, 24(2):328-34, 2001.

10. BONADONNA, R. C.; GROOP, L.; KRAEMER, N.; FERRANNINI, E.; DEL PRATO, S.; DEFRONZO, R. A. Obesity and insulin resistance in humans: a dose-response study. **Metabolism**, 39(5):452-9, 1990.
11. BOSCHERO, A. C.; Acoplamento da estimulação-secreção de insulina pelas células beta pancreáticas. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 40(3): 149-55, 1996.
12. BOUCHARD, C. Genetic influences on body weight and shape. In: Brownell, K. D. et al. **Eating disorders and obesity – A comprehensive handbook**. New York, Guilford Press, 1995. p. 21-6.
13. BRAME, L. A.; CONSIDINE, R. V.; YAMAUCHI, M.; BARON, A. D.; MATHER, K. J. Insulin and endothelin in the acute regulation of adiponectin in vivo in humans, **Obes Res**, 13(3) 582-8, 2005.
14. BRAY, G. A. Medical consequences of obesity. **J Clin Endocrinol Metab**, 89: 2583–2589, 2004.
15. BRAY, G. A. The underlying basis for obesity: relationship to cancer. **J. Nutr**, 132: 3451S-55S, 2002.
16. BROWNELL, K. D. History of obesity. In: Brownell, K. D. et al. **Eating disorders and obesity – A comprehensive handbook**. New York, Guilford Press, 1995. p. 381-5.
17. BRUUN, J. M.; LIHN, A. S.; VERDICH, C.; PEDERSEN, S. B.; TOUBRO, S.; ASTRUP, A.; et al. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 285: E527–33, 2003.
18. BULLÓ, M.; GARCIA-LORDA, P.; MEGIAS, I.; SALAS-SALVADÓ, J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity Research**, 11 (4): 525-31, 2003.
19. CAMASTRA, S.; MANCO, M.; MARI, A.; BALDI, S.; GASTALDELLI, A.; GRECO, A. V.; et al. Beta-cell function in morbidly obese subjects during free living: long-term effects of weight loss. **Diabetes**, 54(8): 2382-9, 2005.

20. CEFALU, W. T. Insulin Resistance: cellular and clinical concepts. **Experimental Biology and Medicine**, 226: 13-26, 2001.
21. CHAN, D. C.; WATTS, G. F.; BARRET, P. H. R.; BEILIN, L. J.; MORI, T.A. Effect of atorvastatin and fish oil on plasma high-sensitivity C-reactive protein concentrations in individuals with visceral obesity. **Clinical Chemistry**, 48 (6): 877-83, 2002.
22. COBELLI, C.; MARI, A.; FERRANNINI, E. On the linearity of insulin kinetics. **Am J Physiol**, 251(2 Pt 1): E 247-50, 1986.
23. COLDITZ, G. A.; WILLETT, W. C.; STAMPFER, M. J.; MANSON, J. E.; HENNEKENS, C. H.; ARKY, R. et al. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. **Am J Epidemiol**, 132(3): 501-13, 1990.
24. COUTINHO, W. Obesidade: Conceitos e classificação. In: Nunes, M. A. A. et al **Transtornos alimentares e obesidade**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul Ltda., 1998. p. 197-202.
25. DANDONA, P.; WEINSTOCK, R.; THUSU, K.; ABDEL-RAHMAN, E.; ALJADA, A.; WADDEN, T. Tumor necrosis factor alpha in sera of obese patients: fall with weight loss. **J Clin Endocrinol Metab**, 83(8): 2907-10, 1998.
26. DEFRONZO, R. A.; TOBIN, J. D.; ANDRES, R.; Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **Am J Physiol**, 237(3): E214-33, 1979.
27. DeMARIA, E. J. Bariatric Procedures. In: **Chapters from ACS Surgery - From ACS Surgery: Principles & Practice**. Disponível em: http://www.medscape.com/viewpublication/725_about. Acesso em 27/05/2005.
28. ELAHI, D.; NAGULESPARAN, M.; HERSHCOPF, R. J.; MULLER, D. C.; TOBIN, J. D.; BLIX P. M.; et al. Feedback inhibition of insulin secretion by insulin: relation to the hiperinsulinemia of obesity. **N Engl J Med**, 306: 1196-202, 1982.
29. FEINGOLD, K. R.; DOERRLER, W.; DINARELLO, C. A.; FIERS, W.; GRUNFELD, C. Stimulation of lipolysis in cultured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-1, and the interferons is blocked by inhibition of prostaglandin synthesis. **Endocrinology**, 130(1): 10-6, 1992.

30. FERRANNINI, E. Metabolic syndrome: a solution in search of a problem. **J Clin Endocrinol Metab**, 92(2): 396-8 2007
31. FERRANNINI, E.; BARRETT, E. J.; BEVILACQUA, S.; DEFRONZO, R. A. Effect of free fatty acids on glucose production and utilization in man. **J Clin Invest**, 72: 1737-47, 1983.
32. FESTA, A.; HANLEY, A. J. G.; TRACY, R. P.; D'AGOSTINO, R.; HAFFNER, S. M. Inflammation in the prediabetic state is related to increased insulin resistance rather than decreased insulin secretion. **Circulation**, 108:1822-30, 2003.
33. FLEGAL, K. M.; CARROLL, M.D.; KUCZMARSKI, R. J.; JOHNSON, C. L. Overweight and obesity in the United States: prevalence and trends, 1960–1994. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 22(1): 39-47, 1998.
34. FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third national health and nutrition examination survey. **JAMA**, 287(3): 356-59, 2002.
35. FRIED, S.K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S.; Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by Glucocorticoid **J Clin Endocrinol Metab** 83: 847–50, 1998
36. FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, 18(6):499-502, 1972.
37. FULCHER, G.R.; FARRER, M.; WALKER, M.; RODHAM, D.; CLAYTON, B.; ALBERTI, K. G.M.; A comparison of measurements of lean body mass derived by bioelectrical impedance, skinfold thickness and total body potassium. A study in obese and non-obese normal subjects. **Scand J Lab Invest**, 51: 245–53, 1991.
38. GASTALDELLI, A.; MIYAZAKI, Y.; PETTITI, M.; BUZZIGOLI, E.; MAHANKALI, S.; FERRANNINI, E.; DEFRONZO, R. A. Separate contribution of diabetes, total fat mass, and fat topography to glucose production, gluconeogenesis, and glycogenolysis. **J Clin Endocrinol Metab**, 89(8): 3914–21, 2004

39. GRECO, A. V.; MINGRONE, G.; GIANCATERINI, A.; MANCO, M.; MORRONI, M.; FERRANNINI, E. Insulin resistance in morbid obesity. Reversal with intramyocellular fat depletion. **Diabetes**, 51: 144-51, 2002.
40. HALL, G. V.; STEENSBERG, A.; SACCHETTI, M.; FISCHER, C.; KELLER, C.; SCHJERLING, P. et al. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, 88(7): 3005–10, 2003.
41. HE, G.; PEDERSEN, S. B.; BRUUN, J. M.; RICHELSEN, B. Regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue: interactions between cytokines, cortisol and estrogen. **Horm Metab Res**, 32: 515-20, 2000.
42. HØJLUND, K.; FRYSTYK, L.; EVIN, K.; FLYBERG, A.; WOJTASZEWSKI, J. F. P.; BECK-NIELSEN, H. Reduced plasma adiponectin concentrations may contribute to impaired insulin activation of glycogen synthase in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. **Diabetologia**, 49: 1283-91, 2006.
43. HOTAMISLIGIL, G. S.; ARNER, P.; CARO, J. F.; ATKINSON, R. L.; SPIEGELMAN, B. M.; Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. **J Clin Invest**, 95(5): 2409–15, 1995.
44. HOTAMISLIGIL, G. S.; PERALDI, P.; BUDAVARI, A.; ELLIS, R.; WHITE, M.; SPIEGELMAN, B. M.; IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. **Science**, 271: 665–8, 1996.
45. HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M.; Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, 259: 87–91, 1993.
46. HOTAMISLIGIL, G. S.; SPIEGELMAN, B. M.; Tumor necrosis factor α : a key component of the obesity-diabetes link. **Diabetes**, 43(11): 1271-8, 1994.
47. HOTTA, K.; FUNAHASHI, T.; ARITA, Y.; TAKAHASHI, M.; MATSUDA, M.; OKAMOTO, Y.; et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 20: 1595–99, 2000.

48. HUBE, F.; BIRGEL, M.; LEE, Y.-M.; HAUNER, H. Expression pattern of tumor necrosis factor receptors in subcutaneous and omental human adipose tissue: role of obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus. **Eur J Clinical Invest**, 29(8): 672-8, 1999.
49. HUNTER, S. J.; GARVEY, W. T. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. **Am J Med**, 105:331-45, 1998.
50. KADOWAKI, T.; YAMAUCHI, T.; Adiponectin and Adiponectin Receptors. **Endocrine Rev**, 26(3): 439-51, 2005.
51. KAHN, C. R.; Insulin resistance, insulin sensitivity and insulin unresponsiveness. A necessary distinction. **Metabolism**. 27: 1893-1902, 1978.
52. KAHN, E. S.; ZINMAN, B.; HAFFNER, S. M.; O'NEILL, M.C.KRAVITZ, B. G.; YU, D et al. Obesity is a major determinant of the association of C-reactive protein levels and the metabolic syndrome in type 2 diabetes. **Diabetes**, 55 (8): 2357-64, 2006.
53. KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome. **Lancet**, 366(9501):1921-4, 2005.
54. KANETY, H.; FEINSTEIN, R.; PAPA, M. Z.; HEMI, R.; KARASIK, A. Tumor necrosis factor alpha induced phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS-1. **The Journal of Biological Chemistry**, 270(40): 23780-4, 1995.
55. KERN, P. A.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 280(5): E745-51, 2001.
56. KERN, P. A.; SAGHIZADEH, M.; ONG, J. M.; BOSCH, R. J.; DEEM, R.; SIMSOLO, R. B. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue: regulation by obesity, weight loss and relationship to lipoprotein lipase. **J Clin Invest**, 95(5): 2111-19, 1995.

57. KIM, M. J.; MAACHI, M.; CAPEAU, J.; BASTARD, J.P. Adiponectine et syndrome métabolique. **Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée** 21: 1–7, 2006.
58. KISSEBAH, A. H. Central obesity: measurement and metabolic effects. *Diabetes Rev.* 1997 5:8–20
59. KOISTINEN, H. A.; BASTARD, J.P.; DUSSERRE, E.; EBELING, P.; ZEGARI, N.; ANDREELLI, F. et al. Subcutaneous adipose tissue expression of tumour necrosis factor-alpha is not associated with whole body insulin resistance in obese nondiabetic or in type-2 diabetic subjects. **Eur J Clin Invest**, 30(4): 302-10, 2000.
60. KOISTINEN, H. A.; FORSGREN, M.; WALLBERG-HENRIKSSON, H.; ZIERATH, J. R. Insulin action on expression of novel adipose genes in healthy and type 2 diabetic subjects. **Obesity Research**, 12: 25–31, 2004.
61. KROGH-MADSEN, R.; PLOMGAARD, P.; KELLER, P.; KELLER, C.; PEDERSEN, B. K.; Insulin stimulates interleukin-6 and tumor necrosis factor gene expression in human subcutaneous adipose tissue. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 286: E234–E238, 2004.
62. LAGATHU, C.; BASTARD, J. P.; AUCLAIR, M.; MAACHI, M.; CAPEAU, J.; CARON, M.; Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 311: 372-9, 2003.
63. LAUER, M. S.; ANDERSON, K. M.; KANNEL, W. B.; LEVY, D. The impact of obesity on left ventricular mass and geometry: The Framingham Heart Study. **JAMA**, 266(2): 231-6, 1991.
64. LEE, I-M.; MANSON, J. E.; HENNEKENS, C. H.; PAFFENBARGER JR, R. S. Body weight and mortality: a 27-year follow-up of middle-aged men. **JAMA**, 270 (23): 2823-28, 1993.
65. LETIEXHE, M. R.; SCHEEN, A. J.; GÉRARD, P. L.; DESAIVE, C.; LEFÈBVRE, P. J. Insulin secretion, clearance and action before and after gastroplasty in severely obese subjects. **Int Journal of Obesity**, 18:295-300, 1994.

66. LISSNER, L.; ODELL, P. M.; D'AGOSTINO, R. B.; STOKES, J.; KREGER, B. E.; BROWNELL, K. D. Variability of body weight and health outcomes in the Framingham population. **N Engl J Med**, 324(26): 1839-44, 1991.
67. LIU, L. S.; SPELLEKEN, M.; ROHRIG, K.; HAUNER, H.; ECKEL, J. Tumor Necrosis factor alpha acutely inhibits insulin signalling in human adipocytes: implications of the p80 tumor necrosis factor receptor. **Diabetes**, 47(4): 515-22. 1998.
68. MAEDA, K.; OKUBO, K.; SHIMOMURA, I.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; MATSUBARA, K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). **BBRC** 221(2): 286-9, 1996.
69. MATSUBARA, M.; NAMIOKA, K.; KATAYOSE, S.; Decreased plasma adiponectin concentrations in women with low grade C-reactive protein elevation. **Eur J Endocrinol**, 148: 657-62, 2003.
70. MATTAR, R. Avaliação da composição corporal por bioimpedância: uma nova perspectiva. **Âmbito Medicina Desportiva** Ano II, 13: 22-24, 1995.
71. Mc GUIRE, E. A.; HELDERMAN, J. H.; TOBIN, J. D. ANDRES, R.; BERMAN, M. Effects of arterial versus venous sampling on analysis of glucose kinetics in man. **J Appl Physiol**, 41(4) 565-73, 1976.
72. McNEILL, A. M.; ROSAMOND, W. D.; GIRMAN, C. J.; GOLDEN, S. H.; SCHMIDT, M. I.; EAST, H. E. et al. The Metabolic Syndrome and 11-Year Risk of Incident Cardiovascular Disease in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Diabetes Care**, 28 (2): 385-90, 2005.
73. MESSERLI, F. H.; VENTURA, H. O.; REISIN, E.; DRESLINSKI, G. R.; DUNN, F. G.; MACPHEE, A. A.; FROHLICH, E. D.; Borderline hypertension and obesity: Two prehypertensive states with elevated cardiac output. **Circulation**, 66(1): 55-60, 1982.

74. MINGRONE, G.; ROSA, G.; DI ROCCO, P.; MANCO, M.; CAPRISTO, E.; CASTAGNETO, M.; et al. Skeletal muscle triglycerides lowering is associated with net improvement of insulin sensitivity, TNF- α reduction and GLUT4 expression enhancement **Int J Obes**; 26: 1165–72, 2002.
75. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia alimentar para a população brasileira, Brasil. 2005
76. MODAN, M.; HALKIN, H.; ALMOG, S.; LUSKY, A.; ESHKOL, A.; SHEFI, M.; et al. Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucose intolerance. **J Clin Invest**; 75: 809-17, 1985.
77. MOHAMED-ALI, V.; FLOWER, L.; SETHI, J.; HOTAMISLIGIL, G. S.; GRAY, R.; HUMPHRIES, S. E. et al. Beta-Adrenergic regulation of IL-6 release from adipose tissue: *in vivo* and *in vitro* studies. **J Clin Endocrinol Metab**, 86: 5864-69, 2001.
78. MOHAMED-ALI, V.; GOODRICK, S.; RAWESH, A.; KATZ, D. R.; MILES, J. M.; YUDKIN, J. S.; et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha *in vivo*. **J Clin Endocrinol Metab**, 82(12): 4196–4200, 1997.
79. MOHAMED-ALI, V.; PINKNEY, J. H.; COPPACK, S. W. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 22(12):1145-58, 1998.
80. MONTEIRO, C. A.; CONDE, W. L.; POPKIN, B. M. Is obesity replacing or adding to undernutrition? Evidence from different social classes in Brazil. **Public Health Nutrition**, 5(1A): 105–12, 2002.
81. MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; MEDEIROS DE SOUZA, A. L.; POPKIN, B. M. – The nutrition transition in Brazil. **Eur J Clin Nutr**, 1995; 49: 105-113.
82. MOTOSHIMA, H.; WU, X.; SINHA, M. K.; HARDY, V. E.; ROSATO, E. L.; BARBOT, D. J.; et al. Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. **J Clin Endocrinol Metab**, 87 (12): 5662-7, 2002.

83. MUSCELLI, E.; CAMASTRA, S.; CATALANO, C.; GALVAN, A. Q.; CIOCIARO, D.; FERRANNINI, E. Metabolic and cardiovascular assessment in moderate obesity: Effect of weight loss. **J Clin Endocrinol Metab**, 82(9): 2937-43, 1997.
84. MUSCELLI, E.; PEREIRA, J. A.; LAZARIN, M. A. C. T.; SILVA, C.A.; PAREJA, J.C.; SAAD, M. J. A. Lack of insulin inhibition on insulin secretion in non-diabetic morbidly obese patients. **Int J Obes**, 25: 798-804, 2001.
85. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Adult Treatment Panel III. Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults**. NIH Publication n° 02-5215, EUA, 2002. p. II26-27
86. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. The Evidence Report**. NIH Publication n°. 98-4083, EUA, 1998. p. 12-8.
87. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **The Seventh Report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC VII)**. NIH Publication N° 03-5233. EUA, 2003. p. 2-3.
88. NONOGAKI, K., FULLER, G. M., FUENTES, N. L., MOSER, A. H., STAPRANS, I., GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K. R. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. **Endocrinology**, 136(5): 2143-49, 1995.
89. OPPENHEIM, J. J.; RUSCETTI, F. W. Citocinas. In: STITES, D. P.; TERR, A. I.; PARSLOW, T. G. **Imunologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 113-30.
90. OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; MAEDA, K.; KURYAMA, H.; OKAMOTO, Y.; et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. **Circulation**, 100: 2473-76. 1999.
91. PASCERI, V.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. H. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**; 102: 2165-68, 2000.

92. PATTON, J. S.; SHEPARD, H. M.; WILKING, H.; LEWIS, G.; AGGARWAL, B. B.; EESSALU, T. E.; et al. Interferons and tumor necrosis factors have similar catabolic effects on 3T3-L1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83: 8313–17, 1986.
93. PICKUP, J. C. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, 27: 813-23, 2004.
94. PICKUP, J. C.; CHUSNEY, G. D.; THOMAS, S. M.; BURT, D. Plasma interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and blood cytokine production in types 2 diabetes. **Life Sciences - Elsevier Science Inc**, 67: 291–300, 2000.
95. PICKUP, J. C.; MATTOCK, M. B.; CHUSNEY, G. D.; BURT, D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. **Diabetologia**, 40:1286–92, 1997.
96. POLONSKI, K.S.; GIVEN, B. D.; VAN CAUTER E. Twenty-four-hour profiles and pulsatile pattern of insulin secretion in normal and obese subjects. **J Clin Invest** 81(2): 442-448, 1988.
97. POPKIN, B. M. An overview on the nutrition transition and its health implications: the Bellagio meeting. **Public Health Nutrition**, 5(1A): 93–103, 2002.
98. POPKIN, B. M. Nutritional patterns and transitions. **Popul Dev Rev** 1993; 19: 138–57.
99. POTTEIGER, J.A.; JACOBSEN, D.J.; DONNELLY, J.E. A comparison of methods for analyzing glucose and insulin areas under the curve following nine months of exercise in overweight adults. **Int J Obes**, 26: 87-9, 2002.
100. PRADHAN, A. D.; MANSON, J. E.; RIFAI, N.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 Diabetes Mellitus. **JAMA**, 286(3): 327-34, 2001.
101. RASTAM, L.; PRINEAS, R. J.; GOMEZ-MARIN, O. Ratio of cuff/arm circumference as a determinant of arterial blood pressure measurements in adults. **Journal of Internal Medicine**, 227: 225-32, 1990.

102. REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, 37: 1597-607, 1988.
103. ROTTER, V.; NAGAEV, I.; SMITH, U.; Interleukin-6 (IL-6) Induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like il-8 and tumor necrosis factor- α , overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. **J Biol Chem**. 278(46): 45777–84, 2003.
104. SEWTER, C. P.; DIGBY, J. E.; BLOWS, F.; PRINS, J.; O'RAHILLY, S. Regulation of tumour necrosis factor- α release from human adipose tissue in vitro. **J Endocrinol**, 163 (1): 33-8 1999.
105. SOBAL, J. Social Influences on Body Weight. In: Brownell, K. D. et al. **Eating disorders and obesity – A comprehensive handbook**. New York, Guilford Press, 1995. p.73-7.
106. SOOP, M.; DUXBURY, H.; AGWUNOBI, A.; GIBSON, J. M.; HOPKINS, S. J.; CHILDS, C.; et al. Euglycemic hyperinsulinemia augments the cytokine and endocrine responses to endotoxin in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 282(2): E1276–85, 2002.
107. STEFAN N.; STUMVOLL, M.; VOZAROVA, B.; WEYER, C.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; et al. Plasma Adiponectin and Endogenous Glucose Production in Humans **Diabetes Care**, 26(12): 3315–19, 2003.
108. SU, H.-Y.; SHEU, W. H.-H.; CHIN, H.-M. L.; JENG, C.-Y.; CHEN, Y.-D. I.; REAVEN, G. M. Effect of weight loss on blood pressure and insulin resistance in normotensive and hypertensive obese individuals. **Am Journal of Hypertension**, 8(11): 1067-71, 1995.
109. TAN, K. C.B.; WAT, N. M. S.; TAM, S. C. F.; JANUS, E. D.; LAM, T. H.; LAM, K. S. L. C-reactive protein predicts the deterioration of glycemia in chinese subjects with impaired glucose tolerance. **Diabetes Care**, 26(8): 2323-28, 2003.
110. TAPPY, L.; FELBER, J. P.; JÉQUIER, E. Energy and substrate metabolism in

- obesity end postobese state. **Diabetes Care**, 14(12): 1180-88, 1991.
111. TATARANNI, P. A.; ORTEGA, E. Does an adipokine-induced activation of the immune system mediate the effect of overnutrition on type 2 diabetes? **Diabetes** 54: 917-27, 2005.
 112. THE DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH GROUP. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. **Hypertension**, 40: 679-86, 2002.
 113. TRUJILLO, M. E.; SULLIVAN, S.; HARTEN, I.; SCHNEIDER, S. H.; GREENBERG, A. S.; FRIED, S. K. interleukin-6 regulates human adipose tissue lipid metabolism and leptin production *in vitro* **J Clin Endocrinol Metab**, 89(11): 5577-82, 2004.
 114. TSIGOS, C.; PAPANICOLAOU, D. A.; KYROU, I.; DEFENSOR, R.; MITISIADIS, C. S.; CHROUSOS, G. P. Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation. **J Clin Endocrinol Metab**, 82(12): 4167-70, 1997.
 115. VASCONCELOS, V. L.; SILVA, G. A. P. Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes masculinos, no Nordeste do Brasil, 1980-2000. **Cad. Saúde Pública RJ**, 19(5): 1445-51, 2003.
 116. VENUGOPAL, S. K.; DEVARAJ, S.; YUHANNA, I.; SHAUL, P.; JIALAL, I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. **Circulation**, 106: 1439-41, 2002.
 117. VICENNATI, V.; VOTTERO, A.; FRIEDMAN, C.; PAPANICOLAOU, D. A. Hormonal regulation of interleukin-6 production in human adipocytes. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 26: 905-11, 2002.
 118. VOZAROVA, B.; WEYER, C.; HANSON, K.; TATARANNI, P. A.; BOGARDUS, C.; PRATLEY, R. E. Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action and insulin secretion. **Obesity Research**, 9(7): 414-17, 2001.

119. WAJCHENBERG, B. L.; Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. **Endocrine Reviews**, 21 (6): 697-738, 2000.
120. WALLENIUS, K.; WALLENIUS, V.; SUNTER, D.; DICKSON, S. L.; JANSSEN, J. O.; Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 293: 560-65, 2002. (a)
121. WALLENIUS, V.; WALLENIUS, K.; AHRÉN, B.; RUDLING, M.; CARLSTEN, H.; DICKSON, S. L.; et. al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. **Nat Med**, 8(1): 75–9, 2002. (b)
122. WESTERBACKA, J.; CORNÉ, A.; KANNISTO, K.; KOLAK, M.; MAKKONEN, J.; KORSHENINNIKOVA, E. Acute in vivo effects of insulin on gene expression in adipose tissue in insulin-resistant and insulin-sensitive subjects. **Diabetologia**, 49(1): 132-40, 2006.
123. WEYER C.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; HOTTA, K.; MATSUZAWA, Y.; PRATLEY, R. E.; et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **J Clin Endocrinol Metab** 86(5):1930-35, 2001.
124. WHITE, M. F. Insulin signaling in health and disease. **Science**, 302 (5651):1710-1, 2003.
125. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, 2000. Reprinted 2004. p. 8-16.
126. YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; MINOKOSHI, Y.; ITO, Y.; WAKI, H.; UCHIDA, S.; et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat Med**, 8(11): 1288-95, 2002.
127. YOKOTA T et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the function of macrophages. **Blood**, 96: 1723-1732, 2000.

128. YUDKIN, J.S.; STEHOUWER, C. D. A.; EMEIS, J. J.; COPPACK, S. W. C-reactive protein in health subjects: associations with obesity, insulin resistance and endothelial dysfunction. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 19: 972-8, 1999.
129. ZHANG Y, PROENÇA R, MAFFEI M, BARONE M, LEOPOLD L, FRIEDMAN JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, **Nature** 1994; 372: 425-432.
130. ZHANG, H. H.; HALBLEIB, M.; AHMAD, F.; MANGANIELLO, V. C.; GREENBERG, A.S. Tumor necrosis factor-alpha stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. **Diabetes**, 51: 2929 –35, 2002.
131. ZICCARDI, P.; NAPPO, F.; GIUGLIANO, G.; ESPOSITO, K.; MARFELLA, R.; CIOFFI, M. et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. **Circulation**, 105: 804–9, 2002.
132. ZWAKA, T. P.; HOMBACH, V.; TORZEWSKI, J. C-reactive protein–mediated low density lipoprotein uptake by macrophages implications for atherosclerosis. **Circulation**, 103: 1194-7, 2001.



8- ANEXOS

Trabalhos Apresentados em Congressos

- Ortiz, JNM; Marin, DM; Pareja JC; Silva, CA; Souza, AL; Geloneze, B; Chaim, EA; Muscelli, E; Monte Alegre, S. Efeito da infusão de insulina sobre os níveis séricos de TNF- α , IL-6, Proteína C-reativa e Adiponectina em obesos graves com ou sem intolerância à glicose. XIV Congresso da Sociedade Brasileira de Diabetes. 18-21 outubro 2007 – Campinas, SP.
- Ortiz, JNM; Marin, DM; Pareja JC; Silva, CA; Souza, AL; Geloneze, B; Chaim, EA; Muscelli, E; Monte Alegre, S. Efeito da infusão de insulina sobre os níveis séricos de Adiponectina, IL-6, TNF- α em obesos graves com ou sem intolerância à glicose. XII Congresso Brasileiro de Obesidade e Síndrome Metabólica. 16-19 agosto 2007 – São Paulo, SP.
- Ortiz, JNM; Marin, DM; Monte Alegre, S; Pareja JC; Silva, CA; Souza, AL; Astiarraga, BD; Chaim, EA; Geloneze, B; Muscelli, E. Efeito do emagrecimento induzido por *bypass* gástrico sobre a resistência à insulina e sobre adiponectina, IL-6 e TNF- α plasmáticos. XII Congresso Brasileiro de Obesidade e Síndrome Metabólica. 16-19 agosto 2007 – São Paulo, SP.
- Marin, DM; Monte Alegre, S; Geloneze, B; Ortiz, JNM; Pereira JA; Lazarin, MACT; Souza IA, Innocêncio, RM, Chaim, AE; Silva, CA; Pareja JC; Muscelli E. Adiponectinemia e sensibilidade à insulina: correlação com a utilização oxidativa e não oxidativa de glicose após emagrecimento induzido por *bypass* gástrico. XII Congresso Brasileiro de Obesidade e Síndrome metabólica. 16-19 agosto 2007 – São Paulo, SP.
- Marin, DM; Monte Alegre, S; Ortiz, JNM; Pareja, JC; Silva, CA; Souza, AL; Gastaldelli, A; Muscelli, E. Insulin Secretion, β -cell glucose sensitivity and Insulin Resistance in Severe Obesity: Effect of Massive Weight Loss After Gastric *bypass*. 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. 17-21 setembro 2007 – Amsterdã, Holanda.
- Ortiz JNM; Muscelli, E; Marin, DM; Silva, CA; Souza, AL; Pareja, JC; Geloneze B;

- Monte Alegre, S. Acute insulin effect on plasma adiponectin, IL-6 and TNF- α in lean and morbidly obese subjects before and after weight loss induced by gastric bypass. 10th International Congress on Obesity, 2006 – Sidney, Austrália.
- Marin, DM; Monte Alegre, S; Ortiz, JNM; Gastaldelli, A; Silva, CA; Souza, AL; Astiarraga, BD; Pareja, JC; Muscelli, E. Insulin sensitivity and glucose sensitivity in obese patients before and after weight loss induced by gastric bypass. 10th International Congress on Obesity, 2006 – Sidney, Austrália.
 - Ortiz JNM; Muscelli, E; Marin, DM; Silva, CA; Souza, AL; Pareja, JC; Monte Alegre, S. Effetto acuto dell'insulina sulla adiponectina, IL-6, TNF- α in soggetti normali ed in obesi prima e dopo bypass gastrico. III Congresso Nazionale della Società Italiana di Obesità, 2006 – Milão, Itália.
 - Marin, DM; Monte Alegre, S; Ortiz JNM; Silva, CA; Gastaldelli, A; Souza, AL; Astiarraga, BD; Pareja, JC; Muscelli, E. Secrezione insulinica e sensibilità della β -cellula al glucosio in soggetti con obesità grave prima e dopo dimagrimento indotto da bypass gastrico. III Congresso Nazionale della Società Italiana di Obesità, 2006 – Milão, Itália.
 - Ortiz JNM; Muscelli, E; Marin, DM; Pareja, JC; Silva, CA; Souza, AL; Geloneze B; Monte Alegre, S. Efeito agudo da insulina sobre os níveis plasmáticos de adiponectina, IL-6, TNF- α e proteína C-reativa em sujeitos com obesidade mórbida antes e após emagrecimento induzido por bypass gástrico. VIII Congresso Brasileiro de Cirurgia da Obesidade. 5-9 dezembro 2006 – Salvador, BA. **Prêmio de Melhor Pôster.**
 - Marin, DM; Francesconi, EPMS; Almeida, J; Ortiz, JNM; Muscelli, E; Monte Alegre, S; Pareja, JC; Geloneze, B; Chaim, EA; Spadari, RC; Géloën, A; Grassi-Kassisse, DM; Lactatemia em população de obesos mórbidos: correlação com IMC e gênero. VIII Congresso Brasileiro de Cirurgia da Obesidade. 5-9 dezembro 2006 – Salvador, BA.
 - Marin, DM; Monte Alegre, S; Ortiz, JNM; Pareja, JC; Chaim, EA; Gastaldelli, A; Silva, CA; Souza, AL; Astiarraga, BD; Muscelli, E. Sensibilidade à Insulina e Sensibilidade da célula β à glicose em indivíduos com obesidade mórbida antes e após emagrecimento induzido por bypass gástrico. VIII Congresso Brasileiro de Cirurgia da Obesidade. 5-9 dezembro 2006 – Salvador, BA.

- Ortiz JNM; Marin, DM; Monte Alegre S; Silva C A; Pareja J C; Geloneze B; Muscelli E. Similar insulin secretion and sensitivity in severe obese subjects with different degrees of glucose tolerance. *International Journal of Obesity* 2004, vol 26 Supl 1 S170.
- Marin, DM; Ortiz JNM; Monte Alegre S; Astiarraga, BD; Souza, AL; Pareja J C; Muscelli E. Insulin hypersecretion is not fully explained by insulin resistance in severe obesity. *International Journal of Obesity* 2004, vol 26 Supl 1 S170.

