



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ALEXANDRO MARCIO DA SILVA MATTOS

**PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO *GIPR* GLU354GLN E
SUA ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS RELACIONADAS À
SÍNDROME METABÓLICA**

Londrina
2018

ALEXANDRO MARCIO DA SILVA MATTOS

**PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO *GIPR* GLU354GLN E
SUA ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS RELACIONADAS À
SÍNDROME METABÓLICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Tânia Longo Mazzuco

Londrina
2018

ALEXANDRO MARCIO DA SILVA MATTOS

**PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO *GIPR* GLU354GLN E SUA
ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS RELACIONADAS À SÍNDROME
METABÓLICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Tânia Longo Mazzuco
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Alexandre José Faria Carrilho
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Duarte Pgnatelli
Universidade Porto Portugal - UPP

Prof. Dr. Carlos Eduardo Coral de Oliveira
Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUC

Londrina, 12 de junho de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a uma dupla essencial da minha vida,
Maria Vicente Mattos e André Eduardo da Silva Mattos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder sabedoria na escolha dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir, proteção para me amparar e por me enviar pessoas essenciais para deixar tudo isso mais fácil.

Aos meus pais, Maria Aparecida Mattos e João da Silva Mattos Filho, professores de vida que me ajudaram a construir meus valores. Exemplos de honestidade, dedicação, bom coração, doutores no amor e responsáveis por todas minhas conquistas. À minha mãe pela capacidade de transformar a vontade de sempre ajudar, em oração.

A toda minha família que entendeu e aceitou minha ausência, em especial meu super irmão André Eduardo da Silva Mattos, melhor ser humano que já conheci.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a Tânia Longo Mazzuco, que aceitou o desafio de fazer um fisioterapeuta trabalhar com genética, pelo seu exemplo de pesquisadora, conduta ética profissional, sem deixar seu lado humano de incentivo e amizade, sendo cuidadosa nos detalhes deste trabalho.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Marla Karine Amarante, presente na hora certa, esclarecendo dúvidas e com paciência me fazendo crescer, obrigado pelo exemplo.

À Prof^a. Dr^a Maria Angelica Ehara Watanabe, pela contribuição no desenvolvimento da tese e artigo.

À Prof^a. Dr^a. Giana Zarbato Longo, que de forma especial, um ser humano incrível, fez da estatística um aprendizado único do trabalho.

À banca examinadora, Prof. Dr. Alexandre José Faria Carrilho, Prof^a. Dr^a. Edna Maria Vissoci Reiche, Prof. Dr. Duarte Pgnatelli, Prof. Dr. Carlos Eduardo Coral de Oliveira, pelas sugestões e contribuições ao trabalho.

Às professoras suplentes do meu trabalho, Prof^a. Dr^a. Estefânia Gastaldello Moreira e Prof^a. Dr^a. Karen Brajão de Oliveira pela disponibilidade.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, pela contribuição para a minha formação científica. À Sandra Lage e Emanuella Silveira de Oliveira (secretárias da Pós-graduação em Ciências da Saúde) pelo auxílio, atenção, eficiência e simpatia nas questões burocráticas durante todo o doutorado.

Aos colegas do grupo de pesquisa iEndo, pela amizade, paciência e toda ajuda durante todo o programa do doutorado. Não posso deixar de ressaltar Dr. Jefferson Crespigo, Natasha Guimarães Ludwig, Sarah Conchon, Giovana Outuki, Claudia Nascimento

Montemor e Anna Catarina Gatzk de Arruda, vocês me ensinaram que mesmo um título tão individual não se conquista sozinho, obrigado.

A todos meus amigos que caminharam comigo neste período, em especial Neila Késya Crescêncio por ter realmente ficado todo o tempo ao meu lado e Suelen Balero De Paula Petroli por estar sempre por perto.

A todos os meus pacientes que de forma única, respeitaram todas as ausências, trocas de sessões, transferências e altas para buscar meu objetivo de avançar nos estudos, muito obrigado por tanta força e incentivo.

Às fisioterapeutas Ana Akerman, Camila Torriani Pasin, Claudineide Maria da Silva e toda a equipe de profissionais da 62ª turma do Conceito Bobath, que durante este período de estudos me mostraram um grande motivo pra ser ainda mais fisioterapeuta.

A todos indivíduos que contribuíram com amostras e dados clínicos, o meu muito obrigado, com todo carinho e respeito.

A Universidade Estadual de Londrina, CAPES e CNPq pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho gostaria de deixar o meu muito obrigado!

“...Hoje me sinto mais forte, mais feliz
quem sabe, só levo a certeza de que
muito pouco eu sei, ou nada sei...”

Almir Sater/Renato Teixeira

MATTOS, Alexandro Marcio da Silva. **Prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln e sua associação com doenças relacionadas à síndrome metabólica** 2018. 86f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

O receptor do polipeptídeo insulínico dependente de glicose (*GIPR*) está relacionado com liberação insulínica, crescimento, diferenciação e sobrevivência das células beta pancreáticas. Por apresentar distribuição e função sistêmica, estudos sugerem potencial repercussão fisiopatológica na diabetes *mellitus* tipo 2, obesidade, síndrome metabólica, **baixa massa óssea** e recentemente, em estudos prévios do nosso laboratório, na hipertensão arterial. Além disso, o *GIPR* está expresso na região secretora de aldosterona nas glândulas adrenais, e é conhecido que a aldosterona desempenha papel importante na fisiopatologia de doenças cardiometabólicas. Neste trabalho foi investigado a prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln e possíveis associações com doenças relacionadas à síndrome metabólica na população de Londrina-PR, Brasil. Em estudo observacional descritivo, analítico transversal, participaram 311 indivíduos (160 mulheres, 151 homens) que foram recrutados no Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário – AEHU/UDEL, da cidade de Londrina-PR, localizado em uma área metropolitana brasileira (aproximadamente 1.067.214 habitantes). A estratificação aleatória foi realizada considerando gênero e regiões geográficas (norte, sul, leste, oeste, centro e periferia). Os dados foram coletados por meio de entrevista incluindo informações antropométricas, sociodemográficas e doenças relacionadas à síndrome metabólica. Para detecção do polimorfismo do *GIPR* Glu354Gln foi realizada a reação em cadeia da polimerase seguida de digestão enzimática (PCR-RFLP), sendo a variante genética identificada pela presença do alelo C. A população estudada estava em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. O genótipo selvagem GG foi encontrado em 74,3% e o alelo polimórfico C do SNP *GIPR* Glu354Gln em 25,7% da população estudada, com maior prevalência em caucasianos ($p = 0,032$; OR = 1,89), em indivíduos hipertensos ($p = 0,001$; OR = 2,38), dislipidêmicos ($p = 0,029$; OR = 2,24) e tabagistas ($p = 0,013$; OR = 2,12). Não foram encontradas associações significativas entre o polimorfismo e o índice de massa corporal, obesidade, diabetes e história familiar de doenças relacionadas à síndrome metabólica e 46,9% dos indivíduos da amostra apresentaram diagnósticos relacionados com doenças metabólicas. De um modo geral o presente estudo mostrou que a hipertensão arterial foi a doença mais prevalente e com maior número de associações entre as doenças relacionadas a síndrome metabólica na população do estudo. A prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln na cidade de Londrina (PR, Brasil) foi de 22,5% para o genótipo GC e 3,2% para o CC. O estudo demonstra pela primeira vez que essa variante genética pode ter forte associação com a hipertensão, e futuros estudos são necessários para a compreensão do envolvimento da variante genética *GIPR* Glu354Gln nestes mecanismos.

MATTOS, Alexandro Marcio da Silva. **Prevalence of *GIPR* Glu354Gln polymorphism and its association with metabolic syndrome-related diseases** 2018. 86p.(Doctoral Thesis in Health Sciences) – State University of Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIPR) receptor is related to insulin release, growth, differentiation and survival of pancreatic beta cells. Because of its distribution and systemic function, studies suggest a potential pathophysiological repercussion in type 2 diabetes *mellitus*, obesity, metabolic syndrome, low bone mass and recently, in our laboratory, hypertension. In addition, GIPR is expressed in the secretory region of aldosterone in the adrenal glands. Aldosterone plays an important role in the pathophysiology of cardiometabolic diseases. To investigate the prevalence of the *GIPR* Glu354Gln polymorphism and possible associations with diseases related to the metabolic syndrome in the population of Londrina-PR, Brazil. Descriptive, cross-sectional, observational study. A total of 311 individuals (160 women, 151 men) were recruited from the Hospital of the University Hospital - AEHU / UEL, located in a metropolitan area of Brazil (approximately 1.067.214 inhabitants). Random stratification was performed considering gender and geographic regions (north, south, east, west, center and periphery). Data were collected through interviews including anthropometric, sociodemographic and diseases related to the metabolic syndrome. In order to detect the polymorphism Glu354Gln of the *GIPR* gene, the polymerase chain technique followed by enzymatic digestion (PCR-RFLP) was performed, the genetic variant being identified by the presence of the C allele. The study population was in Hardy-Weinberg equilibrium. The GG wild genotype was found in 74.3% and the polymorphic C allele of *GIPR* Glu354Gln SNP in 25.7% of the studied population, with a higher prevalence in Caucasians ($p = 0.032$, OR = 1.89), hypertensive ($p = 0.001$, OR = 2.38), dyslipidemic ($p = 0.029$, OR = 2.24) and smokers individuals ($p = 0.013$, OR = 2.12). No significant associations were found between polymorphism and body mass index, obesity, diabetes and family history of diseases related to the metabolic syndrome. In the study, 46.9% of the individuals in the sample presented diagnoses related to metabolic diseases. Arterial hypertension was the most prevalent disease and with a greater number of associations among diseases related to the metabolic syndrome in the study population. The prevalence of the *GIPR* Glu354Gln polymorphism in the city of Londrina (PR, Brazil) was 22.5% for the GC genotype and 3.2% for the CC. The study shows for the first time that this genetic variant has a strong association with hypertension. Future studies are necessary to better understand the possible involvement of the *GIPR* Glu354Gln genetic variant in these mechanisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Efeito incretina	15
Figura 2 -	Ação do GIP nos tecidos periféricos	20
Figura 3 -	Gene <i>GIPR</i> e seus polimorfismos.....	21
Figura 4 -	Estrutura esquemática da proteína do GIPR com a variante Glu354Gln	22
Figura 5 -	Modulação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona.....	32
Figura 6 -	Delineamento do estudo de prevalência do polimorfismo <i>GIPR</i> Glu354Gln	39
Figura 7 -	Genotipagem do polimorfismo <i>GIPR</i> Glu354Gln.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Relação de polimorfismos do <i>GIPR</i> com alterações fisiopatológicas.....	21
-------------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AEHU	Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário
AMPC	Adenosina monofosfato cíclico
ANG I	Angiotensina I
ANG II	Angiotensina II
AT1	Receptor angiotensina I
AT2	Receptor angiotensina II
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
GIP	Polipeptídeo insulínico dependente de glicose
GIPR	Receptor do GIP
GPCR	Receptores acoplados a proteína G
GLP-1	Peptídeo similar ao glucagon
HA	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HU	Hospital Universitário
IKKB	Beta inibidora do fator nuclear Kappa-B
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corpórea
IRS-1	Substrato 1 do receptor de insulina
IRS-2	Substrato 2 do receptor de insulina
JNK	c-jun N-terminal kinase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-ox	Lipoproteínas de baixa densidade-oxidadas
NF- kB	Fator de transcrição nuclear Kappa-B
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde

PCR-RFLP	Reação em cadeia da polimerase - Polimorfismo do Comprimento do Fragmento de Restrição (<i>Polymerase chain reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism</i>)
RAR	Relação aldosterona:renina
RI	Resistência insulínica
EROs	Espécies reativas de oxigênio
SNPs	Polimorfismo de nucleotídeo único (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TGI	Trato gastrointestinal
THaldo	Tetrahidroaldosterona
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UEL	Universidade Estadual de Londrina
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
1.1	Incretinas	14
1.2	GIP	16
1.2.1	Receptor do GIP	17
1.2.2	Polimorfismo do GIPR	20
1.3	Síndrome metabólica	23
1.3.1	Diabetes Mellitus tipo 2	24
1.3.2	Dislipidemia	25
1.3.3	Obesidade	26
1.3.4	Hipertensão arterial sistêmica	28
1.4	Sistema Renina angiotensina aldosterona	29
1.5	Tabagismo	33
1.6	Sedentarismo	34
2	JUSTIFICATIVA	36
3	OBJETIVOS	38
3.1	Objetivo geral	38
3.2	Objetivos específicos	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	Delineamento da pesquisa	39
4.2	Participantes	39
4.2.1	Critério de Inclusão	40
4.2.2	Critério de Exclusão	40
4.3	Extração de DNA genômico	41
4.4	Análise do polimorfismo genético Glu354Gln do <i>GIPR</i>	41
4.5	Variáveis demográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais	42
4.5.1	Idade e IMC	42
4.5.2	Múltiplas variáveis	42
4.5.3	Tabagismo	43
4.5.4	Sedentarismo	43

4.6	Análise estatística	43
5	RESULTADOS	44
5.1	Artigo 1	45
5.2	Artigo 2	48
6	CONCLUSÃO	67
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
8	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE	79
	ANEXOS	84

1. INTRODUÇÃO

1.1. Incretinas

Historicamente, a investigação de alguns fatores produzidos pelo intestino modulando a secreção do suco pancreático começou no início de 1900, quando nasceu a ciência chamada endocrinologia, com a hipótese de que a glicose sanguínea poderia ser controlada por algum tipo de “secreção interna” (Girard 2008). Com os estudos fisiológicos pioneiros acerca do efeito de extratos brutos de intestino estimulando a secreção de enzimas digestivas, foi identificada a função pancreática exócrina. No entanto, foi demonstrado que tais «extratos secretores» continham outra substância humoral que reduzia os níveis de glicemia. Então, o termo incretina (*internal secretion*) foi adotado considerando a capacidade de estimular a secreção endócrina do pâncreas, porém, os efeitos insulíntricos de extratos duodenais só puderam ser estudados com o desenvolvimento da técnica de radioimunoensaio nos anos 60 (Yalow & Berson 1960a, Yalow & Berson 1960b).

As incretinas são hormônios liberados por células intestinais e têm seu papel de controle da glicemia por meio de respostas que diminuem a taxa glicêmica. São responsáveis por 74,9-93% da secreção insulínica (Nauck, Homberger et al. 1986), em resposta à ingestão oral de nutrientes (Holst & Gromada 2004; Holst, Vilsboll et al. 2009). As incretinas atuam como amplificadores dos sinais da glicose. De fato, um estudo com indivíduos saudáveis mostrou maior concentração plasmática de insulina após administração oral de glicose quando comparado com a mesma quantidade de glicose infundida via endovenosa (Nauck, Homberger et al. 1986) (Figura 1).

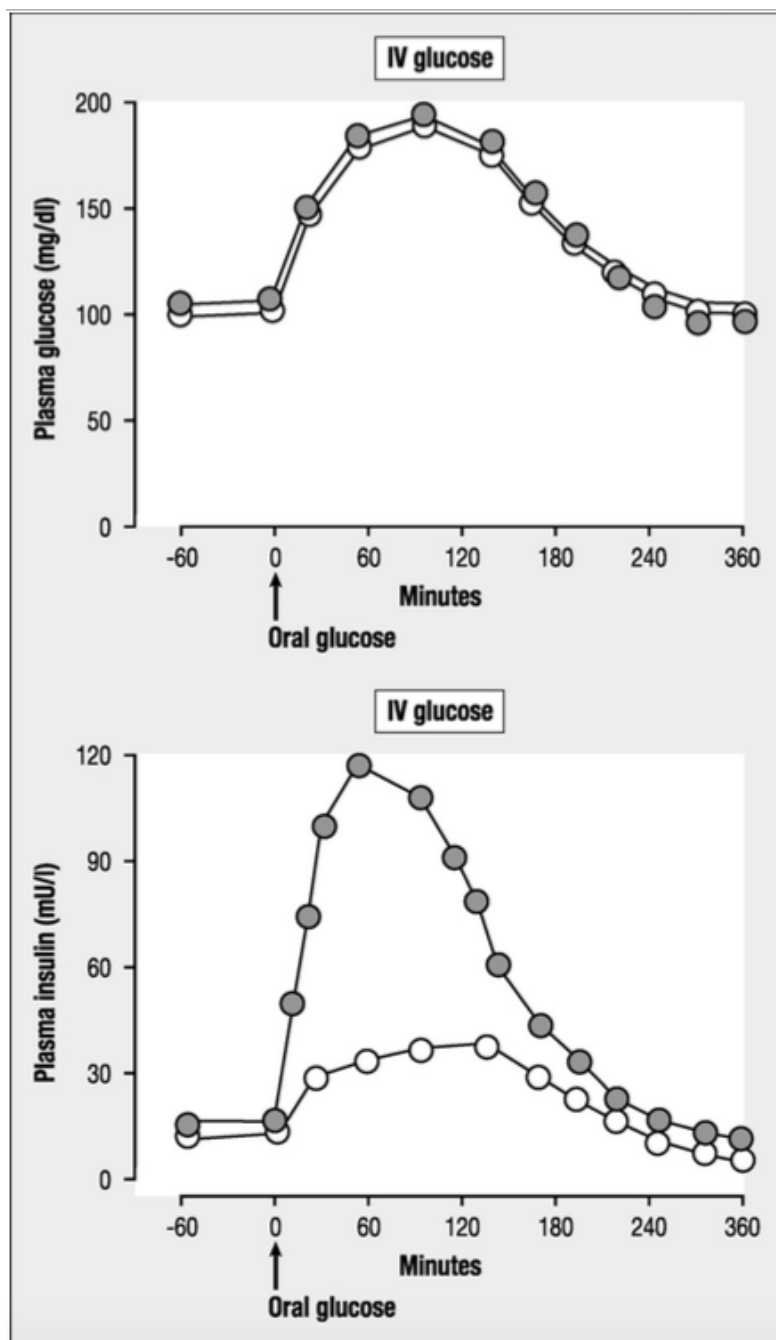


Figura 1. Efeito incretina. Comparação do aumento de insulina após carga oral e infusão endovenosa de glicose. Após administração de glicose via oral (círculos escuro) e endovenosa (círculos claros) nas doses de (25, 50 e 100g de glicose) em indivíduos saudáveis, foi constatado que a secreção de insulina dependia da quantidade de glicose ofertada, sendo que as incretinas foram responsáveis por 75% da secreção de insulina depois da ingestão de 50g de glicose. Sendo mais significativo o estímulo por via oral (círculos escuros) que por via endovenosa (círculos claros) Fonte: GIRARD, (2008).

1.2. GIP

O polipeptídeo inibitório gástrico foi identificado como estimulador da secreção de insulina, e posteriormente foi renomeado para polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) (Brown, Dryburgh et al. 1975, Ross, Brown et al. 1977). O GIP é um hormônio liberado pelas células K do duodeno e do jejuno proximal após a absorção de glicose e gordura no lúmen intestinal. Tem ação de estimular a resposta da insulina; contribui com 80% do estímulo entero-insular da célula β -pancreática, induzido por nutrientes (Baggio & Drucker 2007).

O GIP diminui a motilidade gástrica e a secreção de ácidos estomacais, fazendo com que o alimento seja processado de forma mais lenta, assim a glicose é liberada em um intervalo maior, com um pico menor no período pós-prandial. Foi demonstrado que existe uma relação entre o GIP e controle do fluxo sanguíneo no tecido adiposo (Asmar, Tangaa et al. 2010).

A concentração do GIP é baixa nos períodos de jejum (5-10 pmol/L) e aumenta entre 5-15 minutos após a alimentação (15-50 pmol/L) (Baggio & Drucker 2007, Girard 2008). A meia-vida do GIP na circulação é curta, como a de quase todos os hormônios peptídicos, cerca de 5-7 minutos, pois ele é rapidamente inativado pela enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP-IV), pela clivagem dos dois primeiros aminoácidos (alanina e tirosina) do peptídeo N-terminal do GIP completo (1-42 aa) e convertido para o fragmento GIP (3-42 aa), que não tem atividade insulínica significativa (Kim & Egan 2008).

Tanto alimentos contendo glicose quanto gordura estimulam a liberação do GIP, mas apenas em resposta à glicose ocorre o estímulo a biossíntese e secreção de insulina. A liberação do GIP causada após absorção de lipídios reflete sua ação insulínica independente no metabolismo da gordura (Girard 2008). Como a taxa de absorção do alimento é mais importante que a própria presença dele no intestino, pacientes com doenças disabsortivas ou em uso de medicações que interferem no trânsito intestinal têm menor liberação de GIP (Baggio & Drucker 2007).

1.2.1. Receptor do GIP

O gene do receptor para o GIP (*GIPR*) foi clonado inicialmente a partir de uma linhagem celular de insulinoma (Usdin, Mezey et al. 1993). O gene *GIPR* humano está localizado na posição q13.3 do braço longo do cromossomo 19, formado por 14 éxons, e contém uma sequência de 1398 pares de base (pb) que codifica uma proteína de 466aa (~50 kDa) (Figueiredo, Pamplona et al. 2010).

O GIPR é membro da família de receptores acoplados à proteína G (GPCR) com sete domínios transmembrana, possuindo homologia de 40% com os receptores para o glucagon e para o peptídeo similar ao glucagon (GLP-1), todos pertencentes à classe B (*secretin-like*) (Gremlich, Porret et al. 1995). O ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) transcrito do gene *GIPR* humano é expresso não somente nas ilhotas pancreáticas, mas também em outros tecidos, incluindo traqueia, cérebro, coração, trato gastrointestinal, baço, timo, células sanguíneas, pulmão, rim e ossos, sendo sua função, nestes locais, pouco conhecida (Gremlich, Porret et al. 1995, Bollag, Zhong et al. 2000, Baldacchino, Oble et al. 2005).

O GIPR é formado por um domínio extracelular N-terminal essencial para a ligação de alta afinidade com o GIP e ativação do receptor, um domínio transmembrana importante para a ativação do receptor e acoplamento à adenosina monofosfato cíclico (AMPC), e um domínio C-terminal citoplasmático que intermedia a sinalização intracelular (Kim & Egan 2008).

A ligação do GIP ao seu receptor na célula β -pancreática, leva a um rápido aumento do AMPC. A glicose atravessa a membrana da célula β , via transportador de glicose (GLUT-2) é metabolizada, o que leva a um aumento na relação adenosina trifosfato/adenosina difosfato, levando à despolarização da célula beta e secreção de insulina dependente de glicose (Lynn, Thompson et al. 2003). Além disso, estimula a biossíntese de insulina (Girard 2008). O GIP age sinergicamente com a glicose para estimular a proliferação de células β -pancreáticas e inibir sua apoptose, pelas vias da proteína quinase A (PKA), fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) e proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK) (Hansotia & Drucker 2005). Estudos sugerem que o GIP contribui para o crescimento, a diferenciação e a sobrevivência da célula β -pancreática (Kubota, Yamada et al. 1997, Trumper, Trumper et al. 2001).

O efeito do GIP liberado em resposta à ingestão de gordura no receptor (GIPR) dos adipócitos, pode estar relacionado ao metabolismo dos lipídios. Entre seus efeitos, promove o *clearance* dos quilomícrons da circulação pela ativação da lipoproteína lipase, facilitando o acúmulo de gordura e aumento do tecido adiposo. Pesquisa realizada com camundongos que tiveram o GIPR inativado demonstrou que estes apresentaram resistência para o desenvolvimento de obesidade exógena, com redução de até 40% do peso e dos níveis de triglicérides, ácidos graxos e colesterol (Girard 2008). Outro estudo, também utilizando camundongos *knockout* para o *GIPR*, mostrou a diminuição da ação do GIP periférico, podendo contribuir para o aumento da oxidação de gordura nestes animais, promovendo a diminuição do peso (Miyawaki, Yamada et al. 2002).

Estudos *in vitro* demonstram que esses efeitos podem ser dependentes ou não da insulina. Em camundongos, o efeito do GIP está relacionado com a diminuição da concentração de ácidos graxos livres após a ingestão de solução concentrada de lipídios, provavelmente pela via dependente de insulina, levando à inibição da liberação de ácidos graxos no tecido adiposo e aumentando a sua reesterificação (Asmar, Tangaa et al. 2010) (Figura 2). O efeito lipolítico pode ser explicado pelo uso preferencial de gordura como substrato energético e pelo aumento do gasto energético (Baggio & Drucker 2007).

O GIP está presente em concentrações normais ou aumentadas no plasma de pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), porém apresenta efeito insulínico deficiente. Uma hipótese que justifique essa redução da resposta das células beta é de que a hiperglicemia leve à redução da regulação da expressão do *GIPR* (Kim & Egan 2008). Estudos utilizando camundongos com gene *GIPR* inativado apresentam alterações na secreção de insulina dependente de glicose e intolerância à glicose (Girard 2008), porém a glicemia após jejum e após infusão intraperitoneal de glicose apresentam-se normais (Hansotia & Drucker 2005).

Estudos que relacionam incretinas e a enzima DPP-IV com doenças cardiovasculares mostraram a redução de área de infarto, melhora das disfunções em cardiomiopatias, diminuição moderada da pressão arterial em humanos (Ferdinand, White et al. 2014); White & Baker 2016) e melhora da função ventricular em ratos portadores de insuficiência cardíaca (Kim, Platt et al. 2013, Wang, Zhong et al. 2013, White & Baker 2016).

O GIP tem como principal papel o efeito insulínico em células β -pancreáticas e seus efeitos adicionais incluem homeostase glicêmica, controle de peso e lipogênese em adipócitos (Miyawaki, Yamada et al. 2002); aumento da secreção da lipoproteína lipase (Hansotia, Maida et al. 2007); (Kim & Egan 2008); estimulação da secreção de somatostatina, glucagon e regulação do fluxo sanguíneo (Fehmann & Goke 1995); remodelação óssea (Gaudin-Audrain, Irwin et al. 2013) e neurogênese (Figueiredo, Pamplona et al. 2010).

O interesse pela fisiopatologia do GIP em relação à glândula adrenal surgiu com estudos realizados nas duas últimas décadas que vêm demonstrando o papel do GIPR em certos tumores adrenocorticais. O córtex adrenal tem papel fundamental na manutenção do metabolismo energético e no equilíbrio eletrolítico extracelular, pela secreção de hormônios glicocorticoides, sintetizados principalmente na zona fasciculada da glândula adrenal, e mineralocorticoides, sintetizados na zona glomerulosa (ZG). (Lacroix, Hamet et al. 1999, Mazzuco, Herrera et al. 2008, Lampron, Bourdeau et al. 2009, Mazzuco, Grunenwald et al. 2010).

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal controla a secreção do cortisol, principal hormônio glicocorticoide, através da secreção de corticotrofina (CRH) e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), os quais recebem influências de outros neuro-hormônios. A secreção mineralocorticoide também é estimulada pelo ACTH, mas seu principal regulador é o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Além disso, o controle da secreção hormonal do córtex adrenal, em certas situações patológicas, pode ser exercido por outros hormônios, tais como o GIP. Assim, a fisiopatologia da síndrome de *Cushing* dependente da alimentação foi elucidada no estudo de tumores adrenais benignos com secreção elevada de cortisol em resposta à elevação dos níveis de GIP no período pós-prandial (Hamet, Larochelle et al. 1987, Chabre, Liakos et al. 1998). Além disso, foi demonstrado que a expressão de GIPR era capaz de induzir proliferação celular do córtex adrenal, com aumento de secreção glicocorticoide no pós-prandial e em resposta ao GIP exógeno (Mazzuco, Chabre et al. 2006). Outro estudo clínico demonstrou um caso de hiperaldosteronismo primário dependente da alimentação e responsivo ao GIP (Lampron, Bourdeau et al. 2009).

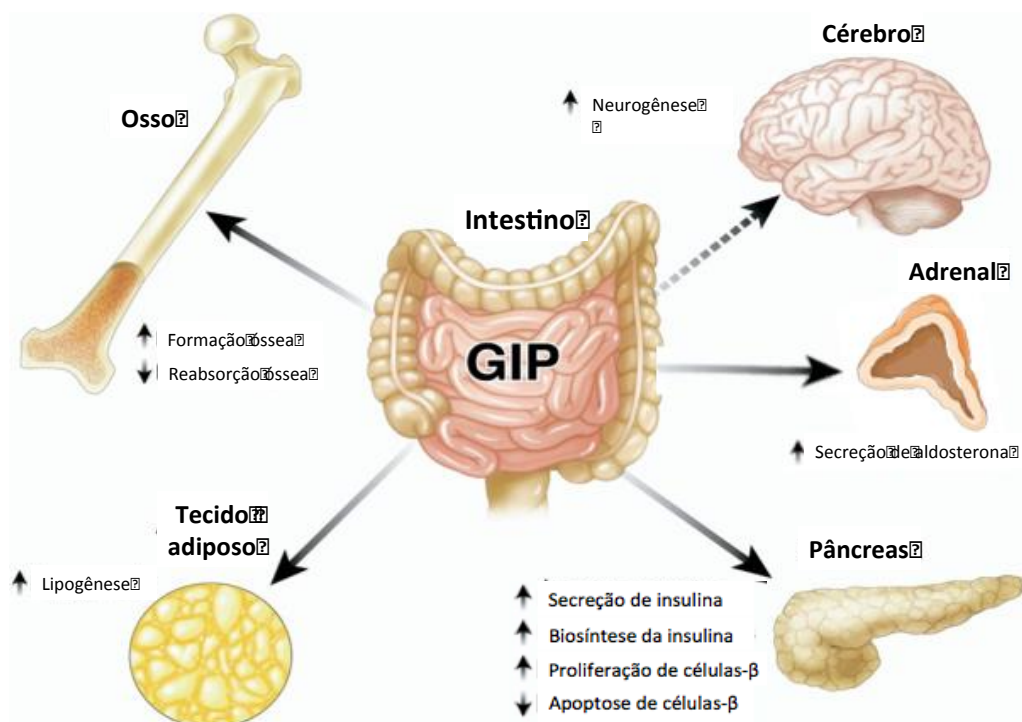


Figura 2. Ação do GIP nos tecidos periféricos. Fonte: Baggio & Drucker, (2007). Adaptado por MATTOS, AMS, 2018.

1.2.2. Polimorfismo do *GIPR*

Sabe-se que 99% do genoma é idêntico entre os indivíduos, e sendo assim, apenas 1% está suscetível a variações. Quando uma variância genética alcança frequência superior a 1% em uma população, passa a ser denominada polimorfismo. Existem vários tipos de polimorfismos e, dentre eles, os *single-nucleotide polymorphism* (SNPs) são os mais frequentes. Eles surgem a partir de mudanças em nucleotídeos únicos em uma determinada sequência de DNA. Os SNPs estão distribuídos uniformemente por todo o genoma, tornando-se excelentes marcadores biológicos de predisposição a doenças (Altshuler, Daly et al. 2008). Estudos relacionaram SNPs do *GIPR* com diversos efeitos sistêmicos (Tabela 1).

Tabela 1. Relação de polimorfismos do *GIPR* com alterações fisiopatológicas

SNP	Substituição do nucleotídeo	Fisiopatologia	Referência
rs2287019	C/T	obesidade e metabolismo da glicose	(Qi, Bray et al. 2012)
rs10423928	A/T	DM2	(Hu, Zhang et al. 2010)
rs1260326	C/T	secreção de insulina	(Windholz, Kovacs et al. 2011)
rs1800437	G/C	Homeostase glicêmica	(Sauber, Grothe et al. 2010)
		Densidade mineral óssea	(Torekov, Harslof et al. 2014)

C: citosina, T: timina, A: adenina, G: guanina.

Um estudo com os SNPs do gene *GIPR* demonstrou que variantes genéticas (Figura 3) modificam/suprimem a função do receptor, por alterar os sítios de interação com o ligante ou as vias de sinalização intracelular (Sauber, Grothe et al. 2010). Além disso, tem sido demonstrado o envolvimento destas variantes genéticas com a susceptibilidade à doenças.

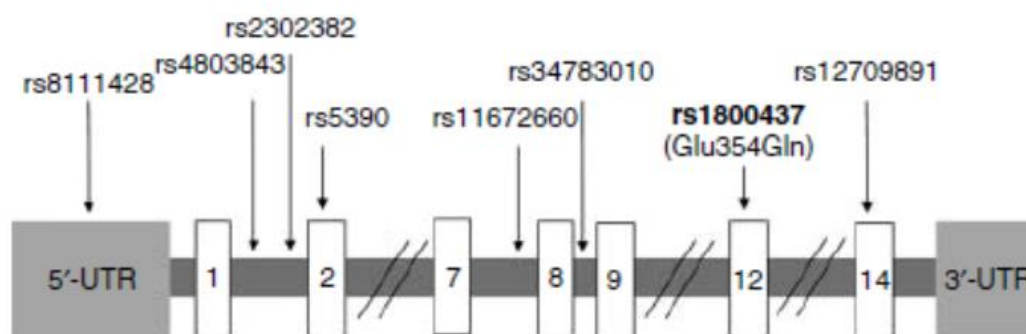


Figura 3. Gene do *GIPR* e seus polimorfismos. Estrutura do gene *GIPR* com a localização dos principais polimorfismos conhecidos. A variante rs1800437, localizada no exon 12 do gene *GIPR*, está destacada em negrito. Fonte: (SAUBER et al., 2010).

Dentre os polimorfismos do *GIPR*, o Glu354Gln é caracterizado pela troca de uma guanina para citosina (G > C) no éxon 12, causando a substituição do códon correspondente ao glutamato (glu ou E), na posição 354, para uma glutamina (Gln ou Q). Esta variante parece alterar a estrutura do GIPR, o qual é menos expresso na membrana celular e apresenta redução significativa da atividade basal (Fortin, Schroeder et al. 2010) (Figura 4).

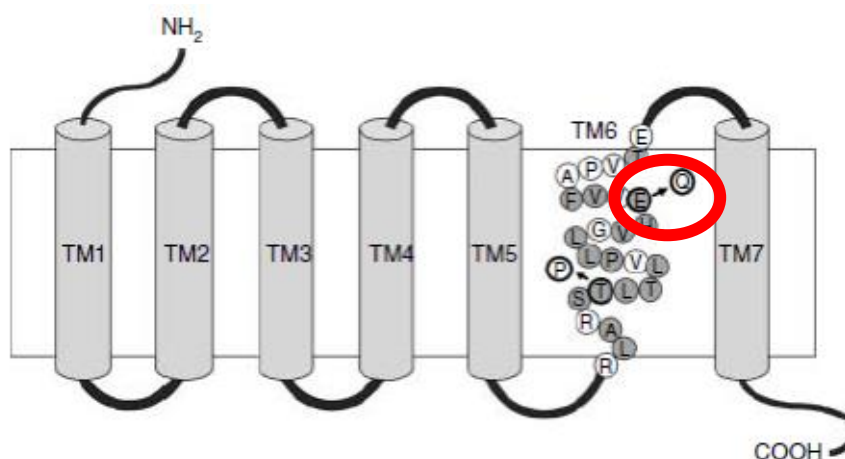


Figura 4. Estrutura esquemática da proteína do GIPR com a variante Glu354Gln. Troca dos aminoácidos no domínio transmembrana 6 (TM6) na variante Glu354Gln circulado em vermelho. E: glutamato; Q: glutamina; TM: transmembrana; NH₂: amidogênio; COOH: ácido carboxílico. Adaptado SAUBER et al, 2010.

Em um estudo utilizando crianças e adolescentes obesas de Berlim na Alemanha, foram encontradas evidências de associação significativa entre o alelo polimórfico (alelo C) do *GIPR* Glu354Gln e um elevado índice de resistência insulínica (*homeostatic model assessment – insulin resistance*, HOMA-IR) (valor acima do percentil 95) nessa população (Sauber, Grothe et al. 2010). Em outro estudo com crianças alemãs obesas, a prevalência dos pacientes controles do alelo G foi de 0,775 e do C alelo 0,225, e, apesar de não significativa (p=0,076), houve tendência de associação do alelo G com obesidade infantil (Vogel, Scherag et al. 2009).

Em outro estudo realizado em uma população holandesa foi avaliado a relação entre o polimorfismo *GIPR* Glu354Gln e o diagnóstico de DM2 em 568 indivíduos. Não houve diferença significativa quanto à distribuição dos genótipos quando comparado com grupo controle e não houve associação desse SNP com o diagnóstico de DM2, porém, em 190 pacientes diabéticos dessa amostra, foi evidenciada

associação marginal com doença cardiovascular (Nitz, Fisher et al. 2007). Em trabalho realizado com mulheres Dinamarquesas (estudo longitudinal de 10 anos) em tratamento para prevenção de perda óssea pós menopausa foi demonstrada associação entre o alelo variante C e menor densidade mineral óssea, e também possível risco de fratura nesta população (Torekov, Harslof et al. 2014).

Em 2015, estudo prévio do nosso laboratório demonstrou, pela primeira vez, uma associação do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln com hipertensão arterial (HA) na população brasileira (Da Silva Mattos, Ludwig et al., 2015).

1.3. Síndrome metabólica

As doenças crônicas não transmissíveis constituem importante problema de saúde pública com consequências socioeconômicas em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Desde 1923, estudos sobre anormalidades metabólicas vêm sendo realizados, e em 1988 Reaven descreveu a Síndrome “X” (Reaven 1997), e desde então, se acompanha a relação entre síndrome metabólica e o risco aumentado para doença cardiovascular, DM2 e mortalidade.

Atualmente, síndrome metabólica é definida como um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares usualmente relacionados à deposição central de gordura e resistência à insulina (Lakka, Laaksonen et al. 2002, Hu, Qiao et al. 2004). Embora existam diversos critérios para definição de síndrome metabólica, a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2015 estabelece seu diagnóstico na presença de 3 ou mais dos seguintes critérios: relação cintura/quadril $> 0,9$ em homens e $> 0,85$ em mulheres ou IMC > 30 Kg/m²; pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg ou diastólica ≥ 90 mmHg, ou tratamento para HA; diabetes, intolerância à glicose ou resistência insulínica; lipoproteínas de alta densidade (HDL) < 35 mg/dL em homens ou < 39 mg/dL em mulheres; nível de triglicérides ≥ 150 mg/dL.

Após a segunda metade do século XX, hábitos alimentares e sedentarismo contribuíram para o crescimento de doenças crônicas como DM2, hipertensão arterial, alterações lipídicas e obesidade, aumentando o risco para doenças cardiovasculares (Lanas, Seron et al. 2013).

Estímulos estressores desafiam a homeostase, desencadeando respostas neuroendócrinas que variam em intensidade e tipo de processo alostático, com o objetivo de manter o equilíbrio e a proteção do organismo (Mazzuco, Mattos et al. 2014). O estresse crônico leva à persistente ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, que, por sua vez, libera mediadores que suprimem a resposta imune, afetam processos biológicos como o aumento do dano ao DNA, mutações somáticas, alterações no reparo do DNA e a inibição da apoptose, gerando processos patológicos (Reiche, Nunes et al. 2004).

1.3.1. Diabetes *mellitus* tipo 2

DM2 é um distúrbio metabólico caracterizado por elevação do nível de glicose no sangue, resistência periférica à insulina e deficiência relativa da insulina. Indivíduos com DM2 têm maior risco de HA e doenças cardiovasculares, além de complicações microvasculares como neuropatia, retinopatia, nefrite e disfunção autonômica, inclusive sexual, as quais acometem mais frequentemente os idosos. O DM2 tem relevância para saúde pública mundial, relacionada como importante causa de mortalidade. É uma doença que traz prejuízos à capacidade funcional, qualidade de vida e configura alto impacto e custo social (Silva, Martins et al. 2016). A OMS, em 2017, revelou que a prevalência global de DM2 em adultos acima de 18 anos aumentou de 4,7% em 1980 para 8,5% em 2014 (OMS, 2017). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2016, mostrou que a prevalência do DM2 no Brasil corresponde a 8,9% dos adultos, sendo mais incidente em mulheres (9,9%) do que em homens (7,8%).

O controle glicêmico depende de capacidade funcional das células beta-pancreáticas em secretar insulina e da sensibilidade tecidual à ação da insulina (SI). A disfunção das células beta e a resistência insulínica (RI) são anormalidades metabólicas associadas à etiologia do DM2. A RI é uma condição clínica de alta prevalência, caracterizada por falha das células alvo em responder aos níveis normais de insulina circulantes, resultando em hiperinsulinemia compensatória. É uma anormalidade metabólica característica de indivíduos com DM2 e obesidade (Geloneze & Tambascia 2006). O pâncreas também pode apresentar falhas em secretar insulina adequadamente para as demandas metabólicas. Para manter o

equilíbrio entre oferta de insulina e demanda metabólica, ocorre um ajuste nos mecanismos de crescimento e sobrevivência das células beta no adulto. A regulação da massa de células beta é realizada por mecanismos independentes: replicação, tamanho, neogênese da célula beta e apoptose (Kubota, Yamada et al. 1997).

A RI tem interligação com a fisiopatologia da HA e doenças cardiovasculares, considerada como um fator de risco independente para o DM2, e, quando em associação com sobrepeso, obesidade e complicações relacionadas ao excesso de gordura, leva a síndrome metabólica (Utsunomiya 2012). A RI contribui para doença renal crônica e insuficiência cardíaca congestiva (Carvalho & Saad 2006), além de contribuir para a disfunção endotelial, gerando uma condição pró-inflamatória associada ao estágio inicial do processo aterosclerótico (de Carvalho, Colaco et al. 2006).

1.3.2. Dislipidemia

Dislipidemia é um distúrbio caracterizado pela presença excessiva ou anormal de colesterol e/ou triglicérides no sangue. Envolve um conjunto de alterações nas concentrações de lipídios sanguíneos e representa importante fator de risco para doenças cardiovasculares. As lipoproteínas mais importantes são as alta densidade (HDL), as de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL) e os quilomicrons. Para baixo risco de doenças cardiovasculares, os valores séricos de lipoproteínas desejáveis para adultos acima de 20 anos em jejum são: colesterol total < 200 mg/dL, HDL > 40 mg/dL, LDL < 130 mg/dL e triglicérides < 150mg/dL (Sposito, Caramelli et al. 2007). Segundo o Ministério da Saúde, em 2015, 18,4 milhões de brasileiros com mais de 18 anos apresentavam colesterol total alto, representando 12,5% da população adulta. O aumento da prevalência na população está associado ao envelhecimento: 25,9% das pessoas com mais de 60 anos e 2,8% entre 18 e 29 anos apresentam hipercolesterolemia.

O colesterol é essencial para o organismo, compondo membranas celulares e participando da síntese de esteroides, ácidos biliares, vitaminas e lipoproteínas. Como molécula apolar, necessita de transportadores específicos para transporte no plasma, as lipoproteínas (Cooney, Dudina et al. 2009).

Níveis de colesterol LDL acima de 100 mg/dL podem estar relacionados ao desenvolvimento de aterosclerose. Pessoas que apresentam níveis baixos de LDL durante a vida devido a hipobetalipoproteinemia apresentam longevidade aumentada, e indivíduos que mantêm baixos níveis de colesterol durante a vida diminuem o risco de manifestação clínica de doenças cardiovasculares. Por outro lado, o mecanismo para o efeito protetor do HDL envolve o efluxo de colesterol da célula espumosa em lesões ateroscleróticas (transporte reverso de colesterol) além de efeito antioxidante e anti-inflamatório (Cooney, Dudina et al. 2009).

O óxido nítrico (NO) está envolvido com a regulação do fluxo sanguíneo pelo controle da resistência vascular, através do ajuste do diâmetro do vaso e condições metabólicas, interferindo diretamente na modulação da pressão arterial. A hipercolesterolemia leva a redução do NO pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Pereira, Sposito et al. 2006).

1.3.3. Obesidade

Obesidade é uma doença crônica de causa multifatorial, caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, índice de massa corpórea (IMC) $> 30 \text{ kg/m}^2$, decorrente de hiperplasia e/ou hipertrofia dos adipócitos. Inúmeros fatores estão envolvidos em sua etiologia e todos se concentram no desequilíbrio energético positivo, sendo influenciado por fatores ambientais, psicológicos, comportamentais e genéticos (Sgambat, Clauss et al. 2018).

A obesidade caracteriza-se como uma pandemia devido ao aumento significativo da sua prevalência, tornando-se um problema de saúde pública e de acordo com a OMS, pode gerar prejuízos a curto e longo prazo pois está relacionada com outras doenças (Sijtsma, Bocca et al. 2014). No Brasil, é conhecido que 52,5% da população está acima do peso; o índice de prevalência de sobrepeso em 2006 era de 43% e apenas 17,9% da população era obesa (VIGITEL, 2015). A prevalência de adultos acima do peso na população mundial é de 39% e de 13% para obesos (OMS, 2016).

A obesidade é considerada uma doença inflamatória, levando não somente à elevação da expressão de adipocinas pró-inflamatórias, como a leptina e a interleucina

(IL)-6, bem como à redução de adipocinas anti-inflamatórias, como a adiponectina. A hipertrofia dos adipócitos é um dos fatores que resulta na infiltração de macrófagos e no aumento da inflamação promovendo um aumento também da liberação de ácidos graxos livres, e alterando a secreção de leptina e adiponectinas. Em resposta sistêmica, a secreção alterada das adipocinas pode promover o aumento na ingestão alimentar e redução do gasto energético sobre interferência do hipotálamo, além de diminuição da sensibilidade muscular hepática à insulina devido ao aumento da deposição de lipídios associado à inflamação crônica de baixa intensidade (Galic, Oakhill et al. 2010).

As adipocinas estão sendo relacionadas ao desenvolvimento de diversas doenças. Alterações nas funções corporais devido ao aumento da concentração de adipocinas estão correlacionadas com doenças cardiovasculares (Souza, Oliveira et al. 2008). Estudo aponta provável relação da IL-6 sobre a RI, inibindo o receptor de insulina dependente de autofosforilação e alterando a sinalização insulínica no hepatócito, promovendo a resistência à ação do hormônio no tecido. O aumento de IL-6 plasmática pode estimular a síntese hepática de triacilglicerol, favorecendo a hipertrigliceridemia associada à obesidade visceral (Fonseca-Alaniz, Takada et al. 2006). A ativação do IL-6R conduz a resposta inflamatória, inibindo a atividade da lipoproteína lipase e estimulando a lipólise, afetando o perfil lipídico e podendo contribuir com a doença aterosclerótica (van Hall, Steensberg et al. 2003).

A redução de peso com exercício físico foi associada a menores concentrações de adipocinas pró-inflamatórias e maiores de adiponectina, apresentando diminuição significativa do processo inflamatório em mulheres obesas (Souza, Oliveira et al. 2008). O angiotensinogênio, uma proteína circulante produzida principalmente pelo fígado, é parte do sistema renina- angiotensina- aldosterona (SRAA) e está no grupo das adipocinas com funções cardiovasculares e também está relacionado com o acúmulo de gordura corporal, participando na diferenciação de adipócitos (Fonseca-Alaniz, Takada et al. 2006).

Outra adipocina pro-inflamatória é a resistina, relacionada com RI, que diminui a gliconeogênese hepática e a função regulatória da adipogênese. Por induzir a expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-6 e IL-12 é considerada um marcador inflamatório (Larochelle, Freiler et al. 2007).

A adiponectina expressa pelos adipócitos é considerada protetora para doenças cardiovasculares por melhorar a sensibilidade à insulina, limitar a progressão da aterosclerose, contribuir para a homeostase pós-prandial da glicose e lipídios, estimular a angiogênese, suprimir a atividade da resistina e apresentar ação anti-inflamatória. Os efeitos anti-inflamatórios da adiponectina decorrem da redução da liberação de IL-6 e TNF- α , diminuição da quimiotaxia de macrófagos, inibição da adesão de monócitos e da transformação de macrófagos em células espumosas, aumento da produção de NO e da oxidação de gorduras (Berg, Combs et al. 2002; Fonseca-Alaniz, Takada et al. 2006; Yang, Lee et al. 2006; Moreno-Navarrete, Ortega et al. 2010). Indivíduos obesos apresentam níveis plasmáticos de adiponectina mais baixos, correlacionando com síndrome metabólica (Weyer, Wolford et al. 2001).

A hipertrofia dos adipócitos está relacionada com a RI e aumento da ação das catecolaminas devido ao aumento da expressão de adrenoreceptores, diminuição da expressão de α -2-adrenoreceptor, aumentando o fluxo dos ácidos graxos não esterificados para o fígado. Em resposta, aumenta a produção de glicose hepática, participa da redução da degradação de apolipoproteína B e aumenta a produção de triacilgliceróis. A interação de todos os fatores e mecanismos relacionados sugerem o envolvimento do tecido adiposo com a fisiopatologia da síndrome metabólica (Despres & Lemieux 2006).

1.3.4. Hipertensão arterial (HA) sistêmica

A HA é a mais comum das doenças cardiovasculares, além de ser o principal fator de risco para outras doenças cardiovasculares (Coelho, Moyses Neto et al. 2005; Jardim, Gondim Mdo et al. 2007). A classificação da pressão arterial de acordo com a aferição a partir dos 18 anos de idade pode ser definida em: normal (120 / 80 mmHg); pré-hipertensão (121 - 139 mmHg / 81 - 89 mmHg); hipertensão estágio 1 (140 - 159 mmHg / 90 - 99 mmHg); hipertensão estágio 2 (160 - 179 mmHg / 100 - 109 mmHg); hipertensão estágio 3 (> 180 / 110 mmHg) (Malaquias, Souza et al. 2016). Diversos fatores contribuem para a elevação da pressão arterial, dentre eles fatores genéticos, ambientais e sociais. Estudos relacionam variáveis como idade avançada, etnia, obesidade, consumo de bebida alcoólica, sedentarismo, tabagismo, dislipidemias,

DM2 e hábitos alimentares com o aumento do risco com HA (Chobanian, Bakris et al. 2003).

No Brasil, a HA apresenta prevalência de 32,5% em indivíduos adultos e em mais de 60% dos idosos, contribuindo direta e indiretamente por 50% das mortes por doença cardiovascular. A HA pode estar associada a um conjunto de fatores de risco metabolicamente interligados que justificam a complexidade da reabilitação e complicações cardiovasculares. Estudo mostra a relação da RI com a reatividade vascular interferindo diretamente com a resposta em hipertensos (Brett, Ritter et al. 2000).

Hipertensão arterial resistente (HR), conhecida anteriormente como refratária, é definida quando não são atingidos os alvos pressóricos apesar de terapia com três ou mais medicações anti-hipertensivas, sendo uma delas um diurético. Na população hipertensa, 20-30% apresentam HR (Pedrosa, Drager et al. 2011). Hipertensão arterial secundária e HR não são sinônimos, e um dos objetivos do tratamento de pacientes com HR é a investigação de causas reversíveis de hipertensão (Sarafidis & Bakris 2008).

Hipertensão endócrina é a segunda causa mais comum de hipertensão secundária, após doença renal (Pappachan & Buch 2017) e corresponde a 5-10% dos casos de hipertensão (Thomas, Ruel et al. 2015). O hiperaldosteronismo primário (HAP) é a causa mais comum de hipertensão endócrina. Entre outras menos prevalentes temos hiperplasia adrenal congênita, feocromocitoma, síndrome de Cushing, doenças tireoidianas, hiperparatireoidismo primário e acromegalia (Sabbadin & Fallo 2016).

1.4. Sistema renina-angiotensina-aldosterona

O SRAA é um importante regulador da pressão arterial, determinado pelo débito cardíaco e pela resistência vascular periférica, consequente às respostas fisiológicas dos seus componentes e associado a interferências genéticas. O angiotensinogênio é sintetizado no fígado e é convertido em angiotensina I (ANG I) pela renina e, em última instância, em angiotensina II (ANG II) pela enzima conversora de angiotensina. A ANG II estimula a síntese e secreção de aldosterona na

glândula adrenal através do receptor angiotensina 1 (AT1) (Fyhrquist & Saijonmaa 2008).

A renina é uma enzima vasoativa, sintetizada e armazenada em sua forma inativa pró-renina pelas células justaglomerulares renais, presentes nas arteríolas glomerulares. O principal estímulo à secreção de renina é a queda da pressão de perfusão renal (arteríola aferente), e a hiper perfusão tem efeito inverso. Hemorragias, desidratação, diminuição das concentrações de sal, posição ortostática e vasoconstrição de artérias renais são fatores envolvidos com o aumento da produção de renina e, agindo inversamente, agentes vasoconstritores periféricos, como decúbito dorsal e altas concentrações de sal, levam a diminuição de sua produção (Fyhrquist & Saijonmaa 2008).

Outro mecanismo da liberação de renina é via mácula densa, sensível a mudanças na reabsorção de cloreto de sódio (NaCl), que resulta na síntese e liberação de renina pelas células justaglomerulares proximais. Um aumento do fluxo de NaCl através da mácula densa inibe a liberação de renina, enquanto a diminuição no fluxo de NaCl estimula a liberação de renina (Toxqui & Vaquero 2016; Baudrand, Guarda et al. 2017). Um terceiro mecanismo, o beta-adrenérgico, leva ao aumento da secreção de renina pelas células justaglomerulares através do estímulo simpático. Há controle da secreção de renina pelos níveis de ANG II, através de alça de *feedback* negativo (Toxqui & Vaquero 2016).

A renina é fator limitante no SRAA, agindo enzimaticamente sobre a globulina angiotensinogênio, liberando a ANG I, que possui pouca ação vasoconstritora, porém quando catalisada pela enzima conversora de angiotensinogênio, presente no endotélio dos vasos pulmonares, é convertida em ANG II, um potente vasoconstritor. A ANG II age nos receptores AT1 e AT2. Os AT1 ativam a enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, na parede das células endoteliais (Griendling, Lassegue et al. 1994), gerando EROs, radicais superóxidos, induzindo à ativação de fatores de transcrição nuclear, promovendo a expressão de genes pró-inflamatórios responsáveis pelos efeitos de vasoconstrição, estímulo a fatores de crescimento, hipertrofia, aumento do consumo de oxigênio pelo miocárdio, redução do fluxo renal, retenção de sódio e água, necrose de miócitos, estímulo a apoptose, migração de fibroblastos, fibrose e remodelamento ventricular. Quanto à ativação dos receptores AT2, estes produzem efeitos contrários

aos descritos anteriormente para os receptores AT1. A vasodilatação promovida pela ativação deste sistema ocorre intensamente nas arteríolas e com menor intensidade nas veias. A constrição arteriolar aumenta a resistência periférica total e a constrição venosa, aumentando o retorno venoso, promovendo um aumento expressivo da pressão arterial sistêmica (Braunwald 2001).

A ANG II estimula a síntese e secreção de aldosterona na glândula adrenal através do receptor AT1 na membrana de células ZG, provocando sua despolarização para aumentar os níveis de cálcio intracelular. Este, por sua vez, leva a uma cascata de fosforilação que regula positivamente a transcrição que codifica a aldosterona sintetase, regulando então a síntese de aldosterona (Ardhanari, Kannuswamy et al. 2015; Mazzuco, Grunenwald et al. 2010).

A secreção de aldosterona é regulada por diversos mecanismos. Pela flutuação dos níveis sanguíneos de potássio, ativando canais de cálcio com consequente produção de esteroides pelas células da ZG (Williams 2005), tanto de maneira aguda (via aumento da atividade StAR) como crônica (via aumento da expressão de CYP11B2) (Hattangady, Olala et al. 2012). O ACTH regula a produção de aldosterona de forma aguda. Quando há diminuição da concentração de sódio intravascular, há estímulo para liberação de ACTH, que age sinergicamente a ANG II, e à hipercalemia para estimular as células da ZG a liberarem aldosterona (Hunyady, Gaborik et al. 2004). O ACTH possui um ritmo circadiano controlado pelo hipotálamo, apresentando um pico principal pela manhã, o qual estimula a secreção diária de cortisol e, em menor proporção, de aldosterona. Como o ACTH aumenta em resposta ao estresse, os níveis de aldosterona podem aumentar de forma transitória em associação com ansiedade, desconforto ou outros estímulos estressantes. Outro potencial fator contribuinte para este fenômeno é a natureza pulsátil da secreção de ACTH, resultando em picos alternados e a depressões de cortisol e aldosterona (Stowasser & Gordon 2016; Mazzuco, Grunenwald et al. 2010).

Outros reguladores da liberação de aldosterona são serotonina, estrogênio, paratormônio, leptina, vasopressina, dopamina, peptídeo natriurético atrial, somatostatina e, finalmente, o GIP. Em situações patológicas, níveis de GIP no período pós-prandial estão elevados e, em resposta, aumentam a secreção de cortisol (Lacroix, Bourdeau et al. 2010), ou com a proliferação celular do córtex adrenal decorrente da hiperexpressão do GIPR (Mazzuco, Chabre et al. 2006).

risco para doenças, incluindo transtornos por uso de substâncias (Joels, York et al. 2008, Derijk 2009).

1.5. Tabagismo

O tabagismo é uma doença crônica inserida na classificação internacional de doenças (CID10) desde 1997. A OMS classifica o tabagismo no grupo de transtornos mentais e de comportamento decorrentes do uso de substâncias psicoativas (OMS, 2016). Pesquisas científicas relacionam o tabagismo com mais de 56 doenças, reforçando o fato do tabagismo ser considerado um dos graves problemas de saúde pública no mundo. No Brasil, a prevalência total para fumantes acima de 18 anos é de 10,4%, sendo 12,8 % entre homens e 8,3 % entre mulheres (Vigitel 2015).

Estudos mostram maior risco para a síndrome metabólica entre os fumantes. A ativação do estado inflamatório, associado com níveis de proteína C reativa demonstram um aumento do risco para doenças crônicas relacionadas com a síndrome metabólica (Zhu, Feng et al. 2004). Estudos realizados com idosos fumantes demonstraram altas concentrações de proteína C reativa, fibrinogênio e leucócitos quando comparados com não fumantes (Gefiken, Cushman et al. 2001).

O tempo prolongado de exposição ao tabagismo e o mecanismo para a ativação do processo inflamatório estão ligados com o desenvolvimento da aterogênese mediada pelo aumento de EROs (Francisco, Hernandez et al. 2005). As células endoteliais são ativadas por diferentes fatores como DM2, HA, hipercolesterolemia e tabagismo. A disfunção endotelial resulta na produção de EROs, expressão de moléculas de adesão celular, citocinas e quimocinas, favorecendo a aderência e a transmigração endotelial de leucócitos (Zhang, Day et al. 2001).

Os monócitos presentes na parede das artérias são ativados pelas citocinas pró-inflamatórias e se diferenciam em macrófagos promovendo o aumento de moléculas de adesão celular, citocinas e fatores de crescimento. Isto resulta no maior recrutamento de leucócitos na parede das artérias, ativando o sistema imune, as proteínas de fase aguda, promovem a deposição de um tecido fibroso e estimulam a proliferação e migração de células musculares lisas (SMCs). As lipoproteínas de baixa densidade-oxidadas (LDL-ox) são facilmente capturadas pelos macrófagos, levando a formação de células espumosas (Volp, Barbosa et al. 2012); (Francisco, Hernandez et al. 2005). O tabagismo prolongado está relacionado diretamente com a

diminuição de anti-oxidantes e o aumento de marcadores inflamatórios (Northrop-Clewes & Thurnham 2007).

1.6. Sedentarismo

O sedentarismo está relacionado diretamente com doenças cardiovasculares. O indivíduo que não pratica atividade física regular de intensidade moderada dificilmente está equilibrado física e psiquicamente. Doenças crônicas são fortemente influenciadas pelos hábitos de vida, em particular pela atividade física, hoje uma das ferramentas terapêuticas mais importantes para promoção da saúde. Atividade física pode ser entendida como qualquer movimento corporal que eleve o gasto calórico acima do basal. Exercícios físicos, por sua vez, são atividades estruturadas com o objetivo específico de melhorar a saúde e a aptidão física (Corriveau, Durso et al. 2008).

Para a OMS, a prática de atividades físicas leves e moderadas frequentes pode retardar as limitações funcionais do envelhecimento. Manter a vida ativa confere saúde mental e controla quadros depressivos e de demência. De fato idosos fisicamente ativos apresentam menor prevalência de doenças dos que os não-ativos (OMS 2016). Diversos estudos afirmam a importância do exercício físico como agente estimulador de respostas anti-inflamatórias, auxiliando diretamente no controle da inflamação crônica de baixa intensidade, diminuindo desta forma o risco das doenças crônicas associadas, como DM2, HA, aterosclerose e obesidade (Bradley, Jeon et al. 2008; Peterson & McGhan 2005; Gomez-Merino, Drogou et al. 2007).

A prática da atividade física parece interferir em mecanismos como a ativação de serina e proteínas quinases, tais como a Beta inibidora do fator nuclear Kappa-B (IKKB) e a c-jun N-terminal kinase (JNK). A IKKB pode interferir na sinalização da insulina por duas vias: fosforilação direta dos substratos dos receptores de insulina (IRS-1 e IRS-2) nos resíduos de serina e através da ativação indireta do fator de transcrição nuclear (NF-kB). O NF-kB pode estimular a produção de vários mediadores inflamatórios, principalmente o TNF- α e a síntese de NO. A quinase JNK interfere negativamente na sinalização da insulina, fosforilando o resíduo serina do IRS-1 e o IRS-2. A interferência do mecanismo da atividade física que aumenta a sensibilidade à insulina, melhorando a captação da glicose pelo músculo esquelético

ocorre pela redução da expressão e/ou atividade das proteínas intracelulares de efeito negativo (Pauli, Cintra et al. 2009).

Estudo em ratos sugerem que o exercício físico reduz a adiposidade, diminui a inflamação do tecido adiposo visceral e reverte a RI (Bradley, Jeon et al. 2008). Outro estudo mostrou associações entre atividade física e componentes da síndrome metabólica: menor circunferência da cintura em indivíduos sem síndrome metabólica e altas concentrações de HDL-colesterol em indivíduos com e sem síndrome metabólica, associações inversas entre atividade física e marcadores inflamatórios e de coagulação relacionado com doenças cardiovasculares em pessoas com presença e ausência de síndrome metabólica (Pitsavos, Panagiotakos et al. 2005).

2. JUSTIFICATIVA

O interesse pelo estudo das incretinas e da função do GIPR vêm aumentando progressivamente, devido à sua participação potencial na fisiopatologia de doenças metabólicas altamente prevalentes. Estudos na endocrinologia clínica introduziram fármacos moduladores do efeito incretina e relacionaram o papel do GIPR na doença adrenal causando hipercortisolismo dependente da alimentação (Mazzuco, Herrera et al. 2008; Mazzuco, Chabre et al. 2006). A implicação da expressão aberrante do GIPR relacionada à secreção adrenal foi inicialmente demonstrada no hipercortisolismo (Lacroix, Bolte et al. 1992), e mais recentemente no hiperaldosteronismo primário (Lampron, Bourdeau et al. 2009). No *Centre Hospitalier* da 'Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada (CHUM), foram estudadas as respostas adrenais pós-prandiais em pacientes com secreção aumentada de aldosterona e/ou cortisol, as quais ocorreram cerca de 60 minutos após a alimentação, aproximadamente 100 minutos após sobrecarga oral de glicose, e poucos minutos após a infusão endovenosa contínua de GIP (Mazzuco, Grunenwald et al. 2010). A maioria dos indivíduos estudados eram portadores de doença adrenal, sendo que existem poucos estudos publicados acerca de indivíduos sadios. Além da expressão significativa de GIPR na adrenal tumoral, foi identificada a expressão do GIPR na zona glomerular do córtex de glândula adrenal normal (Lampron, Bourdeau et al. 2009).

Demonstração de variantes do *GIPR* correlacionadas a doenças do metabolismo energético também foram estudados por alguns pesquisadores (Vogel, Scherag et al. 2009, Sauber, Grothe et al. 2010, Saxena, Hivert et al. 2010) e particularmente interessante, foram relacionados com a obesidade, o DM2 e a síndrome metabólica associada ou não à HA, sendo estas as doenças endócrinas de maior impacto global nas últimas décadas.

O GIPR está expresso em doenças adrenais com excesso de cortisol ou aldosterona (Lacroix, Bourdeau et al. 2010), mas também está presente na camada glomerulosa do córtex adrenal normal (Lampron, Bourdeau et al. 2009), sítio de secreção de aldosterona. Níveis elevados de aldosterona e de cortisol são causas de hipertensão endócrina. O principal efeito mineralocorticoide é a retenção hidrosalina e elevação pressórica, além de aumentar a resistência insulínica, enquanto os glicocorticoides possuem notável efeito hiperglicêmico, adipogênico e orexígeno.

Pesquisadores analisaram 761 famílias obesas alemãs, cujos pais eram obesos e com filhos adolescentes obesos. O estudo envolvendo o polimorfismo *GIPR* Glu354Gln, apresentou frequência de 33,0% para heterozigose e 4,5% em homozigose (Vogel, Scherag et al. 2009) na população estudada.

No Brasil não foram encontrados estudos referentes a detecção de SNPs para *GIPR* na população; e considerando sua frequência relativamente alta, tornou-se interessante seu estudo em nossa população e sua possível relação com doenças relacionadas à síndrome metabólica.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar a prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln e possíveis associações com HA e outras doenças relacionadas à síndrome metabólica.

3.2. Objetivos específicos

✓ Investigar a prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln com doenças relacionadas à síndrome metabólica (DM2, HA, dislipidemia, obesidade, sedentarismo e tabagismo), comparando com a prevalência encontrada em indivíduos sadios nos diferentes modelos genéticos;

✓ Associar o estudo da prevalência com tabagismo, exames laboratoriais, dados antropométricos, sócio-demográficos, e história familiar das mesmas doenças;

✓ Conhecer possíveis associações entre aldosterona, obesidade, disfunção cardiovascular e resistência à insulina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento da pesquisa

Parte 1: Estudo de prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln através de um desenho observacional descritivo, analítico e transversal, cuja coleta de dados foi realizada no período de agosto de 2013 a março de 2015.

Parte 2: Estudo caso-controle para o grupo de doenças relacionadas à síndrome metabólica (n = 146) e grupo controle (n = 165) a partir do estudo descritivo observacional (figura 6) e o grupo com hipertensão arterial (HA) com presença do alelo C (n = 39) e da HA não portador (n = 66).

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) que obteve o parecer de aprovação (n° CAAE 46541215.0.0000.5231) (anexo A).

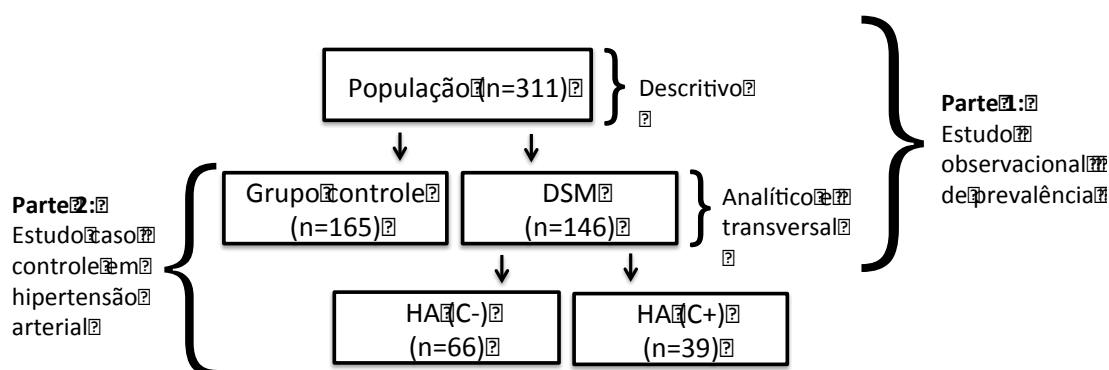


Figura 6. Delineamento do estudo de prevalência do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln. DSM: Doenças relacionadas à síndrome metabólica, HA: hipertensão arterial, (C+): alelo polimórfico, (C-): ausência do alelo polimórfico.

4.2. Participantes

A amostra foi selecionada por uma abordagem, realizada com os pacientes na sala de espera do setor de coleta de exames laboratoriais, no Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário (AEHU) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). A análise do polimorfismo foi realizada no laboratório de pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde, localizado no Hospital Universitário de

Londrina UEL (HU/UEL). Todos os participantes voluntários receberam informações do projeto quanto aos propósitos, benefícios, esclarecimentos de possíveis riscos e, após concordarem, assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (apêndice A).

No estudo de prevalência: para o cálculo do tamanho da amostra, foi considerada uma população de referência de 1.100.000 indivíduos (população finita), com nível de significância de 95%, prevalência de 6% para o polimorfismo *GIPR* Glu354Gln, precisão de 3%, utilizado o programa Epicalc V3. Foi adicionado ao resultado da amostra 30% de participantes na pesquisa a fim de compensar possíveis perdas, totalizando uma amostra de 311 indivíduos. O processo de amostragem foi aleatório, respeitando a ordem de aceitação dos indivíduos conforme o preenchimento das seis regiões geográficas de Londrina-PR, previamente estabelecidas (norte, sul, leste, oeste, centro e periferia), buscando critérios que atendessem uma representação mais fidedigna da população desta região. Para cada região foi estimada a seleção de aproximadamente 50 indivíduos (25 do sexo masculino e 25 do sexo feminino).

A amostra para o estudo do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln foi coletada no momento em que os indivíduos foram submetidos a coleta de sangue para exames laboratoriais, previamente agendados e relacionado à consultas de rotina. Para este estudo, foram coletados 4 mL de sangue venoso periférico pelo método a vácuo em tubos com ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA). Não foi necessária a realização de jejum prévio dos participantes. Após a coleta, foram obtidas as medidas antropométricas dos pacientes, coletadas informações sócio demográficas, história clínica pregressa e familiar por meio de um instrumento específico (apêndice B).

4.2.1. Critério de Inclusão

O estudo adotou como critério de inclusão idade superior a 12 anos.

4.2.2. Critério de Exclusão

Foram excluídos da pesquisa indivíduos com grau de parentesco familiar direto (primeiro e segundo grau) com indivíduos já participantes da pesquisa.

4.3. Extração de DNA genômico

O DNA genômico dos leucócitos de sangue periférico foi obtido com o kit Biopur Mini Spin Plus (Biometrix Diagnostica, Curitiba, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. As amostras de DNA foram ressuspensas em 50µL de tampão de eluição, quantificadas no aparelho NanoDrop 2000c®Spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, Estados Unidos da América [EUA]) e armazenadas até o momento de uso a -20°C.

4.4. Análise do polimorfismo genético *GIPR* Glu354Gln

Aproximadamente 100 ng de DNA foram amplificados com *primers* específicos para o polimorfismo proposto *GIPR* Glu354Gln: 5' ATT ACC GGC GGT TGA GAG G 3' e anti-sense: 5' CTG GAA GGA GCT GAG GAA GA 3', sintetizados de acordo com (Vogel, Scherag et al. 2009), Genbank D49559.3. As reações de amplificação foram realizadas em um volume final de 25 µL com 0,1 mM de dNTP, 0,2 µM de cada iniciador, 0,8 mM de MgCl₂, Tampão 1x (20 mM de Tris-HCl ph 8,5; 50 mM de KCl), albumina sérica bovina 0,8x e 1,25 U de Taq polimerase (Invitrogen, Carlsbad, EUA). Para todas as reações foram realizados controles negativos para certificar a ausência de contaminação.

A reação de amplificação foi realizada em termociclador *Multigene Optimax* (Labnet, Edison, USA), com um ciclo de desnaturação inicial de 5 minutos a 95°C; seguido por 30 ciclos de 20 segundos a 94°C para a desnaturação, 30 segundos a 62°C para o anelamento, 30 segundos a 72°C para extensão e 10 minutos a 72°C para extensão final.

Para a determinação dos genótipos do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln, foram realizadas reações de digestão dos produtos de PCR pelo método de RFLP com 2,4U da enzima de restrição *BssSI* (Biolabs, Ipswich, New England) por reação.

Os produtos do PCR e da digestão enzimática foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida (10%), corado com nitrato de prata (AgNO₃) (Figura 7).

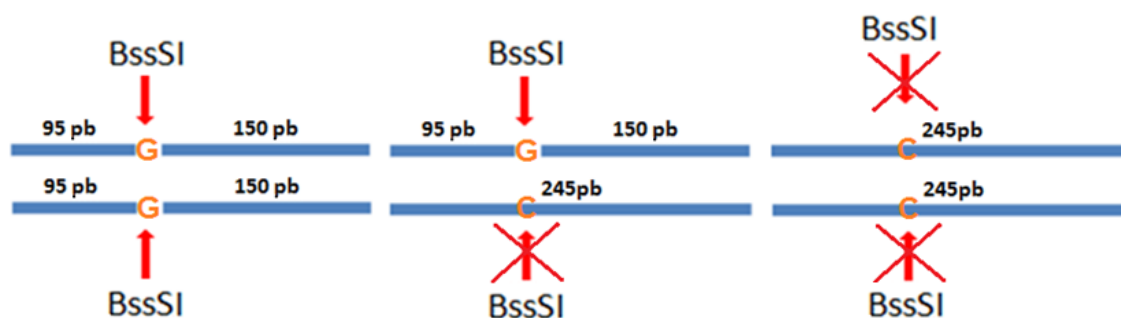


Figura 7. Representação esquemática da genotipagem do polimorfismo Glu354Gln do *GIPR*.

4.5. Variáveis demográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais

Para este estudo as variáveis analisadas foram: sexo, idade, peso, estatura, IMC, etnia, região da residência, doença(s), tempo de doença(s), medicamentos em uso, tabagismo, prática de atividade física, história familiar de DM2, HA e obesidade. Resultados dos exames laboratoriais foram pesquisados no sistema do Laboratório do Hospital Universitário (LABHOS) UEL.

4.5.1. Idade e IMC

Para o estudo, a partir da variável idade, obtiveram-se 3 categorias: adolescentes (≥ 10 anos e < 20 anos de idade), adultos (≥ 20 anos e < 60 anos de idade) e Idoso (≥ 60 anos de idade). O cálculo do IMC foi realizado pela divisão do peso do indivíduo (massa) pela sua altura ao quadrado, sendo a massa definida em quilogramas (kg), altura em metros, ajustados pela variável idade (SISVAN, 2004) (apêndice C).

4.5.2. Múltiplas variáveis

Para as variáveis sexo, etnia, região da residência, doença(s), tempo de doença(s), medicamentos em uso, os dados foram obtidos por informação dos participantes por questionamento oral ou por responsáveis caso o mesmo não tivesse condições de informar com segurança, e confirmadas por documentos, receituários e prontuários do AEHU. Quanto a região da residência, a cidade foi dividida em 6 áreas, norte, sul, leste, oeste, centro e região periférica. A região periférica consiste

todas as cidades vizinhas ou municípios (17 cidades ou municípios) próximos a cidade de Londrina que são assistidas pelo HU/UEL, que somadas a população de Londrina totalizam aproximadamente 1.067.214 habitantes.

4.5.3. Tabagismo

A variável tabagismo foi dividida em duas classificações: não tabagista, para os indivíduos que nunca apresentaram o ato de fumar, e tabagista, todo indivíduo ex-fumante e fumante atual que faziam uso do tabaco até a data da entrevista para a pesquisa. Foi considerado fumante todo indivíduo que fez em seu período de vida o uso de no mínimo 100 cigarros e ainda faz uso diariamente ou um dia ou outro (NHIS, 2007).

4.5.4. Sedentarismo

Foi considerado sedentário todo o indivíduo que realiza atividade física, porém insuficiente para ser classificado como ativo (irregularmente ativo), pois não cumpre as recomendações quanto à frequência ou duração, e aquele que não realiza atividade física qualquer durante a semana (IPAC, 2007).

4.6. Análise estatística

Os resultados para as variáveis contínuas foram fornecidos como média \pm desvio padrão. As variáveis categóricas em cada grupo de pacientes foram analisadas pelo teste qui quadrado Pearson, teste exato de Fisher e teste “t” de *Student*. Pela análise univariada, foi determinada a possível associação do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln (variável dependente) e as variáveis epidemiológicas, antropométricas e clínico-laboratoriais, por meio de regressão linear. Foi realizado teste de qui-quadrado para avaliação do Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Todas as comparações estatísticas foram consideradas significantes se $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os programas STATA (Corporation Stata Statistical Software Release 13.0. College Station, TEXA, USA) e Graphpad Prism versão 5.0 (Graphpad software Inc., San Diego, CA, EUA).

5. RESULTADOS

O resultado desta tese é apresentado com duas produções bibliográficas:

Artigo 1 - Artigo de revisão, publicado na revista Current Research in Diabetes & Obesity Journal, periódico novo ainda sem indexação.

Artigo 2 - Artigo experimental submetido para revista Plos One, com fator de impacto 3.54 (Qualis A2 – Medicina 1). Submissão: PONE-D-18-16373.

5.1. Artigo 1

Mini Review

Volume 6 Issue 1 – March 2018
DOI: 10.19080/CRDOJ.2018.06.555680

Curr Res Diabetes & Obes J

Copyright © All rights are reserved by Tânia Longo Mazzuco

The Relationship between Obesity, Insulin Resistance and Aldosterone Levels



Sarah Conchon Costa, Alexandro Marcio da Silva Mattos, Anna Catarina Gatzk de Arruda, Danielle Müller Fabretti, João Gabriel Nogueira Scorpione and Tânia Longo Mazzuco*

Endocrine Interactions Research Group, Post-graduation Program of Health Sciences, State University of Londrina, Brazil

Submission: January 22, 2018; **Published:** March 06, 2018

***Corresponding author:** Tânia Longo Mazzuco, Departamento de Clínica Médica, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, Av. Robert Koch, 60, Londrina, PR, Brazil, Tel/Fax: +55 43 3371-2328; Email: tmazzuco@uel.br

Abstract

The epidemic of obesity is associated with elevated risk of type 2 diabetes mellitus, hypertension, obstructive sleep apnea, coronary heart disease and stroke. Primary aldosteronism, the most prevalent etiology of endocrine hypertension, is discussed in the present review as a cause-effect relationship between aldosterone and the cardio-metabolic syndrome. Emerging findings have shown that aldosterone levels are excessive in obesity and contribute to both cardiovascular dysfunction and insulin resistance which is associated with obesity and sleep apnea. According to the updated Endocrine Society Clinical Practice Guideline, the application of aldosterone: renin ratio is now indicated to all patients with sustained blood pressure above 150/100mm Hg, which could, in the future, result in the primary aldosteronism detection in a large number of patients. Within this clinical context, hypertensive patients with obesity and diabetes are candidates to be "at-risk" population in prevalence studies of aldosteronism.

Keywords: Obesity; Diabetes mellitus; Aldosteronism; Insulin resistance; Sleep apnea; Metabolic syndrome.

Introduction

Arterial hypertension prevalence is rapidly enhancing with obesity associated with insulin resistance and dyslipidemia, all components of cardiometabolic syndrome [1]. The metabolic syndrome impact on cardiovascular outcomes is well established, with high morbidity and mortality, and, for such fact, the renin-angiotensin-aldosterone system on metabolic syndrome has been the target of many studies [2]. On the one hand, obesity causes arterial hypertension, and on the other hand, endocrine hypertension caused by aldosterone anomalous production is associated with metabolic syndrome development.

Primary aldosteronism and hypertension

Primary aldosteronism (PA), the most important etiology of endocrine hypertension, results from the independent renin-angiotensin system production of aldosterone [3]. It is potentially curable and the most common cause of secondary hypertension. PA has a wide range of conditions, but two major causes of primary aldosteronism are bilateral adrenal hyperplasia (BAH), accounting for 65-70% of PA patients, and aldosterone-producing adenomas (APA), accounting for 30-35% of PA [4]. Several hormone receptors have been shown to

be involved in the renin-independent regulation of aldosterone secretion in PA [5]. New evidence points toward increasing metabolic dysfunction rates and vascular events in PA patients in comparison with essential primary hypertensive patients [6].

According to the updated Endocrine Society Clinical Practice Guideline, the screening of aldosterone to: renin ratio is now indicated to all patients with sustained blood pressure above 150/100mmHg; resistant hypertension; hypertension and spontaneous or diuretic-induced hypokalemia; adrenal incidentaloma; hypertension and a family history of early-onset hypertension or cerebrovascular accident at a young age (<40 year) and all hypertensive first-degree relatives of patients with PA [3]. This could result in the primary aldosteronism detection of a large number of patients in the future [3,7]. Early diagnosis and therapy of PA (adrenalectomy or mineralocorticoid receptor antagonist) prevent its cardiovascular, metabolic, and renal morbidities. Patients will benefit from surgical or medical therapy according to a multistep approach to diagnosing and subtyping PA which includes confirmatory tests and adrenal vein sampling to differentiate lateralized from bilateral sources of PA [8,9]. Plasma aldosterone concentrations >10ng/dL in concert

with plasma renin activity <1ng/mL/h indicates that additional investigation should be performed [3]. In the clinical practice, hypertension in PA responds well to specific treatments directed against aldosterone excess. Therefore, it is possible that PA screening is not performed when we consider the technical difficulty in performing all stages of the investigation, including withdrawal of antihypertensive medication, salt-loading protocols and invasive vascular examination. Thus, many hypertensive patients are treated with mineralocorticoid receptor antagonists and potassium-sparing diuretics and are not further evaluated for the diagnosis of PA.

Obesity, metabolic syndrome and aldosterone

Adipocyte production of angiotensinogen, angiotensin and aldosterone have been described, which amplify adrenal steroidogenesis [10,11]. Moreover, adipocyte-derived factors such as leptin exert a direct action on adrenal glomerulosa, increasing aldosterone synthesis [12]. The variation on aldosterone levels in obesity may challenge the accuracy of PA detection since it represents a nonlinear correlation with its plasma concentration [13].

Aldosterone levels are associated with cardiometabolic events, promoting systemic inflammation, endothelial dysfunction, vascular stiffness, hypertension, cardiac hypertrophy, and these associations are partly independent of aldosterone effects on blood pressure [3]. Also, it has been described an independent association between aldosterone and metabolic syndrome, due to impaired pancreatic β cell function, skeletal muscle insulin sensitivity, fatty liver disease, and increased release of proinflammatory cytokines from adipose tissue [12,14]. As an important component of the cardiometabolic syndrome, sleep apnea is also related to obesity, diabetes, and aldosterone levels [15-17]. Obstructive sleep apnea was found in 33.9% of hypertensive patients with PA [15] and in 85% of resistant hypertensive patients [18]. Thus, aldosterone overproduction seems to contribute to the worsening of underlying obstructive sleep apnea related to obesity and hypertension.

Insulin resistance and aldosterone

Aldosteronism can modify glucose metabolism, leading to insulin resistance, but some of the physiological pathways of mineralocorticoid effects are still discussed [11,19]. Aldosterone effects include direct action on pancreatic β -cell mineralocorticoid receptors (MR), compromising their functional and structural integrity and reducing insulin release; induction of insulin resistance by the MR activation in adipose tissue; indirect effects related to hypokalemia states; and recent reported non-genomic mechanisms on various target organs such as vascular cells [2,11]. Both hyperglycemia and diabetes are more prevalent in hypertensive patients with PA than in those with essential hypertension [20,21].

Elevated levels of aldosterone may also act similarly to

hyperglycemia state, causing oxidative stress, reducing nitric oxide production and activating inflammatory pathways leading to vasculopathy, once again resulting in improved cardiovascular risk [22]. Aldosterone levels are directly correlated with mortality rate by cardiovascular causes in type 2 diabetes [11].

Conclusion

Aldosterone has been recognized to play an important role in the development of cardiovascular and endocrine-metabolic diseases. According to the current guidelines, clinicians should consider PA screening for most patients with hypertension. Hypertensive patients with obstructive sleep apnea, obesity and insulin resistance are groups with potentially high prevalence of PA. In addition to adrenocortical cells, adipose tissue is also able to secrete aldosterone; although some cross-talk mechanisms are not well established, the cardiometabolic complications are well acknowledged.

Acknowledgement

We wish to thank Cláudia Nascimento Montemor (M.D., Endocrinologist, PhD Student) for the discussing the first draft of this manuscript and the endocrinology residents Ubirajara Cunha de Aguiar, Mayara Volpi e Silva and Lérida Russi Garcia for the bibliography search.

References

- Whaley Connell A, Johnson MS, Sowers JR (2010) Aldosterone: role in the cardiometabolic syndrome and resistant hypertension. *Prog Cardiovasc Dis* 52(5): 401-409.
- Fischer E, Adolf C, Pallauf A, Then C, Bidlingmaier M, et al. (2013) Aldosterone excess impairs first phase insulin secretion in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 98(6): 2513-2520.
- Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Reincke M, et al. (2016) The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 101(5): 1889-1916.
- Mulatero P, Monticone S, Veglio F (2011) Diagnosis and treatment of primary aldosteronism. *Reviews Rev Endocr Metab Disord* 12(1): 3-9.
- Mazzuco TL, Grunenwald S, Lampron A, Bourdeau I, Lacroix A (2010) Aberrant hormone receptors in primary aldosteronism. *Horm Metab Res* 42(6): 416-423.
- Sabbadin C, Fallo F (2016) Hyperaldosteronism: screening and diagnostic tests. *High Blood Press Cardiovasc Prev* 23(2): 69-72.
- Burrello J, Monticone S, Buffolo F, Tetti M, Giraud G, et al. (2015) Issues in the diagnosis and treatment of primary aldosteronism. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention* 23(2): 73-82.
- Crudo V, Monticone S, Burrello J, Buffolo F, Tetti M, et al. (2016) Hyperaldosteronism: how to discriminate among different disease forms? *High Blood Press Cardiovasc Prev* 23(3): 203-208.
- El Ghorayeb N, Mazzuco TL, Bourdeau I, Mailhot JP, Zhu PS, et al. (2016) Basal and post-ACTH aldosterone and its ratios are useful during adrenal vein sampling in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 101(4): 1826-1835.
- Briones AM, Nguyen Dinh Cat A, Callera GE, Yogi A, Burger D, et al. (2012) Adipocytes produce aldosterone through calcineurin-dependent signaling pathways: implications in diabetes mellitus-

- associated obesity and vascular dysfunction. *Hypertension* 59(5): 1069-1078.
11. Zavatta G, Casadio E, Rinaldi E, Pagotto U, Pasquali R, et al. (2016) Aldosterone and type 2 diabetes mellitus. *Horm Mol Biol Clin Investig* 26(1): 53-59.
 12. Huby AC, Antonova G, Groenendyk J, Gomez-Sanchez CE, Bollag WB, et al. (2015) Adipocyte-derived hormone leptin is a direct regulator of aldosterone secretion, which promotes endothelial dysfunction and cardiac fibrosis. *Circulation* 132(22): 2134-2145.
 13. Tirosh A, Hannah Shmouni F, Lyssikatos C, Belyavskaya E, Zilbermint M, et al. (2017) Obesity and the diagnostic accuracy for primary aldosteronism. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 19(8): 790-797.
 14. Bochud M, Nussberger J, Bovet P, Maillard MR, Elston RC, et al. (2006) Plasma aldosterone is independently associated with the metabolic syndrome. *Hypertension* 48(2): 239-245.
 15. Di Murro A, Petramala L, Costeta D, Zinnamosca L, Crescenzi E, et al. (2010) Renin-angiotensin-aldosterone system in patients with sleep apnea: prevalence of primary aldosteronism. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 11(3): 165-172.
 16. Johnson S (2018) Screening for obstructive sleep apnea is imperative for diabetes mellitus patients. *Curre Res Diabetes & Obes J* 5(5): 555674.
 17. Tuomilehto HJ, Seppä M Uusitupa (2013) Obesity and obstructive sleep apnea -Clinical significance of weight loss. *Sleep Medicine Reviews* 17(5): 321-329.
 18. PrattUbunama MN, Nishizaka MK, Boedefeld RL, Cofield SS, Harding SM, et al. (2007) Plasma aldosterone is related to severity of obstructive sleep apnea in subjects with resistant hypertension. *Chest* 131(2): 453-459.
 19. Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, Carey RM (2005) The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 16(3): 120-126.
 20. Fallo F, Veglio F, Bertello C, Sonino N, Della Mea P, et al. (2006) Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 91(2): 454-459.
 21. Reincke M, Meisinger C, Holle R, Quinkler M, Hahner S, et al. (2010) Is primary aldosteronism associated with diabetes mellitus? Results of the German Conn's Registry. *Horm Metab Res* 42(6): 435-439.
 22. Stiefel P, Vallejo Vaz AJ, García Morillo S, Villar J (2011) Role of the renin-angiotensin system and aldosterone on cardiometabolic syndrome. *Int J Hypertens* 2011: 685238.



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.19080/CRDOJ.2018.06.555680

**Your next submission with Juniper Publishers
will reach you the below assets**

- Quality Editorial service
- Swift Peer Review
- Reprints availability
- E-prints Service
- Manuscript Podcast for convenient understanding
- Global attainment for your research
- Manuscript accessibility in different formats
(Pdf, E-pub, Full Text, Audio)
- Unceasing customer service

Track the below URL for one-step submission

<https://juniperpublishers.com/online-submission.php>

5.2. Artigo 2

Association of the *GIPR* Glu354Gln (rs1800437) polymorphism with hypertension in a Brazilian population

Short title: *GIPR* Glu354Gln polymorphism and hypertension

Alexandro Marcio da Silva Mattos^{1,2}, Sarah Conchon Costa², Giovana Outuki², Gustavo Kendy Camargo Koga², Cláudia Nascimento Montemor^{2,3}, Giana Zarbato Longo⁴, Maria Angelica Ehara Watanabe⁵, Marla Karine Amarante^{2,5}, Tânia Longo Mazzuco^{1,2,6*}

¹Post-graduation Program of Health Sciences, Londrina State University, Londrina, Paraná, Brazil.

²Endocrine Interactions Research Group, Londrina State University, Londrina, Paraná, Brazil.

³School of Medicine, Pontifical Catholic University, Londrina, Paraná, Brazil

⁴Department of Nutrition and Health, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

⁵Laboratory of DNA Polymorphisms and Immunology, Department of Pathological Sciences, Biological Sciences Center, Londrina State University, Londrina, Paraná, Brazil

⁶Division of Endocrinology of Medical Clinical Department, University Hospital, UEL, Londrina, Brazil

*Corresponding author email: tmazzuco@uel.br (TLM)

Abstract

Objective: To know the prevalence of the Glu354Gln polymorphism of the *GIPR* gene and to investigate possible associations with arterial hypertension and diseases related to metabolic syndrome. **Method:** A total of 311 subjects recruited from the Clinical Hospital of Londrina State University, located in a south Brazilian metropolitan area. Random stratification was performed considering gender and geographic regions. Data were collected through interviews including anthropometric, sociodemographic and diseases related to metabolic syndrome. In order to analyze *GIPR* Glu354Gln gene polymorphism, polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was performed. **Results:** The prevalence of the *GIPR* Glu354Gln for the CC genotype and for the C polymorphic allele was 25.7% and 3.2%, respectively. The highest prevalence for the allele C carriers were found in the Caucasian 29.4% ($p = 0.043$, OR = 1.89), hypertensive 37.1% ($p < 0.0001$), smokers 38.3% ($p = 0.014$) and dyslipidemic group 41.2% ($p = 0.019$). In this study, 46.9% of the participants ($n = 146$) presented diseases related to metabolic syndrome. The results indicated that 60% of hypertensive patients ($p = 0.004$) and 64.7% of dyslipidemic patients ($p = 0.046$) were male. Among participants who presented diseases related to metabolic syndrome, arterial hypertension was the most prevalent disease (71.9%), followed by obesity (43.8%). The family comorbidities history to (type 2 diabetes *mellitus*, hypertension, dyslipidemia and obesity) had no significant association with the *GIPR* Glu354Gln genetic polymorphism. Although there was no difference in the case-control analyses for *GIPR* Glu354Gln for diseases related to metabolic syndrome group, regarding C allele carriers there were twice associated with arterial hypertension ($p < 0.001$) and

dyslipidemia ($p < 0,03$). **Conclusion:** This study shows the potential participation of the *GIPR* Glu354Gln polymorphism with the pathophysiology of arterial hypertension and dyslipidemia in this Brazilian population. Given the low frequency of the CC genotype, additional studies with a larger number of participants could contribute to a better understanding.

Introduction

Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) is a hormone secreted by K cells from duodenum and proximal jejunum, after glucose and fat uptake. GIP accounts for 80% of β -cell enteric stimulation by increasing pancreatic insulin secretion induced by glucose intake, which is known as the incretin effect (1). Functional GIP receptors (GIPR) play a major role in insulin resistance and hepatic steatosis in high fat feeding mice (2, 3). GIPR are mainly expressed in islet cells, in addition to osteoblasts, adipocytes, pancreas, lung, adrenal, kidney and thyroid (1). Nonpancreatic GIPR function is related to adrenal cell proliferation, GIP-dependent oversecretion of cortisol and aldosterone (4, 5, 6) and neurogenesis in the central nervous system (6).

Several GIPR polymorphisms have been described. These genetic variations could play a role on gluco-insulin homeostasis and body composition. Some single nucleotide polymorphisms (SNPs) located in coding regions of the *GIPR* gene (rs8111428, rs2302382 and rs1800437) were related to obesity (7). The *GIPR* rs10423928 was associated with high postprandial glucose and insulin levels (8), decreased lean mass (9) and low bone mineral density in early postmenopausal women (10). The *GIPR* SNP rs1800437 (Glu354Gln) showed a borderline association

with cardiovascular disease (CVD) in a study of 200 patients from a Dutch population (11). Genetic variations of the *GIPR* were not associated with childhood obesity; nevertheless, a potential role in glucose homeostasis was described for the *GIPR* SNP Glu354Gln (12).

Our preliminary results involving cardiometabolic risk factors has pointed to the potential role for the *GIPR* Glu354Gln genetic variant in systemic arterial hypertension (13). Thus, aim of the present study was to assess the prevalence of the *GIPR* Glu354Gln in a Brazilian population and to investigate its association with socio-demographic and diseases related to metabolic syndrome.

Material and methods

Human subjects and blood samples collection

For the study of *GIPR* Glu354Gln gene polymorphism, individuals were recruited from outpatient clinic at the Clinicals Hospital, Londrina State University (UEL). The population consisted in a total of 311 unrelated subjects (151 male) from a Brazilian metropolitan area, with a population of approximately 1.067,214 people. Sample was determined considering a 6% polymorphism prevalence, with a 95% significance level and a 3% precision level; to the results, were added 30% to compensate possible losses. The sampling process was random, 25 male and 25 female subjects for each geographic region of Londrina-PR, previously established (north, south, east, west, center and periphery), seeking criteria that would serve a more reliable representation of the population of this region. It was considered to be a smoker every individual who has used a minimum of 100 cigarettes and still uses them daily or eventually (14). The risk factors recognized for development of

cardiovascular disease in this study included diseases or heritability related on glucose metabolism, blood pressure, lipids, weight gain, smoking and physical activity. All procedures in the present study were approved by Londrina State University Ethics Committee for Research Involving Human Subjects (CAAEA 46541215.0.0000.5231) and all individuals were informed about the research and freely signed a consent term prior to biological material collection.

DNA extraction

Genomic DNA was obtained from blood samples using Biopur Mini Spin kit (Biometrix Diagnostica®, Curitiba, PR, Brazil). DNA samples were quantified using a NanoDrop2000c Spectrophotometer (ThermoFisher Scientific, Wilmington, DE, EUA) at 260 nm. The 260/280 nm and 260/230 nm absorbance ratios were measured to assess protein and organic compound contamination, respectively.

Genotyping assay

Polymorphism analysis for *GIPR* Glu354Gln was performed by polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). PCR was developed in a final volume of 25 µL containing 100 ng of DNA template, 1.25U of Taq DNA polymerase, 10% of PCR Buffer (200 mM Tris-HCl pH 8.4, 500 mM KCl), 0.1 mM dNTP, MgCl₂ 50 mM. All PCR reagents were purchased from Invitrogen (Invitrogen TM, Life Technologies Carlsbad, CA, USA). The following oligonucleotides were used, according VOGEL et al. (2009): 2.5 µM (forward 5' ATT ACC GGCGGT TGA GAG G 3' and 2.5 µM reverse 5'-' CTG GAA GGA GCT

GAG GAA GA 3' (GenBank Accession Number D49559.3). The PCR conditions were denaturation at 95°C for 5 min, 35 cycles of 95°C for 30 s, 62°C for 30 s, 72°C for 30 s and a final extension at 72°C for 10 min. PCR products were digested for 1U of *BssSI* restriction endonuclease (Biolabs, New Ipswich, NH, New England) at 37°C for 3h. The genotypes were scored according to RFLP analysis as homozygous wild type (150 bp and 95 bp), heterozygous (245 bases pairs (bp), 150 bp, and 95 bp), and mutant homozygous (245bp). Both PCR products and enzyme digestion products were confirmed through electrophoresis on polyacrylamide gels (10%) stained with AgNO₃. Negative controls (absence of DNA) were introduced into the reaction to ensure that no contaminants.

Study design and statistical analysis

Anthropometric measurements, sociodemographic information, clinical diagnoses and family history were obtained through an epidemiological questionnaire that had been formulated, tested and applied in our previous study.

The sampling process was random, seeking criteria that would serve a reliable representation of the population of this region. For this study, 4 mL of peripheral venous blood were collected by vacuum method in tubes with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). A descriptive observational study was performed for the prevalence of the *GIPR* Glu354Gln genetic variant. A control-case study was performed between the cardiometabolic group (n = 146) and control group (n =165) and the arterial hypertension (AH) group with presence of the C allele (n = 39) and non-carrier AH (n = 66) (Fig 1).

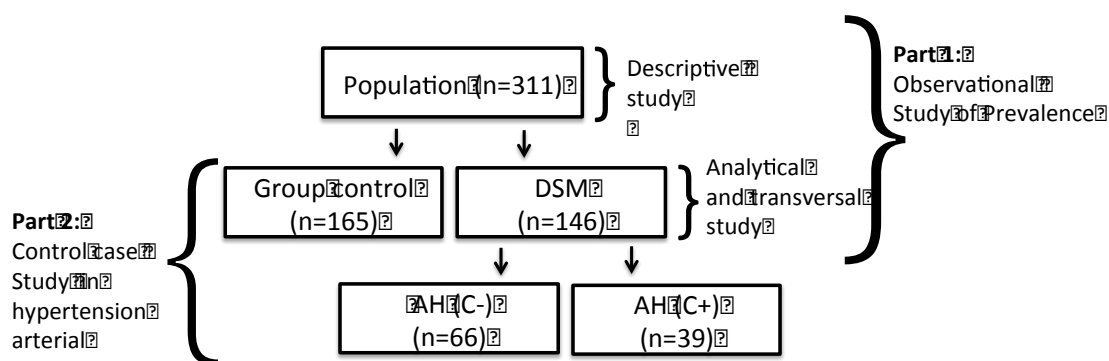


Fig 1. Design of the *GIPR* Glu354Gln polymorphism prevalence study.

DSM: diseases related to metabolic syndrome; AH: arterial hypertension; most common allele(C-); polymorphic allele, less frequent (C+).

GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Prism Software Inc., La Jolla, CA, USA) and STATA (Corporation Stata Statistical Software Release 13.0. College Station, TEXA, USA) were used to analyze all dataset. Continuous variables were presented as means and standard deviation (SD) and categorical variables as absolute and relative frequencies. Comparisons between groups were assessed through Student *t*-test, Pearson's chi-square test and Fisher's exact test for continuous variables.

Results

In this study 311 Brazilian participants were selected. The mean ages were 35.1 y (\pm 16.1) for woman and 46.9 y (\pm 20.8) for men. Women represented 51.4% (n=160). Sample consisted in 16.6% of individuals from each selected region of the city, being caucasian (67.8%), female (51.5%), adults (61.9%), normal weight (45.0%), sedentary lifestyle (62.1%) and smokers (19.3%). We analyzed the prevalence of the genetic variant of the *GIPR* Glu354Gln, not yet described in this population. Table 1 shows the distribution of genotypes for *GIPR* Glu354Gln

polymorphisms, homozygous CC 3.2% (n=10), heterozygous GC 22.5% (n=70) and homozygous wild type GG 74.3% (n=231). The polymorphic C allele was found in 25.7% (n=80) of study population. The electrophoretic profile for the genotypes is shown in Fig 2. The samples were tested for Hardy-Weinberg equilibrium, and no deviation from the expected frequencies of genotypes was found ($p>0.05$).

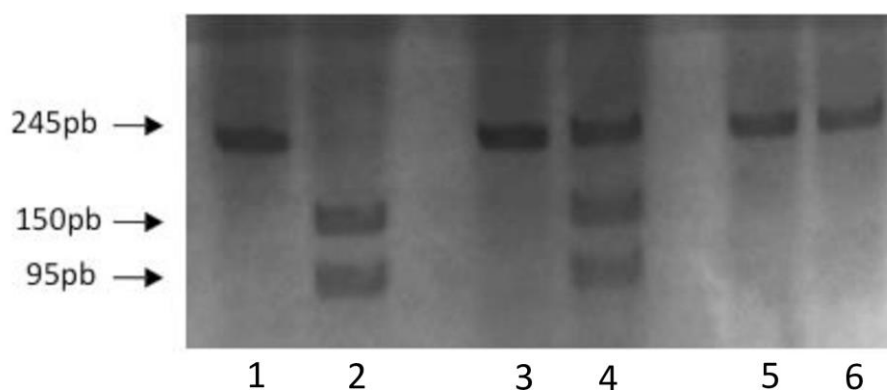


Fig 2. Electrophoretic profile of *GIPR* Glu354Gln polymorphism. Genotypes for *GIPR* Glu354Gln: 1, 3, 5: PCR product; 2: GG genotype (150, 95bp); 4: GC heterozygous genotype (245bp, 150bp, 95bp); 6: CC homozygous variant genotype (245bp). 10% polyacrylamide gel electrophoresis, stained with AgNO₃.

Hypertension and dyslipidemia showed a significant difference for the presence of *GIPR* Glu354Gln variant (Table 1). Highest prevalence rates for the polymorphic C allele were found in the Caucasian 29.4% ($p = 0.043$), hypertensive group 37.1% ($p < 0.0001$), dyslipidemic 41.2% ($p = 0.019$) and smoking 38.3% ($p = 0.014$), as showed in Table 2.

Table 1. Characterization of the sample for *GIPR* Glu354Gln C allele carriers.

Variables	n (%)	Presence (%) of the C allele	Odds ratio (CI 95%)	p-value
Sex				0.342
Female	160 (51.5)	23.1	1	
Male	151 (48.5)	28.5	1.32 (0.79 - 2.20)	
Race ou ethnic group				0.043 *
No caucasian	100 (32.2)	18.0	1	
Caucasian	211 (67.8)	29.4	1.89 (1.05 - 3.42)	
Morbidities				
Diabetes Mellitus type 2	47 (15.1)	27.7	1.13 (0.56 - 2.26)	0.571
Hypertension	105 (33.8)	37.1	2.38 (1.40 - 4.01)	< 0.0001 *
Dyslipidemia	34 (10.9)	41.2	2.24 (1.07 - 4.68)	0.019 *
Obesity	65 (20.9)	23.1	0.84 (0.44 - 1.59)	0.500
without morbidities	165 (53.1)	21.8	1.26 (0.67 - 2.37)	0.464
Family history				
Diabetes Mellitus type 2	158 (50,8)	22,8	0.73 (0.44 - 1.22)	0.229
Hypertension	205 (65.9)	25,9	1.03 (0.60 - 1.75)	0.945
Obesity	109 (35.0)	21,1	0.68 (0.39 - 1.18)	0.172
Smoking				0.014 *
No	251 (81.1)	22.7	1	
Yes	60 (18.9)	38.3	2.12 (1.16 - 3.85)	
Sedentary lifestyle				0.627
No	118 (37.9)	28.0	1	
Yes	193 (62.1)	24.4	0.82 (0.49 - 1.39)	

Pearson's chi-square test, multivariate regression.

1 **Table 2. Distribution of the variables according to sex, age and weight status in hypertensive and non-hypertensive individuals**

Variables	Total		Women		Men	
	AH		AH		AH	
	No (n=206)	Yes (n=105)	No (n=118)	Yes (n=42)	No (n=88)	Yes (n=63)
Age, years (mean \pm SD)	32.3 \pm 15.3	57.6 \pm 15.4 ^{***}	30.0 \pm 12.5	49.3 \pm 16.9 ^{***}	35.4 \pm 18.1	63.1 \pm 11.4 ^{***}
Body mass index (Kg m ⁻²) (mean \pm SD)	25.1 \pm 5.3	28.6 \pm 6.3 ^{***}	25.4 \pm 5.9	31.4 \pm 7.0 ^{***}	24.7 \pm 4.2	26.7 \pm 4.9 [*]
Weight status, (%)						
Normal weight	123 (59.7%)	36 (34.2%) [*]	71 (60.2%)	9 (21.4%) ^{***}	52 (59.1%)	27 (42.9%)
Overweight	57 (27.7%)	45 (42.9%)	31 (26.3%)	18 (42.9%)	26 (29.5%)	27 (42.9%)
Obese	26 (12.6%)	24 (22.9%)	16 (13.5%)	15 (35.7%)	10 (11.4%)	9 (14.2%)

2

3 Weight status: normal weight \geq 18.5 and $<$ 25; overweight: \geq 25 and $<$ 30; obesity: \geq 30 (SISVAN, 2004). AH, Arterial Hypertension

4 Student's t-test, Chi-square test. *p<0,001, **p=0.0001, ***p<0,0001.

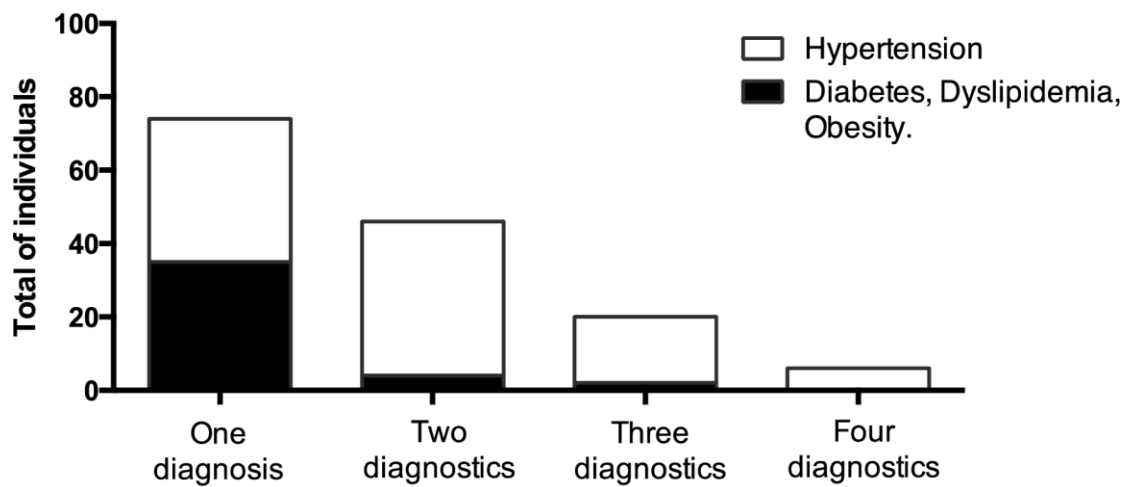
5 Cardiometabolic diseases were present in 46.9% of the participants (n = 146);
6 arterial hypertension (AH) was the most prevalent (33.8%). Hypertension was
7 prevalent in males, advanced age, sedentary lifestyle and smokers. Results indicated
8 that 60% of hypertensive patients ($p = 0.004$) and 64.7% of dyslipidemic patients ($p =$
9 0.046) were male.

10 There were statistically significant differences in age ($p < 0.0001$) and BMI (p
11 < 0.0001) compared to hypertensive and non-hypertensive subjects, and age was more
12 significant for hypertensive men and BMI than hypertensive women (Table 2).

13 The family history for diseases (DM2, AH, dyslipidemia and obesity) had no
14 significant association with the *GIPR* Glu354Gln genetic variant. Among participants
15 who presented diseases related to metabolic syndrome (n = 146), AH was the most
16 prevalent disease (71.9%), followed by obesity (43.8%). These clinical conditions
17 were presented alone or in association in which 1.9% of the subjects presented with
18 the four diagnoses. AH was the clinical condition with highest number of associations
19 (Fig 3).

20

21



22

23 **Fig 3. Distribution of diseases according to the number of diagnoses presented.**

24 Comparison of AH with the prevalence of other cardiometabolic diseases (n = 146).

25 One diagnosis (individuals with only one disease, without associations), two

26 diagnostics (individuals with two diseases in association), three diagnostics

27 (individuals with three diseases in association in the diagnosis) and four diagnostics

28 (individuals presenting the four associated diseases).

29

30 In the next step the case control study was performed. When comparing the

31 control (n = 165) with the diseases related to metabolic syndrome group (n = 146), the

32 genotypic distribution of *GIPR* Glu354Gln showed associative potential for the

33 dominant model (GC + CC) ($p = 0.094$), supported by allelic frequency ($p = 0.04$) in

34 the diseases related to metabolic syndrome group (Table 3).

35

36 **Table 3. Case-control analyses for *GIPR* Glu354Gln gene polymorphism in the control and cardiometabolic group**

Genetic model	Diseases related to metabolic syndrome							
	Total		NO		YES		Odds ratio (CI 95%)	<i>p</i> -value
	n=311	%	n=165	%	n=146	%		
Co-dominant model								
GG	231	74.28	129	78.18	102	69.86	1	
GC	70	22.50	33	20.00	37	25.34	1.42(0.84-2.42)	0.22
CC	10	3.22	3	1.82	7	4.80	2.95(0.79-10.66)	0.19
Dominant model								
GG	231	74.28	129	78.18	102	69.86	1	
GC+CC	80	25.72	36	21.82	44	30.14	1.55(0.93-2.58)	0.12
Recessive model								
GG+GC	301	96.78	162	98.18	139	95.2	1	
CC	10	3.22	3	1.82	7	4.80	2.72(0.78-9.80)	0.19

37

38 Cardiometabolic group (n = 146): individuals with diseases related to the cardiometabolic diseases, hypertension,

39 diabetes *mellitus* type 2, dyslipidemia and obesity.

Regarding *GIPR* Glu354Gln, the prevalence of hypertension and dyslipidemia in patients with the presence of the C allele (48.8% and 17.5%) and patients with absence of the C allele (28.6% and 8.7%) respectively. (Fig. 4).

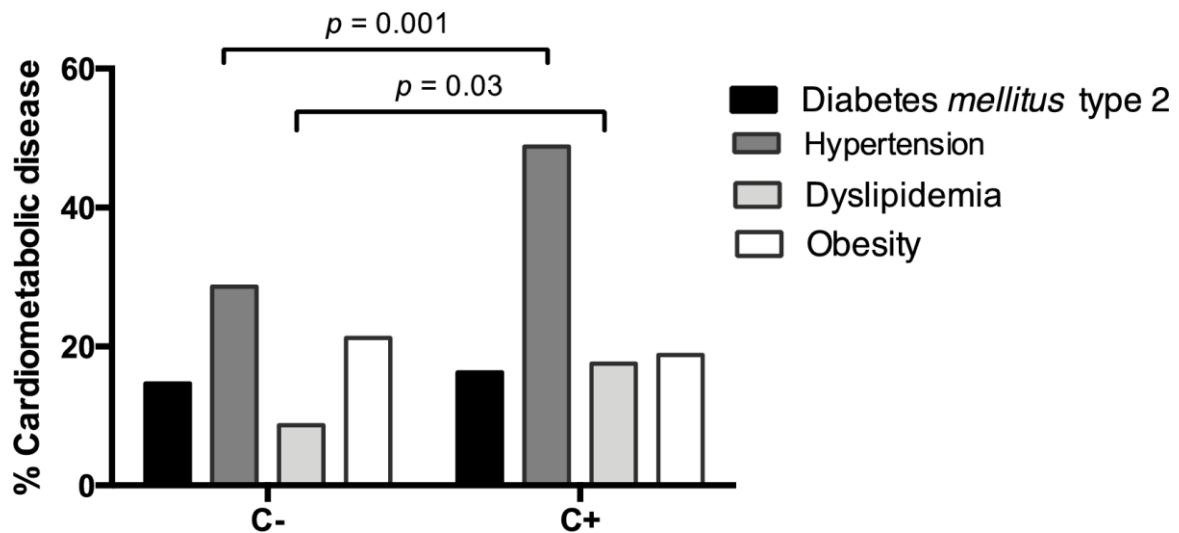


Fig 4: Distribution of clinical conditions related to cardiometabolic diseases in the wild genotype group GG (C-) and the allele C carrier group (C+).

No significant association was verified regarding of the *GIPR* Glu354Gln genetic variant and obesity in the total sample population (n = 311) ($p = 0.639$). The distribution of the polymorphic allele between diabetics and non-diabetics did not present statistical difference ($p = 0,742$). Linear regression analysis did not reveal an association between cardiometabolic group and the distribution of genotypes studied, adjusted for age, gender and BMI.

Discussion

Hypertension is a complex disease that is closely related to endocrine and metabolic disorders (15). The activation of GIPR regulates several aspects of pancreatic beta cell and adipocyte metabolism. Some studies have suggested that the functional genetic variant

Glu354Gln for the *GIPR* gene decreases the effect of GIP (8, 10, 12, 16). In the present study involving Brazilian patients with diseases related to metabolic syndrome, we demonstrated for the first time that such a genetic variant has a strong association with hypertension.

In the present work the distribution of genotypes for the *GIPR* Glu354Gln polymorphism was 3.2% for CC in homozygosis, 22.5% for CG in heterozygosis and 74.3% for GG in homozygous, in a population composed by 67.8% of Caucasian individuals which is a representative sample from inhabitants of the Brazilian State of Paraná, according to the national demographic census (17). Regarding the C allele, Caucasian individuals presented the highest prevalence rate (29.4 %) in our population. There is no prevalence data for *GIPR* Glu354Gln in American populations described so far. Few studies presented the *GIPR* Glu354Gln prevalence in Germany, Netherlands and Denmark (7, 10-12). The polymorphic C allele prevalence in a German population corresponded to 21% of obese children, 20% of obese adults and 22% of the control group (7). In another study with 2.280 children and adolescents from Berlin, 6% of obese subjects had a polymorphic genotype, 18% had heterozygous genotype and 61% had a wild genotype (12).

Our study demonstrates the association of the *GIPR* Glu354Gln polymorphism in the pathophysiology of hypertension and dyslipidemia. The familial history of comorbidities related to cardiometabolic traits (diabetes, hypertension, dyslipidemia and obesity) was not significantly associated with Glu354Gln genetic polymorphism. Hypertension associated factors were male sex, advanced age, high BMI and smoking, corroborating with literature data (18, 19, 20). The mechanisms involved in the pathophysiology of hypertension arise from the interaction among environmental and genetic factors. In a longitudinal study with 6.027 Japanese hypertensive patients, *PDX1* and *LLGL2* genes polymorphisms were associated with AH presence in the dominant model and *FAM78B* was related to AH in the recessive model. Moreover, the same Japanese study suggests that the presence of *BTN2A1*

(rs6929846) polymorphic allele predisposes to an inflammatory process acceleration, a genetic risk factor for AH (20). Increased cardiac output in response to higher peripheral vascular resistance occurs with persistent hemodynamic adaptations, even in the absence of clinical manifestations (21).

The lower expression of GIPR in adipose tissue of obese individuals have been related to decreased insulin sensitivity, resulting in a defect in GIP/GIPR tissue signaling axis (22). Negative correlation was found among GIPR expression in adipose tissue and BMI, abdominal circumference, systolic blood pressure, glycemia and serum triglyceride levels. Our findings did not find an association among the presence of the polymorphism and obesity, however the polymorphic allele has been associated with an increased insulin resistance in 357 obese children (12).

There is a complex and still poorly understood relationship among GIP and lipid metabolism. In this study the polymorphic allele was more prevalent in individuals with dyslipidemia. Though it is assumed that this incretin has a vasoactive effect in the adipose tissue, increasing its vascularization, providing greater amount of glucose and esterification of free fatty acids, leading to triglycerides deposition in abdominal subcutaneous tissue (23). In an experimental study, it was observed that long-term GIP blockade provides an adipose tissue mass reduction and hepatic and muscular triglycerides level reduction, confirming the opposite to effect on poor GIP stimulus in this tissue (24). An adverse role of GIP in lipid metabolism was also observed in a Dutch study with diabetic subjects, being that GLP-1, another incretin, would present benefits in lipid normalization (25). Nitz et al. concluded that there is an LDL levels reduction in heterozygote genotype individuals for *GIPR* Glu354Gln (11).

Our results showed no difference between diabetic and non-diabetic patients regarding polymorphic allele prevalence, complying with a Dutch study (11). This polymorphic variant

was associated with increased peripheral insulin resistance in an obese German children population, suggesting that this polymorphism interferes in glucose metabolism (12). It is known that GIP secretion in response to oral tolerance glucose test (TTOG) and post-diet tests is preserved in diabetics, but with a decrease in GIP effect through a mechanism of downregulation of GIPR in pancreatic beta-cells (26). Another *GIPR* polymorphism, rs10423928, was related to a decrease in insulin response capacity (8).

GIPR Glu354Gln polymorphism showed a threshold association with CVD in a Dutch study with 200 individuals (11). This finding suggests that the polymorphic variant has a role in the development of diseases related to metabolic syndrome. The prevalence of cardiometabolic risk factors in an Iranian study with 5940 adolescents was directly related to a high socioeconomic level (27). Diseases related to metabolic syndrome was associated with the dominant model, strengthening the hypothesis that the polymorphic variant contributes to the development of type 2 diabetes mellitus, arterial hypertension, dyslipidemia and obesity. We observed the presence of diseases related to metabolic syndrome in 146 individuals, with hypertension and obesity being the most frequent diseases. Low prevalence of overweight (9.8%) and obesity (1.9%) was observed in a Latin American registry with an adolescent Ecuadorian population, with an important tendency towards glucose intolerance (12.4%) (28). Further studies regarding prevalence of these risk factors in the elderly population are necessary to understand the true impact on the development of cardiovascular diseases and the influence of genetic variants.

Conclusion

In Brazilian adults, the GG genotype of the *GIPR* Glu354Gln polymorphism was associated with a lower risk of diseases related to metabolic syndrome. This study suggests the involvement of a *GIPR* Glu354Gln in the pathophysiology of hypertension. However,

because of low prevalence of the CC genotype, more representative and applicable studies are needed to clarify the mechanisms and underlying genetic effects of our findings.

References

1. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2131-57.
2. Moffett RC, Vasu S, Flatt PR. Functional GIP receptors play a major role in islet compensatory response to high fat feeding in mice. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1850(6):1206-14.
3. Joo E, Harada N, Yamane S, Fukushima T, Taura D, Iwasaki K, et al. Inhibition of Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor Signaling in Adipose Tissue Reduces Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-Fed Mice. *Diabetes*. 2017;66(4):868-79.
4. Mazzuco TL, Chabre O, Sturm N, Feige JJ, Thomas M. Ectopic expression of the gastric inhibitory polypeptide receptor gene is a sufficient genetic event to induce benign adrenocortical tumor in a xenotransplantation model. *Endocrinology*. 2006;147(2):782-90.
5. Lacroix A, Bourdeau I, Lampron A, Mazzuco TL, Tremblay J, Hamet P. Aberrant G-protein coupled receptor expression in relation to adrenocortical overfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73(1):1-15.
6. Figueiredo CP, Pamplona FA, Mazzuco TL, Aguiar AS, Jr., Walz R, Prediger RD. Role of the glucose-dependent insulinotropic polypeptide and its receptor in the central nervous system: therapeutic potential in neurological diseases. *Behav Pharmacol*. 2010;21(5-6):394-408.
7. Vogel CI, Scherag A, Bronner G, Nguyen TT, Wang HJ, Grallert H, et al. Gastric inhibitory polypeptide receptor: association analyses for obesity of several polymorphisms in large study groups. *BMC Med Genet*. 2009;10:19.
8. Saxena R, Hivert MF, Langenberg C, Tanaka T, Pankow JS, Vollenweider P, et al. Genetic variation in GIPR influences the glucose and insulin responses to an oral glucose challenge. *Nat Genet*. 2010;42(2):142-8.
9. .
10. Torekov SS, Harslof T, Rejnmark L, Eiken P, Jensen JB, Herman AP, et al. A functional amino acid substitution in the glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor (GIPR) gene is associated with lower bone mineral density and increased fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(4):E729-33.
11. Nitz I, Fisher E, Weikert C, Burwinkel B, Li Y, Mohlig M, et al. Association analyses of GIP and GIPR polymorphisms with traits of the metabolic syndrome. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(8):1046-52.
12. Sauber J, Grothe J, Behm M, Scherag A, Grallert H, Illig T, et al. Association of variants in gastric inhibitory polypeptide receptor gene with impaired glucose homeostasis in obese children and adolescents from Berlin. *Eur J Endocrinol*. 2010;163(2):259-64.
13. da Silva Mattos A, Ludwig N, Koga G, Costa S, Amarante M, Mazzuco T. GIPR rs1800437 polymorphism: prevalence and possible associations with metabolic syndrome-related diseases in a Brazilian urban population. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2015;7(Suppl 1):A200.

14. Statistics NCFH. Changes to data editing procedures and the impact on identifying same-sex married couples: 2004–2007 National Health Interview Survey (National Health Interview Survey April 2015 Report). Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. 2015.
15. Costa CS, Mattos AMS, Arruda ACG, Fabretti DM, Scorpione JGS, Mazzuco TL. The Relationship between obesity, insulin resistance and aldosterone levels. *Curr Res Diabetes Obes J*. 2018; 6(1):555680.
16. Mohammad S, Patel RT, Bruno J, Panhwar MS, Wen J, McGraw TE. A naturally occurring GIP receptor variant undergoes enhanced agonist-induced desensitization, which impairs GIP control of adipose insulin sensitivity. *Mol Cell Biol*. 2014;34(19):3618-29.
17. de Janeiro R. IBGE, 2010. www.ibge.gov.br/censo2010 Acesso. 2014;8:09-11.
18. Malachias M, Souza W, Plavnik F, Rodrigues C, Brandão A, Neves M. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial. *Arq Bras Cardiol*. 2016;107(3):1-103.
19. Yang H, Cai D, Zhu Q, Wu D, Wang Q, Wang Z. The mutation of Trp64Arg in beta3-adrenoreceptor-encoding gene is significantly associated with increased hypertension risk and elevated blood pressure: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(28):46480-90.
20. Yamada Y, Matsui K, Takeuchi I, Oguri M, Fujimaki T. Association of genetic variants with hypertension in a longitudinal population-based genetic epidemiological study. *Int J Mol Med*. 2015;35(5):1189-98.
21. Silva EC, Martins MS, Guimaraes LV, Segri NJ, Lopes MA, Espinosa MM. Hypertension prevalence and associated factors in men and women living in cities of the Legal Amazon. *Rev Bras Epidemiol*. 2016;19(1):38-51.
22. Ceperuelo-Mallafre V, Duran X, Pachon G, Roche K, Garrido-Sanchez L, Vilarrasa N, et al. Disruption of GIP/GIPR axis in human adipose tissue is linked to obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):E908-19.
23. Asmar M, Tangaa W, Madsbad S, Hare K, Astrup A, Flint A, et al. On the role of glucose-dependent insulintropic polypeptide in postprandial metabolism in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;298(3):E614-21.
24. Holst JJ, Knop FK, Vilsboll T, Krarup T, Madsbad S. Loss of incretin effect is a specific, important, and early characteristic of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34 Suppl 2:S251-7.
25. Alssema M, Rijkelijhuizen JM, Holst JJ, Teerlink T, Scheffer PG, Eekhoff EM, et al. Preserved GLP-1 and exaggerated GIP secretion in type 2 diabetes and relationships with triglycerides and ALT. *Eur J Endocrinol*. 2013;169(4):421-30.
26. Calanna S, Christensen M, Holst JJ, Laferrere B, Gluud LL, Vilsboll T, et al. Secretion of glucose-dependent insulintropic polypeptide in patients with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of clinical studies. *Diabetes Care*. 2013;36(10):3346-52.
27. Kelishadi R, Heshmat R, Farzadfar F, Esmail Motlag M, Bahreynian M, Safiri S, et al. Prevalence of cardio-metabolic risk factors in a nationally representative sample of Iranian adolescents: The CASPIAN-III Study. *J Cardiovasc Thorac Res*. 2017;9(1):12-20.
28. Casapulla SL, Howe CA, Mora GR, Berryman D, Grijalva MJ, Rojas EW, et al. Cardiometabolic risk factors, metabolic syndrome and pre-diabetes in adolescents in the Sierra region of Ecuador. *Diabetol Metab Syndr*. 2017;9:24.

6. CONCLUSÃO

6.1. Artigo 1 - The relationship between obesity, insulin resistance and aldosterone levels

A aldosterona tem sido reconhecida por desempenhar papel importante no desenvolvimento de doenças cardiovasculares e endócrino-metabólicas.

Diretrizes atuais apontam aos médicos a importância de considerar o rastreamento do hiperaldosteronismo primário para a maioria dos pacientes com hipertensão.

Pacientes hipertensos com apneia obstrutiva do sono, obesidade e resistência à insulina são grupos com risco de apresentar elevação de aldosteronemia. Além das células adrenocorticais, o tecido adiposo também é capaz de secretar aldosterona; desta forma, tanto o hiperaldosteronismo primário (de origem adrenal) aumenta consideravelmente o risco cardiometabólico, quanto as próprias doenças relacionadas à síndrome metabólica como obesidade podem causar aumento da aldosteronemia.

6.2. Artigo 2: Association of the SNP Glu354Gln in the *GIPR* gene and hypertension in a Brazilian population

A frequência encontrada na população brasileira de Londrina (PR) para o genótipo CC e para o alelo polimórfico C do SNP *GIPR* Glu354Gln foi de 25,7% e 3,2%, respectivamente, sendo significativamente mais prevalente em caucasianos.

As doenças mais prevalentes encontradas na população do estudo se relacionam com síndrome metabólica, com destaque para hipertensão entre as demais. O estudo apresentou associação significativa quanto ao polimorfismo em pacientes com hipertensão e dislipidemia, e não houve diferença para o diabetes *mellitus* tipo 2 e obesidade.

A HA foi a variável com maior número de associações entre as demais doenças relacionadas à síndrome metabólica. Não houve associação do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln com o tabagismo, sedentarismo, história familiar de DM2, HA e obesidade.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo aponta potencial associação do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln com a fisiopatologia da HA e dislipidemia, associação com caucasianos e tabagismo na população de Londrina-PR, Brasil. Levando em consideração a baixa frequência do genótipo CC, estudos adicionais devem ser realizados para melhor compreender o papel de atuação do polimorfismo *GIPR* Glu354Gln na HA. Nosso estudo sugere que a presença deste polimorfismo em heterozigose pode ser suficiente para influenciar as manifestações clínicas desta doença. Novos estudos devem ser realizados em maiores populações, em outras regiões brasileiras, com outros polimorfismos neste mesmo receptor para possíveis associações no intuito de melhor caracterizar a relação desse polimorfismo estudado com as doenças cardiometabólicas.

8. REFERÊNCIAS

ALTSHULER, D.; DALY, M. J.; LANDER, E. S. Genetic mapping in human disease. **Science**, v. 322, n. 5903, p. 881-8, Nov 7 2008.

ARDHANARI, S. et al. Mineralocorticoid and apparent mineralocorticoid syndromes of secondary hypertension. **Adv Chronic Kidney Dis**, v. 22, n. 3, p. 185-95, May 2015.

ASMAR, M. et al. On the role of glucose-dependent insulintropic polypeptide in postprandial metabolism in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 298, n. 3, p. E614-21, Mar 2010.

BAGGIO, L. L.; DRUCKER, D. J. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. **Gastroenterology**, v. 132, n. 6, p. 2131-57, May 2007.

BALDACCHINO, V. et al. The Sp transcription factors are involved in the cellular expression of the human glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor gene and overexpressed in adrenals of patients with Cushing's syndrome. **J Mol Endocrinol**, v. 35, n. 1, p. 61-71, Aug 2005.

BAUDRAND, R. et al. Continuum of Renin-Independent Aldosteronism in Normotension. **Hypertension**, v. 69, n. 5, p. 950-956, May 2017.

BERG, A. H.; COMBS, T. P.; SCHERER, P. E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. **Trends Endocrinol Metab**, v. 13, n. 2, p. 84-9, Mar 2002.

BOLLAG, R. J. et al. Osteoblast-derived cells express functional glucose-dependent insulinotropic peptide receptors. **Endocrinology**, v. 141, n. 3, p. 1228-35, Mar 2000.

BRADLEY, R. L. et al. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 295, n. 3, p. E586-94, Sep 2008.

BRAUNWALD, E. Changing the practice of cardiovascular medicine. **Atheroscler Suppl**, v. 2, n. 1, p. 27-30, Feb 2001.

BRETT, S. E.; RITTER, J. M.; CHOWIENCZYK, P. J. Diastolic blood pressure changes during exercise positively correlate with serum cholesterol and insulin resistance. **Circulation**, v. 101, n. 6, p. 611-5, Feb 15 2000.

BROWN, J. C. et al. Identification and actions of gastric inhibitory polypeptide. **Recent Prog Horm Res**, v. 31, p. 487-532, 1975.

CARVALHEIRA, J. B.; SAAD, M. J. [Insulin resistance/hyperinsulinemia associated diseases not included in the metabolic syndrome]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 2, p. 360-7, Apr 2006.

CHABRE, O. et al. Cushing's syndrome due to a gastric inhibitory polypeptide-dependent adrenal adenoma: insights into hormonal control of adrenocortical tumorigenesis. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 83, n. 9, p. 3134-43, Sep 1998.

CHOBANIAN, A. V. et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p. 1206-52, Dec 2003.

COELHO, E. B. et al. [Relationship between regular attendance to ambulatory appointments and blood pressure control among hypertensive patients]. **Arq Bras Cardiol**, v. 85, n. 3, p. 157-61, Sep 2005.

COONEY, M. T. et al. How much does HDL cholesterol add to risk estimation? A report from the SCORE Investigators. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 16, n. 3, p. 304-14, Jun 2009.

CORRIVEAU, E. A. et al. Effect of Carelink, an internet-based insulin pump monitoring system, on glycemic control in rural and urban children with type 1 diabetes mellitus. **Pediatr Diabetes**, v. 9, n. 4 Pt 2, p. 360-6, Aug 2008.

DA SILVA MATTOS, A. L., NATASHA; KOGA, GUSTAVO; COSTA, SARAH; AMARANTE, MARLA; MAZZUCO, TÂNIA. GIPR rs1800437 polymorphism: prevalence and possible association with metabolic syndrome-related diseases in a Brazilian urban population. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, V. 7, p.200, 2015.

DE CARVALHO, M. H.; COLACO, A. L.; FORTES, Z. B. [Cytokines, endothelial dysfunction, and insulin resistance]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 2, p. 304-12, Apr 2006.

DERIJK, R. H. Single nucleotide polymorphisms related to HPA axis reactivity. **Neuroimmunomodulation**, v. 16, n. 5, p. 340-52, 2009.

DESPRES, J. P.; LEMIEUX, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 881-7, Dec 14 2006.

FEHMANN, H. C.; GOKE, B. Characterization of GIP(1-30) and GIP(1-42) as stimulators of proinsulin gene transcription. **Peptides**, v. 16, n. 6, p. 1149-52, 1995.

FERDINAND, K. C. et al. Effects of the once-weekly glucagon-like peptide-1 receptor agonist dulaglutide on ambulatory blood pressure and heart rate in patients with type 2 diabetes mellitus. **Hypertension**, v. 64, n. 4, p. 731-7, Oct 2014.

FIGUEIREDO, C. P. et al. Role of the glucose-dependent insulinotropic polypeptide and its receptor in the central nervous system: therapeutic potential in neurological diseases. **Behav Pharmacol**, v. 21, n. 5-6, p. 394-408, Sep 2010.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. [The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 2, p. 216-29, Apr 2006.

FORTIN, J. P. et al. Pharmacological characterization of human incretin receptor missense variants. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 332, n. 1, p. 274-80, Jan 2010.

FRANCISCO, G. et al. [Factors influencing CRP levels in the diabetic population]. **Med Clin (Barc)**, v. 124, n. 9, p. 336-7, Mar 12 2005.

FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **J Intern Med**, v. 264, n. 3, p. 224-36, Sep 2008.

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

GAUDIN-AUDRAIN, C. et al. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor deficiency leads to modifications of trabecular bone volume and quality in mice. **Bone**, v. 53, n. 1, p. 221-30, Mar 2013.

GEFIKEN, D.F.; CUSHMAN, M.; BURKE, G.L.; POLAK, J.F.; SAKKINEN, P.A.; TRACYR, R.P. Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population. **American Journal Epidemiology**.v.1;153(3):242-50, Feb 2001.

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. [Laboratorial evaluation and diagnosis of insulin resistance]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 2, p. 208-15, Apr 2006.

GIRARD, J. The incretins: from the concept to their use in the treatment of type 2 diabetes. Part A: incretins: concept and physiological functions. **Diabetes Metab**, v. 34, n. 6 Pt 1, p. 550-9, Dec 2008.

GOMEZ-MERINO, D. et al. Effects of chronic exercise on cytokine production in white adipose tissue and skeletal muscle of rats. **Cytokine**, v. 40, n. 1, p. 23-9, Oct 2007.

GREMLICH, S. et al. Cloning, functional expression, and chromosomal localization of the human pancreatic islet glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor. **Diabetes**, v. 44, n. 10, p. 1202-8, Oct 1995.

GRIENDLING, K. K. et al. Angiotensin II receptor pharmacology. **Adv Pharmacol**, v. 28, p. 269-306, 1994.

HAMET, P. et al. Cushing syndrome with food-dependent periodic hormonogenesis. **Clin Invest Med**, v. 10, n. 6, p. 530-3, Nov 1987.

HANSOTIA, T.; DRUCKER, D. J. GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice. **Regul Pept**, v. 128, n. 2, p. 125-34, Jun 15 2005.

HANSOTIA, T. et al. Extrapancreatic incretin receptors modulate glucose homeostasis, body weight, and energy expenditure. **J Clin Invest**, v. 117, n. 1, p. 143-52, Jan 2007.

HATTANGADY, N. G. et al. Acute and chronic regulation of aldosterone production. **Mol Cell Endocrinol**, v. 350, n. 2, p. 151-62, Mar 24 2012.

HOLST, J. J.; GROMADA, J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 287, n. 2, p. E199-206, Aug 2004.

HOLST, J. J.; VILSBOLL, T.; DEACON, C. F. The incretin system and its role in type 2 diabetes mellitus. **Mol Cell Endocrinol**, v. 297, n. 1-2, p. 127-36, Jan 15 2009.

HU, C. et al. Variants from GIPR, TCF7L2, DGKB, MADD, CRY2, GLIS3, PROX1, SLC30A8 and IGF1 are associated with glucose metabolism in the Chinese. **PLoS One**, v. 5, n. 11, p. e15542, Nov 17 2010.

HU, G. et al. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. **Arch Intern Med**, v. 164, n. 10, p. 1066-76, May 24 2004.

HUNYADY, L. et al. Structural determinants of agonist-induced signaling and regulation of the angiotensin AT1 receptor. **Mol Cell Endocrinol**, v. 217, n. 1-2, p. 89-100, Mar 31 2004.

JARDIM, P. C. et al. High blood pressure and some risk factors in a Brazilian capital. **Arq Bras Cardiol**, v. 88, n. 4, p. 452-7, Apr 2007.

JOELS, C. S. et al. Surgical implications of early failed endovascular intervention of the superficial femoral artery. **J Vasc Surg**, v. 47, n. 3, p. 562-5, Mar 2008.

KIM, M. et al. GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure. **Nat Med**, v. 19, n. 5, p. 567-75, May 2013.

KIM, W.; EGAN, J. M. The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. **Pharmacol Rev**, v. 60, n. 4, p. 470-512, Dec 2008.

KUBOTA, A. et al. Gastric inhibitory polypeptide activates MAP kinase through the wortmannin-sensitive and -insensitive pathways. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 235, n. 1, p. 171-5, Jun 9 1997.

LACROIX, A. et al. Aberrant G-protein coupled receptor expression in relation to adrenocortical overfunction. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 73, n. 1, p. 1-15, Jul 2010.

LACROIX, A. et al. Fournier, et al. Gastric inhibitory polypeptide-dependent cortisol hypersecretion--a new cause of Cushing's syndrome. **N Engl J Med**, v.327, n.14, Oct 1, p.974-80. 1992.

LACROIX, A.; HAMET, P.; BOUTIN, J. M. Leuprolide acetate therapy in luteinizing hormone--dependent Cushing's syndrome. **N Engl J Med**, v. 341, n. 21, p. 1577-81, Nov 18 1999.

LAKKA, H. M. et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. **JAMA**, v. 288, n. 21, p. 2709-16, Dec 4 2002.

LAMPRON, A. et al. Regulation of aldosterone secretion by several aberrant receptors including for glucose-dependent insulinotropic peptide in a patient with an aldosteronoma. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 3, p. 750-6, Mar 2009.

LANAS, F.; SERON, P.; LANAS, A. Coronary heart disease and risk factors in latin america. **Glob Heart**, v. 8, n. 4, p. 341-8, Dec 2013.

LAROCHELLE, J. et al. Plasma resistin levels in asthmatics as a marker of disease state. **J Asthma**, v. 44, n. 7, p. 509-13, Sep 2007.

LYNN, F. C. et al. A novel pathway for regulation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) receptor expression in beta cells. **FASEB J**, v. 17, n. 1, p. 91-3, Jan 2003.

MALACHIAS, M. et al. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3, p. 1-103, 2016.

MAZZUCO, T. L. et al. Ectopic expression of the gastric inhibitory polypeptide receptor gene is a sufficient genetic event to induce benign adrenocortical tumor in a xenotransplantation model. **Endocrinology**, v. 147, n. 2, p. 782-90, Feb 2006.

MAZZUCO, T. L. et al. Aberrant hormone receptors in primary aldosteronism. **Horm Metab Res**, v. 42, n. 6, p. 416-23, Jun 2010.

MAZZUCO, T. L.; HERRERA, A. C. S. A.; FONSECA, E. A. I. Interesse do Estudo dos Tumores Adrenocorticais em Patologia Experimental e Clínica. In: WATANABE, M. A. E.;ONO, M. A., et al (Ed.). Tópicos em Patologia Experimental. Londrina (PR), Brasil: EDUEL - Universidade Estadual de Londrina, v.1., cap. 11, p.177-200. Feb 2008.

MAZZUCO, T. L.; MATTOS, A. M. S.; MONTEMOR, C. N.; QUEIROZ, E. A. I. F. Fisiopatologia endócrina do estresse in: Proendocrino Programa de Atualização em Endocrinologia e Metabologia, Ciclo 6.1, v.2, p.41-91, 2014.

MIYAWAKI, K. et al. Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. *Nat Med*, v. 8, n. 7, p. 738-42, Jul 2002.

MORENO-NAVARRETE, J. M. et al. Telomere length of subcutaneous adipose tissue cells is shorter in obese and formerly obese subjects. **Int J Obes (Lond)**, v. 34, n. 8, p. 1345-8, Aug 2010.

NAUCK, M. A. et al. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 63, n. 2, p. 492-8, Aug 1986.

NHIS - STATISTICS, N. C. F. H. Changes to data editing procedures and the impact on identifying same-sex married couples: 2004–2007 NHIS (National Health Interview Survey April 2015 Report). Hyattsville, MD: **National Center for Health Statistics** 2015.

NITZ, I. et al. Association analyses of GIP and GIPR polymorphisms with traits of the metabolic syndrome. **Mol Nutr Food Res**, v. 51, n. 8, p. 1046-52, Aug 2007.

NORTHROP-CLEWES, C. A.; THURNHAM, D. I. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. **Clin Chim Acta**, v. 377, n. 1-2, p. 14-38, Feb 2007.

OSWALD, L. M. et al. Relationships among ventral striatal dopamine release, cortisol secretion, and subjective responses to amphetamine. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 4, p. 821-32, Apr 2005.

PAPPACHAN, J. M.; BUCH, H. N. Endocrine Hypertension: A Practical Approach. **Adv Exp Med Biol**, v. 956, p. 215-237, 2017.

PAULI, J. R. et al. [New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, n. 4, p. 399-408, Jun 2009.

PEDROSA, R. P. et al. Obstructive sleep apnea: the most common secondary cause of hypertension associated with resistant hypertension. **Hypertension**, v. 58, n. 5, p. 811-7, Nov 2011.

PEREIRA, A. C. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variant modulates the relationship between serum cholesterol levels and blood pressure in the general population: new evidence for a direct effect of lipids in arterial blood pressure. **Atherosclerosis**, v. 184, n. 1, p. 193-200, Jan 2006.

PETERSON, A. M.; MCGHAN, W. F. Pharmacoeconomic impact of non-compliance with statins. **Pharmacoeconomics**, v. 23, n. 1, p. 13-25, 2005.

PITSAVOS, C. et al. The associations between physical activity, inflammation, and coagulation markers, in people with metabolic syndrome: the ATTICA study. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 12, n. 2, p. 151-8, Apr 2005.

QI, Q. et al. Weight-loss diets modify glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor rs2287019 genotype effects on changes in body weight, fasting glucose, and insulin resistance: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies trial. **Am J Clin Nutr**, v. 95, n. 2, p. 506-13, Feb 2012.

REAVEN, G. M. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. **Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 65; discussion 64, 66, Jan 1997.

REICHE, E. M.; NUNES, S. O.; MORIMOTO, H. K. Stress, depression, the immune system, and cancer. **Lancet Oncol**, v. 5, n. 10, p. 617-25, Oct 2004.

ROSS, S. A.; BROWN, J. C.; DUPRE, J. Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide following oral glucose in diabetes mellitus. **Diabetes**, v. 26, n. 6, p. 525-9, Jun 1977.

SABBADIN, C.; FALLO, F. Hyperaldosteronism: Screening and Diagnostic Tests. **High Blood Press Cardiovasc Prev**, v. 23, n. 2, p. 69-72, Jun 2016.

SARAFIDIS, P. A.; BAKRIS, G. L. Resistant hypertension: an overview of evaluation and treatment. **J Am Coll Cardiol**, v. 52, n. 22, p. 1749-57, Nov 25 2008.

SAUBER, J. et al. Association of variants in gastric inhibitory polypeptide receptor gene with impaired glucose homeostasis in obese children and adolescents from Berlin. **Eur J Endocrinol**, v. 163, n. 2, p. 259-64, Aug 2010.

SAXENA, R., M. F. HIVERT, C. LANGENBERG, T. TANAKA, J. S. PANKOW, P. VOLLENWIDER, et al. Genetic variation in GIPR influences the glucose and insulin responses to an oral glucose challenge. *Nat Genet*, v.42, n.2, Feb, p.142-8. 2010.

SGAMBAT, K.; CLAUSS, S.; MOUDGIL, A. Cardiovascular effects of metabolic syndrome after transplantation: convergence of obesity and transplant-related factors. **Clin Kidney J**, v. 11, n. 1, p. 136-146, Feb 2018.

SIJTSMA, A. et al. Waist-to-height ratio, waist circumference and BMI as indicators of percentage fat mass and cardiometabolic risk factors in children aged 3-7 years. **Clin Nutr**, v. 33, n. 2, p. 311-5, Apr 2014.

SILVA, E. C. et al. Hypertension prevalence and associated factors in men and women living in cities of the Legal Amazon. **Rev Bras Epidemiol**, v. 19, n. 1, p. 38-51, Mar 2016.

SOUZA, J. R. et al. Serum levels of interleukin-6 (Il-6), interleukin-18 (Il-18) and C-reactive protein (CRP) in patients with type-2 diabetes and acute coronary syndrome without ST-segment elevation. **Arq Bras Cardiol**, v. 90, n. 2, p. 86-90, Feb 2008.

SPOSITO, A. C. et al. [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. **Arq Bras Cardiol**, v. 88 Suppl 1, p. 2-19, Apr 2007.

STOWASSER, M.; GORDON, R. D. Primary Aldosteronism: Changing Definitions and New Concepts of Physiology and Pathophysiology Both Inside and Outside the Kidney. **Physiol Rev**, v. 96, n. 4, p. 1327-84, Oct 2016.

THOMAS, R. M. et al. Endocrine hypertension: An overview on the current etiopathogenesis and management options. **World J Hypertens**, v. 5, n. 2, p. 14-27, 2015.

TOREKOV, S. S. et al. A functional amino acid substitution in the glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor (GIPR) gene is associated with lower bone mineral density and increased fracture risk. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 4, p. E729-33, Apr 2014.

TOXQUI, L.; VAQUERO, M. P. Aldosterone changes after consumption of a sodium-bicarbonated mineral water in humans. A four-way randomized controlled trial. **J Physiol Biochem**, v. 72, n. 4, p. 635-641, Dec 2016.

TRUMPER, A. et al. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is a growth factor for beta (INS-1) cells by pleiotropic signaling. **Mol Endocrinol**, v. 15, n. 9, p. 1559-70, Sep 2001.

USDIN, T. B. et al. Gastric inhibitory polypeptide receptor, a member of the secretin-vasoactive intestinal peptide receptor family, is widely distributed in peripheral organs and the brain. **Endocrinology**, v. 133, n. 6, p. 2861-70, Dec 1993.

UTSUNOMIYA, K. Treatment strategy for type 2 diabetes from the perspective of systemic vascular protection and insulin resistance. **Vasc Health Risk Manag**, v. 8, p. 429-36, 2012.

VAN HALL, G. et al. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 7, p. 3005-10, Jul 2003.

VOGEL, C. I. et al. Gastric inhibitory polypeptide receptor: association analyses for obesity of several polymorphisms in large study groups. **BMC Med Genet**, v. 10, p. 19, Mar 2 2009.

VOLP, A. C.; BARBOSA, K. B.; BRESSAN, J. Triacylglycerols and body fat mass are possible independent predictors of C3 in apparently healthy young Brazilian adults. **Nutrition**, v. 28, n. 5, p. 544-50, May 2012.

WAND, G. S. et al. Association of amphetamine-induced striatal dopamine release and cortisol responses to psychological stress. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 11, p. 2310-20, Nov 2007.

WANG, B. et al. Blood pressure-lowering effects of GLP-1 receptor agonists exenatide and liraglutide: a meta-analysis of clinical trials. **Diabetes Obes Metab**, v. 15, n. 8, p. 737-49, Aug 2013.

WEYER, C. et al. Subcutaneous abdominal adipocyte size, a predictor of type 2 diabetes, is linked to chromosome 1q21--q23 and is associated with a common polymorphism in LMNA in Pima Indians. **Mol Genet Metab**, v. 72, n. 3, p. 231-8, Mar 2001.

WHITE, W. B.; BAKER, W. L. Cardiovascular Effects of Incretin-Based Therapies. **Annu Rev Med**, v. 67, p. 245-60, 2016.

WILLIAMS, G. H. Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action. **Heart Fail Rev**, v. 10, n. 1, p. 7-13, Jan 2005.

WINDHOLZ, J. et al. Effects of genetic variants in ADCY5, GIPR, GCKR and VPS13C on early impairment of glucose and insulin metabolism in children. **PLoS One**, v. 6, n. 7, p. e22101, 2011.

YALOW, R. S.; BERSON, S. A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. **J Clin Invest**, v. 39, p. 1157-75, Jul 1960a.

YALOW, R. S.; BERSON, S. A. Plasma insulin concentrations in nondiabetic and early diabetic subjects. Determinations by a new sensitive immuno-assay technic. **Diabetes**, v. 9, p. 254-60, Jul-Aug 1960b.

YANG, R. Z. et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 290, n. 6, p. E1253-61, Jun 2006.

ZHANG, S.; DAY, I.; YE, S. Nicotine induced changes in gene expression by human coronary artery endothelial cells. **Atherosclerosis**, v. 154, n. 2, p. 277-83, Feb 1 2001.

ZHU, T. et al. A comparison of smoking behaviors among medical and other college students in China. **Health Promot Int**, v. 19, n. 2, p. 189-96, Jun 2004.

_____. IBGE. **Pesquisa nacional por amostra de domicílios**, 2016 – Relatório comentarios. IBGE, 2016.

_____. IPAC. **Classificação do nível de atividade física**. International Physical Activity Questionnaire. IPAC, 2007.

_____. OMS. Organização Mundial d a Saúde, 2015 – Relatórios. OMS, 2015.

_____. OMS. Organização Mundial d a Saúde, 2016 – Relatórios. OMS, 2017.

_____. VIGITEL. **Estimativas sobre frequência e distribuiçõesociodemográficas de fatores de risco e proteção para doenças crônicas**, 2015 – Vigilância de fatores de risco e proteção de doenças crônicas por telefone. VIGITEL, 2015.

_____. SISVAN. Orientações básicas para a coleta, o processamento, a análise de dados e a informação em serviços de saúde, 2004 – Vigilância Alimentar e Nutricional. SISVAN, 2004.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Titulo da pesquisa:

“Estudo epidemiológico do polimorfismo rs1800437 do gene *GIPR* na população de Londrina.”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa “Estudo epidemiológico do polimorfismo rs1800437 do gene *GIPR* na população de Londrina”, os indivíduos que participarão do projeto serão abordados durante o atendimento no laboratório de coletas de sangue do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Londrina. O estudo de prevalência do polimorfismo rs1800437 será realizado por meio de coleta por amostra de sangue. O objetivo da pesquisa é conhecer a prevalência do polimorfismo rs1800437 do gene *GIPR* na população de Londrina. A sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: respondendo um questionário com informações pessoais/ familiares e coleta de sangue, realizada durante os exames pré solicitados pelo médico. Não necessita estar em jejum. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. O material coletado será utilizado para dosagens hormonais e estudo genético específico.

Os benefícios esperados são: conhecer a prevalência do polimorfismo do *GIPR* na população londrinense e auxiliar em futuras pesquisas. Informamos que o senhor não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar (profa. Tânia Longo Mazzuco, Depto. de Clínica Médica, CCS – UEL, Londrina/PR, 3371-2234), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock, nº 60, ou no telefone 3371 – 2490. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Londrina, ___ de _____ de 2015.

Pesquisador Responsável

Tânia Longo Mazzuco RG:2.363.370/0

_____ (nome por extenso do sujeito de pesquisa),
tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em
participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

Obs: Caso o participante da pesquisa seja menor de idade, deve ser incluído o campo para assinatura do menor e do responsável.

APÊNDICE B**PROJETO POLIMORFISMO *GIPR* Glu354Gln**

Código de Pesquisa: _____ Prontuário: _____ Data: ____/____/____.

NOME: _____

DN: ____/____/____ Natural de: _____ Etinia: _____

Bairro: _____ Região: _____

Idade: _____ Sexo: _____ Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

Telefone: _____

e-mail: _____

Antecedentes Pessoais:

Diagnóstico: _____

Tempo de tratamento: _____

Medicamentos: _____

Antecedentes Familiares:

Diabetes Melitus: () Tipo 1 () Tipo 2

() não () Sim: _____

Hipertensão Arterial:

() não () Sim: _____

Obesidade:

não Sim: _____

Tabagismo:

Nunca fumou Fumante passivo ex-fumante fumante

fumou mais que 100 cigarros em sua vida Quantos anos fuma: _____

Atividade Física: sim não

Quantas vezes por semana: _____ Quanto tempo por semana: _____

Pratica a quantos anos: _____

Outras Informações:

APÊNDICE C

Pontos de corte estabelecidos para Adultos

IMC	DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL
< 18,5	Baixo Peso
≥ 18,5 e < 25	Adequado ou Eutrófico
≥ 25 e < 30	Sobrepeso
≥ 30	Obesidade

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION . Obesity: Preventing and managing the global epidemic – Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, 1998.

Pontos de corte estabelecidos para adolescentes.

PERCENTIL DO IMC	DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL
< Percentil 5	Baixo Peso
≥ Percentil 5 e < Percentil 85	Adequado ou Eutrófico
≥ Percentil 85	Sobrepeso

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Physical Status: the use and interpretation of anthropometry. WHO Technical Report Series n. 854. Geneva: WHO, 1995.

Idade	Percentil de IMC por Idade Adolescente Sexo Feminino					Idade	Percentil de IMC por Idade Adolescente Sexo Masculino				
	5	15	50	85	95		5	15	50	85	95
10	14,23	15,09	17,00	20,19	23,20	10	14,42	15,15	16,72	19,60	22,60
11	14,60	15,53	17,67	21,18	24,59	11	14,83	15,59	17,28	20,35	23,70
12	14,98	15,98	18,35	22,17	25,95	12	15,24	16,06	17,87	21,12	24,89
13	15,36	16,43	18,95	23,08	27,07	13	15,73	16,62	18,53	21,93	25,93
14	15,67	16,79	19,32	23,88	27,97	14	16,18	17,20	19,22	22,77	26,93
15	16,01	17,16	19,69	24,29	28,51	15	16,59	17,76	19,92	23,63	27,76
16	16,37	17,54	20,09	24,74	29,10	16	17,01	18,32	20,63	24,45	28,53
17	16,59	17,81	20,36	25,23	29,72	17	17,31	18,68	21,12	25,28	29,32
18	16,71	17,99	20,57	25,56	30,22	18	17,54	18,89	21,45	25,95	30,02
19	16,87	18,20	20,80	25,85	30,72	19	17,80	19,20	21,86	26,36	30,66

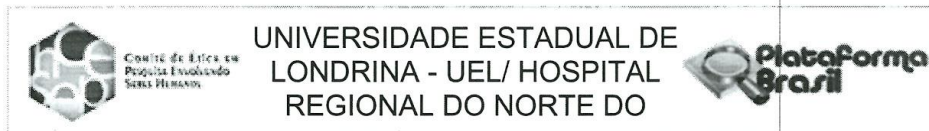
Pontos de corte estabelecidos para Idosos.

IMC	DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL
≤ 22	Baixo Peso
> 22 e < 27	Adequado ou Eutrófico
≥ 27	Sobrepeso

Fonte: LIFSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. Primary Care, 21 (1): 55-67, 1994.

ANEXOS

ANEXO A



Continuação do Parecer: 1.154.457

Benefícios a ciência

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Metodologia de Análise de Dados:

Tabulação com o programa SPSS Statistics versão 22.0. Os resultados para as variáveis contínuas serão fornecidos como média \pm desvio padrão. Para avaliar as diferenças entre os grupos será utilizado o teste de Mann Whitney ou teste t para as variáveis contínuas e o teste de Fisher para as variáveis qualitativas. Anova com pós-teste de Bonferroni será utilizada para análise de variâncias das variáveis contínuas. Todas as comparações estatísticas serão consideradas significantes se $p < 0,05$. As análises estatísticas serão realizadas utilizando-se GraphPad Prism 5.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE esclarece a razão de ausência de riscos; folha de rosto adequados; declaração de concordância do HU com a realização da pesquisa com interesse de acesso aos resultados. Cronograma e orçamento apresentados.

Recomendações:

Aprovação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

LONDRINA, 20 de Julho de 2015

[Handwritten signature]
 Assinado por:
 Paula Mariza Zedu Alliprandini
 (Coordenador)
 Sandro Vieira
 Secretário do Comitê de Ética em
 Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
 Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Otávio Goes Andrade
 Vice-coordenador do Comitê de Ética em
 Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
 Universidade Estadual de Londrina

Endereço: PROPPG - LABESC - Sala 3
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br

ANEXO B – Short communication

da Silva Mattos *et al.* *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2015, **7**(Suppl 1):A200
<http://www.dmsjournal.com/content/7/S1/A200>



MEETING ABSTRACT

Open Access

GIPR rs1800437 polymorphism: prevalence and possible associations with metabolic syndrome-related diseases in a Brazilian urban population

Alexandro Marcio da Silva Mattos*, Natasha Guimarães Ludwig, Gustavo Kendy Camargo Koga, Sarah Conchon Costa, Marla Karine Amarante, Tânia Longo Mazzuco

From 20th Brazilian Diabetes Society Congress
 Porto Alegre, Brazil. 11-18 November 2015

Background

Glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor (GIPR) is mainly found in the pancreatic beta cells but has systemic distribution and function. Some genetic GIPR variants were recently associated with obesity, diabetes and insulin resistance. Few studies had studied the genetic epidemiology of the GIPR, mainly in Europe.

Objective

To determine the prevalence of a specific GIPR single nucleotide polymorphism (SNP) in a Brazilian city population and its association with anthropometric,

socio-demographic and clinical characteristics including metabolic syndrome-related diseases.

Materials and methods

This was an observational, descriptive and cross-sectional study. A total of 222 subjects (129 women, 93 men) were recruited from the University Hospital located in a Brazilian metropolitan area (approximately 1.067,214 inhabitants). Random stratification was performed considering gender and geographic regions (downtown, north, south, east, west and other metropolitan areas). Data were collected by personal interview

	Observed (n/%)	Expected (n/%)	OR (95% CI)	p-value
Genotypes				
GG	162/73.0	160.1/72.1	Reference	-
GC	53/23.8	56.9/25.6	0.92 (0.60-1.42)	0.70
CC	7/3.2	5.0/2.28	1.38 (0.43-4.45)	0.59
Alleles				
G	377/84.9	377.1/84.9	Reference	-
C	67/15.1	66.9/15.1	1.00 (0.69-1.44)	1.00

Figure 1 Hardy-Weinberg equilibrium for the GIPR SNP rs1800437 ($\chi^2=1.04$, $p=0.30$)

* Correspondence: alemattos@hotmail.com
 Universidade Estadual De Londrina – UEL, Londrina, Brazil



including anthropometric and socio-demographic data and diagnosis for diabetes, hypertension and obesity (personal/family history). Genomic DNA was isolated from peripheral blood and GIPR SNP genotyping (rs1800437) was performed by PCR-RFLP. Data were analyzed using chi-square and odds ratio (OR), with significance level set at 5%. Two-way ANOVA was used to analyze differences between genotypes distributions and geographic regions. Mann-Whitney test was used for nonparametric variables.

Results

The analyzed population was in Hardy-Weinberg equilibrium and the commonest genotype GG was detected in 162 subjects. The C mutant allele was found in 27% of the population studied, with higher prevalence in men ($p=0.006$; OR=0.44), in caucasians ($p=0.0001$; OR=0.28) and in hypertensive subjects ($p=0.004$; OR=0.40). In the north region, low prevalence of the C allele was observed ($p<0.05$). No significant associations were found between the SNP and body mass index, obesity, diabetes and family history for metabolic syndrome-related diseases.

Conclusion

This study points to a potential role for rs1800437 in hypertension. Associations with gender and ethnicity were also found in this Brazilian population. Taking into consideration the rarity of the CC genotype, further studies in larger sample sets will be necessary to confirm these results.

Published: 11 November 2015

doi:10.1186/1758-5996-7-S1-A200

Cite this article as: da Silva Mattos et al.: GIPR rs1800437 polymorphism: prevalence and possible associations with metabolic syndrome-related diseases in a Brazilian urban population. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2015 **7**(Suppl 1):A200.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

