

Risco de distúrbio glicêmico em mulheres idosas ajustado por antropometria e genótipos de citocinas

APARECIDO PIMENTEL FERREIRA¹, CRISTIANE BATISTI FERREIRA², VINÍCIUS CAROLINO SOUZA³, AUDREY CECÍLIA TONET FURIOSO⁴, JULIANA OLIVEIRA TOLEDO⁵, CLAYTON FRANCO MORAES⁶, CLÁUDIO CÓRDOVA⁷, OTÁVIO TOLÊDO NÓBREGA⁸

¹ Doutor em Educação Física; Professor e Coordenador do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa do ICESP/Faculdades Promove de Brasília; Professor e Líder do Grupo de Estudos em Fisiologia do Exercício e Saúde da Universidade Paulista (UNIP), DF

² Graduada em Farmácia; Pesquisadora do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa do ICESP/Faculdades Promove de Brasília, Brasília, DF

³ Bacharel em Biologia; Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UnB; Técnico do Laboratório de Imunogenética da Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasília, DF

⁴ Mestre em Gerontologia, Programa de Pós-graduação em Gerontologia, UCB, e do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF

⁵ Mestre em Gerontologia, Programa de Pós-graduação em Gerontologia, UCB; Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UnB; Professora da Faculdade Lourdes Santana – LS, Brasília, DF

⁶ Mestre em Gerontologia, Programa de Pós-graduação em Gerontologia, UCB, Brasília, DF

⁷ Doutor em Educação Física, Programa de Pós-graduação em Educação Física e Saúde, UCB, Brasília, DF

⁸ Doutor em Patologia Molecular, Professor do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UnB, Brasília, DF

RESUMO

Objetivo: Analisar a associação da intolerância à glicose e do *diabetes mellitus* tipo 2 com as variações alélicas -174 G > C e -308 G > A de IL-6 e TNF- α , respectivamente, à luz de indicadores antropométricos e faixa etária. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal com dados obtidos de 285 mulheres idosas da comunidade, submetidas a exames físicos, bioquímicos e genéticos. **Resultados:** Análise não ajustada para genótipos revelou que idosas com IMC elevado apresentaram risco 1,71 e 2,82 vezes maior para intolerância à glicose e diabetes, respectivamente, enquanto faixa etária e índice de conicidade não apresentaram qualquer valor preditivo. Razões de prevalência para intolerância à glicose e diabetes conforme variantes alélicas de IL-6 e TNF- α não associam genótipos de IL-6 com desregulação glicêmica, a despeito de ajustes para IMC, idade e índice de conicidade. Por outro lado, portadores do alelo A de TNF- α apresentaram 2,06 e 5,58 vezes mais chance de intolerância à glicose e diabetes, respectivamente, comparadas a homozigotas GG no estrato com IMC \leq 27 kg/m². **Conclusão:** Os resultados sugerem que o alelo A do polimorfismo -308 G > A de TNF- α predis põe a distúrbios do metabolismo glicêmico em mulheres idosas de um modo sensível a medidas antropométricas.

Unitermos: Idoso; resistência à insulina; citocinas; polimorfismo genético; antropometria.

SUMMARY

Risk of glycemic disorder in elderly women adjusted by anthropometric parameters and cytokine genotypes

Objective: The objective of the present study was to examine the association of glucose intolerance and type-2 *diabetes mellitus* with the -174 G > C and -308 G > A allelic variations of IL-6 and TNF- α , respectively, through anthropometric measurements and age strata. **Methods:** This is a cross-sectional study using data from 285 community dwelling elderly women who underwent physical, biochemical, and genetic examinations. **Results:** Genotype-unadjusted analysis revealed that the risk of glucose intolerance and diabetes in elderly women with elevated BMI was 1.71 and 2.82 times higher, respectively, whereas age and conicity index did not show predictive value. Prevalence ratios for glucose intolerance and diabetes across allelic variants of IL-6 and TNF- α did not associate IL-6 with unbalanced glucose levels, despite adjustment for BMI, age, and conicity index. Conversely, carriers of the TNF- α A allele were 2.06 and 5.58 times more likely to exhibit glucose intolerance and diabetes, respectively, compared to GG homozygotes. **Conclusion:** Our results suggest that bearing the A allele of the -308 G > A polymorphism of TNF- α predisposes to anthropometric measure-sensitive impaired glucose metabolism in older women.

Keywords: Elderly health; insulin resistance; cytokines; polymorphism, genetic; anthropometry.

Trabalho realizado na Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasília, DF

Artigo recebido: 14/04/2011
Aceito para publicação: 30/06/2011

Suporte Financeiro:
CNPq (processos 484318/2006-3 e 402699/2007-6), FAPDF (processos 193.000.309/2007 e 193.000.449/2008)

Correspondência para:
Otávio Tolêdo Nóbrega
Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas
Faculdade de Medicina
Universidade de Brasília – UnB
Campus Universitário Darcy Ribeiro
Asa Norte, Brasília – DF
Cep: 70910-900
Tel: (61) 3307-2520
nobrega@pq.cnpq.br;
otavionobrega@unb.br

Conflito de interesse: Não há.

©2011 Elsevier Editora Ltda.
Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

O aumento do número de pessoa com idade superior a 60 anos é um fenômeno visível em quase todos os países do mundo. No Brasil, o último censo demográfico realizado aponta para a possibilidade de o número de idosos no país ultrapassar 30 milhões¹, devendo representar quase 13% da população². É sabido que o envelhecimento expõe as pessoas a maior prevalência de doenças crônicas, com destaque para o *diabetes mellitus* tipo 2, que acomete 17,4% da população entre 60 e 69 anos, segundo censo realizado entre 1986 e 1988³. Sua elevada ocorrência, somada às várias complicações clínicas decorrentes de distúrbios macro e microvasculares, torna essa doença um problema de magnitude pública.

Entre as variáveis antropométricas comumente preditoras dos distúrbios endócrino-metabólicos, podem-se destacar o índice de massa corporal (IMC) e o índice de conicidade (ICo)^{4,5}. Apesar da eminente relação entre idade e desregulação de níveis glicêmicos, causas primárias e contributos para as alterações desse aspecto do metabolismo humano permanecem em debate. As possibilidades etiológicas discutidas na atualidade envolvem aspectos relacionados com o estilo de vida por dieta inadequada e inatividade física, fatores estreitamente relacionados com obesidade⁶, assim como deficiência endócrina por exaustão de células β e/ou interferência humoral idiopática na captação da glicose pelas células^{7,8}, com possíveis contribuições alelo-específicas por importantes mediadores inflamatórios⁹⁻¹².

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo analisar a associação do IMC, do ICo e da idade com os fenótipos da intolerância à glicose e o *diabetes mellitus* tipo 2 em mulheres idosas, considerando a influência de variações alélicas clássicas dos genes para IL-6 e TNF- α .

MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal de caráter analítico com dados obtidos de 285 mulheres idosas (≥ 60 anos) recrutadas consecutivamente da comunidade para participação em estudo de coorte conduzido entre 2005 e 2008, cujo protocolo foi aprovado por comitê de ética em pesquisa institucional. Todas assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. Nenhuma idosa realizava acompanhamento nutricional ou praticava exercícios físicos regularmente antes da obtenção dos resultados laboratoriais e antropométricos apresentados.

EXAME FÍSICO E BIOQUÍMICO

O exame físico foi realizado com cada paciente em uso de roupas leves. A estatura foi medida utilizando-se estadiômetro manual acoplado à parede, com a paciente descalça e ereta sobre solo plano e rígido e os braços pendentes ao longo do corpo. O índice de massa corpórea (IMC) foi obtido pela razão entre a massa corporal (em kg) e o quadrado

da estatura (em m²), e o índice de conicidade (ICo) foi estimado como 9,17 vezes a razão entre a circunferência da cintura enquanto numerador (em m) e a raiz quadrada da razão entre massa corporal (em kg) e a estatura (em m) enquanto denominador.

A avaliação bioquímica consistiu na dosagem sérica da glicemia após jejum de 12 horas, usando reagentes da empresa Roche® (EUA). Como critério para classificação do diabetes tipo 2, utilizou-se valor de referência (≥ 126 mg/dL) preconizado pela *American Diabetes Association*¹³ ou uso corrente de hipoglicemiante oral ou insulina. Estado de intolerância à glicose foi definido como glicemia ≥ 100 mg.dL⁻¹ ou presença de diabetes, conforme preconizado pela *International Diabetes Federation*^{14,15}.

ANÁLISES LABORATORIAIS

Para determinação dos alelos de IL-6, uma região de 628 pb do gene contendo o polimorfismo de base única (SNP – *single nucleotide polymorphism*) -174 G > C da região promotora (rs1800795) foi amplificada usando um par de oligonucleotídeos: 5'-GAACACAGAAGAAGCTCAGATGACTGG-3' (direto) e 5'-AGGAGTTCATAGCTGGGCTCCTGGAG-3' (reverso). Já a variabilidade do gene TNF- α foi estudada mediante amplificação de um fragmento de 327 pb contendo o SNP -308 G > A (rs1800629) da região promotora do gene, usando os oligonucleotídeos A (5'-CCTCAAGCCTGCCACCAAGC-3'; direto) e B (5'-TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3'; reverso). Cada reação individual era composta por: 100 ng de DNA; 10 mM Tris-HCL pH 9,2; 25 mM KCL; 1,5 mM MgCl₂; 0,2 mM dNTP; 20 pmol de cada oligonucleotídeo; 0,5 mg de ovalbumina; e uma unidade de *Taq* DNA polimerase (Phoneutria, Minas Gerais, Brasil) em um volume final de 50 μ L. Após *hot start* por 1 min a 80°C e uma etapa inicial de desnaturação por 2 min a 94°C, cada ciclo de amplificação consistiu em 40 s a 94°C, 45 s a 64°C e 50 s a 72°C repetido por 36 vezes e finalizado por uma etapa de extensão a 72°C por 5 min. Cada produto de PCR foi diretamente sequenciado em sistema ABI PRISM 3130 DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, EUA), usando o oligonucleotídeo 5'-GCCTCAGAGACATCTCCAGTCC-3' para produtos de IL-6 e o oligonucleotídeo A para produtos de TNF- α . Cada sequência obtida foi examinada usando o pacote de programas em bioestatística *Staden* (MRC, Cambridge, Reino Unido) e confirmada por inspeção visual.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes à caracterização da amostra são apresentados em média e desvio-padrão ou por frequência relativa. Calculou-se a prevalência geral de intolerância à glicose e o diabetes em cada estrato (idade ≤ 65 anos e > 65 anos, IMC ≤ 27 kg/m² e > 27 kg/m², índice de conicidade $\leq 1,25$ e $> 1,25$), assim como a prevalência dos genótipos de IL-6 e de TNF- α em cada estrato. Utilizou-se o teste do

qui-quadrado para identificação das diferenças frequentiais entre estratos. Em seguida, foram determinadas as razões de prevalência (RP) relativas à intolerância à glicose e ao diabetes de forma dicotômica nos estratos eleitos para estudo (estrato inferior = 0 e estrato superior = 1). Adicionalmente, foram criadas variáveis *dummy* para comparação entre estratos assumindo o estrato inferior como grupo de referência (estrato inferior = 0) e os outros estratos de cada variável estudada para os polimorfismos da IL-6 e TNF, sendo IL-6 (GG = 0 e GC e CC = 1), TNF (GA e AA = 0 e GG = 1) e quando analisados os genes conjuntamente (GG para IL-6 e GA e AA para TNF = 0 e as demais combinações = 1). As diferenças foram observadas através do teste de Mantel-Hanzel. Utilizou-se o intervalo de confiança de 95%. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Stata, versão 7.0.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta a caracterização da amostra por meio do perfil etário, antropométrico e de variáveis representativas do metabolismo glicêmico das mulheres idosas que participaram do estudo.

Tabela 1 – Características de base da amostra

Variável	Média ± Desvio-padrão
n (idosas)	285
Idade (anos)	67,8 ± 6,1
Peso (kg)	93,9 ± 10,8
Estatura (m)	1,52 ± 0,10
IMC (kg/m ²)	27,5 ± 4,3
ICo (m)	1,29 ± 0,10
Glicemia (mg.dL ⁻¹)	106,3 ± 29,4
Intolerância à glicose (%)	27,6
Diabetes (%)	16,8

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade.

Considerando o valor médio exibido pelas variáveis idade, IMC e ICo, decidiu-se pela dicotomização da amostra (idade ≤ 65 anos ou > 65 anos, IMC ≤ 27 kg/m² ou > 27 kg/m², índice de conicidade ≤ 1,25 ou > 1,25) para as análises subsequentes. Assim sendo, as estatísticas que comparam a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre os grupos da amostra são apresentadas na Tabela 2. Nesta análise, idade e ICo não apresentaram valor preditivo para intolerância à glicose ou diabetes. Entretanto, o grupo de idosas portadoras de IMC > 27 kg/m² apresentou 1,71 e 2,82 vezes mais chances de apresentar intolerância à glicose e diabetes, respectivamente.

Quando analisadas as razões de prevalência para intolerância à glicose e o diabetes, conforme variantes dos genes IL-6 e TNF- α , e ajustadas para IMC, idade e ICo, percebe-se que nenhum genótipo de IL-6 se mostrou *per se* como fator de risco ou proteção para desregulação gli-

cêmica (Tabela 3). Por outro lado, portadores do alelo A de TNF- α apresentaram 2,06 e 5,58 vezes mais chance de apresentar intolerância à glicose e diabetes, respectivamente, quando comparados com homozigotos GG no estrato de pessoas com IMC ≤ 27 kg/m² (Tabela 4).

Tabela 2 – Razões de prevalência para intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre mulheres idosas estratificadas por IMC, idade e ICo

Variável (numerador)	Razão de prevalência (IC 95%)	
	Intolerância à glicose	Diabetes
IMC (> 27 kg/m ²)	1,71 (1,14-2,56) *	2,82 (1,50-5,30) *
Idade (> 65 anos)	1,05 (0,70-1,59)	1,30 (0,71-2,37)
ICo (> 1,25)	1,26 (0,84-1,89)	1,03 (0,61-1,76)

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade; IC, intervalo de confiança; * p < 0,05 comparado ao grupo com IMC ≤ 27 kg/m².

Tabela 3 – Razões de prevalência para intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre mulheres idosas dicotomizadas pelo polimorfismo -174 G > C de IL-6 em cada faixa etária e antropométrica eleita para estudo

Estrato	Razão de prevalência (IC 95%)	
	Intolerância à glicose	Diabetes
IMC ≤ 27 kg/m ²	1,17 (0,59-2,34)	1,33 (0,43-4,13)
IMC > 27 kg/m ²	0,71 (0,43-1,19)	0,64 (0,32-1,24)
Idade ≤ 65 anos	0,64 (0,29-1,39)	0,49 (0,14-1,66)
Idade > 65 anos	0,93 (0,58-1,50)	0,86 (0,45-1,65)
ICo ≤ 1,25	0,86 (0,42-1,80)	0,97 (0,40-2,38)
ICo > 1,25	0,81 (0,49-1,31)	0,62 (0,29-1,31)

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade; IC, intervalo de confiança; nenhuma significância estatística quando homozigotos GG são comparados aos portadores do alelo C.

Tabela 4 – Razões de prevalência para intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre mulheres idosas dicotomizadas pelo polimorfismo -308 G > A de TNF- α em cada faixa etária e antropométrica eleita para estudo

Estrato	Razão de prevalência (IC 95%)	
	Intolerância à glicose	Diabetes
IMC ≤ 27 kg/m ²	2,06 (1,03-4,17)*	5,58 (1,86-16,74)*
IMC > 27 kg/m ²	0,72 (0,37-1,42)	0,57 (0,22-1,49)
Idade ≤ 65 anos	1,98 (0,96-4,07)	1,87 (0,58-6,00)
Idade > 65 anos	0,84 (0,45-1,55)	1,05 (0,50-2,22)
ICo ≤ 1,25	0,62 (0,21-1,85)	0,59 (0,15-2,36)
ICo > 1,25	1,37 (0,82-2,29)	1,70 (0,84-3,46)

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade; IC, intervalo de confiança; * p < 0,05 quando portadores do alelo A são comparados aos do genótipo GG.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a constatação de intolerância à glicose e do diabetes ocorreu em 27,6 e 16,8% de todos os casos investigados, respectivamente. Verificou-se também que a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes não diferiu entre os estratos criados conforme idade, índice de conicidade ou genótipos de IL-6 ou TNF- α . Todavia, diferiu entre estratos de IMC ($p = 0,031$), tendo a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes sido significativamente maior no estrato superior a 27 kg/m². As análises subsequentes foram ajustadas para dirimir a influência da variável IMC, tendo sido observado que as prevalências de intolerância à glicose ou do diabetes não variaram significativamente conforme categoria genotípica de IL-6. Análise semelhante realizada para categorias genotípicas de TNF- α revelou resultado diferente, marcado pelo fato de as portadoras do alelo A de TNF- α terem mais chance de apresentar intolerância à glicose e diabetes. No entanto, esse achado foi observado tão-somente no estrato posicionado abaixo do limiar de estratificação estabelecido para o estudo (IMC < 27 kg/m²). Esse resultado provavelmente decorre do efeito de a adiposidade excessiva exceder o de um gene isolado na fisiopatologia da resistência à insulina, mascarando a contribuição do alelo A de TNF- α sobre os distúrbios glicêmicos entre indivíduos com sobrepeso, e tornando-a evidente apenas em estratos de composição corporal tendente à eutrofia¹⁶.

Todavia, não se pode negar a hipótese de o alelo A de TNF- α ser um fator de explicação nos casos de resistência à insulina e diabetes. Nesse sentido, González-Sanches *et al.*¹⁷, em um estudo epidemiológico de base populacional, analisaram a interação entre dois genes e alguns fatores de risco cardiovasculares e distúrbios bioquímicos em mais de 800 pacientes caucasianos, com idade entre 35 e 74 anos, e verificaram que o polimorfismo -308 do gene TNF- α pode estar relacionado com maior prevalência de resistência à insulina e a incidência de casos de *diabetes mellitus* tipo 2, independentemente da resistência à insulina, do IMC e da relação cintura-quadril.

Nicaud *et al.*¹² estudaram o papel do polimorfismo -308 A/G do gene TNF- α na resistência à insulina e verificaram a associação ao alelo A com o diabetes tipo 2. Estudos sugerem que o SNP -308 A/G do gene TNF- α relaciona-se com o nível sérico do respectivo mediador pelo fato de o alelo A parecer predisponente a exibir maiores níveis transcricionais do gene, produzindo concentrações séricas aumentadas em comparação com portadores de o alelo G^{18,19}. Em conformidade com as evidências de que diferentes fatores de risco cardiovascular (incluindo hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias e resistência à insulina) são intensificados pelos níveis circulantes de TNF- α independentemente do gênero ou estrato etário em estudo²⁰⁻²³, o alelo A tem se mostrado mais frequente entre os portadores de os principais distúrbios metabólicos comuns ao idoso^{12,16,24}.

A literatura reporta que TNF- α apresenta papel importante na resistência à insulina, interferindo na via de sinalização da insulina¹². O mecanismo de indução da resistência à insulina por essa citocina provavelmente decorre do fato de TNF- α induzir a fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1), o que diminui sua afinidade ao receptor de insulina, atenuando a transmissão do sinal por comprometer a fosforilação em tirosina do próprio receptor²⁵⁻²⁷. Uma limitação do presente estudo consistiu na impossibilidade de se aferir níveis circulantes dos mediadores inflamatórios estudados. Ademais, a realização deste estudo com casuística composta por mulheres idosas implica cautela na extrapolação dos resultados apresentados para outro gênero ou segmento etário.

Em síntese, análise não ajustada para genótipos revelou que idosas com IMC elevado apresentaram risco 1,71 e 2,82 vezes maior para intolerância à glicose e o diabetes, respectivamente, enquanto faixa etária e índice de conicidade não apresentaram qualquer valor preditivo. Para além dessa associação, os resultados do presente artigo sugerem que a presença do alelo A do SNP -308 G > A de TNF- α *per se* predispõe a ocorrência dos distúrbios glicêmicos de modo sensível ao contexto, tendo em vista que os fenótipos da intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 não se mostraram influenciar por quaisquer dos genótipos em estudo entre portadores de IMC compatível com obesidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Hospital da Universidade Católica de Brasília e ao Laboratório SABIN, por prover condições ao desenvolvimento do estudo, e à professora Soraia Figueiredo Carmo, pela revisão ortográfica.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. [citado 16 fev 2009]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/piramide/piramide.shtm.
2. Nobrega OT, Faleiros VP, Telles JL. Gerontology in the developing Brazil: achievements and challenges in public policies. *Geriatr Gerontol Int* 2009;9:135-9.
3. Mathias TA, Jorge MH. Diabetes mellitus na população idosa em municípios da Região Sul do Brasil: um estudo da mortalidade e morbidade hospitalar. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2004;48:505-12.
4. Ferreira AP, Nobrega Ode T, Franca NM. Association of body mass index and insulin resistance with metabolic syndrome in Brazilian children. *Arq Bras Cardiol* 2009;93:147-53.
5. Pitanga FJG, Lessa I. Sensibilidade e especificidade do índice de conicidade como discriminador do risco coronariano de adultos em Salvador, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 2004;7:259-69.
6. Hawley JA, Houmard JA. Introduction-preventing insulin resistance through exercise: a cellular approach. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:1187-90.
7. Ivy JL. Muscle insulin resistance amended with exercise training: role of GLUT4 expression. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:1207-11.
8. Dela F, Ploug T, Handberg A, Petersen LN, Larsen JJ, Mikines KJ *et al.* Physical training increases muscle GLUT4 protein and mRNA in patients with NIDDM. *Diabetes* 1994;43:862-5.

9. Beránek M, Kanková K, Benes P, Izakovicováet-Hollá L, Znojil V, HájekD *et al.* Polymorphism R25P in the gene encoding transforming growth factor-beta (TGF-beta1) is a newly identified risk factor for proliferative diabetic retinopathy. *Am J Med Genet* 2002;109:278-83.
10. Huth C, Heid IM, Vollmert C, Gieger D, Grallert H, Wolford JK *et al.* IL6 gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes: joint analysis of individual participants data from 21 studies. *Diabetes* 2006;55:2915-21.
11. Tonet AC, Karnikowski M, Moraes CF, Gomes L, Karnikowski MG, Córdova C *et al.* Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. *Braz J Med Biol Res* 2008;41:47-53.
12. Nicaud V, Raoux S, Poirier O, Cambien F, O'Reilly DS, Tiret L. The TNF alpha/G-308A polymorphism influences insulin sensitivity in offspring of patients with coronary heart disease: the European Atherosclerosis Research Study II. *Atherosclerosis* 2002;161:317-25.
13. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004;27(Suppl 1):S5-S10.
14. Hanley AJ, Karter AJ, Williams K, Festa A, D'Agostino RB Jr, Wagenknecht T *et al.* Prediction of type 2 diabetes mellitus with alternative definitions of the metabolic syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2005;112:3713-21.
15. International Diabetes Federation. 2005. [citado 18 fev 2009]. Disponível em: http://www.idf.org/metabolic_syndrome.
16. Pihlajamäki J, Ylinen M, Karhapää P, Vauhkonen I, Laakso M. The effect of the -308A allele of the TNF-alpha gene on insulin action is dependent on obesity. *Obes Res* 2003;11:912-7.
17. González-Sánchez JL, Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, Fernández-Pérez C, Laakso M *et al.* Interaction of the -308G/A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha gene with single-nucleotide polymorphism 45 of the adiponectin gene: effect on serum adiponectin concentration in Spanish population. *Clin Chem* 2006;52:97-103.
18. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3195-9.
19. Fernandez-Real JM. Genetic predispositions to low-grade inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2006;8:55-66.
20. Bennet AM, van Maarle MC, Hallqvist J, Morgenstern R, Frostegard J, Wiman B *et al.* Association of TNF-alpha serum levels and TNFA promoter polymorphisms with risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2006;187:408-14.
21. Skoog T, Dichtl W, Boquist S, Skoglund-Andersson C, Karpe F, Tang R *et al.* Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Eur Heart J* 2002;23:376-83.
22. Lechleitner M, Herold M, Dzien-Bischinger C, Hoppichler F, Dzien A. Tumour necrosis factor-alpha plasma levels in elderly patients with Type 2 diabetes mellitus-observations over 2 years. *Diabet Med* 2002;19:949-53.
23. Pickup JC, Chusney GD, Thomas SM, Burt D. Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci* 2000;67:291-300.
24. Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, Mallet C, Arveiler D, Evans A *et al.* Polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha gene, coronary heart disease and obesity. *Eur J Clin Invest* 1998;28:59-66.
25. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91.
26. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996;271:665-8.
27. Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A *et al.* Insulin/IGF-1 and TNF-alpha stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest* 2001;107:181-9.