



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TIMOTHY GUSTAVO CAVAZZOTTO

RESISTÊNCIA À INSULINA:
IMPACTO DO PESO DE NASCIMENTO, COMPOSIÇÃO
CORPORAL, ATIVIDADE FÍSICA E APTIDÃO
CARDIORRESPIRATÓRIA EM GÊMEOS MONOZIGÓTICOS

Londrina
2015

TIMOTHY GUSTAVO CAVAZZOTTO

RESISTÊNCIA À INSULINA:
IMPACTO DO PESO DE NASCIMENTO, COMPOSIÇÃO
CORPORAL, ATIVIDADE FÍSICA E APTIDÃO
CARDIORRESPIRATÓRIA EM GÊMEOS MONOZIGÓTICOS

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Educação
Física Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial à obtenção do título
de Mestre em Educação Física

Orientador: Prof. Dr. Helio Serassuelo Junior

Londrina
2015

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C377r Resistência à insulina : impacto do peso de nascimento, composição corporal, atividade física e aptidão cardiorrespiratória em gêmeos monozigóticos / Timothy Gustavo Cavazzotto. – Londrina, 2015.
61 f. : il.

Orientador: Helio Serassuelo Junior.

Dissertação (Mestrado em Educação Física) □ Universidade Estadual de Londrina, Centro de Educação Física e Esporte, Programa de Pós-Graduação em Educação Física, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Recém-nascidos – Peso baixo – Teses. 2. Metabolismo – Teses. 3. Glicemia – Teses. 4. Resistência à insulina – Teses. 5. Gêmeos – Teses. 6. Educação física – Teses. I. Serassuelo Junior, Helio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Educação Física e Esporte. Programa de Pós-Graduação em Educação Física. III. Universidade Estadual de Maringá. IV. Título.

CDU 796:61

TIMOTHY GUSTAVO CAVAZZOTTO

RESISTÊNCIA À INSULINA:
IMPACTO DO PESO DE NASCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL,
ATIVIDADE FÍSICA E APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA EM
GÊMEOS MONOZIGÓTICOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Educação Física Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Educação Física

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Helio Serassuelo Junior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Enio Ricardo Vaz Ronque
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcos Roberto Queiroga
Universidade Estadual do Centro Oeste

Londrina, 3 de abril de 2015.

CAVAZZOTTO, Timothy Gustavo. **Resistência à insulina**: impacto do peso de nascimento, composição corporal, atividade física e aptidão cardiorrespiratória em gêmeos monozigóticos. 2015. 61 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física UEM-UEL) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

Os efeitos do baixo peso de nascimento no aparecimento de doenças metabólicas têm sido amplamente discutidos. Em função da restrição do crescimento fetal causado pela má nutrição, as investigações apontam para a possibilidade de alterações no comportamento metabólico na vida adulta. Contudo, este efeito parece ter intermediadores ambientais e comportamentais, e, com isso isolar cada componente do desencadeamento das doenças metabólicas, bem como o fator de hereditariedade poderá auxiliar no entendimento da origem desenvolvimento das doenças. O objetivo deste estudo será investigar as diferenças intra-par, decorrentes da diferença no peso de nascimento, impacto da discordância para atividade física, aptidão cardiorrespiratória, resistência à insulina, na composição corporal e metabólica de gêmeos monozigóticos adolescentes. A amostra será composta de 54 pares de gêmeos. Foram utilizadas as medidas de composição corporal, aptidão cardiorrespiratória e atividade física habitual, medidos diretamente. O plasma foi utilizado para determinação da glicose e insulina em jejum, bem como, o perfil lipídico, e verificação da concordância dos marcadores genéticos polimórficos para determinação da zigosidade. Os gêmeos foram separados em dois grupos iniciais, mozigóticos e dizigóticos. Apenas os Monozigóticos foram utilizados nas análises. No segundo momento os gêmeos foram separados de acordo com a discordância para resistência à insulina. Dois grupos foram formatados, um dos concordantes e outro dos discordantes. A comparação intra-par indica os efeitos ambientais, reduzindo a contribuição hereditária. De acordo com a diferença no peso de nascimento, novos grupos foram formados, um grupo contendo os gêmeos que apresentam diferença intra-par menor que 10% do peso de nascimento, o outro grupo será formado pelos gêmeos com diferença maior que 10%. Os resultados iniciais demonstraram que os gêmeos com índice HOMA-RI superior a 2,5, apresentavam maiores valores de Peso de Nascimento, Massa corporal, IMC, Circunferência de cintura, percentual de gordura, adiposidade corporal (soma dobras cutâneas) e índice HOMA-Beta, além de menor valor de HDL comparados aos seus pares correspondentes. Os resultados seguintes apresentaram associação entre PN e componentes morfológicos, aptidão cardiorrespiratória, atividade física e metabolismo apenas para o grupo de irmãos com diferenças. Esta associação indica que o gêmeos com maiores valores de peso de nascimento esta mais suscetível à doenças relacionadas ao metabolismo da glicose, quando os efeitos protetores da aptidão cardiorrespiratória e da composição corporal não estão evidentes, e os efeitos hereditários controlados.

Palavras-chave: Peso de Nascimento. Metabolismo. Glicemia. Resistência à insulina. Gêmeos.

CAVAZZOTTO, Timothy Gustavo. **Insulin resistance**: impact of birth weight, body composition, physical activity and cardiorespiratory fitness in monozygotic. 2015. 61 pp. Dissertação (Mestrado em Educação Física UEM-UEL) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

The effects of low birth weight in the onset of metabolic diseases have been widely discussed. Depending on fetal growth restriction caused by malnutrition, the investigation pointed to the possibility of changes in the metabolic behavior in adulthood. However, this effect seems to have environmental and behavioral intermediaries, and thereby isolate each component of the trigger of metabolic diseases, and the heredity factor can help understand the origin of disease development. The objective of this study is to investigate the intra-pair differences arising from the difference in birth weight, impact of physical activity for disagreement, cardiorespiratory fitness, insulin resistance, body composition and metabolic monozygotic twins adolescents. The sample will consist of 54 pairs of twins. The measures of body composition were used, cardiorespiratory fitness and physical activity, measured directly. The plasma was used for determination of fasting insulin and glucose and the lipid profile, and checking the concordance of polymorphic genetic markers to determine the zygosity. The twins were separated into two initials, mozigóticos and dizygotic groups. Only Monozygotic were used in this analyzes. In the second time the twins were separated according to the disagreement to insulin resistance. Two groups were formatted, one of concordant and other discordant. The intra-pair comparison indicates the environmental effects, reducing the hereditary contribution. According to the difference in birth weight, new groups were formed, a group containing the twins who have intra-pair difference lower than 10% of birth weight, the other group will be formed by the twins with a difference greater than 10%. Initial results showed that the twins with HOMA-IR greater than 2.5, had higher birth weight values, body weight, BMI, waist circumference, body fat percentage, body fat (sum skinfolds) and HOMA-B, and lower HDL compared to their corresponding pairs. The following results showed association between BW and morphological components, cardiorespiratory fitness, physical activity and metabolism only for the group of siblings with differences. This association indicates that the twins with higher birth weight values this more susceptible to diseases related to glucose metabolism, when the protective effects of cardiorespiratory fitness and body composition are not obvious, and controlled hereditary effects.

Key-words: Birthweight, Metabolism; Glycemia; Insulin resistance; twins.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –Baixo peso e doenças metabólicas	11
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	10
2.1	ARTIGO 1.....	10
2.2	ARTIGO 2.....	10
3	REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1	RESISTÊNCIA À INSULINA E PESO DE NASCIMENTO	11
3.2	PAPEL DA ATIVIDADE FÍSICA, APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA E GORDURA CORPORAL NAS DOENÇAS METABÓLICAS	15
3.3	MODELO DE ESTUDO CASO CONTROLE COM GÊMEOS.....	18
4	MATERIAS E MÉTODOS	20
4.1	AMOSTRA	20
4.2	AVALIAÇÃO DA ZIGOSIDADE	20
4.3	TESTES E MEDIDAS	21
4.4	GORDURA CORPORAL.....	21
4.5	APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA E ATIVIDADE FÍSICA DIÁRIA.....	21
4.6	ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL	22
4.7	AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	22
	ARTIGO 1 - GORDURA CORPORAL E METABOLISMO LIPÍDICO DE GÊMEOS MZ DISCORDANTES PARA RESISTÊNCIA À INSULINA: ESTUDO CASO-CONTROLE.....	24
	ARTIGO 2 - RESISTÊNCIA À INSULINA: IMPACTO DO PESO DE NASCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL, ATIVIDADE FÍSICA E APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA EM GÊMEOS MONOZIGÓTICOS	38
	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICES	58
	ANEXOS	60

1 INTRODUÇÃO

As recentes investigações sobre saúde apresentaram uma lamentável progressão no aparecimento de doenças metabólicas em jovens nas últimas décadas (FERRANTI; OSGANIAN, 2007; GIANNINI et al., 2014; DIAS PITANGUEIRA et al., 2014; FALKNER; COSSROW, 2014). Coincidentemente, nesta população houve um aumento nos comportamentos não saudáveis, como redução da atividade física diária, redução das horas em exercício físico, além de, um excesso de horas atividades em comportamentos sedentários (LAWLOR et al., 2010; PULGARON; DELAMATER, 2014). Estes fatos progredindo simultaneamente nos indicam uma clara associação, enquanto os comportamentos não saudáveis aumentam, cresce a prevalência e incidência de doenças, especialmente obesidade e diabetes tipo 2 em crianças e adolescentes.

Fundamentados nestas associações, os cientistas delinearam investigações para encontrar as causas destes fenômenos, e parece haver uma probabilidade maior para a alimentação, atividade e exercícios físicos, debilitados nos jovens, em comparação as causas hereditárias. Este complexo problema comportamental tem sido atribuído aos inúmeros avanços tecnológicos que tornam o ser humano cada vez mais dependente de horários em comportamentos sedentários.

Obviamente, existe sim uma parcela da culpa de responsabilidade dos comportamentos não saudáveis dos jovens. Contudo, o entendimento isolado de cada comprometimento ocasionado por estes desajustes comportamentais é de difícil explicação, apesar das evidentes associações. Além disso, os avanços na biologia molecular permitiram, especialmente nos últimos anos, compreender alguns mecanismos de interação entre doença, ambiente e genética (WATERLAND; MICHELS, 2007). Com isso, os desafios das investigações atuais apresentam uma margem de explicação maior e cada vez mais específica (NG et al., 2012).

A resistência à insulina é um dos alvos das investigações atuais, visto que, apresenta associação com o estado de obesidade e compromete o sistema metabólico da glicose a tal ponto que é considerada precursora da DM2 e Síndrome metabólica (RUIZ et al., 2007; RIZZO et al., 2008; KARPE et al., 2011; RYDER et al., 2013; PULGARON; DELAMATER, 2014).

Alguns estudos têm mostrado excesso de marcadores inflamatórios expressos em jovens obesos, o que dificulta a interação entre a insulina e os receptores insulínicos no tecido muscular. Como consequência, há uma sobrecarga na liberação deste hormônio na corrente sanguínea. Esta é uma das explicações mais convincentes dos mecanismos envolvidos na causa da doença em função do aumento da gordura corporal até o momento (RUIZ et al., 2007; MEAS, 2010; RYDER et al., 2013).

Apesar disto a captação de glicose parece permanecer normalizada por alguns anos. Contudo, há uma redução da captação de glicose pelas vias insulínicas com o decorrer do tempo neste estado e, com isso o desenvolvimento da DM2 é considerado o próximo passo (MEAS, 2010). A resistência à insulina raramente apresenta sintomas, além disso, alguns estudos indicaram que este estado hiperinsulínico pode ocorrer por longos anos (REUSCH, 2002; GOLDSTEIN, 2002). Estas informações sugerem que o surgimento da resistência à insulina, ocorre muito antes do aparecimento da DM2 e síndrome metabólica. Visto que atualmente as prevalências de DM2 têm avançado em idades mais jovens, é aceitável indicar que estas doenças, especialmente a resistência à insulina, iniciam-se na infância e adolescência e podem ser reflexos, inclusive, da fase gestacional (HALLES; BARKER, 2001; BARKER, 2005).

A considerar que a causa ocorre anterior à doença, o surgimento da resistência à insulina presente cada vez em idades mais precoces, fica evidente que as causas são certamente mais impactantes quando ocorrem ainda na juventude. Esta afirmação é a combinação de anos de investigações a respeito da hipótese do surgimento fetal das doenças com o agravamento da má nutrição na primeira infância (BARKER, 2005; BELTRAND; LÉVY-MARCHAL, 2008; MEAS, 2010; CLARIS et al., 2010; HERNÁNDEZ; MERICQ, 2011). Os resultados do crescimento deficiente observados nestas fases são mais encontrados em sujeitos que na vida adulta apresentam diabetes tipo 2. Esta associação permanece em adultos que apresentaram obesidade apenas quando adultos, porém, em sujeitos que apresentaram obesidade na juventude, o risco de desenvolvimento é ainda maior (HALLES; BARKER, 2001; BARKER, 2005).

A evolução nas hipóteses testadas, infelizmente, não responde todas as questões. As dúvidas passaram a ser mais recorrentes à medida que os avanços tecnológicos permitiram o acesso a informações cada vez mais específicas.

Algumas investigações têm observado que o estado de resistência à insulina por consequência dos agentes inflamatórios ou da falha nos receptores teciduais esta relacionado a efeitos genéticos de herança materna, ou, consequências do ambiente gestacional (BELTRAND; LÉVY-MARCHAL, 2008).

Epigenética é o estudo do conjunto de modificações na estrutura matricial da cadeia de nucleotídeos que modulam a leitura, interpretação das fitas de DNA, sem alteração na sequência do DNA e, por consequência, implicam na produção de uma proteína modificada. Estas modificações podem decorrer de uma má nutrição materna, acúmulo de gordura, consumo de álcool e cigarro, ou seja, resultados agudos a exposição de fatores ambientais (FOLEY et al., 2009).

A possibilidade de herança epigenética norteou os investigadores a explorar a comparação entre sujeitos com e sem histórico da DM2. Nesta comparação os sujeitos com histórico de DM2 apresentaram menor captação de glicose pelas vias insulínicas, contudo, este resultado foi explicado pela baixa aptidão cardiorrespiratória nos sujeitos com histórico da doença (WEI; GIBBONS, 1999). Se a DM2 tem causas principalmente voltadas ao impacto ambiental e os seus descendentes apresentam distúrbios metabólicos, sem, contudo, apresentar a doença, parece existir uma confusão nas explicações sobre a origem dessas doenças. Sendo assim, para que o entendimento das causas da resistência à insulina e DM-2 seja fortalecido, é necessária a separação do efeito comportamental do efeito hereditário.

Para responder mais adequadamente as questões até então estabelecidas, o estudo de caso-controle com gêmeos monozigóticos é um excelente recurso metodológico (MAIA, 2011; BELL; SAFFERY, 2012). Com este tipo de pesquisa é possível investigar as diferenças entre os irmãos a partir de uma discordância específica e indicar que estes efeitos têm pouca ou nenhuma influência hereditária (BELL; SAFFERY, 2012). Assim, compreender o impacto da diferença no peso de nascimento dos gêmeos monozigóticos já na juventude, no metabolismo da glicose e insulina e composição corporal, bem como, as diferenças atribuídas à discordância dos irmãos para a resistência á insulina, sem interdependência à hereditariedade, nível de atividade física e aptidão cardiorrespiratória, torna-se importante para o entendimento da origem e desenvolvimento das doenças metabólicas na juventude.

2. OBJETIVOS

2.1 ARTIGO 1

Verificar o impacto da discordância para resistência à insulina na composição corporal e metabólica de gêmeos monozigóticos adolescentes.

2.2 ARTIGO 2

Investigar as associações entre as diferenças intra-par para a composição corporal, variáveis metabólicas, aptidão cardiorrespiratória, atividade física habitual e índice de resistência á insulina em gêmeos monozigóticos adolescentes, decorrentes da diferença no peso de nascimento.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 RESISTÊNCIA À INSULINA E PESO DE NASCIMENTO

Na década de 90 os avanços teóricos da origem das doenças seguiram as hipóteses traçadas pela teoria da programação fetal (BARKER et al., 1990; BARKER, 2005; LANGLEY-EVANS, 2006). Com uma base de informações epidemiológicas os autores criaram a suposição de que o ambiente e a má-nutrição materna no período gestacional poderiam modular o metabolismo do feto. Conhecida como hipótese do fenótipo econômico (do inglês *The thrifty phenotype hypothesis*) a sugestão é que, em contrapartida a uma nutrição materna inadequada refletindo em baixo peso de nascimento, o comportamento metabólico deste sujeito estará comprometido e o resultado provável é um maior risco de desenvolvimento de DM2.

Inicialmente, as investigações que seguiram esta hipótese conduziram pesquisas de caráter epidemiológico a fim de verificar se as associações observadas nos estudos iniciais seriam reproduzidas em outras populações e outras faixas de idade. Até 2001 a maioria das investigações não refutou a hipótese, as pesquisas encontraram associações entre o baixo peso de nascimento e a alteração de glicose e insulina em jejum, bem como o aparecimento de síndrome metabólica, em jovens e adultos (Quadro 1).

Quadro 1- Baixo peso e doenças metabólicas

Grupo	Idade
Crianças Indígenas	04
Etnia Pima (USA)	5-29
Crianças negras Sul-africanas	07
Escolares jamaicanos	6-10
Crianças de Salisbury (RU)	07
Crianças pré-puberes (nova Zelândia)	8,5
Crianças Britânicas	10-11
Crianças italianas	8-14
Homens de Southampton	18-25
Adultos franceses	21
Homens Australianos	21
Adultos Dinamarqueses	18-32
Mulheres Britânicas grávidas	27
Indígenas etnia Pima	20-38
Americanos mexicanos e brancos não hispânicos	32
Homens e mulheres indígenas	39-60
Homens Profissionais da saúde (USA)	40-75
Homens e Mulheres de Oxford	43
Adultos chineses	45
Homens e mulheres de Preston	46-55
Homens Suecos	40-76
Homens e mulheres holandeses	50
Mulheres pós-menopausa	50-84
Adultos de Sheffield (RU)	52
Gêmeos dinamarqueses	55-74
Homens de Hertfordshire (RU)	55-74
Estudos da saúde de enfermeiras (EUA)	59
Homens Britânicos	65

Fonte: Adaptação de Hales e Barker (2001, p. 9)

As associações encontradas em diversos estudos permitiram discutir as possibilidades da ocorrência deste fenômeno e a criação de novas hipóteses. As explicações iniciais mais evidentes para o aparecimento de DM2 discutiam a possibilidade de que a restrição no crescimento fetal reduziria o número de células endócrino-pacreáticas, o que inicialmente não afetaria o sujeito. Contudo, quando a demanda metabólica fosse aumentada exponencialmente, este número reduzido de células não seria capaz de produzir adequadamente uma resposta insulínica (HALLES; BARKER, 2001; BARKER, 2005; CLARIS et al., 2010; HERNÁNDEZ; MERICQ, 2011).

Esta hipótese teve origem após as observações de que os sujeitos que apresentaram DM2 na vida adulta apresentaram baixo peso de nascimento e crescimento pobre na infância, porém, seguido por um ganho acelerado de crescimento (HALLES; BARKER, 2001; BARKER, 2005). Nestes casos, foi observado complementarmente que efeitos do baixo peso de nascimento seguido de um ganho acelerado de peso nas fases iniciais da vida são mais impactantes que o aparecimento de obesidade na vida adulta, para surgimento da DM2. Adicionalmente, quando os casos são mútuos, o risco de desenvolvimento da doença é ainda maior. Este fato foi comprovado pelo estudo que observou que os sujeitos que desenvolveram DM2 na fase adulta apresentaram crescimento deficiente na fase gestacional e infantil, entretanto, após os sete anos apresentaram um acelerado ganho de peso e aos 15 anos estavam acima da média da coorte para massa corporal e IMC (HALLES et al., 1991; OSMOND; BARKER, 2000).

Estes fatos indicam as possibilidades de explicações do aparecimento da DM2, sem, contudo estar relacionados a uma deficiência na relação entre insulina e tecido periférico. O surgimento da resistência à insulina no período gestacional é explicado principalmente devido à composição corporal. Sabe-se que o período fundamental para o crescimento muscular ocorre no útero, após o nascimento há pouca replicação celular. O sujeito que nasce com baixo peso, apresenta uma massa muscular menor que o sujeito com peso normal e este fato se segue durante a vida. Um ganho de peso elevado ou compensatório durante a infância estaria mais associado ao acúmulo de tecido adiposo. A consequência deste desequilíbrio na composição corporal reflete em maior risco de desenvolvimento da Resistência à Insulina (RI) (BARKER, 2005; MEAS, 2010).

Apesar das evidências, as associações encontradas são provenientes de estudos transversais, caso-controle, ou coortes. A importância destas metodologias está bem descrita na literatura, assim como a relevância de combinar os estudos e traçar uma evidência com maior força para tomada de decisões. Neste sentido, as revisões sistemáticas, seguidas ou não pela meta-análise são proposições de excelente qualidade metodológica para contribuir na definição de uma evidência científica (GRIMES; SCHULZ, 2002; GARG et al., 2008). Nos estudos sobre o peso de nascimento ficou clara esta preocupação. Quando numerosos estudos observaram associações entre baixo peso de nascimento e aparecimento de doenças na vida adulta, as contestações aumentaram.

Assim algumas revisões sistemáticas foram realizadas com a proposta de testar a hipótese do surgimento fetal das doenças reunindo a diversidade de estudos. Os resultados principais confirmaram a hipótese. Na revisão sistemática publicada em 2008 no JAMA (WHINCUP et al., 2008) foi observado que a cada 1 kg aumentado no peso de nascimento, reduzem em 20% as chances de aparecer DM2 na vida jovem e adulta. Além disso, mesmo após os ajustes para nível socioeconômico, IMC, idade e sexo, e exclusão dos participantes macrossômicos, os resultados permaneceram significativos. Este resultado indica claramente a associação inversa entre o peso de nascimento e aparecimento de DM2 na vida adulta, porém, neste caso com maior força de evidência (WHINCUP et al., 2008). Outras revisões sistemáticas encontraram resultados semelhantes para síndrome metabólica (SILVEIRA; HORTA, 2008), obesidade e doenças cardiovasculares (HUXLEY et al., 2004; YU et al., 2011; SCHELLONG et al., 2012).

As associações tornaram as hipóteses cada vez mais populares. Porém, mesmo sendo discutida e confirmada inúmeras vezes, muita controvérsia nos resultados foram observados ao longo dos anos que sucederam a origem da teoria. Parte destas dissonâncias é explicada pelas amostras utilizadas e diferentes etnias, outra parte pode ser explicada pela ausência de procedimentos metodológicos mais estruturados. Boa parte dos estudos encontrou associações em sujeitos adultos. As explicações do desencadeamento da doença na vida adulta, resultado de efeitos na fase gestacional e início da vida, parecem muito abstratas e especulativas, uma vez que, a distância entre a origem e o aparecimento da doença é medida em anos. Com isso, para comprovar tal fenômeno é necessário entender os mecanismos que poderiam explicar ou interferir no surgimento da doença e

controlar essas possibilidades. A hipótese demonstra claramente os caminhos para desencadear as doenças na vida adulta reflexo da fase gestacional (figura 3?), conhecida como programação fetal das doenças.

Entre os fatores que causariam o baixo peso de nascimento são destaques a hiperglicemia e a má nutrição materna durante a gestação. Estes fatores estão associados a comportamentos modificáveis. O caminho para o desenvolvimento de resistência à insulina a partir da má formação fetal, segundo a teoria, tem forte relação com a composição corporal. O sentido de programação indica que o sujeito que apresentar tais fatores certamente desenvolverá as doenças “programadas”. Ao analisar essas premissas pode-se observar a distância entre a causa e a consequência, bem como os fatores intervenientes ou mediadores do processo.

3.2 PAPEL DA ATIVIDADE FÍSICA, APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA E GORDURA CORPORAL NAS DOENÇAS METABÓLICAS

Estudos recentes indicam que adolescentes têm gasto grande parte de seu tempo de lazer em atividades sedentárias (SISSON et al., 2009; VASQUES et al., 2012). Contudo o envolvimento de crianças e adolescentes em atividades físicas de característica moderada ou vigorosa, durante seu tempo de lazer poderia contribuir na redução do comportamento sedentário, além de colaborar na melhora da aptidão cardiorrespiratória, e adoção de hábitos mais saudáveis (BELL et al., 2007). Em crianças e adolescentes, o impacto de uma boa aptidão cardiorrespiratória também tem sido relatado no que diz respeito à prevenção ao desenvolvimento de alguns fatores de riscos para doenças cardiovasculares e síndrome metabólica, tais como obesidade, pressão arterial elevada, dislipidemias, resistência periférica à insulina, entre outros (EISENMANN et al., 2007; ANDERSSON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2007).

O desencadeamento de doenças metabólicas a partir de uma restrição no crescimento do feto na fase gestacional tem, teoricamente, por mediador a composição corporal. Seja gordura corporal ou massa muscular, as influências da atividade física e aptidão cardiorrespiratória na composição corporal já estão estabelecidas, inclusive para crianças e adolescentes. Sendo assim, é

permitido indicar que os comportamentos de atividade física e os indicadores de aptidão cardiorrespiratória e muscular podem modular o processo de desencadeamento de uma doença programada durante a gestação.

Para o entendimento dos mediadores ou moderadores da relação entre resistência à insulina e baixo peso de nascimento, duas perguntas foram estabelecidas: **1)** Atividade física e aptidão cardiorrespiratória podem proteger os riscos causados pelo baixo peso de nascimento? **2)** Qual é o papel do tecido adiposo no desencadeamento da RI, dado que o sujeito tenha nascido com baixo PN?

Estas questões nortearam dois estudos interessantes. Para responder a primeira questão uma revisão foi elaborada e os resultados indicam que existem dois caminhos para que o exercício físico e a atividade física contribuam na redução dos riscos relacionados ao baixo peso de nascimento (SIEBEL et al., 2012). A primeira evidência é: durante a gestação a mãe que praticar exercícios de intensidade moderada reduz o risco de baixo ou alto peso de nascimento dos filhos. Contudo, quando o exercício é de alta intensidade o risco de baixo peso de nascimento aumenta. Este resultado possui fundamentação em estudos epidemiológicos que compararam as mulheres ativas contra as sedentárias e encontraram um efeito protetor para as praticantes de modalidades de baixo impacto como dança, caminhada, ioga, natação, ciclismo, passeios a cavalo e atividades de alto impacto, como corrida, jogos com bola e esportes de raquete (JUHL et al., 2010). Contudo, estas atividades não protegem contra os efeitos da má nutrição na gestação. Em animais, parece haver uma atenuação dos efeitos da nutrição pobre em proteína, no resultado do peso de nascimento, em ratas que treinaram (AMORIM et al., 2009; MONTEIRO et al., 2010)

Estudo com animais observou que os exercícios de intensidade mais vigorosa parecem reduzir o fluxo sanguíneo placentário e com isso há uma redução na oferta de nutrientes e oxigênio. O resultado pode ser uma redução no ~~baixo~~ peso de nascimento (OLIVEIRA et al., 2004). Outro resultado importante em seres humanos demonstrou que as mães que realizaram exercício em bicicleta estacionária, da 20^a semana de gestação até o parto, apresentaram menor concentração de IGF1 e IGF2 no cordão umbilical, indicando uma possível regulação endócrina do crescimento fetal e resultando em baixo peso de nascimento (HOPKINS et al., 2010).

O segundo caminho traça a possibilidade do exercício físico e a atividade regular em jovens e adultos modularem os efeitos maléficos associados ao baixo peso de nascimento. Inicialmente os estudos verificaram que os sujeitos já em idade jovem com peso de nascimento baixo ou extremamente baixo apresentavam menor participação em atividades físicas comparados aos sujeitos que nasceram com peso normal. Contudo este resultado não foi observado em idades mais jovens (<15 anos). Porém, são pobres as evidências da associação entre o baixo peso de nascimento e participação em atividades físicas, independente da intensidade. Curiosamente pode-se observar uma redução na eficiência mecânica durante teste submáximo, coordenação neuromuscular, tempo de reação e capacidade anaeróbica (Wingate) nos grupos de crianças adolescentes com peso de nascimento baixo e extremamente baixo comparados ao grupo com peso de nascimento normal (SIEBEL et al., 2012).

As explicações destas disparidades são variadas. Alguns estudos encontraram massa muscular reduzida e percentual de gordura maior em sujeito com BPN. Além disso, a área de secção transversa nas fibras do tipo 1 e 2 em ratos adultos é menor no grupo com BPN comparado ao controle. Adicionalmente existe um desequilíbrio na proporção de fibras tipo 1: tipo 2, existe uma redução na quantidade de fibras do tipo 2 (glicolíticas) e este fato é observado em conjunto com redução na concentração de ATP-CP e razão ATP: ADP no tecido muscular. Outros resultados apontam para uma redução da expressão de GLUT-4; substrato de receptor insulínico (IRS-1) e AKT2. Contudo, mesmo com os efeitos prejudiciais do BPN, o exercício físico parece melhorar a sensibilidade à insulina e aumentar a massa celular (beta) pancreáticas nestes sujeitos (SIEBEL et al., 2012).

Em resposta a segunda questão estabelecida, a segunda revisão abordou o tema do papel do tecido adiposo na relação entre BPN e desenvolvimento de resistência à insulina (MEAS, 2010). Os resultados observados foram: sujeitos com restrição de crescimento na fase gestacional podem apresentar um crescimento acelerado (compensatório) na primeira infância, contudo desequilibrado, uma vez que, o crescimento é maior no tecido adiposo (NICHOLAS; BARKER, 2001; LANGLEY-EVANS, 2006; MEAS, 2010; CLARIS et al., 2010; YU et al., 2011). Em modelos animais, foi evidenciada a supressão da termogênese, que precedeu o aparecimento de excesso de gordura corporal, obesidade central, aumento da concentração de triglicerídeos intramuscular e aumento na concentração circulante

de lipídeos. Além disso, a redistribuição de glicose do músculo esquelético em direção ao tecido adiposo durante a fase de crescimento compensatório pode explicar o desenvolvimento de desordens metabólicas (MEAS, 2010).

As explicações do papel do tecido adiposo no desenvolvimento da RI ainda precisam ser elucidadas, contudo alguns resultados já apontam os caminhos a serem seguidos: Animais com restrição de crescimento na fase gestacional e posterior crescimento compensatório, apresentam aumento no tamanho do adipócito, *up-regulation* na expressão de genes que controlam o fluxo de glicose em direção à lipogênese, aumento da expressão de genes envolvidos na lipogênese e angiogênese, bem como processo inflamatório (MEAS, 2010).

As transformações ocorridas durante o período de restrição até o período de crescimento compensatório, principalmente no tecido adiposo parecem desencadear processos chave na regulação metabólica e sensibilidade à insulina. O caminho desde o BPN, seguido de crescimento compensatório, aumento da adiposidade, obesidade central são evidentes em sujeitos com RI (fonte).

Considerando o fato que o tecido adiposo é dinâmico e sofre alterações devido a comportamentos como dieta e atividade física, compreender isoladamente o desencadeamento de diferenças na composição corporal, resultados apenas do BPN e que influenciem o aparecimento RI é uma tarefa complexa. As consequências do BPN na estrutura corporal que precedem as disfunções metabólicas são também influenciadas pelos comportamentos dos sujeitos, e lembrando a distância entre o nascimento e a ocorrência das doenças, é possível sugerir que os fatores intervenientes ou mediadores do processo possuem papel essencial no desenvolvimento da RI e deste modo merecem atenção.

3.3 MODELO DE ESTUDO CASO CONTROLE COM GÊMEOS

Desde a organização de estudo científica controlados, os objetivos para os especialistas em diversas áreas acadêmicas, têm sido desvendar as possibilidades de responder as dúvidas estabelecidas com a maior precisão possível, independente do resultado. Nas áreas, biológica e médica, esta premissa é de extrema importância quando se trata de localizar as causas de doenças com o intuito de prevenção ou tratamento. Os estudos clínicos controlados têm por objetivo metodológico, reduzir os vieses do tratamento proposto. Isto significa que, as

condições que possivelmente interferem no tratamento ou na doença devem ser controladas, ao ponto de não influenciar nos resultados do tratamento. O motivo é obvio detectar o quanto o tratamento, de forma isolada, é eficaz.

Quando se pretende, em um estudo controlado, isolar o efeito da hereditariedade, ou seja, da genética, a utilização de gêmeos têm demonstrado ser uma estratégia de boa aceitação e precisão.

Entre os estudos utilizando a amostra de gêmeos duas vertentes destacam-se: A primeira tem por finalidade detectar a participação da genética e do ambiente para uma determinada doença. Neste caso parte da amostra utilizada é composta por gêmeos MZ e outra parte por gêmeos DZ. Isto porque, os gêmeos MZ compartilham 100% do genoma, enquanto os DZ compartilham 50%. (GREENFIELD et al., 2003). Conhecidos estes valores é possível calcular índices, utilizando a diferença nas discordâncias entre os MZ e os DZ, o principal deles é a herdabilidade.

Já o estudo com gêmeos MZ pode ser realizado com os pares criados juntos ou separados na infância. Dificilmente realizam-se pesquisas com gêmeos MZ criados separados por questões éticas, dessa forma o modelo que utiliza os pares MZ criados juntos é destaque nesta apresentação. Este modelo de estudo é conhecido como modelo caso-controle (PIETILAINEN et al., 2008). É uma ferramenta de investigação da relação entre fenótipos (SAMARAS et al., 1999; RONNEMAA et al., 1997a). Em uma amostra de pares de gêmeos MZ devem ser selecionados apenas aqueles discordantes (pontos de corte ou um determinado grau de diferenças absolutas e/ou relativa intra-par) para uma determinada característica que, em tese, pode contribuir no aparecimento de doenças, ou ainda, investigar os pares onde a doença acometeu apenas um dos irmãos. São exemplos de estudos: o efeito da atividade física na composição corporal (SAMARAS et al., 1998), no índice de amplificação na pressão arterial sistólica (GREENFIELD et al., 2003), na produção de glicose hepática e na secreção e ação da insulina (VAAG et al., 1995; OPPERT et al., 1995). O efeito da aptidão cardiorrespiratória no metabolismo da Glicose (QUEIROGA et al., 2010). O importante resultado da utilização desta metodologia é que as diferenças fenotípicas intra-par podem ser capazes de afetar o comportamento de outra variável, como marcadores de doenças metabólicas, independente de fatores genéticos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

Foi utilizado o banco de dados (2009) de gêmeos de mesmo sexo, com idade entre 11 e 18 anos, rastreada nos de ensino público e privado da cidade de Rio Claro-SP. Neste estudo contabilizou-se um total de 98 pares de gêmeos de mesmo sexo, contudo, 13 pares não foram localizados e 31 pares recusaram o convite. Ao final, 54 pares aceitaram participar da pesquisa. Para classificação quanto á zigosidade, monozigóticos e dizigóticos, os gêmeos foram submetidos à coleta do sangue periférico e posterior análises de DNA. Na amostra, 38 pares de gêmeos foram avaliados como MZ e 16 pares DZ. Considerando os objetivos deste estudo apenas os resultados dos 38 pares MZ serão utilizados.

4.2 AVALIAÇÃO DA ZIGOSIDADE

A atribuição de monozigosidade ou de dizigosidade aos gêmeos foi efetuada após a avaliação da concordância dos gêmeos em relação a marcadores genéticos polimórficos (DNA), como os genes de locos de microssatélites, também conhecidos pela sigla STR (*Short Tandem Repeat*) (HILL; JEFFREYS, 1985). Para a análise, aproximadamente 20 µL de sangue de cada participante foi pipetado diretamente para o QIAcard FTA Spots da QIAGEN com tecnologia Whatman® FTA onde posteriormente foi realizada a extração do DNA através do FTA reagente Whatman®. A análise do DNA dos gêmeos ocorreu utilizando a técnica de extração e amplificação do DNA por cadeia de reação da polimerase (PCR). Em todas as amostras de DNA, a análise de 16 STRs autossômicos (CSF1PO, D2S1338, D3S1358, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, D5S51, FGA, TH01, TPOX, vWA e o locus da Amelogenina), foi efetuada por amplificação em PCR, utilizando o kit comercial Identifiler (AB Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante. A genotipagem foi efetuada em aparelho ABI 310 Genetic Analyzer (AB Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante, por determinação do tamanho dos fragmentos de DNA e comparação com escalas alélicas fornecidos com os kits comerciais.

4.3 TESTES E MEDIDAS

As medidas antropométricas de massa corporal (MC) e estatura foram verificadas seguindo as recomendações de Gordon et al. (1991). Com as essas medidas foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC). A circunferência da cintura (CC) foi medida em duplicata no ponto médio entre as últimas costelas e a crista ilíaca com auxílio de uma fita métrica inextensível (Mabis® Japan).

20

As dobras cutâneas, tricipital e subescapular, foram mensuradas utilizando um compasso da marca Harpenden®. O percentual de gordura foi determinado empregando a equação proposta por SLAUGHTER et al. (1988). Estas equações são corrigidas pelo nível de maturação biológica (pré-púbere, púbere e pós-púbere) que foi estimada a partir da maturação sexual (TANNER, 1962). O peso de nascimento foi coletado das fichas de nascimento dos participantes. Quando não encontrado o documento foi solicitado o peso de nascimento relatado pela mãe, pai ou responsável.

4.5 APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA E ATIVIDADE FÍSICA DIÁRIA

O teste para determinar o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), foi realizado no NAFES/UNESP (Núcleo de Atividade Física, Esporte e Saúde). Anterior a data do teste, os sujeitos foram orientados à: não ingerir bebidas alcoólicas ou estimulantes, e, evitar esforço físico vigoroso. O teste foi realizado em esteira ergométrica modelo ATL Super® (Inbrasport), com inclinação de 1%, nos períodos matutino e vespertino entre as 9:00-11:30h e 14:00-18:00h, respectivamente, com temperatura ambiente controlada 20 a 25° C.

Após as orientações e explicações a respeito da realização e interrupção do teste um período de 5 a 10 minutos de familiarização em diferentes velocidades (4 a 7 km/h) foi fornecido aos sujeitos, na sequência um minuto em repouso na esteira em posição ortostática. O teste iniciou com velocidade de 4 km/h e incremento progressivo da carga de trabalho de 1 km/h a cada minuto. Incentivo verbal foi empregado na tentativa de obter o esforço físico máximo. Os critérios

adotados para interromper o teste foram: exaustão voluntária, taxa de troca respiratória (QR) superior a 1,15, classificação do esforço percebido em 20 (escala de Borg de 6 a 20) (BORG, 1982) e na frequência cardíaca máxima prevista (220-idade). Em repouso e durante o teste foram continuamente registrados o volume minuto (VE), o consumo de oxigênio (VO₂) e a produção de dióxido de carbono (VCO₂) pela análise de trocas gasosas pulmonares (analisador metabólico MedGraphics VO2000® - Aerosport Inc.). O VO₂máx foi coletado respiração a respiração (breath by breath) e o valor adotado para análise dos dados foi registrado como o consumo de oxigênio médio nos 30 segundos que antecederiam a interrupção do teste.

4.6 ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL

Para determinação da AFH foram registradas as atividades (passos) realizadas durante três dias, dos quais dois destes, dias da semana (2^a a 6^a feira) e um do final de semana (sábado ou domingo). O modelo de pedômetro utilizado foi o Yamax Digi-Walker SW 701. Os jovens foram informados a utilizar durante todo o dia o pedômetro, e retirá-lo apenas para banho ou natação. Ao final do dia registravam o valor de passos realizados. A partir da média ponderada dos três dias foi computado a AFH segundo a equação:

$$AFH = \frac{(\text{Média passos dias semana} * 5) + (\text{Passos dia Final de semana} * 2)}{7}$$

4.7 AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Os gêmeos, acompanhados de seus responsáveis, foram orientados a comparecerem ao laboratório de análises clínicas Hemodiag de Rio Claro em condição de jejum noturno (10 a 12 horas). A coleta foi realizada mediante punção da veia antecubital utilizando o sistema de coleta a vácuo (Vacutainer™ Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido), sendo em tubos de 4,0 mL com anticoagulante (fluoreto associado ao EDTA 1 mg/mL sangue e EDTA 1 mg/mL) e tubos de 3,5 mL com heparina. O plasma foi utilizado para determinação da glicose e insulina em jejum, bem como, o perfil lipídico, HDL, LDL colesterol total e

triglicerídeos. A estimativa da resistência à insulina e da função das células beta foi realizada a partir do índice HOMA (HOMA-RI e HOMA-Beta, respectivamente) que é conhecido como método da homeostase glicêmica (homeostasis model assessment) (MATTHEWS et al., 1985). O índice HOMA-RI foi calculado por meio da fórmula:

$$\text{Homa RI} = (\text{insulina em jejum } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicose em jejum (mmol/L)}) / 22,5$$

ARTIGO 1

GORDURA CORPORAL E METABOLISMO LIPÍDICO DE GÊMEOS MZ DISCORDANTES PARA RESISTÊNCIA À INSULINA: ESTUDO CASO-CONTROLE

RESUMO

Objetivo: Investigar as diferenças na gordura corporal e perfil metabólico de gêmeos monozigóticos adolescentes, decorrentes da discordância para resistência à insulina, ajustados para atividade física, aptidão cardiorrespiratória e hereditariedade.

Métodos: 38 pares de gêmeos Monozigóticos foram avaliados quanto às medidas antropométricas, dobras cutâneas, e estimou-se a gordura corporal. A aptidão cardiorrespiratória foi estimada a partir de teste em esteira com utilização de ergoespirômetro. A atividade física diária foi estimada a partir da contagem de passos por dia, medidos por pedômetros durante 3 dias. Amostras de sangue em jejum foram utilizadas para determinar glicemia, insulina, parâmetros lipídicos em jejum. Os índices Homa-RI e Homa-Beta foram calculados. Os gêmeos com índice superior à 2,5 foram considerados resistentes à insulina. Os pares onde os irmãos apresentavam-se ambos abaixo ou acima do ponto de corte foram alocados no grupo concordante, quando um irmão era resistente e um irmão não resistente à insulina, este par foi alocado no grupo discordante. Os irmãos foram comparados pareadamente.

Resultados: Foi observado, no grupo dos discordantes, que os gêmeos resistentes à insulina, apresentavam maiores valores de Peso de Nascimento, Massa corporal, IMC, Circunferência de cintura, percentual de gordura, adiposidade corporal (soma dobras cutâneas) e índice Homa-Beta, além de menor valor de HDL comparados aos seus pares correspondentes.

Conclusão: Jovens resistentes à insulina apresentaram valores superiores na antropometria e composição corporal, bem como, índices glicêmicos e insulínicos e menor HDL. Estes eventos podem ter sido desencadeados pelas alterações metabólicas possivelmente originadas na fase gestacional, porém, moduladas pela composição corporal.

Palavras-chave: Gêmeos Monozigóticos; Recém-Nascido Pequeno para a Idade Gestacional; composição corporal

BODY FAT AND LIPID METABOLISM OF TWINS MZ DISCORDANT FOR INSULIN RESISTANCE: CASE STUDY-CONTROL

ABSTRACT

Objective: To investigate the differences in body fat and metabolic profile of monozygotic twins teens, resulting from discordance to insulin resistance, adjusted for physical activity and physical fitness and heredity.

Methods: 38 pairs of monozygotic twins were assessed for anthropometric measurements, skinfold thickness, to estimate body fat. Physical fitness was estimated from treadmill test with use of ergospirometer. Daily physical activity was estimated from the steps counts per day, measured by a pedometer during 3 days. Fasting blood samples were used to determine blood glucose, insulin, lipid parameters. The Homa-IR and HOMA-Beta indexes were calculated. The twins with measures higher than 2.5 were considered as insulin resistant. When both brothers had shown below or above the cutoff, the pair were allocated to the concordant group. When a brother was insulin resistant and the other was non insulin resistant, the pair were allocated in the discordant group. The twins were compared using paired test.

Results: Was observed, in the group of discordant, that the insulin resistant twins had higher birth weight values, bodyweight, BMI, waist circumference, body fat percentage, body fat (sum skinfolds), Homa-Beta index and lower HDL compared to their corresponding pair.

Conclusion: Insulin resistant twins showed higher values in anthropometry and body composition, as well as in the glycemia and insulin index and lower HDL. These events may have been unleashed by metabolic alterations possibly originating from gestational stage, however, modulated by body composition.

Keywords: Monozygotic twins; New born Small for Gestational Age; body composition

INTRODUÇÃO

As recentes investigações sobre saúde apresentaram uma lamentável progressão no aparecimento de doenças metabólicas entre crianças e adolescentes nas últimas décadas (GIANINI et al., 2014; FALKNER & COSSROW 2014; DIAS et al., 2014; DE FERRANTI & Osganian SK 2007). Coincidentemente, nesta população houve um aumento nos comportamentos não saudáveis, como redução da atividade física diária, redução das horas em exercício físico, além de, um excesso de horas atividades em comportamentos sedentários (LAWOR et al., 2010; PULGARON & DELAMATER 2014).

A resistência à insulina é um dos alvos das investigações atuais, visto que, apresenta associação com o estado de obesidade e compromete o sistema metabólico da glicose a tal ponto que é considerada precursora da DM2 e síndrome metabólica (PULGARON & DELAMATER 2014; RUIZ et al., 2007; RIZZO et al., 2008; KARPE, DICKMAN & FRAYN 2011; RYDER et al., 2013).

Alguns estudos têm mostrado excesso de marcadores inflamatórios expressos em jovens obesos, o que dificulta a interação entre a insulina e os receptores insulínicos no tecido muscular. Como consequência, há uma sobrecarga na liberação deste hormônio na corrente sanguínea. Esta é uma das explicações mais convincentes dos mecanismos envolvidos na causa da doença em função do aumento da gordura corporal até o momento (RUIZ et al., 2007; RYDER et al., 2013; MEAS, 2010). Apesar disto a captação de glicose parece permanecer normalizada por alguns anos. Contudo, há uma redução da captação de glicose pelas vias insulínicas com o decorrer do tempo neste estado e, com isso o desenvolvimento da DM2 é considerado o próximo passo MEAS, 2010. A resistência à insulina raramente apresenta sintomas, além disso, alguns estudos indicaram que este estado hiperinsulínico pode ocorrer por longos anos (REUCH, 2002; GOLDSTEIN, 2002).

Estas informações sugerem que o surgimento da resistência à insulina ocorre muito antes do aparecimento da DM2 e síndrome metabólica. Visto que atualmente as prevalências de DM2 têm avançado em idades mais jovens, é aceitável indicar que estas doenças, especialmente a resistência à insulina, iniciam-se na infância e adolescência e podem ser reflexos, inclusive, da fase gestacional (NICHOLAS & BAKER, 2001; BAKER, 2005).

A possibilidade de herança epigenética norteou os investigadores a explorar a comparação entre sujeitos com e sem histórico da DM2. Nesta comparação os sujeitos com histórico de DM2 apresentaram menor captação de glicose pelas vias insulínicas, contudo, este resultado foi explicado pela baixa aptidão cardiorrespiratória nos sujeitos com histórico da doença (WEI & GIBBONS, 1999). Se a DM2 tem causas principalmente voltadas ao impacto ambiental e os seus descendentes apresentam distúrbios metabólicos, sem, contudo, apresentar a doença, parece existir uma confusão nas explicações sobre a origem dessas doenças. Sendo assim, para que o entendimento das causas da resistência à insulina e DM2 seja fortalecido, é necessária a separação da explicação puramente comportamental e da explicação hereditária.

Para responder mais adequadamente as questões até então estabelecidas, o estudos de caso-controle com gêmeos monozigóticos é um excelente recurso metodológico (MAIA, 2011; BELL & SAFFERY, 2012). Com este tipo de pesquisa é possível investigar as diferenças entre os irmãos a partir de uma discordância específica e indicar que estes efeitos têm pouca ou nenhuma influência hereditária (BELL & SAFFERY, 2012). Assim, compreender o impacto das diferenças atribuídas à discordância dos irmãos gêmeos monozigóticos já na juventude, para a resistência à insulina, no metabolismo e composição corporal, sem interdependência à hereditariedade, nível de atividade física e aptidão cardiorrespiratória, torna-se importante para o entendimento da origem e desenvolvimento das doenças metabólicas na juventude.

Com isso o objetivo do presente estudo foi investigar as alterações na composição corporal e perfil metabólico de gêmeos monozigóticos adolescentes, decorrentes da discordância, sem as influências da atividade física e aptidão cardiorrespiratória.

METODOLOGIA

Amostra

Foram convidados a participar do estudo, todos os gêmeos de mesmo sexo, com idade entre 11 e 18 anos matriculados nos sistemas de ensino público e privado da cidade de Rio Claro. Contabilizou-se um total de 98 pares de gêmeos de mesmo

sexo, contudo, 13 pares não foram localizados e 31 pares recusaram o convite. Ao final, 54 pares aceitaram participar da pesquisa. Para classificação quanto à zigosidade, monozigóticos e dizigóticos, os gêmeos foram submetidos à coleta do sangue periférico e posterior análises de DNA. Na amostra avaliada 38 pares de gêmeos foram avaliados como MZ e 16 pares DZ. Considerando os objetivos deste estudo apenas os resultados dos 38 pares MZ foram utilizados. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de ética com o protocolo número 5093/2009 Unesp - Rio Claro e os participantes e/ou responsáveis assinaram um termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Avaliação da zigosidade

A atribuição de monozigosidade ou de dizigosidade aos gêmeos foi efetuada após a avaliação da concordância dos gêmeos em relação a marcadores genéticos polimórficos (DNA), como os genes de locos de microssatélites, também conhecidos pela sigla STR (*Short Tandem Repeat*) (HILL & JEFFREYS 1985). Para a análise, aproximadamente 20 µL de sangue de cada participante foi pipetado diretamente para o QIAcard FTA Spots da QIAGEN com tecnologia Whatman® FTA onde posteriormente foi realizada a extração do DNA através do FTA reagente Whatman®. A análise do DNA dos gêmeos ocorreu utilizando a técnica de extração e amplificação do DNA por cadeia de reação da polimerase (PCR). Em todas as amostras de DNA, a análise de 16 STRs autossômicos (CSF1PO, D2S1338, D3S1358, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, D5S51, FGA, TH01, TPOX, vWA e o locus da Amelogenina), foi efetuada por amplificação em PCR, utilizando o kit comercial Identifiler (AB Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante. A genotipagem foi efetuada em aparelho ABI 310 Genetic Analyzer (AB Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante, por determinação do tamanho dos fragmentos de DNA e comparação com escalas alélicas fornecidos com os kits comerciais.

Testes e medidas

As medidas antropométricas de massa corporal (MC) e altura foram verificadas seguindo as recomendações de Gordon et al. (1991). Com as essas

medidas foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC). A circunferência da cintura (CC) foi medida em duplicata no ponto médio entre as últimas costelas e a crista ilíaca com auxílio de uma fita métrica inextensível (Mabis® Japan). As dobras cutâneas, tricipital e subescapular, foram mensuradas utilizando um compasso da marca Harpenden®. O percentual de gordura foi determinado mediante equação desenvolvida por SLAUGHTER et al. (1988)²⁰. O peso de nascimento foi coletado das fichas de nascimento dos participantes. Quando não encontrado o documento foi solicitado o peso de nascimento relatado pela mãe, pai ou responsável.

Aptidão cardiorrespiratória e Atividade física diária

O teste para determinar o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), foi realizado no NAFES/UNESP (Núcleo de Atividade Física, Esporte e Saúde). Anterior a data do teste, os sujeitos foram orientados à: não ingerir bebidas alcoólicas ou estimulantes, e, evitar esforço físico vigoroso no dia anterior. O teste foi realizado em esteira ergométrica modelo ATL Super® (Inbrasport), sem inclinação, nos períodos matutino e vespertino entre as 09:00-11:30h e 14:00-18:00h, respectivamente, com temperatura ambiente controlada 20 a 25° C.

Após as orientações e explicações a respeito da realização e interrupção do teste um período de 5 a 10 minutos de familiarização em diferentes velocidades (4 a 7 km/h) foi fornecido aos sujeitos, na sequência um minuto em repouso na esteira em posição ortostática. O teste iniciou com velocidade de 4 km/h e incremento progressivo da carga de trabalho de 1 km/h a cada minuto. Incentivo verbal foi empregado na tentativa de obter o esforço físico máximo. Os critérios adotados para interromper o teste foram: exaustão voluntária, taxa de troca respiratória (QR) superior a 1,15, classificação do esforço percebido em 20 (escala de Borg de 6 a 20) (BORG, 1982) e na frequência cardíaca máxima prevista ($220 - idade$). Em repouso e durante o teste foram continuamente registrados o volume minuto (VE), o consumo de oxigênio (VO_2) e a produção de dióxido de carbono (VCO_2) pela análise de trocas gasosas pulmonares (analisador metabólico MedGraphics VO_{2000} ® - Aerosport Inc.). O $VO_{2máx}$ foi coletado respiração a respiração (breath by breath) e o valor adotado para análise dos dados foi registrado como o consumo de oxigênio médio nos 30 segundos que antecediam a interrupção do teste.

Atividade física habitual

Para determinação da AFH foram registradas as atividades (passos) realizadas durante três dias, dos quais dois destes, dias da semana (2ª a 6ª feira) e um do final de semana (sábado ou domingo). O modelo de pedômetro utilizado será o Yamax Digi-Walker SW 701. Os jovens foram informados a utilizar durante todo o dia o pedômetro, e retirá-lo apenas para banho ou natação. Ao final do dia registravam o valor de passos realizados. A partir da média ponderada dos três dias foi computado a AF habitual segundo a equação:

$$AF = \frac{(\text{Média passos dias semana} * 5) + (\text{Passos dia Final de semana} * 2)}{7}$$

Amostras biológicas

Os gêmeos, acompanhados de seus responsáveis, foram orientados compareceram ao laboratório de análises clínicas Hemodiag de Rio Claro em condição de jejum noturno (10 a 12 horas). A coleta foi realizada mediante punção da veia antecubital utilizando o sistema de coleta a vácuo (Vacutainer™ Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido), sendo em tubos de 4,0 mL com anticoagulante (fluoreto associado ao EDTA 1 mg/mL sangue e EDTA 1 mg/mL) e tubos de 3,5 mL com heparina. O plasma foi utilizada para determinação da concentração lipídica, HDL, LDL, Colesterol Total e triglicerídeos, e também, glicose, insulina em jejum. A estimativa da resistência à insulina e da função das células beta foi realizada a partir do índice Homa (Homa-RI e Homa-Beta, respectivamente) que é conhecido como método da homeostase glicêmica (*homeostasis model assessment*)²². O índice Homa-RI e o índice Homa B foi calculado por meio da fórmula:

$$\text{Homa RI} = (\text{insulina em jejum } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicose em jejum (mmol/L)}) / 22,5$$

$$\text{Homa Beta} = 20 \times (\text{insulina em jejum } (\mu\text{U/ml}) / (\text{glicemia em jejum (mmol/L)}) - 3,5$$

Para determinar as concentrações em jejum de glicose, insulina e lipídios (HDL-C, TG, CT) kits específicos foram utilizados. O colesterol LDL-C foi estimado por meio da fórmula de Friedewald: $LDL-C = CT - HDL - (TG/5)$.²³

Analise estatística

Os gêmeos foram agrupados em maior e menor valor do índice Homa-RI, e separados em função da discordância ou concordância para o ponto de corte do índice (Homa-RI = 2,5). Os grupos foram comparados empregando o teste pareado de Wilcoxon.

Um segundo momento as diferenças observadas pela discordância no índice Homa-RI – 2,5 nas variáveis foram descritas em frequência absoluta. Assim os gêmeos foram separados em função de apresentar maior ou menor percentual de gordura corporal e contado quantos adolescentes apresentavam índice superior ao ponto de corte para caracterizar RI.

Resultados

Nos resultados da composição corporal foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para peso de nascimento (PN); massa corporal (MC); índice de massa corporal (IMC); Circunferência de cintura (CC); soma das dobras cutâneas e percentual de gordura corporal, favorecendo os gêmeos do grupo resistente à insulina entre os discordantes para o Homa-RI (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição corporal e características antropométricas dos gêmeos monozigóticos (MZ) concordantes e discordantes para RI

	MZ CONCORDANTES RI (n=28 pares)				MZ DISCORDANTES RI (n=10 pares)			
	Gêmeo > HOMA RI		Gêmeo < HOMA RI		HOMA RI > 2,5		HOMA RI < 2,5	
	Mediana	P75-P25	Mediana	P75-P25	Mediana	P75-P25	Mediana	P75-P25
PN (g)	2390,0	600,0	2210	490,0	2450	170,0	2340,0	305,0*
MC (kg)	47,5	18,9	48,6	15,0	58,7	17,1	55,8	16,2*
ALT (cm)	159,6	12,4	157,8	12,4	163,7	10,3	162,2	12,0
IMC (kg/est ²)	18,9	3,1	18,8	3,2	22,7	5,3	21,5	4,9*
CC (cm)	65,0	9,0	66,3	9,5	74,8	15,8	71,4	17,0*
SOMA (mm)	20,5	13,0	19,9	9,7	36,9	25,1	31,7	22,9*
% GC (%)	18,8	10,1	17,4	8,1	30,9	14,3	26,6	14,0*

PN: peso de nascimento; MC: massa corporal; ALT: altura; IMC: índice de massa corporal (MC/EST²); CC: circunferência de cintura; SOMA: somatório das dobras cutâneas; %GC: percentual de gordura corporal; MM: Massa muscular.

Para os resultados metabólicos (Tabela 2) foi observada diferença significativa para HDL, inferior para o grupo resistência à Insulina. Além disso, apenas insulina em jejum e o índice HOMA-RI, entre as variáveis do metabolismo da glicose apresentaram diferenças nos dois grupos, com valores superiores para os resistentes á insulina, no caso do grupo discordante e para os gêmeos com maior valor de índice para o grupo concordante. Este resultado foi acompanhado da comparação dos comportamentos de atividade física e aptidão cardiorrespiratória, que, não apresentaram diferenças significativas.

Quando realizada a contagem de adolescentes com o índice superior ao ponto de corte (HOMA-RI = 2,5) foi observado que a maioria (10 adolescentes) apresentava maior percentual de gordura que seu irmão (figura 1).

Tabela 2 – Atividade física diária (passo/dia), aptidão cardiorrespiratória (VO₂), glicemia e insulina em jejum, dos gêmeos monozigóticos (MZ) concordantes e discordantes para RI

	MZ CONCORDANTES RI (n=28 pares)				MZ DISCORDANTES RI (n=10 pares)			
	G > HOMA RI		G < HOMA RI		HOMA RI > 2,5		HOMA RI < 2,5	
	Mediana	P75-P25	Mediana	P75-P25	Mediana	P75-P25	Mediana	P75-P25
VO ₂ máx (ml.kg.min ⁻¹)	42,5	14,5	40,4	15,5	36,7	10,1	36,6	11,7
VO ₂ máx (L.min ⁻¹)	1,8	0,8	1,8	0,7	2,3	0,8	2,3	0,5
AFD (passos/dia)	11487,0	5724,8	10918,1	4876,6	8670,0	3707,6	8798,4	4750,3
GLI j (mg.dL ⁻¹)	85,5	11,0	84,0	13,0	89,5	12,0	87,5	14,5
GLI 2h (mg.dL ⁻¹)	93,0	22,0	90,0	19,0	112,5	22,0	89,5	29,5
INS jejum (uU/ml)	7,2	3,4	5,5	2,9*	14,1	4,0	6,8	2,6*
INS 2h (uU/ml)	37,7	32,0	37,0	46,9	88,1	42,0	54,6	16,8
HOMA RI (UA)	1,6	0,8	1,2	0,8*	3,0	0,3	1,7	0,3*
HOMA β (UA)	109,5	70,8	107,2	77,9	173,9	121,2	90,1	97,3*
CT (mg.dL ⁻¹)	152,5	34,0	153,0	49,0	166,0	33,0	161,0	34,5
HDL (mg.dL ⁻¹)	43,5	13,0	42,0	13,0	41,0	25,5	45,0	22,5*
LDL (mg.dL ⁻¹)	96,2	39,2	94,9	46,8	88,0	39,2	96,7	46,2
TG (mg.dL ⁻¹)	69,0	44,0	74,5	32,0	124,5	74,0	99,5	100,0

AFD: Atividade física diária; GLI j: Glicemia em jejum; INS j: Insulina em Jejum;

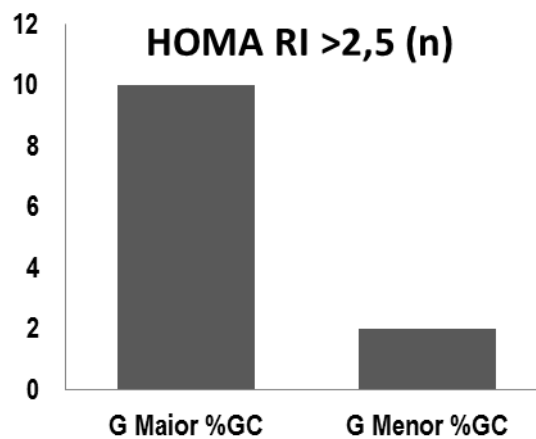


Figura. Percentual de gordura corporal e HOMA RI entre gêmeos monozigóticos (MZ) concordantes e discordantes para RI

Discussão

Inicialmente, ao estipularmos as hipóteses deste estudo, os resultados esperados eram obviamente, diferença significativa entre os irmãos discordantes para RI na composição corporal, e aquele irmão com valor de HOMA-RI >2,5 os maiores resultados de percentual de gordura eram esperados. Assim, os resultados encontrados confirmaram as hipóteses levantadas na literatura com o passar dos anos. Ao mesmo tempo, nota-se que o percentual de gordura ou a composição corporal não é o início da problemática metabólica, uma vez que, os irmãos que apresentaram maior percentual de gordura, também apresentaram maior PN e maior sensibilidade á insulina, contrariando algumas hipóteses nesta temática, como a teoria do desenvolvimento fetal das doenças.

No presente estudo foi observado que os gêmeos com índice HOMA-IR maior que 2,5, apresentavam maiores valores de MC, IMC, CC, %GC e adiposidade corporal (soma dobras cutâneas) comparados aos seus pares correspondentes com índice HOMA-RI menor que 2,5. Além disso, os resultados são controlados, existindo pouca ou nenhuma influência da hereditariedade, bem como, semelhanças no nível de atividade física e aptidão cardiorrespiratória entre os pares. Contudo, ao analisar o complexo iniciado no PN até o desenvolvimento da RI na adolescência fica evidente que o caminho pode ser reflexo de mecanismos ainda desconhecidos.

Sabe-se que o baixo peso de nascimento tem sido correlacionado a uma diversidade de doenças metabólicas. Na revisão sistemática publicada em 2008 no JAMA (WHINCUP et al., 2008) foi observado que a cada 1 kg aumentado no peso de nascimento, reduzem em 20% as chances de aparecer DM2 na vida jovem e adulta. Além disso, mesmo após os ajustes para nível socioeconômico, IMC, idade e sexo, e exclusão dos participantes macrossômicos, os resultados permaneceram significativos (WHINCUP et al., 2008). Outras revisões sistemáticas encontraram resultados semelhantes para síndrome metabólica (SILVEIRA; HORTA, 2008), obesidade e doenças cardiovasculares (HUXLEY et al., 2004; YU et al., 2011; SCHELLONG et al., 2012). Os resultados apontam, sem dúvida para uma associação entre o baixo peso de nascimento e doenças metabólicas, contudo, o controle metodológico adotado no presente estudo não foi observado nos estudos acima citados. Uma vez que, as amostras são provenientes de estudos epidemiológicos, especialmente do tipo coorte, a maioria destes resultados não consegue dividir o que é resultado de causas ambientais e genéticas. Assim, fatores intervenientes deste processo, como adiposidade corporal e prática de atividade física, precisam ser esclarecidos, preferencialmente isolados dos efeitos hereditários, dado que, o intervalo de tempo, entre o nascimento e o aparecimento das doenças, raramente é curto.

Para o entendimento do processo observado neste estudo, uma questão foi estabelecida. Qual é o papel do tecido adiposo no desencadeamento da RI, dado que o sujeito tenha nascido com baixo PN?

Em resposta a segunda questão estabelecida, a segunda revisão abordou o tema do papel do tecido adiposo na relação entre BPN e desenvolvimento de resistência à insulina (MEAS, 2010). Os resultados observados foram: sujeitos com restrição de crescimento na fase gestacional podem apresentar um crescimento acelerado (compensatório) na primeira infância, contudo desequilibrado, uma vez que, o crescimento é maior no tecido adiposo (NICHOLAS & BAKER 2001; MEAS, 2010; LANGLEY-EVANS, 2006; YU et al., 2011). Em modelos animais, foi evidenciada a supressão da termogênese, que precedeu o aparecimento de excesso de gordura corporal, obesidade central, aumento da concentração de triglicerídeos intramuscular e aumento na concentração circulante de lipídeos. Além disso, a redistribuição de glicose do músculo esquelético em direção ao tecido adiposo

durante a fase de crescimento compensatório pode explicar o desenvolvimento de desordens metabólicas (MEAS, 2010).

As explicações do papel do tecido adiposo no desenvolvimento da RI ainda precisam ser elucidadas, contudo alguns resultados já apontam os caminhos a serem seguidos: Animais com restrição de crescimento na fase gestacional e posterior crescimento compensatório, apresentam aumento no tamanho do adipócito, *up-regulation* na expressão de genes que controlam o fluxo de glicose em direção à lipogênese, aumento da expressão de genes envolvidos na lipogênese e angiogênese, bem como processo inflamatório (MEAS, 2011).

No presente estudo, os resultados foram diferentes deste processo, uma vez que foi observado maior percentual de gordura corporal para o irmão com maior peso de nascimento. Entre as possibilidades de explicação deste fato, as vias metabólicas podem ter efeito interveniente nesta rede de eventos. Em nível molecular, a resistência à insulina tem forte associação com a expressão de genes relacionados a receptores periféricos. Neste sentido, o PPAR γ (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama) é um marcador de aumento da sensibilidade à insulina. Níveis séricos elevados da expressão do mRNA de PPAR γ estão associados à adipogênese e controle da homeostase glicêmica (TAVARES et al., 2007). Dessa forma é provável que modulações no tecido adiposo possam estar associadas ao aumento da expressão de PPAR γ em sujeitos resistentes à insulina. Este fato, adicionalmente, explicaria os maiores valores de índice de sensibilidade à insulina (HOMA β) nos jovens RI com maior percentual de gordura corporal, porém, não é possível debater sua ligação com maior PN.

Os estudos comumente apresentam resultados indicando a associação entre baixo PN e distúrbios como obesidade e doenças metabólicas (BAKER, 2005). Contudo, no presente estudo a amostra é de gêmeos monozigóticos. Uma vez que, os irmãos MZ apresentam semelhança hereditária, a amplitude da diferença entre os irmãos para o PN é condicionante de disparidades, como por exemplo, dado que um irmão tenha nascido abaixo de 2,0 kg e o outro irmão acima é possível que as discordâncias sejam agravadas. Neste estudo a comparação entre os discordantes para RI gerou diferenças estatísticas entre os irmãos para o PN, porém a maioria dos casos, ambos apresentavam-se acima de 2,0 kg. O controle metodológico deste estudo permite sugerir que o baixo peso de nascimento não afeta a homeostase metabólica, quando controlados os efeitos hereditários.

Outro resultado interessante do presente estudo é: a observação de menor concentração de HDL no grupo de gêmeos resistente a insulina e com maior PN e %GC comparado ao seu par correspondente não resistente à insulina e com menor PN e %GC. Este fato pode ser resultado da maior quantidade de gordura corporal.

Por fim, o entendimento destes resultados deve ser acompanhado da compreensão das limitações do estudo. Inicialmente destaca-se a característica observacional analítica, transversal. Contudo, como ponto forte do estudo destaca-se a metodologia controlada pela comparação de gêmeos monozigóticos que permite o isolamento das observações, com pouca ou nenhuma influência da hereditariedade.

Conclusão

Jovens resistentes à insulina apresentaram valores superiores na antropometria e composição corporal, bem como, índices glicêmicos e insulínicos e HDL. Estes eventos podem ter sido desencadeados a nível distal pelo peso de nascimento e decorrentes das alterações metabólicas possivelmente originadas na fase gestacional. Contudo, traçar o caminho para surgimento destas diferenças e indicar a progressão deste efeito ficou impraticável devido a alteração na resposta imaginada no início do estudo. Assim, o baixo peso de nascimento pode alterar o ciclo de desenvolvimento metabólico, mas a adiposidade corporal pode ser uma interveniente deste processo.

ARTIGO 2

RESISTÊNCIA À INSULINA: IMPACTO DO PESO DE NASCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL, ATIVIDADE FÍSICA E APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA EM GÊMEOS MONOZIGÓTICOS

O objetivo do presente estudo foi investigar as correspondências entre as diferenças intra-par para a composição corporal, variáveis metabólicas, aptidão cardiorrespiratória, atividade física habitual e índice de resistência à insulina em gêmeos monozigóticos adolescentes, decorrentes da diferença no peso de nascimento (PN). Os 38 pares de gêmeos monozigóticos, voluntários, participaram de coletas antropométricas, medidas de dobras cutâneas e teste de aptidão cardiorrespiratória em esteira com utilização de ergoespirômetro. Além disso, utilizaram um pedômetro durante 3 dias para avaliação da atividade física. E por fim, o sangue em jejum foi coletado para avaliação da Glicemia, Insulina, LDL, HDL, Triglicerídeos e Colesterol Total. Comparações pareadas foram realizadas para todas as variáveis dividindo os gêmeos em dois grupos, um grupo com os gêmeos onde a diferença intra-par para o Peso de nascimento foi inferior a 10% e outro grupo superior a 10%. Para todos os casos os irmãos foram alocados comparando de um lado o irmão com maior valor de Peso de Nascimento e do outro lado de menor peso de nascimento. Além disso, os irmãos alocados em maior e menor PN para cada variável foram inseridos em um modelo multivariado. A análise de correspondência, utilizando a técnica HOMALS para cada grupo, foi executada. Os principais resultados encontrados indicam que o peso de nascimento está associado ao aumento da probabilidade de doenças metabólicas como a resistência à insulina. Contudo, o grupo de gêmeos com 10% de peso de nascimento menor, apresentou características morfológicas reduzidas, como gordura corporal, estatura e massa muscular na adolescência. Esse resultado, em adição às correspondências observadas entre o índice de resistência à insulina elevada e o maior peso de nascimento, apenas neste grupo, sugerem que o desenvolvimento das doenças, decorrentes do ambiente gestacional como fator inicial, pode apresentar outras vias explicativas.

Palavras chave: Gêmeos Monozigóticos; Recém-Nascido Pequeno para a Idade Gestacional; composição corporal

INTRODUÇÃO

As recentes investigações sobre saúde apresentaram uma lamentável progressão no aparecimento de doenças metabólicas em jovens nas últimas décadas (FERRANTI; OSGANIAN, 2007; GIANNINI et al., 2014; DIAS PITANGUEIRA et al., 2014; FALKNER; COSSROW, 2014).

A resistência à insulina é um dos alvos das investigações atuais, visto que, apresenta associação com o estado de obesidade e compromete o sistema metabólico da glicose a tal ponto que é considerada precursora da Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) e Síndrome metabólica (RUIZ et al., 2007; RIZZO et al., 2008; KARPE et al., 2011; RYDER et al., 2013; PULGARON; DELAMATER, 2014).

Alguns estudos têm mostrado excesso de marcadores inflamatórios expressos em jovens obesos, o que dificulta a interação entre a insulina e os receptores insulínicos no tecido muscular e, como consequência, há o aparecimento de hiperinsulinemia compensatória (RUIZ et al., 2007; MEAS, 2010; RYDER et al., 2013). Apesar disto, a captação de glicose parece permanecer normalizada por alguns anos, mas, a permanência neste estado favorece o desenvolvimento da DM2 (MEAS, 2010).

A resistência à insulina raramente apresenta sintomas, além disso, alguns estudos indicaram que este estado hiperinsulínico pode ocorrer por longos anos (REUSCH, 2002; GOLDSTEIN, 2002). Estas informações sugerem que o surgimento da resistência à insulina ocorre muito antes do aparecimento da DM2 e síndrome metabólica. Visto que, atualmente, as prevalências de DM2 têm avançado em idades mais jovens, é aceitável indicar que estas doenças, especialmente a resistência à insulina, iniciam-se na infância e adolescência e podem ser reflexos, inclusive, da fase gestacional (HALLES; BARKER, 1991; BARKER, 2005).

Alguns estudos têm evidenciado os efeitos do Peso de nascimento (PN) sobre o surgimento das doenças metabólicas. As associações indicam que a cada 1 kg aumentado no peso de nascimento, reduzem-se em 20% as chances de aparecer DM2 na vida jovem e adulta (WHINCUP et al., 2008). Resultados semelhantes foram encontrados para síndrome metabólica (SILVEIRA; HORTA, 2008), obesidade e doenças cardiovasculares (HUXLEY et al., 2004; YU et al., 2011; SCHELLONG et al., 2012). Em todos os resultados, o baixo peso de nascimento é o indicador de reprogramação metabólica, que favorece o acúmulo de gordura corporal no início da

adolescência e juventude, e quando combinados, estes fatores aumentam a probabilidade de desenvolvimento de doenças como DM2 e resistência à insulina.

Apesar das evidências, há controvérsias na literatura, alguns estudos têm apontado que os efeitos observados em decorrência do baixo peso de nascimento são originados pela má qualidade metodológica e analítica. Para gêmeos monozigóticos têm sido observado efeitos inversos dos apresentados nos estudos de coorte, indicando que não há associação entre o desenvolvimento das doenças e o baixo PN (PHILLIPS et al., 2001). Estas pesquisas apontam uma falha inicialmente na sugestão do ponto de corte como indicador de baixo peso, mesmo relacionado à idade gestacional, e secundariamente, às características hereditárias.

Curiosamente, há discussões na literatura sobre precisão da utilização de gêmeos monozigóticos nos estudos sobre o baixo peso de nascimento, visto que, os nascimentos múltiplos comprometem o desenvolvimento do feto. Entretanto, os partos múltiplos carregam uma característica que fortalece a pesquisa científica, ou seja, os gêmeos compartilham o mesmo ambiente intrauterino e a mesma carga hereditária. Assim sendo, as diferenças no peso de nascimento são decorrentes de fatores prioritariamente ambientais e o impacto desse desfavorecimento apresentará, em teoria, reprogramações metabólicas que não ocorrerão no irmão com peso de nascimento maior. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi investigar as correspondências entre as diferenças intra-par para a composição corporal, variáveis metabólicas, aptidão cardiorrespiratória, atividade física habitual e, especialmente, índice de resistência à insulina em gêmeos monozigóticos adolescentes, decorrentes da diferença no peso de nascimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRA

No ano de 2009, percorreu-se por todas as instituições de ensino público e privado da cidade de Rio Claro-SP convidando gêmeos de mesmo sexo com idade entre 11 e 18 anos a participar do estudo. A partir dos registros escolares, contabilizou-se um total de 98 pares de gêmeos de mesmo sexo. Do total, 13 pares não foram localizados e 31 pares recusaram o convite. Ao final, 54 pares aceitaram participar da pesquisa. Para classificação quanto à zigosidade, monozigóticos e

dizigóticos, os gêmeos foram submetidos à coleta do sangue periférico e posterior análises de DNA. Na amostra, 38 pares de gêmeos foram avaliados como MZ e 16 pares DZ. Considerando os objetivos deste estudo, apenas os resultados dos 38 pares MZ foram utilizados. Os sujeitos e/ou responsáveis assinaram um termo de consentimento para participar da pesquisa. O estudo foi aprovado no comitê de ética sob protocolo 5093 20.08.2009 UNESP Rio Claro.

AVALIAÇÃO DA ZIGOSIDADE

A atribuição de monozigosidade ou de dizigosidade aos gêmeos foi efetuada após a avaliação da concordância dos gêmeos em relação a marcadores genéticos polimórficos (DNA), como os genes de locos de microssatélites, também conhecidos pela sigla STR (*Short Tandem Repeat*) (HILL; JEFFREYS, 1985). Para a análise, aproximadamente 20 µL de sangue de cada participante foi pipetado diretamente para o QIAcard FTA Spots da QIAGEN com tecnologia Whatman® FTA onde posteriormente foi realizada a extração do DNA através do FTA reagente Whatman®. A análise do DNA dos gêmeos ocorreu utilizando a técnica de extração e amplificação do DNA por cadeia de reação da polimerase (PCR). Em todas as amostras de DNA, a análise de 16 STRs autossômicos (CSF1PO, D2S1338, D3S1358, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, D5S51, FGA, TH01, TPOX, vWA e o locus da Amelogenina), foi efetuada por amplificação em PCR, utilizando o kit comercial Identifiler (AB AppliedBiosystems), de acordo com as instruções do fabricante. A genotipagem foi efetuada em aparelho ABI 310 GeneticAnalyzer (AB AppliedBiosystems), de acordo com as instruções do fabricante, por determinação do tamanho dos fragmentos de DNA e comparação com escalas alélicas fornecidos com os kits comerciais.

TESTES E MEDIDAS

As medidas antropométricas de massa corporal (MC) e estatura foram verificadas seguindo as recomendações de Gordon et al. (1988). Com essas medidas foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC). A circunferência da cintura (CC) foi medida em duplicata no ponto médio entre as últimas costelas e a crista ilíaca com auxílio de uma fita métrica inextensível (Mabis® Japan) (GUEDES &

GUEDES 2006). Medidas do Diâmetro de fêmur e úmero foram realizadas com a utilização de um paquímetro, aferindo as distâncias entre os epicôndilos, seguindo as recomendações de Guedes & Guedes (2006).

GORDURA CORPORAL

As dobras cutâneas, tricipital e subescapular, foram mensuradas utilizando um compasso da marca Harpenden®. O percentual de gordura foi determinado empregando-se a equação proposta por Slaughter et al. (1988). Estas equações são corrigidas pelo nível de maturação biológica (pré-púbere, púbere e pós-púbere) que foi estimada a partir da maturação sexual (TANNER, 1962). O peso de nascimento foi coletado a partir das fichas de nascimento dos participantes. Quando não encontrado o documento, foi solicitado o peso de nascimento relatado pela mãe, pai ou responsável.

APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA E ATIVIDADE FÍSICA DIÁRIA

O teste para determinar o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$) foi realizado no NAFES/UNESP (Núcleo de Atividade Física, Esporte e Saúde). Anterior a data do teste, os sujeitos foram orientados à: não ingerir bebidas alcoólicas ou estimulantes, e, evitar esforço físico vigoroso. O teste foi realizado em esteira ergométrica modelo ATL Super® (Inbrasport), com inclinação de 1%, nos períodos matutino e vespertino entre as 9:00-11:30h e 14:00-18:00h, respectivamente, com temperatura ambiente controlada 20 a 25° C.

Após as orientações e explicações a respeito da realização e interrupção do teste, um período de 5 a 10 minutos de familiarização em diferentes velocidades (4 a 7 km/h) foi fornecido aos sujeitos e, na sequência, um minuto em repouso na esteira em posição ortostática. O teste iniciou com velocidade de 4 km/h e incremento progressivo da carga de trabalho de 1 km/h a cada minuto. Incentivo verbal foi empregado na tentativa de obter o esforço físico máximo. Os critérios adotados para interromper o teste foram: exaustão voluntária, taxa de troca respiratória (QR) superior a 1,15, classificação do esforço percebido em 20 (escala de BORG de 6 a 20) (BORG, 1982) e na frequência cardíaca máxima prevista ($220 - \text{idade}$). Em repouso e durante o teste foram continuamente registrados o volume minuto (VE), o consumo de oxigênio (VO_2) e a produção de dióxido de carbono (VCO_2) pela análise

de trocas gasosas pulmonares (analisador metabólico MedGraphics VO2000® - Aerosport Inc.). O VO₂máx foi coletado respiração a respiração (breathbybreath) e o valor adotado para análise dos dados foi registrado como o consumo de oxigênio médio nos 30 segundos que antecederiam a interrupção do teste. Para todos os sujeitos foi utilizado o valor de VO₂máx Absoluto (l/min) e relativo (ml/kg/min).

ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL

Para determinação da AFH foram registradas as atividades (passos) realizadas durante três dias, sendo dois dias de semana (2^a a 6^a feira) e um do final de semana (sábado ou domingo). O modelo de pedômetro utilizado foi o Yamax Digi-Walker SW 701. Os jovens foram orientados a utilizar durante todo o dia o pedômetro, e retirá-lo apenas para banho ou natação. Ao final do dia registravam o valor de passos realizados. A partir da média ponderada dos três dias foi computado a AFH segundo a equação:

$$AFH = \frac{(Média\ passos\ dias\ semana * 5) + (Passos\ dia\ Final\ de\ semana * 2)}{7}$$

1.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Os gêmeos, acompanhados de seus responsáveis, foram orientados a comparecerem ao laboratório de análises clínicas Hemodiag de Rio Claro em condição de jejum noturno (10 a 12 horas). A coleta foi realizada mediante punção da veia antecubital utilizando o sistema de coleta a vácuo (Vacutainer™ Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido), sendo em tubos de 4,0 mL com anticoagulante (fluoreto associado ao EDTA 1 mg/mL sangue e EDTA 1 mg/mL) e tubos de 3,5 mL com heparina. O plasma foi utilizado para determinação da glicose e insulina em jejum, bem como, o perfil lipídico, HDL, LDL colesterol total e triglicerídeos. A estimativa da resistência à insulina e da função das células beta foi realizada a partir do índice HOMA (HOMA-RI e HOMA-Beta, respectivamente) que é conhecido como método da homeostase glicêmica (homeostasis model assessment) (MATTHEWS et al., 1985). O índice HOMA-RI foi calculado por meio da fórmula:

$$HOMA\ RI = (insulina\ em\ jejum\ (\mu U/mL) \times glicose\ em\ jejum\ (mmol/L)) / 22,5$$

ANÁLISE DE DADOS

Os irmãos foram alocados em grupos diferentes, separados de acordo com o peso de nascimento. Inicialmente foi verificado o irmão com maior e o irmão com menor peso de nascimento e formado dois grupos. Posteriormente, estes grupos foram base para formação dos grupos de cada variável de acordo com o PN. Seguindo o exemplo a seguir para variável IMC: grupo de irmãos com peso de nascimento maior – (valor do IMC) e grupo com peso de nascimento menor – (valor do IMC). A estrutura da análise exige que os valores de cada irmão estejam paralelos, permitindo a comparação segundo a metodologia caso-controle. Após organização de cada variável de entrada, os gêmeos foram, ainda, separados em grupos analíticos, onde a diferença no PN será representada em percentuais (diferenças: 10%).

A segunda etapa da análise consistiu na formatação de um modelo de análise multivariada, análise de correspondência múltipla (HOMALS). Para tanto os irmãos foram categorizados em maior e menor valor para cada variável comparado ao seu par. A análise selecionada permite visualizar graficamente as associações existentes entre as variáveis, contudo pode ser aplicado a um grande volume de variáveis e categorias. Desta forma todas as variáveis foram selecionadas no modelo. As associações ou correspondências são observadas pela proximidade das variáveis no gráfico, quando apresentarem-se no mesmo quadrante. Para atribuir um fator independente (moderador) na análise, os grupos de PN maior e menor que 10% foram novamente utilizados. Assim uma análise para cada grupo foi formulada. O nível de significância adotado foi $P < 0,05$. O software SPSS versão 20.0 foi utilizado para gerar as análises.

RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 mostram os resultados da comparação pareada entre os irmãos com maior e menor valor de PN separados em dois grupos: um grupo dos gêmeos com diferença para PN menor que 10% e outro grupo com diferença superior a 10%.

Na tabela 1 pode-se observar a comparação das variáveis morfológicas, PN, $VO_{2máx.}$ e AFH. Inicialmente nota-se que os irmãos não apresentaram diferenças significativas nas variáveis de $VO_{2máx.}$ e AFH. Outra observação inicial importante é a

diferença estatisticamente significativa na comparação do PN para ambos os grupos. Foram observadas as seguintes diferenças apenas no grupo com PN com diferença superior a 10%: MC; Estatura; IMC; Altura TC; diâmetro Úmero e Fêmur, Soma DC; %GC; GC kg; MM. Para todas as variáveis os menores valores foram observados no grupo com menor peso de nascimento.

Tabela 1 – Comparação intra-par (maior PN versus menor PN) da composição corporal, características antropométricas, aptidão cardiorrespiratória e atividade física dos gêmeos monozigóticos (MZ) divididos pela diferença no PN.

	Diferença PN <10%		Diferença PN >10%	
	Maior PN	Menor PN	Maior PN	Menor PN
	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)
PN g	2462,5 (590)	2350,0 (450)*	2460,0 (420)	2050,0 (370)*
MC kg	53,4(12)	51,3(18)	49,0 (24,2)	46,6 (24,1)*
Estatura cm	161,9(9,5)	161,7(11,2)	157,3 (18,3)	155,7 (14,7)*
IMC m/kg ²	20,0(4,1)	20,3(4,7)	19,2 (4,5)	18,4 (1,8)*
Altura TC cm	83,9(7,6)	83,8(6,6)	84,8 (11,5)	81,1 (11,9)*
D.Úmero mm	6,2(0,6)	6,2(0,7)	5,9 (0,6)	5,7 (0,5)*
D.Fêmur mm	8,8(0,8)	8,9(0,7)	8,8 (0,9)	8,4 (0,9)*
CC cm	69,5(7,5)	69,8(9,7)	65,8 (16,5)	65,0(13)
Soma DC mm	23,2(15,8)	22,4(19,1)	24,8 (10,7)	21,2 (7,1)*
% GC	19,2(13,3)	20,8(15,2)	22,5 (8,4)	19,9 (6,1)*
GC Kg	11,4(9,6)	10,4(10,8)	11,3 (7,2)	8,3 (4,1)*
MM Kg	40,5(6,8)	39,5(7,9)	36,6 (10,5)	34,3 (11,5)*
VO² máx. ml/kg/min	45,2 (13,3)	38,4 (16,7)	36,8 (9,8)	40,4 (9,4)
AFH passos/dia	10152 (6037)	10487 (5657)	10892 (5060)	9961 (5251)

*P<0,05 teste Wilcoxon

Na tabela 2 a mesma comparação, agora para variáveis metabólicas, não resultou em diferença estatística. Contudo pode-se observar que os menores valores de mediana foram observados no grupo com menor PN.

Tabela 2 - Comparação intra-par (maior PN versus menor PN) dos componentes metabólicos gêmeos monozigóticos (MZ) divididos pela diferença no PN.

	Diferença PN <10%				Diferença PN >10%			
	Maior PN		Menor PN		Maior PN		Menor PN	
	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)	Mediana (P75-P25)
CT mg/dL	155	54,0	153,0	38,0	163,0	48,0	157,0	45,0
GLI-J mg/dL	85,0	12,0	89,0	14,0	84,0	12,0	84,0	8,0
HDL mg/dL	42,5	16,0	43,5	13,0	42,0	22,0	39,0	10,0
HOMA β UA	106,6	82,5	99,0	77,7	139,8	87,3	121,8	113
HOMA RI UA	1,4	1,1	1,6	0,7	1,6	1,5	1,5	1,2
INS-J uUI/ml	7,0	4,0	6,0	3,0	7,0	7,0	6,0	6,0
LDL mg/dL	93,0	47,0	95,0	43,0	108,0	42,0	103,0	40,0
TG mg/dL	80,5	69,0	75,5	57,0	84,0	45,0	68,0	36,0

*P<0,05 teste Wilcoxon

A segunda etapa dos resultados consistiu na aplicação do modelo multivariado HOMALS. As figuras 1 e 2 são as representações gráficas do modelo. A figura 1 representa a análise de associação para o grupo com diferenças intra-par inferiores à 10% no PN, as variáveis foram categorizadas pela classificação dos gêmeos em maior e menor valor para cada uma. Nota-se que o grupo de Gêmeos com maior PN também apresentava maiores valores de Diâmetro de úmero e fêmur, IMC, MC, CC, %GC, GC kg, SOMA DC, estatura, VO₂ Litros/mim e menor valor de Glicemia Jejum. Já o grupo com menor PN apresentou concomitantemente menores valores de Diâmetro de úmero e fêmur, estatura, MC, CC, %GC, GC kg, SOMA DC, VO₂ Litros/mim e LDL. Contudo neste grupo não foi observada associação entre os índices HOMA RI e Beta com o PN.

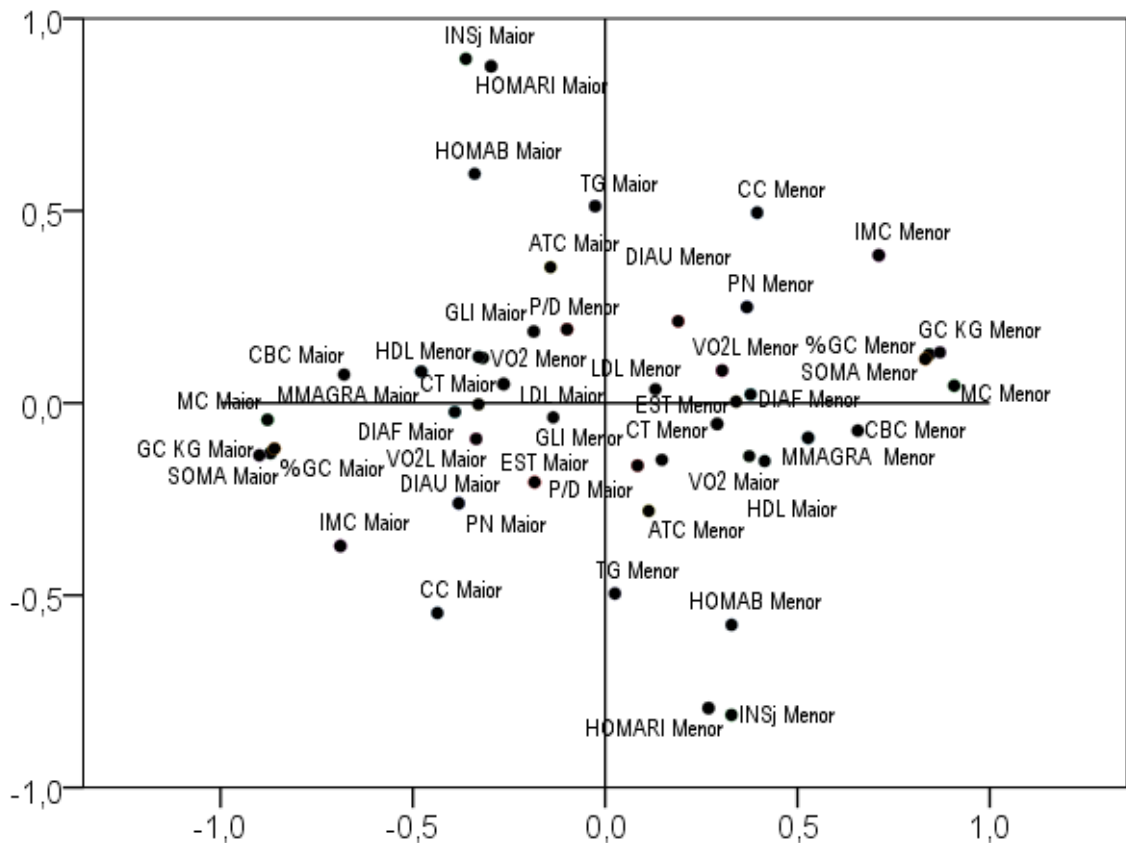


Figura 1 – Análise de correspondência múltipla HOMALS: associação entre variáveis morfológicas, Peso de Nascimento, Aptidão cardiorrespiratória, AFH, e metabolismo para o grupo com diferença intra-par no PN inferior a 10%.

A figura 2 representa a análise de associação para o grupo com diferenças intra-parsuperior à 10% no PN. Nota-se que o grupo de Gêmeos com maior PN também apresentava maiores valores de diâmetro de fêmur, %GC, GC kg, Soma DC, estatura, aptidão cardiorrespiratória ($VO_{2máx}$), CT, Insulina Jejum, HOMA RI e menor valor de LDL. Já o grupo com menor PN apresentou concomitantemente menores valores de diâmetro de fêmur, %GC, GC kg, SOMA DC, estatura, aptidão cardiorrespiratória ($VO_{2máx}$), CT, Insulina em Jejum, HOMA RI e maior valor de LDL.

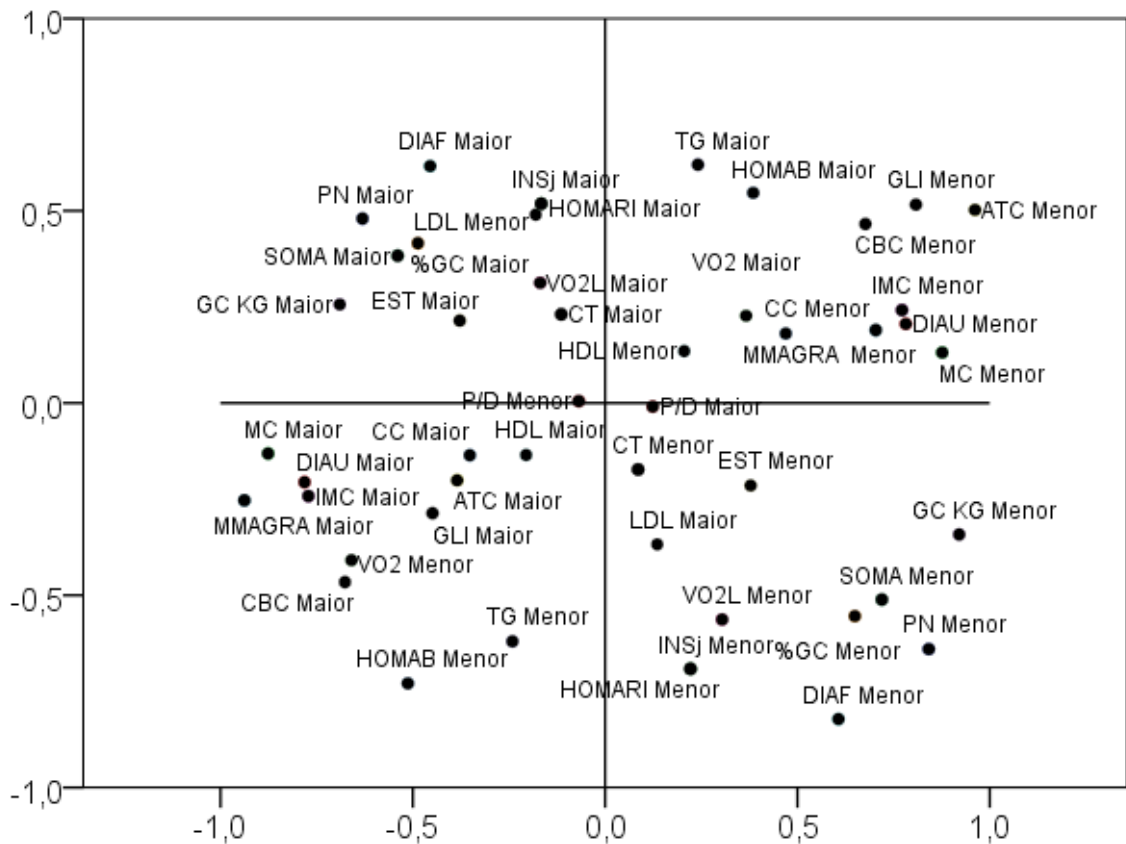


Figura 2 – Análise de correspondência múltipla HOMALS: associação entre variáveis morfológicas, Peso de Nascimento, Aptidão cardiorrespiratória, AFH, e metabolismo para o grupo com diferença intra-par no PN Superior a 10%.

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi investigar a presença de associação nas diferenças fenotípicas entre os irmãos (correspondências) e a possível relação destas associações com o peso de nascimento. Tendo em vista os conceitos da origem fetal das doenças, o foco principal da pesquisa foi determinar as associações entre aptidão cardiorrespiratória, atividade física habitual e composição corporal com o índice de resistência à insulina.

Nas primeiras comparações, irmão versus irmão, separados pelo percentual de diferença intra-par no peso de nascimento, pode-se observar diferença estatisticamente significativa na comparação do PN nos dois grupos. Este resultado mostra que mesmo no grupo onde as diferenças são menores que 10% o peso de

nascimento apresenta distância considerável entre os irmãos. Contudo, no grupo com diferença no PN <10% não houve diferenças nas variáveis morfológicas nem metabólicas. Inversamente, no grupo com diferença no PN superior a 10% foi observada diferença significativa na MC, Estatura, IMC, Altura TC, diâmetro Úmero e Fêmur, Soma DC, %GC, GC kg, MM. Para todas as variáveis os menores valores foram observados no grupo com menor peso de nascimento. Este resultado é diferente da maioria dos estudos no tema, que, por sua vez encontraram gordura corporal superior nos sujeitos com peso de nascimento menor (HUXLEY et al., 2004; YU et al., 2011; SCHELLONG et al., 2012).

Nas mesmas comparações notou-se ausência de diferenças significativas nas variáveis de $VO_{2\text{máx}}$ e AFH. Este resultado sugere que as diferenças de peso de nascimento não modificaram o comportamento para atividade física e exercício físico nesta amostra.

Uma vez observadas diferenças morfológicas resultantes da discordância intra-par no PN, pode-se, para este estudo, sugerir que aptidão cardiorrespiratória e atividade física habitual apresentaram pouco impacto nas diferenças da composição corporal, isto porque não apresentaram diferenças significativas na mesma comparação. Contudo, sabe-se que os comportamentos relacionados à atividade e capacidade física podem modificar de maneira significativa a quantidade de gordura corporal e algumas medidas da composição corporal (MILLER et al., 2013; DE MIGUEL ETAYO et al., 2013).

Considerando o processo de comparação uma análise isolada (univariada), os resultados multivariados observados na utilização da técnica HOMALS podem estabelecer uma nova perspectiva sobre as associações entre as discordâncias comportamentais com as diferenças morfológicas e metabólicas. Nesta análise, em resumo, os gêmeos com menor peso de nascimento apresentaram menores valores nas variáveis morfológicas. E, apenas para o grupo dos gêmeos com diferenças no PN superiores a 10%, foram observadas associações entre as variáveis metabólicas, aptidão cardiorrespiratória e atividade física habitual.

Detalhadamente, no grupo de Gêmeos com diferenças intra-par inferior à 10% no PN, os gêmeos com maior PN também apresentavam maiores valores de Diâmetro de Úmero e Fêmur, IMC, MC, CC, %GC, GC kg, SOMA DC, estatura, VO_2 Litros/mim e menor valor de Glicemia Jejum. Já, o grupo com menor PN apresentou concomitantemente menores valores de Diâmetro de úmero e Fêmur, Estatura, MC,

CC, %GC, GC kg, SOMA DC, estatura, VO₂ Litros/mim e LDL. Para este grupo, no entanto, não foi observada associação entre os índices HOMA RI e Beta ao PN.

Surpreendentemente, no grupo com diferenças intra-parsuperior à 10% no PN, os gêmeos com maior PN apresentaram maiores valores de Diâmetro de Fêmur, %GC, GC kg, SOMA DC, estatura, aptidão cardiorrespiratória (VO₂^{máx}), CT, Insulina Jejum, HOMA RI e menor valor de LDL. Inversamente, o grupo com menor PN apresentou menores valores de Diâmetro de Fêmur, %GC, GC kg, SOMA DC, estatura, aptidão cardiorrespiratória (VO₂^{máx}), CT, Insulina Jejum, HOMA RI e maior valor de LDL.

As observações deste estudo podem ser explicadas por duas perspectivas: na primeira os irmãos com menores valores de PN não apresentam características econômicas, ou seja, a programação fetal para originar a doença não foi estabelecida com base em alterações dependentes da modulação no tecido adiposo, como descrito na teoria do surgimento fetal das doenças (BARKER et al., 1990; BARKER, 2005; LANGLEY-EVANS, 2006). Isto porque as diferenças observadas no nascimento, no tamanho e peso permaneceram na juventude. Contudo, os gêmeos com menor PN também apresentam menor volume estimado de massa magra, o que em parte é concordante com a literatura (BARKER et al., 1990; BARKER, 2005; LANGLEY-EVANS, 2006). A segunda perspectiva é que os gêmeos ainda não tiveram tempo de vida suficiente para que haja uma inversão das diferenças iniciadas na gestação. Considerando o fato de esta possibilidade ser plausível na juventude, o caso de inversão na quantidade de gordura corporal seria mais provável que a de massa magra, assim confirmando a teoria.

Com base nos resultados do presente estudo é possível sugerir que a programação fetal das doenças pode não depender da alteração compensatória na composição corporal ao final da infância e início da adolescência. Por sua vez, a origem fetal das doenças pode estar relacionada a diferenças epigenéticas na sinalização celular, seja para agentes inflamatórios ou hormonais decorrentes da redução de fornecimento de nutrientes na fase gestacional, especialmente proteínas, modificando a produção de tecido muscular e provavelmente sua composição na membrana celular (CHRISTENSEN et al., 2015; RODRÍGUEZ et al., 2015; VAHID et al., 2015). Neste estudo, no entanto os jovens com PN maior apresentaram maiores valores nos componentes metabólicos relacionados às doenças como DM2 e

resistência à insulina, comparado ao seu irmão com menor valor de PN, discordando das explicações explicitadas pela base teórica.

É importante destacar que as explicações e resultados deste estudo devem considerar as seguintes limitações: a característica observacional analítica e transversal. E, a utilização de marcadores e índices, mesmo que com validade aceita, podem gerar dúvidas na discussão dos resultados. Neste sentido, a utilização do índice HOMA, por ser uma estimativa da real situação metabólica, pode ser considerada uma limitação. Entretanto, além das limitações o presente estudo possui pontos fortes que favoreceram a afirmação dos resultados e, destaca-se a metodologia controlada pela comparação de gêmeos monozigóticos que permite o isolamento das observações, com pouca ou nenhuma influência da hereditariedade e o modelo analítico multivariado que permite visualizar as associações pouco evidentes em modelos univariados.

CONCLUSÃO

O peso de nascimento em gêmeos está associado aos marcadores metabólicos da resistência à insulina e explica as diferenças morfológicas entre os irmãos. Contudo, a origem das doenças a partir do baixo peso de nascimento, dependente de alterações compensatórias na quantidade de gordura corporal na juventude, não foi confirmando presente estudo. O exercício físico e a composição corporal, especialmente gordura corporal e massa magra, são componentes moduladores do processo de doenças metabólicas programadas na fase gestacional. Entretanto, as associações entre as variáveis metabólicas, morfológicas e comportamentais, sugerem que a origem fetal das doenças metabólicas pode ocorrer a nível molecular sem necessariamente modificar o fenótipo.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, M. F.; SANTOS, J. A. DOS; HIRABARA, S. M.; et al. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? **Experimental physiology**, v. 94, n. 8, p. 906–13, 2009.
- ANDERSSON, S. A., COOPER, A. R., RODDOCH, C., SARDINHA, L.B., HARRO, M., BRAGE S., ANDERSEN, L. B., Low cardiorespiratory fitness is a strong predictor for clustering of cardiovascular disease risk factors in children independent of country, age and sex. **European Journal Cardiovasc Preventive Rehabilitation**, v. 14, n. 4, p. 526-31, 2007.
- BARKER, D. J. P. The developmental origins of insulin resistance. **Hormone research**, v. 64 Suppl 3, n. suppl 3, p. 2–7, 2005.
- BARKER, D. J.; BULL, A.; OSMOND, C.; SIMMONDS, S. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **British medical journal**, v. 301, n. 6746, p. 259–62, 1990.
- BELL, J. T.; SAFFERY, R. The value of twins in epigenetic epidemiology. **International Journal of Epidemiology** n. January, p. 140–150, 2012.
- BELL, L. M., WATTS K., SIAFARIKAS A. et al. Exercise Alone Reduces Insulin Resistance in Obese Children Independently of Changes in Body Composition. **Journal Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 92, n. 11, p. 4230-4235, 2007.
- BELTRAND, J.; LÉVY-MARCHAL, C. Pathophysiology of insulin resistance in subjects born small for gestational age. **Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism**, v. 22, n. 3, p. 503–15, 2008.
- BORG GAV, Et Al. Psychophysical Bases Of Perceived Exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:1982.
- BORG, G. A. V. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine Science and Sports Exercise**, v. 14, n. 5, p.377-381, 1982.
- CHRISTENSEN, K. E., MIKAEL, L. G, LEUNG K. Y. et al. High folic acid consumption leads to pseudo-MTHFR deficiency, altered lipid metabolism, and liver injury in mice. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, n. 3, p. 646-58, 2015.
- CLARIS, O.; BELTRAND, J.; LEVY-MARCHAL, C. Consequences of intrauterine growth and early neonatal catch-up growth. **Seminars in perinatology**, v. 34, n. 3, p. 207–10, 2010.
- De FERRANTI SD, OSGANIAN SK. Epidemiology of Pediatric Metabolic Syndrome And Type 2 Diabetes Mellitus. **Diab Vasc Dis Res** 2007;4:285–96.
- De MIGUEL-ETAYO, P., MORENO, L. A., IGLESIA. I., BEL-SERRAT, S., MOURATIDOU, T., GARAGORRI, J. M. Body composition changes during interventions to treat overweight and obesity in children and adolescents; a descriptive review. **Nutrición hospitalaria**, v. 28 n. 1, p 52-62, 2013.

DIAS PITANGUEIRA, J. C.; RODRIGUES SILVA, L.; PORTELA DE SANTANA, M. L.; et al. Metabolic syndrome and associated factors in children and adolescents of a Brazilian municipality. **Nutrición hospitalaria**, v. 29, n. 4, p. 865–72, 2014.

EISENMANN, J. C., WELK, G. J., IHMELS, M., DOLLMAN, J. Fatness, fitness, and cardiovascular disease risk factors in children and adolescents. **Medicine Science and Sports Exercise**, v. 39 n. 8, p. 1251-6, 2007.

FALKNER, B.; COSSROW, N. D. F. H. Prevalence of metabolic syndrome and obesity-associated hypertension in the racial ethnic minorities of the United States. **Current hypertension reports**, v. 16, n. 7, p. 449, 2014.

FERRANTI, S. D. DE; OSGANIAN, S. K. Epidemiology of paediatric metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. **Diabetes & vascular disease research : official journal of the Int Soc of Diabetes and Vasc Disease**, v. 4, n. 4, p. 285–96, 2007.

FOLEY, D. L.; CRAIG, J. M.; MORLEY, R.; et al. Review Prospects for Epigenetic Epidemiology. **American journal of epidemiology**, v. 169, n. 4, p. 389–400, 2009.

FRIEDEWALD WT, Et Al. Estimation Of The Concentration Of Low Density Lipoproteins Cholesterol In Plasma Without Use Of The Ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499–502.

GARG, A. X.; HACKAM, D.; TONELLI, M. Systematic review and meta-analysis: when one study is just not enough. **Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN**, v. 3, n. 1, p. 253–60, 2008.

GIANNINI, D. T.; KUSCHNIR, M. C. C.; SZKLO, M. Metabolic Syndrome in Overweight and Obese Adolescents: A Comparison of Two Different Diagnostic Criteria. **Annals of nutrition and metabolism**, v. 64, n. 1, p. 71–79, 2014.

GOLDSTEIN, B. J. Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus. **American Journal of cardiology**, v. 90, n. Suppl, p. 3G–10G, 2002.

GORDON CC, CHUMLEA WC, ROCHE AF. Stature, recumbent length, and weight. In: LOHMAN TG, ROCHE AF, MARTORELL R, editors. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics Books; 1988. p. 3-8.

GRIMES, D. A.; SCHULZ, K. F. An overview of clinical research: the lay of the land. **The Lancet**, v. 359, p. 57–61, 2002.

GUEDES DP, GUEDES JERP. Manual prático para avaliação em Educação Física. São Paulo: Manole; 2006.

HALLES, C.; BARKER, D.; CLARK, P.; et al. Fetal and infant growth an impaired glucose tolerance at age 64. **British medical journal**, v. 303, p. 1019–1022, 1991.

HERNÁNDEZ, M.; MERICQ, V. Metabolic syndrome in children born small-for-gestational age. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & ...**, v. 55, n. 8, p. 583–589, 2011.

HILL, A.; JEFFREYS, A. Use of minisatellite DNA probes for determinatins of twin zigosity at birth. **The Lancet**, v. 29, n. 280, p. 1394–1395, 1985.

HOPKINS, S. A.; BALDI, J. C.; CUTFIELD, W. S.; MCCOWAN, L.; HOFMAN, P. L. Exercise training in pregnancy reduces offspring size without changes in maternal insulin sensitivity. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 95, n. 5, p. 2080–8, 2010.

HUXLEY, R.; OWEN, C. G.; WHINCUP, P. H.; et al. Birth Weight and Subsequent. **Journal of american medical association**, v. 292, n. 22, p. 2755–2764, 2004.

JUHL, M.; OLSEN, J.; ANDERSEN, P. K.; NØHR, E. A.; ANDERSEN, A.-M. N. Physical exercise during pregnancy and fetal growth measures: a study within the Danish National Birth Cohort. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 202, n. 1, p. 63.e1–8, 2010.

KARPE, F.; DICKMANN, J. R.; FRAYN, K. N. Fatty acids, obesity, and insulin resistance: time for a reevaluation. **Diabetes**, v. 60, n. 10, p. 2441–9, 2011.

LANGLEY-EVANS, S. Developmental programming of health and disease. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, n. 1, p. 97–105, 2006.

LAWLOR, D. A; BENFIELD, L.; LOGUE, J.; et al. Association between general and central adiposity in childhood, and change in these, with cardiovascular risk factors in adolescence: prospective cohort study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 341, p. c6224, 2010.

MAIA, J. Análise de dados gemelares : uma aventura guiada para investigadores das Ciências do Desporto. **Revista Brasileirade Educação Física e Esporte**, p. 351–368, 2011.

MATTHEWS, D. R. H. J. et al. Homeostasis model assessment, insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, New York, v. 28, p. 412-19, 1985.

MEAS, T. Fetal origins of insulin resistance and the metabolic syndrome: a key role for adipose tissue? **Diabetes & metabolism**, v. 36, n. 1, p. 11–20, 2010.

MILLER, C. T., FRASER, S. F., LEVINGER, I., STRAZNICKY N.E., DIXON J. B., REYNOLDS, J., SELIG, S.E. The effects of exercise training in addition to energy restriction on functional capacities and body composition in obese adults during weight loss: a systematic review. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. 2013.

MONTEIRO, A.; PAES, S.; SANTOS, J.; LIRA, K. D.; MORAES, S. R. Effects of physical exercise during pregnancy and protein malnutrition during pregnancy and lactation on the development and growth of the offspring's femur. **Jornal de Pediatria**, v. 86, n. 3, p. 233–238, 2010.

NG, J. W.; BARRETT, L. M.; WONG, A.; et al. The role of longitudinal cohort studies in epigenetic epidemiology: challenges and opportunities. **Genome biology**, v. 13, n. 6, p. 246, 2012.

NICHOLAS C; BARKER, D. J. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical bulletin**, v. 60, p. 5–20, 2001.

OLIVEIRA, A O.; FILETO, C.; MELIS, M. S. Effect of strenuous maternal exercise before and during pregnancy on rat progeny renal function. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 37, n. 6, p. 907–11, 2004.

OSMOND, C.; BARKER, D. J. Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. **Environmental health perspectives**, v. 108 Suppl 3, n. June, p. 545–53, 2000.

PHILLIPS, D.I.W.; DAVIES, M.J.; ROBINSON, J.S. fetal growth and the fetal origins hypothesis in twins - problems and perspectives. **Twin Research**, v. 4 n. 5 p 327-331, 2001.

PULGARON, E. R.; DELAMATER, A. M. Obesity and type 2 diabetes in children: epidemiology and treatment. **Current diabetes reports**, v. 14, n. 8, p. 508, 2014.

REUSCH, J. E. B. Current Concepts in Insulin Resistance , Type 2 Diabetes Mellitus, and the Metabolic Syndrome: factor for coronary artery. **American Journal of cardiology**, v. 90, n. suppl, p. 19–26, 2002.

RIZZO, N. S.; RUIZ, J. R.; OJA, L.; VEIDEBAUM, T.; SJÖSTRÖM, M. Associations between physical activity, body fat, and insulin resistance (homeostasis model assessment) in adolescents: the European Youth Heart Study. **The American Journal of clinical nutrition**, v. 87, n. 3, p. 586–92, 2008.

RODRIGUES, N. A., PEREZ, A.J., CARLETTI, L., BISSOLI, N. S., ABREU, G. R. Aptidão cardiorrespiratória e associações com fatores de risco cardiovascular em adolescentes. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 5, p. 429-435, 2007.

RODRÍGUEZ, L., PANADERO, M.I., ROGLANS N. Fructose only in pregnancy provokes hyperinsulinemia, hypo adiponectinemia, and impaired insulin signaling in adult male, but not female, progeny. **European Journal of Nutrition**, v.26, n. 3, p 110-120, 2015

RUIZ, J. R.; RIZZO, N. S.; ORTEGA, F. B.; et al. Markers of insulin resistance are associated with fatness and fitness in school-aged children: the European Youth Heart Study. **Diabetologia**, v. 50, n. 7, p. 1401–8, 2007.

RYDER, J. R.; VEGA-LÓPEZ, S.; DJEDJOS, C. S.; SHAIBI, G. Q. Abdominal adiposity, insulin resistance, and oxidized low-density lipoproteins in Latino adolescents. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 5, n. 1, p. 72, 2013.

SCHELLONG, K.; SCHULZ, S.; HARDER, T.; PLAGEMANN, A. Birth weight and long-term overweight risk: systematic review and a meta-analysis including 643,902 persons from 66 studies and 26 countries globally. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e47776, 2012.

SIEBEL, A. L.; CAREY, A. L.; KINGWELL, B. A. Can exercise training rescue the adverse cardiometabolic effects of low birth weight and prematurity? **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 39, n. 11, p. 944–57, 2012.

SIEBEL, A. L.; CAREY, A. L.; KINGWELL, B. A. Can exercise training rescue the adverse cardiometabolic effects of low birth weight and prematurity? **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 39, n. 11, p. 944–57, 2012.

SILVEIRA, V.; HORTA, B. Birth weight and metabolic syndrome in adults: meta-analysis. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 1, p. 10–18, 2008.

SISSON, S.B., CHURCH, T.S., MARTIN, C. K. et al. Profiles of sedentary behavior in children and adolescents: The US National Health and Nutrition Examination Survey, 2001-2006. **International Journal of Pediatric Obesity**, v. 4, n.4, p 353–359, 2009.

SISSON, S.B., CHURCH, T.S., MARTIN, C. K. et al. Profiles of sedentary behavior in children and adolescents: The US National Health and Nutrition Examination Survey, 2001-2006. **International Journal of Pediatric Obesity**, v. 4, n.4, p 353–359, 2009.

SLAUGHTER, M.H.; LOHMAN, T.G.; BOILEAU, R.A.; HORSWILL, C.A.; STILLMAN, R.J.; VAN LOAN, M.D.; BEMBEN, D.A. Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youths. **Human Biology**, Detroit, v.60, p.709-23, 1988.

TANNER, J.M.; Growth at adolescence. **Oxford: Blackwell Scientific**; 1962.

VAHID, F., ZAND, H., NOSRAT-MIRSHEKARLOU, E., NAJAFI, R., HEKMATDOOST, A. The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: A review. **Gene**, v. 562, n. 1, p. 8-15, 2015.

VAHID, F., ZAND, H., NOSRAT-MIRSHEKARLOU, E., NAJAFI, R., HEKMATDOOST, A. The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: A review. **Gene**, v. 562, n. 1, p. 8-15, 2015.

VASQUES, C., MOTA, M., CORREIA, T., LOPES, V. Prevalence of overweight/obesity and its association with sedentary behavior in children. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 31, n. 12 p 783-88, 2012.

WATERLAND, R. A; MICHELS, K. B. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. **Annual review of nutrition**, v. 27, p. 363–88, 2007.

WEI M, GIBBONS L. The Association Between Cardiorespiratory Fitness And Impaired Fasting Glucose And Type 2 Diabetes Mellitus In Men. *Ann Intern Med* 1999;130:89–96.

WHINCUP, P.; KAYE, S.; OWEN, C. Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review. **JAMA**, v. 300, n. 24, p. 2886–2897, 2008.

YU ZB, HAN SP, ZHU GZ, ZHU C, WANG XJ, Cao XG, Et Al. Birth Weight And Subsequent Risk Of Obesity: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Obes Rev* 2011;12:525–42.

APÉNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96

Os professores Marcos Roberto Queiroga e Ricardo Augusto Barbieri estão desenvolvendo estudos que visam identificar a **Interações entre atividade física e aptidão física na herdabilidade de marcadores moleculares e bioquímicos relacionados à sensibilidade à insulina: estudo em gêmeos**. Para tanto, convidam seus filhos(as) gêmeos(as) _____ e _____

a participarem mediante vossa autorização (Pai/Mãe ou responsável maior de 18 anos) _____. O objetivo dessas pesquisas são o de verificar o quanto a prática de atividade física pode reduzir o risco de desenvolver doenças associadas com o metabolismo da glicose, como o diabetes tipo 2. A rotina de avaliações constará das seguintes medidas:

- 1) Medidas de pressão arterial, massa corporal, estatura e dobras cutâneas.
- 2) Coleta de sangue em jejum e após duas horas para análises bioquímicas (teores de glicose, insulina, lipídios, GH, leptina, adiponectina, peptídeo C, cortisol e glucagon) e de expressão de genes e polimorfismos genéticos.
- 3) Questionários de identificação sobre prática de atividades física e de zigosidade.
- 4) Avaliação do estágio maturacional mediante características sexuais secundárias a partir da observação uma ficha contendo fotos com diversos estágios de desenvolvimento dos pêlos pubianos e genitálias para os meninos enquanto as meninas relatarão a presença ou ausência de menarca e estágios desenvolvimento mamário.
- 5) Por fim, os gêmeos(as) realizarão uma bateria de testes para determinar seus índices de aptidão física.

Os desconfortos e riscos dos testes são aqueles associados com a uma prática esportiva regular ou coleta de sangue tradicional. Durante a realização do exercício os avaliados poderão sentir-se ofegantes, com a respiração e o coração em ritmo acelerado. Havendo qualquer desconforto que impossibilite a realização dos testes ou das medidas poderá ser solicitado a interrupção em qualquer das etapas. Após a coleta de sangue poderá surgir discretos hematomas decorrentes da perfuração. A participação na pesquisa é voluntária e seus filhos(as) poderão abandoná-la de acordo com seus desejos sem qualquer tipo de prejuízo ou punição.

As informações coletadas nas avaliações serão confidencialmente estudadas e serão utilizadas somente para fins de pesquisa científica. Após as explicações e leitura deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, se alguma dúvida ainda persistir ou se você julgar necessárias informações adicionais sobre qualquer aspecto deste projeto de pesquisa sinta-se à vontade para que possa esclarecer de forma satisfatória.

Eu _____ RG _____ gênero _____

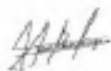
Nascido(a) ____/____/____ residente a Rua/AV _____ nº _____

Bairro _____ CEP _____ Telefone () _____ recebi cópia do presente

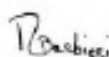
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e permito meus filhos(as) participarem da pesquisa realizada pelo Doutorando Marcos Roberto Queiroga, RG 4.209.962-7 e o mestrando Ricardo Augusto Barbieri, RG 32.829.917-0 pertencentes a Universidade Estadual Paulista - Campus de Rio Claro do Instituto de Biotecnologia. Endereço: Av: 10 A, 336, Bela Vista; CEP: 13.506-731. Telefone: 19-3525-6264/3526-4307 orientados pelo Prof. Dr. Eduardo Kokubun.

Rio Claro, _____ de _____ de 2009

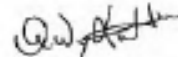
Assinatura do responsável



Marcos Roberto Queiroga




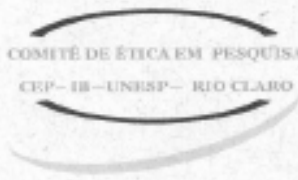
Ricardo Augusto Barbieri



Dr. Eduardo Kokubun

ANEXOS

ANEXO A
APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Câmpus de Rio Claro	 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA CEP-IB-UNESP- RIO CLARO
---	--	---

Protocolo nº: 5093 (20-08-09)
Data Registro CEP: 21-08-2009

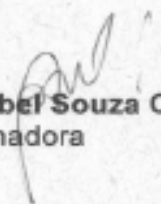
Rio Claro, 1º de setembro de 2009.

Ofício CEP 110/2009

Prezado Senhor,

Aprovo "*ad referendum*" do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Rio Claro (CEP-IB-UNESP), o projeto de pesquisa intitulado "*Interações entre atividade física e aptidão física na herdabilidade de marcadores moleculares e bioquímicos relacionados à sensibilidade à insulina: estudo em gêmeos*", sob sua responsabilidade –colaboradores: Mário Hiroyuki Hirata; Marcos Roberto Queiroga e Ricardo Augusto Barbieri, protocolo 5093 de 20.08.2009, data de registro CEP 21.08.2009.

Atenciosamente,


Prof. Dra. Maria Izabel Souza Camargo
 Coordenadora

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. EDUARDO KOKUBUN
 DD. Docente do Departamento de Educação Física – I.B.
 UNESP - CRC

Instituto de Biociências – Seção Técnica Acadêmica
 Avenida 24-A nº 1515 - CEP 13506-900 – Rio Claro - S.P. – Brasil - tel 19 3525-4105 - fax 19 3534-0008 - http://www.rc.unesp.br