



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE INDICADORES DE OBESIDADE, POLIMORFISMOS
DOS GENES FTO E MC4R E DIABETES MELLITUS EM PACIENTES COM
HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA**

ALINE MARCADENTI DE OLIVEIRA

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Sandra Costa Fuchs

TESE DE DOUTORADO

2012

ALINE MARCADENTI DE OLIVEIRA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE INDICADORES DE OBESIDADE, POLIMORFISMOS
DOS GENES FTO E MC4R E DIABETES MELLITUS EM PACIENTES COM
HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Cardiovasculares

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Costa Fuchs

Porto Alegre

2012

CIP - Catalogação na Publicação

Oliveira, Aline Marcadenti de
Associação entre indicadores de obesidade,
polimorfismos dos genes FTO e MC4R e diabetes
mellitus em pacientes com hipertensão arterial
sistêmica / Aline Marcadenti de Oliveira. -- 2012.
121 f.

Orientadora: Sandra Costa Fuchs.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e
Ciências Cardiovasculares, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Obesidade. 2. Genética. 3. Diabetes mellitus.
4. Hipertensão arterial sistêmica. I. Fuchs, Sandra
Costa, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Para toda a minha família, muito obrigada, sempre!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a Dra. Sandra Costa Fuchs, pela dedicação, por compartilhar os seus conhecimentos, pelo incentivo e pela paciência...!

Ao Prof. Dr. Flávio Fuchs, pela oportunidade de trabalhar junto à equipe do Ambulatório de Hipertensão do HCPA.

À Prof^a Dra. Leila Beltrami Moreira, por toda a ajuda e disposição.

À equipe de nutricionistas e aos profissionais do Serviço de Cardiologia do Hospital Nossa Senhora da Conceição, pela compreensão e pela força durante esta caminhada.

À Sirlei Ferreira Reis, secretária do PPG em Cardiologia e Ciências Cardiovasculares, pelo carinho e por todo o empenho.

Aos meus amigos, próximos e distantes (mas sempre presentes)!

Aos amigos e colegas do Cardiolab Hipertensão, pelo apoio, amizade e pela parceria.

Às Dras. Ângela Tavares e Ursula Matte juntamente com toda a equipe do Centro de Terapia Gênica, pelo acolhimento e pelos valiosos ensinamentos.

A todos os acadêmicos da Faculdade de Medicina e outros profissionais colaboradores do Estudo MONITOR, pela disposição e companheirismo.

A todos os participantes do Estudo MONITOR.

Aos meus pais, Paulo e Sônia, por tudo!

EPÍGRAFE

“Só sei que nada sei”.
Sócrates (469 – 399 a.C)

SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	8
	LISTA DE TABELAS	10
	LISTA DE QUADROS	11
	LISTA DE FIGURAS	12
	LISTA DE TABELAS DOS ARTIGOS	13
	INTRODUÇÃO	14
	REVISÃO DA LITERATURA	
1	HIPERTENSÃO ARTERIAL	
1.1.	Epidemiologia e Classificação	15
1.2	Implicações da hipertensão arterial, obesidade e diabetes mellitus	16
2	OBESIDADE	
2.1	Epidemiologia e Classificação	18
2.2	Tecido adiposo subcutâneo e visceral	19
2.2.1	Implicações metabólicas associadas a TAS e TAV	21
2.2.2	Avaliação da adiposidade corporal	24
2.2.2.1	Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética, <i>Dual-Energy X-Ray Absorptiometry</i> (DEXA)	25
2.2.2.2	Índice de Massa Corporal e Circunferência da Cintura	26
2.2.2.3	<i>Lipid Accumulation Product Index</i> (Índice LAP)	28
2.2.2.4	<i>Body Adiposity Index</i> (BAI)	31
2.2.2.5	Circunferência do Pescoço	33
2.3	Aspectos genéticos na obesidade	35
2.3.1	Gene <i>Fat Mass and Obesity Associated</i> (FTO)	37
2.3.2	Gene <i>Melanocortin 4 Receptor</i> (MC4R)	40
3	DIABETES MELLITUS	
3.1	Epidemiologia e Classificação	43
4	OBESIDADE, HIPERTENSÃO ARTERIAL E DIABETES MELLITUS: FISIOPATOLOGIA	44
5	JUSTIFICATIVA	47
6	OBJETIVOS	48
6.1	Objetivo Geral	48

6.2	Objetivos Específicos	48
7	REFERÊNCIAS	49
8	ARTIGO 1: Association among Lipid Accumulation Product (LAP), Body Adiposity Index (BAI) and Neck Circumference (NC) with type-2 diabetes in subjects with hypertension	68
9	ARTIGO 2: Effects of <i>FTO</i> rs9939906 and <i>MC4R</i> rs17782313 on obesity, Type-2 Diabetes and blood pressure in patients with hypertension	91
10	CONSIDERAÇÕES FINAIS	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGRP	Agouti-related protein
AUC	Area under the ROC curve
BAI	Body Adiposity Index
CC	Circunferência da cintura
CHICAGO	Carotid Intima-Media Thickness in Atherosclerosis Using Pioglitazone
CP	Circunferência do pescoço
CRHR1	Corticotrophin-releasing hormone receptor 1
CRHR2	Corticotrophin-releasing hormone receptor 2
CRISPS	Hong Kong Cardiovascular Risk Factors Prevalence Study
CT	Controle
DALYs	Disability-adjusted life years
DAS	Diâmetro abdominal sagital
DEXA	Dual-Energy X-Ray Absorptiometry
DNA	Ácido desoxiribonuclêico
EPIC	European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
EWET	Enlarged Waist and Elevated Triacylglycerols
FTO	Fat Mass and Obesity Associated
GWAS	Genome-wide association studies
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HOMA	Homeostasis model assessment index
HR	Hazard Ratio
HW	Hypertriglyceridemic waist
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDEA	International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity
IDF	International Diabetes Federation
IMC	Índice de massa corporal
INSPIRE ME IAA	INternational Study of Prediction of Intra-abdominal adiposity and its RELationships with cardioMEtabolic risk/Intra-Abdominal Adiposity
KORA	Cooperative Health Research in the Region of Augsburg
LAP	Lipid Accumulation Product
LDL	Low-density lipoprotein
LEP	Leptin

LEPR	Leptin receptor
LHS	Lipase hormônio-sensível
MC3R	Melanocortin 3 receptor
MC4R	Melanocortin 4 Receptor
MCHR1	Melanin-concentrating hormone 1
MSH	Melanocortina
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NTRK2	BDNF high-affinity receptor
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	Odds Ratio
PCSK1	Prohormone convertase subtilisin/kexin type 1
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
POMC	Pró-ópio-melanocortina
PPAR-gama	Receptor ativado por proliferadores do peroxisoma
QUICKI	Quantitative Insulin Sensitivity Check Index
RCAIt	Razão cintura-altura
RCQ	Razão cintura-quadril
RM	Ressonância magnética
SIM1	Singleminded 1
SNC	Sistema nervosa central
SNP	Single-nucleotide polymorphisms
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TARA	Triglyceride and Cardiovascular Risk in African-Americans
TAS	Tecido adiposo subcutâneo
TASA	Tecido adiposo subcutâneo abdominal
TAV	Tecido adiposo visceral
TC	Tomografia computadorizada
TG	Triglicerídeos
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TOPS	Take Off the Pounds Sensibly
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Métodos de avaliação da adiposidade corporal e utilização na prática clínica

Tabela 2. Correlações (r) entre diferentes pontos anatômicos de circunferência da cintura, TASA e TAV de acordo com a categoria de IMC (kg/m²) entre homens e mulheres

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classificação anatômica do tecido adiposo branco

Quadro 2. Cálculo de LAP para homens e mulheres

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagens tomográficas em nível L4-L5 para detecção de gordura abdominal

LISTA DE TABELAS DOS ARTIGOS

Artigo 1

Table 1. Characteristic of participants according to type-2 diabetes [mean \pm SD, n (%)]

Table 2. Pearson's correlation (r) among obesity indexes in men and women

Table 3. Anthropometric indicators among men and women according to type-2 diabetes (mean \pm SD)

Table 4. Multivariable analysis of Lipid Accumulation Product, Neck circumference, Body Adiposity Index with type-2 diabetes according to gender

Artigo 2

Table 1. Characteristic of participants according to polymorphism [mean \pm SD, n (%)]

Table 2. Characteristic of men and women according to polymorphism risk allele A for *FTO* rs9939609 [mean \pm SD, n (%)]

Table 3. Characteristic of men and women according to polymorphism risk allele C for *MC4R* rs17782313 [mean \pm SD, n (%)]

Table 4. Systolic and diastolic blood pressure adjusted-means among men and women according to genotype [mean \pm SD, (CI 95%)]

INTRODUÇÃO

Obesidade é doença crônica que afeta aproximadamente 205 milhões de homens e 297 milhões de mulheres em todo o mundo¹. Entre os fatores de risco associados com a doença, destacam-se os de origem comportamental, ambiental², neuroendócrina³ e genética^{2,4}. A descoberta da funcionalidade do tecido adiposo e de alterações genéticas associadas ampliou consideravelmente o escopo de investigação de mecanismos e fatores de risco.

A força de associação entre obesidade abdominal, diabetes mellitus e hipertensão arterial frequentemente excede à detectada para indicadores de adiposidade geral. Entretanto, sabe-se que o tecido adiposo visceral (TAV), com estrutura metabolicamente mais ativa do que o tecido adiposo subcutâneo abdominal (TASA)⁵, é o maior preditor de risco cardiovascular⁶. Contudo, indicadores tradicionais de adiposidade central, como circunferência da cintura, não são capazes de diferenciar esses dois compartimentos⁷. Métodos de imagem constituem testes padrão para determinar TAV e indicadores de adiposidade têm se destacado como alternativas de fácil utilização para identificar associações entre TAV e fatores de risco cardiovascular⁸, como diabetes mellitus.

Alterações genéticas que levam a obesidade grave são raras na população em geral, mas diversos polimorfismos de nucleotídeos únicos (*SNPs*) têm se destacado na associação com excesso de peso. O polimorfismo rs9939609 T/A do gene *FTO* (*Fat Mass and Obesity Associated*)⁹ e a variante rs17782313 T/C próxima ao gene *MC4R* (*Melanocortin 4 Receptor*)¹⁰ foram recentemente descobertos e estão associados com obesidade geral^{9,10} e central^{11, 12}. Entretanto, a relação dessas duas modificações genéticas com a presença de diabetes mellitus é controversa. Em modelos animais e em seres humanos, mutações em *MC4R* estão associadas a valores pressóricos mais baixos, mesmo na presença de obesidade grave¹³.

Em pacientes com hipertensão arterial sistêmica, não foi explorada a associação entre indicadores antropométricos alternativos, polimorfismo rs9939609 T/A em FTO e rs17782313 T/C em MC4R e diabetes mellitus.

REVISÃO DA LITERATURA

1. Hipertensão Arterial Sistêmica

1.1 Epidemiologia e Classificação

Hipertensão arterial sistêmica (HAS) caracteriza-se por níveis crescentes e elevados de pressão arterial, e associação linear com mortalidade por eventos cardiovasculares está bem estabelecida¹⁴.

Estima-se que até 2025, aproximadamente 29% da população mundial será portadora de hipertensão arterial, com cerca de 1,56 bilhões de indivíduos acometidos, sendo que cerca de $\frac{3}{4}$ estará concentrada em países em desenvolvimento¹⁵. No Brasil, o estudo VIGITEL (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), realizado em 2006 entre 54.369 indivíduos e baseado em amostras probabilísticas da população adulta residente em domicílios servidos por linhas de telefonia fixa, detectou prevalência de hipertensão auto-referida de 21,6% (IC 95% 21,3 - 22,0), sendo 18,4% entre homens e 24,4% entre mulheres¹⁶.

Entre os mecanismos envolvidos na causalidade da hipertensão arterial, destacam-se idade¹⁷, consumo excessivo de sal^{18,19}, ingestão insuficiente potássio¹⁹, hereditariedade²⁰ e excesso de peso²¹. Abuso de álcool e etnia^{22, 23} parecem ser marcadores de risco e estar associados a estilo de vida.

O *Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure – VII JNC*, publicado em 2003, definiu as diretrizes atuais para avaliação e tratamento da hipertensão arterial²⁴ e

as diretrizes das Sociedades Brasileira e Européia de Hipertensão Arterial são semelhantes quanto aos critérios de classificação^{25,26}. As organizações nacionais e internacionais definem hipertensão arterial pelas pressões sistólica maior ou igual a 140 mmHg ou pressão diastólica maior ou igual a 90 mmHg, e, na presença de valores inferiores a esses, pelo uso de medicação anti-hipertensiva.

1.2 Implicações da hipertensão arterial, obesidade e diabetes mellitus

A hipertensão arterial é considerada um problema relevante de saúde pública. Mundialmente, 13,5% dos óbitos prematuros (7,6 milhões de indivíduos) e 92 milhões de DALYs (*disability-adjusted life years*) são atribuídos à doença, assim como 54% da incidência de acidente vascular encefálico e 47% dos casos de cardiopatia isquêmica²⁷.

Entre 42.856 americanos com 18 anos ou mais, avaliados no estudo NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), observou-se aumento significativo no conhecimento (69,1% para 80,7%), tratamento (54% para 72,5%) e controle (50,6% para 69,1%) da hipertensão arterial nos últimos 20 anos²⁸. Porém, revisões sistemáticas indicam que percentual importante de indivíduos, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, desconhecem serem portadores de hipertensão e, entre os já diagnosticados, o tratamento é frequentemente inadequado com baixas taxas de controle²⁹. O grau de conhecimento, controle e tratamento da doença varia entre diferentes localidades e de acordo com idade, gênero, etnia, grau de escolaridade e qualidade de vida. A Organização Mundial da Saúde (OMS) alerta que metade dos hipertensos abandona o tratamento dentro de um ano após o diagnóstico³⁰.

A presença de co-morbidades entre indivíduos com diagnóstico de hipertensão arterial contribui negativamente para taxas de controle pressórico, com destaque para excesso de adiposidade^{31,32,33} e diabetes mellitus^{32,34}.

Dados obtidos a partir da coorte de *Framingham* indicam que um aumento de peso em torno de 5% (representado especificamente nessa análise por 3 a 4 kg)

eleva o risco para desenvolvimento de hipertensão arterial em 20 a 30% em um período de 4 anos [odds ratio (OR): 1,3; IC 95% 1,2-1,4 em indivíduos com 35 a 64 anos; OR: 1,2; IC 95% 1,1-1,3 em indivíduos com 65 a 94 anos]²¹. O aumento de obesidade visceral, detectada por métodos de imagem³⁵ e por indicadores antropométricos³⁶, destaca-se como preditora de incidência da doença.

Comparativamente a população em geral, indivíduos hipertensos apresentam maiores prevalências de diabetes mellitus. Entre 468 indivíduos atendidos em ambulatório de referência para hipertensão arterial, a prevalência de diabetes, detectada por diagnóstico médico ou glicemia em jejum ≥ 126 mg/dl, foi 23%³⁷. Nesse estudo, a prevalência de obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) foi de 52,1% e hipertensos diabéticos apresentaram maiores valores de circunferência abdominal. O aumento dos valores pressóricos eleva o risco de desenvolvimento de diabetes mellitus, tanto na população em geral³⁸ quanto em pacientes com hipertensão arterial³⁹.

O excesso de peso, além de refletir diretamente sobre a qualidade de vida⁴⁰, contribui para pior controle metabólico em pacientes hipertensos e também diabéticos. Estudo transversal, conduzido entre 2004 e 2006, em indivíduos portadores de diabetes (1.297 homens e 1.168 mulheres) sem história de doença cardiovascular, mostrou mulheres obesas tinham maior prevalência de prescrições médicas com dois ou mais medicamentos anti-hipertensivos (28,6% vs. 32,1%)⁴¹. Estudos epidemiológicos realizados na Europa demonstram custo elevado para o sistema de saúde advindos do tratamento da hipertensão arterial, com destaque para a presença concomitante de diabetes mellitus. Na Alemanha, Espanha e Itália, o custo atribuído a indivíduos hipertensos com diagnóstico de diabetes mellitus é, respectivamente, 67%, 50% e 71% superior em relação aos pacientes com hipertensão e sem diabetes⁴².

Apesar da participação do excesso de peso na gênese de diabetes mellitus em pacientes hipertensos, outros fatores podem contribuir para o desenvolvimento da doença. Em uma coorte de 595 indivíduos com forte predisposição genética para hipertensão arterial (história familiar positiva), acompanhados por 5 anos, onde a

incidência de diabetes mellitus foi de 21% ao final do seguimento, a presença de obesidade abdominal (≥ 90 cm de circunferência da cintura nos homens, ≥ 80 cm nas mulheres) contribuiu para maiores taxas da doença (55,7 eventos/1.000 pessoas-ano) comparativamente aos valores observados entre os não-obesos. Entretanto, após ajuste para outros fatores de risco cardiovascular como idade, gênero e tabagismo, adiposidade central detectada por circunferência da cintura não se associou com risco para diabetes mellitus [hazard ratio (HR): 1,04 IC 95% 0,50 a 2,16]⁴³. O conhecimento de fatores herdados e a utilização de indicadores de adiposidade não tradicionais poderiam contribuir para um maior conhecimento acerca da gênese e da detecção precoce da doença entre pacientes com hipertensão arterial.

2. Obesidade

2.1 Epidemiologia e Classificação

Obesidade representa um dos principais fatores de risco modificáveis, contribuindo para a carga global de doenças, associando-se independentemente com mortalidade cardiovascular⁴⁴ e geral⁴⁵.

A OMS estabelece pontos de corte para índice de massa corporal (IMC), método universal e amplamente utilizado para caracterização do excesso de massa corporal. O peso em kg corrigido para altura em metros (kg/m^2) permite classificar homens e mulheres adultos em categorias: eutrofia (IMC 18,5 – 24,9 kg/m^2), excesso de peso (25 – 29,9 kg/m^2) e obesidade ($\geq 30,0$ kg/m^2)⁴⁶.

Em 2008, 1,46 bilhões de adultos apresentavam excesso de peso (IMC ≥ 25 kg/m^2), sendo que 205 milhões de homens e 297 milhões de mulheres eram obesos¹. Caso essa tendência permaneça constante, a projeção é que até 2030 os números avancem para 2,16 bilhões de indivíduos com sobrepeso e 1,12 bilhões de obesos⁴⁷. No Brasil, dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), entre

2008 e 2009, mostraram que excesso de peso acometia cerca de 50% dos homens e 48% das mulheres com 20 anos ou mais, sendo que as prevalências de obesidade foram maiores nas mulheres comparativamente aos homens (16,9% vs. 12,4%)⁴⁸.

Nos últimos anos, inovações tecnológicas têm permitido detectar com maior facilidade modificações em nível molecular que possam contribuir para a etiologia e as implicações da doença.

2.2 Tecido adiposo subcutâneo e visceral

O tecido adiposo apresenta características morfológicas e histológicas distintas, desempenhando atividades diferenciadas. Em mamíferos, dois tipos de tecido adiposo são observados: marrom (TAM) e branco (TAB). Tecido adiposo marrom, repleto de mitocôndrias e especializado na produção de calor, exerce sua função termogênica prioritariamente nos primeiros anos de vida, transformando-se em tecido adiposo branco posteriormente⁴⁹. Entretanto, tem se demonstrado atividade de TAM em adultos submetidos a baixas temperaturas⁵⁰, correlacionando-se negativamente com idade⁵¹ e IMC^{51,52} principalmente entre as mulheres⁵¹. O tecido adiposo branco, mais abundante e responsável pelo armazenamento de triglicerídeos, proteção mecânica e isolamento térmico, tem despertado grande interesse por sua atividade secretória de substâncias com importante papel biológico, incluindo risco e proteção cardiovascular^{53,54}.

Não existe consenso sobre nomenclatura dos diferentes compartimentos TAB. Baseando-se na região anatômica e em propriedades funcionais, Shen e cols. propuseram uma classificação exaustiva para gordura corporal com ênfase nos compartimentos internos detectados por métodos de imagem (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação anatômica do tecido adiposo branco⁵⁵
1 Tecido adiposo total
2 Tecido adiposo subcutâneo
2.1 Tecido adiposo subcutâneo superficial
2.2 Tecido adiposo subcutâneo profundo
3 Tecido adiposo interno
3.1 Tecido adiposo visceral
3.1.1 Tecido adiposo intratorácico
3.1.2 Tecido adiposo intrabdominopélvico
3.2 Tecido adiposo interno não-visceral
3.2.1 Tecido adiposo intramuscular
3.2.2 Tecido adiposo perimuscular
3.2.3 Outros tecidos não-viscerais

Adaptado de Shen e cols.⁵⁵

Tecido adiposo subcutâneo (TAS) é classicamente estudado por antropometria e dobras cutâneas. Sua distribuição difere entre gêneros: nos homens tende a acumular-se em maior quantidade no tronco comparativamente às extremidades, com decréscimo da velocidade e de forma mais equilibrada após os 50 anos. Nas mulheres, ao contrário, o acúmulo de TAS é semelhante na região abdominal e nas extremidades até a idade adulta, onde aumenta a velocidade e quantidade de na gordura subcutânea acumulada na região abdominal comparativamente a glúteo-femural^{56,57}.

Por sua localização (entre paredes ósseas e musculares da cavidade abdominal), não é possível quantificar diretamente o tecido adiposo visceral (TAV) através de indicadores antropométricos e dobras cutâneas. Em geral, homens apresentam maiores quantidades de tecido adiposo visceral comparativamente às mulheres, sendo que essas aceleram acúmulo durante a menopausa. Parece haver um acúmulo proporcional de TAV de acordo com o grau de obesidade geral entre os homens, mas não entre as mulheres, as quais tendem a acumular gordura na cavidade abdominal após alcançarem certo grau de adiposidade total⁵⁸.

A distribuição do tecido adiposo se modifica com o avançar da idade. Em idosos, enquanto a quantidade de gordura corporal total pode permanecer estável ou

mesmo declinar, o tecido adiposo subcutâneo abdominal (TASA) é redistribuído em tecido visceral⁵⁹. A capacidade de replicação e diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos maduros durante o processo de adipogênese no envelhecimento está reduzida, promovendo a formação de células não completamente capazes de exercer suas funções de armazenamento de ácidos graxos livres com consequente expansão de TAV e acúmulo de gordura ectópica⁶⁰. Paralelamente, a secreção de moléculas pró e anti-inflamatórias estaria desregulada durante o envelhecimento⁶¹, o que contribuiria para piora do perfil metabólico e aumento de fatores de risco cardiovascular entre indivíduos idosos comparativamente a pessoas mais jovens⁶².

2.2.1 Implicações metabólicas associadas a TAS e TAV

O tecido adiposo é controlado diretamente pelo sistema nervoso autônomo, onde a inervação simpática relaciona-se com atividades catabólicas (lipólise) intermediadas por catecolaminas, receptores beta–adrenérgicos e pela enzima lipase hormônio-sensível (LHS)⁶³. O componente parassimpático, ao contrário, modula efeitos anabólicos sobre o adipócito (lipogênese), como a captação de ácidos graxos mediada pela insulina⁶⁴.

A expressão de adipocitocinas (substâncias secretadas por adipócitos) encontra-se alterada entre indivíduos obesos. Entretanto, compartimentos de TAS e TAV apresentam comportamento diferenciado no que diz respeito à expressão dessas proteínas. Tecido visceral, além de mais ativo metabolicamente por sua maior sensibilidade à lipólise e maior resistência à ação da insulina⁵, com consequente aumento da liberação de ácidos graxos livres diretamente para a circulação portal⁶⁵, secreta maiores concentrações de adipocitocinas associadas a processos pró-inflamatórios⁵. Adipócitos hipertrofiados apresentam infiltração elevada de macrófagos⁶⁶, maiores fontes de citocinas como TNF- α e interleucina-6, que modulam a produção hepática de proteína-c reativa⁶⁷. A leptina, ao contrário, tem maior expressão correlacionada a TAS comparativamente a TAV^{5,68}.

A expressão de adiponectina, citocina anti-inflamatória⁶⁹ com propriedades insulino-sensibilizantes⁷⁰, é superior no TAV. Estudos realizados em seres humanos *in vitro* e *in vivo* demonstram que adipócitos esgotados repletos de ácidos graxos e localizados na região intra-abdominal podem inibir a transcrição do gene da adiponectina através da secreção de fatores inflamatórios e angiogênicos, reduzindo níveis plasmáticos⁷¹. Indivíduos com hipertensão arterial⁷², diabetes mellitus⁷³, obesidade visceral⁷⁴, homens⁷⁴ e doença arterial coronariana⁷⁵ apresentam níveis inferiores de adiponectina plasmática comparativamente a indivíduos saudáveis e mulheres.

Sugere-se que o metabolismo alterado de ácidos graxos e glicose possa não ser consequência direta da atividade do tecido adiposo visceral, mas sim um reflexo da inabilidade de adaptação e expansão por hiperplasia do tecido adiposo subcutâneo abdominal (TASA)⁵. Características morfológicas e fisiológicas dos adipócitos localizados no TAS estimulariam a capacidade de multiplicação dessas células para que acomodassem o excesso de ácidos graxos circulantes (provenientes do balanço energético positivo) e formassem um depósito energético protetor. Entretanto, em situações de hipóxia tecidual em função do aumento exagerado desses adipócitos esgotados de ácidos graxos⁷⁶, o excesso de triglicerídeos circulantes migraria automaticamente para o compartimento intra-abdominal com acúmulo em órgãos como fígado, coração e pâncreas – fenômeno descrito como depósito de gordura ectópica⁷⁷. Mulheres apresentam maior lipólise e mobilização de ácidos graxos livres provenientes de TAV comparativamente aos homens⁷⁸.

Assim, emerge o conceito de que depósitos de gordura visceral e subcutânea na região abdominal apresentam características diferenciadas e não contribuem da mesma forma para a gênese de diabetes mellitus e doença cardiovascular.

Essa hipótese foi avaliada entre mais de 3.000 homens (IMC $26,7 \pm 5,4 \text{ kg/m}^2$) e mulheres (IMC $28,3 \pm 4,4 \text{ kg/m}^2$), participantes do estudo de *Framingham*, submetidos à detecção de TASA e TAV por métodos de imagem e avaliados separadamente em relação à hipertensão arterial, diabetes mellitus e síndrome

metabólica. Após ajustes para múltiplos fatores de confusão, TAV associou-se mais fortemente com todas as comorbidades comparativamente a TASA, e a magnitude de efeito foi maior entre as mulheres⁷⁹. Resultados similares foram detectados entre mais de 2.400 participantes da coorte *Jackson Heart Study*, onde os compartimentos de gordura subcutânea e visceral associaram-se com hipertensão arterial, diabetes mellitus e síndrome metabólica, com maior risco para compartimentos de TAV elevados⁸⁰.

O *INternational Study of Prediction of Intra-abdominal adiposity and its RElationships with cardioMEtabolic risk/Intra-Abdominal Adiposity* (INSPIRE ME IAA), estudo transversal multicêntrico realizado em 29 países, arrolou mais de 4.100 pacientes com exames de imagem, avaliando a contribuição do tecido adiposo visceral sobre diabetes mellitus tipo 2 e doença cardiovascular. Obesidade visceral (área de TAV >204,9cm² entre homens e >167,3cm² para mulheres) associou-se com risco aumentado para diabetes em homens (OR: 1,3; IC 95% 1,1-1,4) e em mulheres (OR: 1,8; IC 95% 1,5-2,1), enquanto que tecido adiposo subcutâneo não se associou com doença entre os homens e associou-se inversamente com diabetes entre as mulheres (OR: 0,8; IC 95% 0,7-0,9), após ajuste para idade, IMC e local de arrolamento. Maiores tercís de TAV associaram-se também com infarto agudo do miocárdio, angina instável, revascularização miocárdica e acidente vascular encefálico⁶.

Entre 125 indivíduos submetidos à angiotomografia computadorizada somente área $\geq 145\text{cm}^2$ TAV associou-se com a presença de doença arterial coronariana, sendo que o mesmo não foi observado entre indicadores antropométricos convencionais (circunferência da cintura, razão cintura-quadril e IMC)⁸¹. Estudos anteriores já haviam sugerido associação entre TAV e doença cardiovascular independentemente de obesidade geral e volume de TASA⁸².

2.2.2 Avaliação da adiposidade corporal

O excesso de adiposidade pode ser avaliado através de métodos que detectam gordura corporal total, distribuição de gordura corporal e composição corporal

(percentual de gordura avaliado direta ou indiretamente). A Tabela 1 mostra alguns desses métodos e sua utilização na prática clínica, sendo que vários já estão consolidados e sua utilização é altamente recomendada.

Tabela 1. Métodos de avaliação da adiposidade corporal e utilização na prática clínica⁸³

Método	Uso na prática clínica
Avaliação da Adiposidade Corporal Total	
Índice de Massa Corporal (IMC)	+++
Body Adiposity Index (BAI) ⁸⁴	+
Avaliação da Distribuição de Gordura Corporal	
Circunferência da Cintura (CC)	+++
Circunferência do Pescoço (CP)	+
Razão Cintura-Quadril (RCQ)	++
Razão Cintura-Altura (RCAIt)	+
Diâmetro Abdominal Sagital (DAS)	+
Tomografia Computadorizada (TC)	-
Ressonância Magnética (RM)	-
Avaliação da Composição Corporal	
Dobras Cutâneas	++
Interactância de infravermelho próximo	+
Pesagem hidrostática	+
Plestimografia por deslocamento de ar	+
<i>Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA)</i>	+
Bioimpedância Elétrica	++
TC/RM	-
Outros	
<i>Lipid Accumulation Product Index (LAP)⁸</i>	+

Adaptado de Cornier e cols.⁸³

+++ método amplamente aceito; ++ método aceito; + método incomum/raramente utilizado; - não recomendado para prática clínica

Algumas particularidades de métodos tradicionais e não tradicionais serão descritas a seguir.

2.2.2.1 Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética, Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA)

A tomografia computadorizada (TC) produz cortes de imagem de áreas ocupadas por tecidos corporais específicos e pode determinar a superfície e o volume desses tecidos. O método é considerado teste padrão para detecção de adiposidade abdominal pela capacidade de discriminar compartimentos de TAV e TASA, sendo que normalmente a avaliação é feita em nível do espaço vertebral L4 – L5⁸⁵. Além disso, pode discriminar gordura ectópica hepática. Já a ressonância magnética pode gerar tanto cortes de imagens segmentadas quanto imagens de toda a superfície corporal, com base na interação entre os prótons presentes nos tecidos corporais e o campo magnético gerado pelo equipamento⁸⁶. Diferentemente da TC, os indivíduos não são submetidos à radiação e há possibilidade de delimitar áreas de tecido adiposo abdominal subcutâneo superficial e profundo⁸⁷.

Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA), amplamente utilizado para avaliação de osteoporose e desmineralização óssea, é extremamente acurado para diferenciar massa magra de massa gorda, sendo originalmente designado para avaliação de composição corporal. Entretanto, estudos demonstram alta correlação entre DEXA e tecido adiposo visceral detectado por TC entre homens ($r= 0,95$) e mulheres ($r= 0,96$), indicando que o método pode ser também utilizado para avaliação da distribuição de gordura corporal⁸⁸.

Apesar da superioridade dos métodos de imagem sobre a detecção de adiposidade, principalmente pela discriminação de compartimentos subcutâneos e viscerais, limitações como custo, disponibilidade, demora na obtenção do resultado final do exame e exigências quanto a qualificações técnicas para análise das imagens impedem o uso rotineiro desses equipamentos na prática clínica⁸⁹.

2.2.2.2 Índice de Massa Corporal (IMC) e Circunferência da Cintura (CC)

O IMC, medida amplamente utilizada e de fácil obtenção, tem sido recomendado em estudos epidemiológicos para rastreamento inicial da obesidade, principalmente por sua associação direta com mortalidade a partir de valores 30 kg/m^2 ⁴⁴. Entretanto, o uso isolado do IMC na avaliação individual da obesidade não provê informação suficiente, principalmente por não distinguir compartimentos de massa gorda e massa magra. Entre mais de 13.600 americanos submetidos à bioimpedância elétrica no estudo NHANES, 21% dos homens e 31% das mulheres foram classificados como obesos pelo critério $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$, enquanto a bioimpedância detectou obesidade definida pelo % de gordura corporal em 50% dos homens e 62% das mulheres. IMC apresentou baixa sensibilidade para detecção de adiposidade total (36% nos homens e 49% nas mulheres), diminuindo a acurácia com o aumento da idade⁹⁰. Metanálise envolvendo aproximadamente 32.000 indivíduos confirmou esses dados⁹¹. Outras limitações importantes referem-se a gênero, idade e etnia^{58,59,92}, sendo que os pontos de corte para IMC sugeridos pela OMS não levam em consideração nenhuma dessas particularidades.

A circunferência da cintura, medida simples e fortemente correlacionada com obesidade abdominal⁹³, é fator de risco independente para doença⁹⁴ e mortalidade cardiovascular⁴⁵. O estudo IDEA (*International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity*) avaliou mais de 168.000 indivíduos em 63 países, adotando um protocolo padronizado para aferição da circunferência da cintura (ponto médio entre o rebordo intercostal e a crista ilíaca)⁹⁵. Esse estudo mostrou aumento substancial de risco para diabetes mellitus entre homens e mulheres utilizando pontos de corte considerados elevados para circunferência abdominal após ajustes para múltiplas variáveis (OR: 2,65; IC 95% 2,49-2,81 CA > 102 cm entre os homens; OR: 3,94; IC 95% 3,66 a 4,24 > 88 cm nas mulheres)⁹⁵.

Apesar da circunferência da cintura ser fator de risco tanto para diabetes mellitus, doença cardiovascular quanto para mortalidade cardiovascular⁹⁶, sua aferição em diferentes pontos anatômicos pode levar a interpretações equivocadas de adiposidade central, pois diferentes locais não estimam TAV da mesma forma. Estudo realizado entre 354 adultos caucasianos, submetidos à ressonância

magnética (detecção de compartimentos de TAV e TASA) e avaliação da circunferência da cintura em três locais diferentes (ponto médio entre o rebordo intercostal e crista ilíaca, logo acima da crista ilíaca e logo abaixo do rebordo intercostal), detectou resultados diferentes para VAT e TASA⁹⁷. A Tabela abaixo mostra as correlações observadas entre homens e mulheres de acordo com o ponto anatômico e a categoria de IMC, após ajuste para idade.

Tabela 2. Correlações (r) entre diferentes pontos anatômicos de circunferência da cintura, TASA e TAV de acordo com a categoria de IMC (kg/m²) entre homens e mulheres⁹⁷

	Homens			Mulheres		
	18,5 a < 25	≥ 25 a < 30	≥ 30	18,5 a < 25	≥ 25 a < 30	≥ 30
Ponto médio						
TASA	0,66	0,72	0,65	0,72	0,38	0,73
TAV	0,61	0,54	0,05	0,61	0,30	0,51
Crista ilíaca						
TASA	0,63	0,74	0,67	0,66	0,51	0,70
TAV	0,53	0,52	0,08	0,77	0,15	0,32
Rebordo intercostal						
TASA	0,40	0,67	0,54	0,70	0,30	0,70
TAV	0,52	0,58	0,16	0,67	0,32	0,66

Adaptado de Bosy-Westphal e cols.⁹⁷

Outro estudo, realizado entre 1.667 indivíduos caucasianos e afro-americanos confirmou esses dados, sendo que a circunferência da cintura apresentou correlações mais elevadas entre TASA ($r= 0,82$) e % de gordura total ($r= 0,85$) comparativamente a TAV ($r= 0,73$)⁹⁸. A circunferência da cintura apresentou correlações similares com TASA ($R^2= 0,66$) e TAV ($R^2= 0,63$) entre 742 caucasianos submetidos à ressonância magnética⁹⁹. Em outra população caucasiana, a circunferência da cintura não foi superior ao IMC na detecção de adiposidade visceral, quando comparada a volume de TAV detectado por métodos de imagem¹⁰⁰. A relação entre circunferência abdominal e volume de tecido adiposo visceral também é fortemente influenciada pela idade¹⁰¹. Sugere-se, portanto, que a circunferência da cintura expresse predominantemente tecido adiposo subcutâneo. A Figura 1 demonstra a incapacidade da circunferência da cintura em detectar diferentes compartimentos de gordura abdominal, pois os dois

pacientes apresentam perímetro da cintura praticamente igual (93 vs. 92,5 cm), mas com volume de tecido adiposo visceral notavelmente superior no indivíduo 1, comparativamente ao indivíduo 2, com predominância de tecido adiposo subcutâneo⁷.

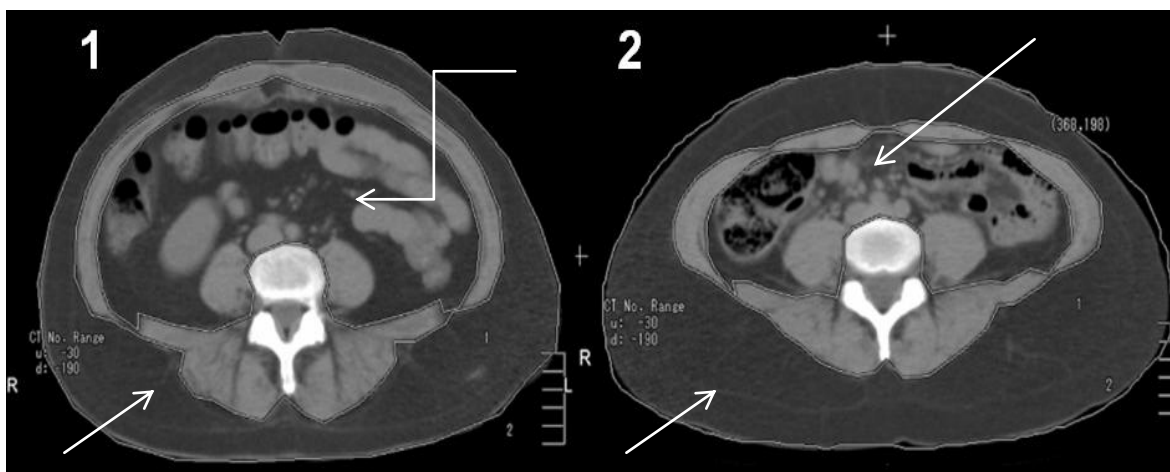


Figura 1. Imagens tomográficas em nível L4-L5 para detecção de gordura abdominal. Adaptado de Marques MD⁷

2.2.2.3 Lipid Accumulation Product Index (Índice LAP)

Em meados dos anos 2000, estimulados por evidências de que outras variáveis além do tradicional perfil lipoproteico poderiam aprimorar a discriminação de indivíduos em alto risco cardiovascular, Lemieux e cols observaram que a tríade metabólica composta por hiperinsulinemia, hiperapolipoproteína B e LDLs pequenas e densas era prevalente entre obesos, principalmente com elevado acúmulo de gordura abdominal¹⁰². Baseados em estudos prévios que correlacionaram circunferência da cintura com obesidade visceral⁹³, assim como triglicerídeos séricos com o tamanho da partícula de colesterol LDL, os autores propuseram o conceito de “cintura hipertrigliceridêmica (*hypertriglyceridemic waist* - HW)” como um marcador de risco cardiovascular¹⁰³.

Posteriormente, Kahn e Valdez aprimoraram o conceito de HW, estratificando dados obtidos de indivíduos americanos por sexo e idade. Com ajuda de gráficos

bidimensionais, criados a partir de valores de circunferência da cintura e de triglicerídeos séricos, detectaram agregação de mulheres com CC inferior a 88 cm e TG menor do que 128 mg/dL, e de homens com valores abaixo de 95 cm e 128 mg/dL, respectivamente. Utilizando esses pontos de corte, os autores estimaram a prevalência de adultos com circunferência da cintura aumentada (*Enlarged Waist – EW*) e triglicerídeos séricos elevados (*Elevated Triacylglycerols – ET*), e confirmaram associações entre EWET e fatores de risco cardiovascular entre 9183 participantes do estudo NHANES III¹⁰⁴.

No estudo CHICAGO (*Carotid Intima-Media Thickness in Atherosclerosis Using Pioglitazone*), 375 diabéticos foram submetidos à tomografia computadorizada para detecção de compartimentos de TAV e TASA. Após ajustes para idade, sexo, IMC, classe de hipoglicemiante em uso, tabagismo e uso de estatinas, indivíduos com EWET apresentaram maiores volumes de TAV comparativamente aos pacientes sem o fenótipo da cintura hipertrigliceridêmica ($150 \pm 67 \text{ cm}^3 \times 95 \pm 54 \text{ cm}^3$), sendo que o mesmo não ocorreu em relação à TASA ($204 \pm 62 \text{ cm}^3 \times 195 \pm 73 \text{ cm}^3$)¹⁰⁵.

Apesar de EWET representar um acúmulo excessivo de lipídios, o conceito de cintura hipertrigliceridêmica foi novamente reformulado por Kahn, para que expressasse uma função contínua de risco, a partir de observações que tanto circunferência da cintura quanto triglicerídeos séricos aumentam com a idade^{101,106}. Valores mínimos de circunferência da cintura para homens e mulheres, participantes do NHANES III, foram detectados (65 e 58 cm, respectivamente) e definidos como constantes na equação que identificaria, juntamente com triglicerídeos séricos (em mmol/l), o acúmulo de lipídios entre os dois gêneros. Surgiu então o indicador *Lipid Accumulation Product Index* (Índice LAP)⁸, cujas fórmulas para homens e mulheres constam no Quadro 2:

Quadro 2. Cálculo de LAP para homens e mulheres ⁸
Homens: $(CC - 65) \times TG$
Mulheres: $(CC - 58) \times TG$

Em mulheres eutróficas com Síndrome dos Ovários Policísticos, Índice LAP associou-se mais fortemente com tecido adiposo visceral comparativamente a gordura corporal total e gordura abdominal subcutânea, detectados por métodos de imagem ($r= 0,77$, $r= 0,42$ e $r= 0,40$ respectivamente)¹⁰⁷. Acúmulo ectópico de gordura hepática diagnosticado por ultrassonografia também está relacionado a valores elevados de LAP, sugerindo que o indicador possa refletir predominantemente compartimentos de gordura abdominal visceral¹⁰⁸.

Correlações entre LAP e indicadores glicêmicos têm sido demonstradas entre mulheres com sobrepeso, sendo detectada correlação positiva com resistência a insulina ($r= 0,70$)¹⁰⁷ e apresentando maior acurácia diagnóstica do que circunferência da cintura e IMC no *homeostasis model assessment index* (índice HOMA) $\geq 3,8$. Da mesma forma, LAP apresentou desempenho superior para detectar intolerância a glicose em mulheres eutróficas (AUC 0,86), comparativamente a indicadores antropométricos tradicionais (circunferência da cintura: AUC 0,80; IMC: AUC 0,77)¹⁰⁹. Entre indivíduos italianos com sobrepeso e diabetes mellitus, população em alto risco cardiovascular, LAP correlacionou-se negativamente com sensibilidade a insulina detectada por QUICKI (*Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) e com razão adiponectina/leptina plasmática ($r= -0,56$ e $r= -0,61$)¹¹⁰.

Estudos demonstrando associações entre LAP e diabetes mellitus são escassos e apresentam resultados controversos em relação à magnitude da associação para homens e mulheres e comparativamente a outros indicadores antropométricos. Entre 4.989 mulheres e 3.682 homens iranianos, com 50 anos ou mais, o índice associou-se com maior prevalência de diabetes mellitus (glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl ou uso de hipoglicemiantes) tanto para homens (OR: 1,5; IC 95% 1,3-1,8) quanto para mulheres (OR: 2,1; IC 95% 1,8-2,5), após ajuste para múltiplos fatores de confusão. Nesse mesmo estudo, não houve associação com IMC, mas com razão cintura-quadril (OR: 1,6; IC 95% 1,3-1,9, em homens, OR: 1,8; IC 95% 1,6-2,1, em mulheres) também apresentou significância¹¹¹.

No estudo NHANES III (1988-1994), a prevalência de diabetes mellitus entre 8.767 participantes (detectada a partir de diagnóstico médico ou uso de hipoglicemiantes) foi de 6,1%. Entre homens e mulheres, maiores quartis de LAP ($\geq 66,1$ cm.mmol.l, entre homens, e $\geq 60,4$ cm.mmol.l, entre mulheres) associaram-se com risco aumentado para diabetes, com destaque para mulheres com idade inferior a 50 anos (OR: 5,55; IC 95% 3,48 – 8,84) e homens 50 anos ou mais (OR: 2,33; IC 95% 1,89 – 2,86)¹¹². O índice LAP parece também predizer mortalidade na população em geral^{113,114} e em pacientes com alto risco cardiovascular¹¹⁵.

2.2.2.4 Body Adiposity Index (BAI)

Recentemente, proposto por Bergman e cols. foi descrito o BAI, como um parâmetro alternativo ao IMC, para detecção de adiposidade, permitindo diferenciar o percentual de gordura corporal total, independente do percentual de massa magra. A fórmula foi desenvolvida a partir de indicadores obtidos no estudo *BetaGene*, que arrolou mais de 1.700 indivíduos hispânicos. Altura e circunferência do quadril foram as medidas que apresentaram maior contribuição para o percentual de adiposidade corporal caracterizado por DEXA (padrão ouro para validação da fórmula) e BAI foi originalmente obtido a partir desses dois indicadores. O índice apresentou boa correlação com DEXA ($r= 0,79$) e, posteriormente, foi aprimorado e validado entre participantes afro-americanos do estudo TARA (*Triglyceride and Cardiovascular Risk in African-Americans*), no qual apresentou alta correlação com percentual de adiposidade aferida por DEXA ($r=0,85$). O percentual de gordura corporal, a partir do índice, é obtido através do cálculo: $BAI = (\text{circunferência do quadril, cm})/(\text{altura, m})^{1,5} - 18^{84}$.

Entre 623 indivíduos caucasianos submetidos à avaliação de adiposidade total por DEXA (22,2% entre os homens, 33,7% entre as mulheres), BAI apresentou melhor desempenho comparativamente ao IMC (coeficiente de concordância de Lins $\rho(c) = 0,75$ e $\rho(c) = 0,45$, respectivamente). Entretanto, BAI superestimou o percentual de gordura corporal entre 20 e 50% nos níveis inferiores de adiposidade, detectados por DEXA (<20% de gordura corporal), e particularmente

entre os homens. Além disso, subestimou o percentual de gordura entre as mulheres e nos indivíduos com maior nível de adiposidade (>40% de gordura corporal)¹¹⁶. Resultados semelhantes foram obtidos por Freedman e cols., que não observaram diferenças na acurácia diagnóstica de diferentes indicadores antropométricos, mas observaram percentuais de gordura superestimados entre as mulheres e subestimados entre os homens a partir de BAI¹¹⁷.

Estudo realizado entre 3.200 espanhóis, submetidos à bioimpedância elétrica para detecção de gordura corporal mostrou que, comparativamente ao IMC, o índice apresentou maior correlação com adiposidade ($r = 0,74$ vs. $r = 0,54$). Entretanto, a AUC não foi superior a do IMC entre homens (BAI: 0,82; IMC: 0,89) e mulheres (BAI: 0,88; IMC: 0,92) quanto à capacidade discriminatória¹¹⁸. Em pacientes com lipodistrofia, BAI correlacionou-se mais fortemente com compartimentos de gordura inferiores (gínóide, $r = 0,72$) comparativamente ao superiores (andróide, $r = 0,68$) e também com níveis séricos de leptina ($r = 0,57$)¹¹⁹.

Entre 132 mulheres obesas (IMC $35 \pm 3,7$ kg/m²), não-diabéticas, submetidas à intervenção para perda de peso (dieta hipocalórica com ou sem prescrição de atividade física), BAI correlacionou-se mais fortemente com mudanças no percentual de gordura total detectado por DEXA ($r = 0,60$) em relação a redução no volume de tecido adiposo visceral, detectado também por DEXA ($r = 0,47$)¹²⁰.

Associação entre BAI, IMC, circunferência da cintura e diabetes mellitus foi verificada entre mais de 25.100 participantes do estudo EPIC-Potsdam (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) e 11.200 participantes do estudo KORA (*Cooperative Health Research in the Region of Augsburg*). BAI foi o indicador que apresentou desempenho mais fraco sobre o risco para diabetes no estudo EPIC-Potsdam (RR: 1,62; IC 95% 1,52-1,72, em homens; RR: 1,67; IC 95% 1,55-1,80, em mulheres) comparativamente ao IMC (RR: 1,95; IC 95% 1,83-2,09, em homens; RR: 1,88; IC 95% 1,76-2,02, em mulheres) e circunferência da cintura (RR: 2,17; IC 95% 2,01-2,35, em homens; RR: 2,33; IC 95% 2,15-2,53, em mulheres), após ajuste para idade, escolaridade, tabagismo, consumo de álcool e

nível de atividade física. Os resultados entre os participantes do estudo KORA foram semelhantes¹²¹.

2.2.2.5 Circunferência do Pescoço (CP)

A circunferência do pescoço (CP), medida no ponto médio da altura do pescoço e logo abaixo da proeminência laríngea, apresenta menor variabilidade, mais fácil aferição comparativamente à circunferência da cintura, além de identificar indivíduos com sobrepeso e obesidade¹²². Os primeiros indicativos de que CP contribuiria para detecção de risco cardiovascular foram apresentados por Freedman e cols. em norte-americanos e canadenses participantes da estratégia TOPS (*Take Off the Pounds Sensibly*) para redução de peso. A correlação entre circunferências da cintura e do pescoço foi superior a da CP vs. IMC ($r = 0,62$ vs. $r = 0,58$ respectivamente) e mulheres com > 34 cm de circunferência do pescoço apresentaram maior risco para diabetes mellitus¹²³.

Circunferência do pescoço parece refletir maior depósito de gordura visceral. Entre pacientes obesos, o indicador correlacionou-se significativamente com TAV, detectado por tomografia computadorizada em nível de L4 ($r = 0,67$)¹²⁴. O indicador parece correlacionar-se também com adipocitocinas, com destaque para proteína-c reativa ultra-sensível¹²⁵ e adiponectina sérica¹²⁶.

A associação entre circunferência do pescoço, intolerância a glicose e hipertensão arterial foi detectada entre 541 finlandeses. Comparativamente a valores mais baixos, observou-se uma relação entre circunferência do pescoço, intolerância a glicose (definida por glicemia de jejum entre 110 e 126 mg/dL) e hipertensão arterial (PAS/PAD $\geq 160/90$ mmHg) entre mulheres (OR: 4,8; IC95% 1,6–14,7; e OR: 2,9; IC95% 1,1 – 8,0, respectivamente)¹²⁷. Circunferência do pescoço elevada também apresentou correlação com ácido úrico elevado e perfil lipídico alterado entre americanos e representou maior contribuição para variações nos triglicérides séricos comparativamente a circunferência da cintura¹²⁸.

Mais de 3.300 participantes da coorte de *Framingham* foram submetidos à tomografia computadorizada para detecção de compartimentos TAV e TASA. Os autores identificaram correlação entre CP e TAV ($r= 0,63$, em homens; $r= 0,74$, em mulheres) e, após ajuste para múltiplas variáveis, incluindo IMC e área de gordura visceral (cm^3), circunferência do pescoço elevada associou-se com resistência a insulina (OR: 1,58; IC 95% 1,26–1,97, em homens; OR: 1,53; IC 95% 1,17–2,01, em mulheres) e diabetes mellitus entre os homens (OR: 1,73; IC 95% 1,29–2,33), mas não houve significância para hipertensão arterial¹²⁹. Resistência a insulina definida por HOMA-IR também correlacionou-se com CP em pacientes com obesidade grau III¹²⁴.

Entre 3.182 chineses diabéticos participantes do *Beijing Community Diabetes Study*, valores elevados de circunferência do pescoço associaram-se com a presença de síndrome metabólica (OR: 1,20; IC 95% 1,16–1,24) após ajuste para idade e sexo. Valores maiores ou iguais a 39 cm, entre os homens, e 35 cm, entre as mulheres, foram os pontos de corte que apresentaram melhor desempenho diagnóstico para detectar síndrome metabólica, de acordo com os critérios da *Chinese Diabetes Society* (AUC 0,67 IC95% 0,63-0,70 e 0,66 IC95% 0,63-0,70, respectivamente)¹³⁰.

O indicador associou-se também com espessura da camada média-intimal da carótida, sendo marcador de aterosclerose subclínica, ($R^2= 0,45$ beta =0,009), após ajuste para idade, sexo, tabagismo, hipertensão arterial, glicemia alterada e lipídeos séricos anormais, em 154 americanos com menos de 50 anos¹³¹.

2.3 Aspectos genéticos na obesidade

Estima-se que fatores genéticos sejam responsáveis por 40 a 70% da variação na adiposidade em seres humanos¹³². Mudanças nos hábitos de vida, principalmente em relação à alimentação e sedentarismo, podem atuar sobre genes suscetíveis e contribuir fortemente para o desenvolvimento da doença em indivíduos e populações predispostas¹³³.

Mutações monogênicas (variações em um único gene com menos de 1% de frequência entre a população) já foram associadas com formas graves de obesidade e hiperfagia. Variações nos genes CRHR1 (*corticotrophin-releasing hormone receptor 1*), CRHR2, MCHR1 (*melanin-concentrating hormone 1*), LEP (*leptin*), LEPR (*leptin receptor*), MC3R (*melanocortin 3 receptor*), NTRK2 (*BDNF high-affinity receptor*), POMC (*proopiomelanocortin*), PCSK1 (*Prohormone convertase subtilisin/kexin type 1*), SIM1 (*Singleminded 1*) e MC4R (*melanocortin 4 receptor*) são exemplos de mutações genéticas que levam a formas raras de obesidade monogênica, detectadas a partir dos primeiros dias de vida¹³³.

Obesidade poligênica resultante de múltiplas alterações gênicas é a influência genética mais comumente observada na população geral. Essas alterações podem correlacionar-se de maneira complexa, tornando difícil a individualização de alguns desses genes em estudos populacionais. Nesse contexto, a detecção de alterações genéticas associadas com adiposidade pode ser realizada a partir de duas abordagens: avaliação de genes candidatos e através de GWAS.

Nos estudos de associação, a partir de genes candidatos, a seleção dos mesmos é feita com base no conhecimento acerca de mecanismos fisiopatológicos e implicações biológicas de determinado gene sobre uma doença. Especificamente sobre obesidade, diversos genes são analisados a partir de observações feitas em modelos animais (principalmente quando associados ao balanço energético) e por apresentarem mutações raras que levam a obesidade monogênica. Apesar de 127 genes candidatos à obesidade estarem relatados, na última atualização do Mapa Genético da Obesidade Humana (*Human Obesity Gene Map*), em 2005¹³⁴, alguns desses genes apresentam efeito modesto sobre obesidade e sua replicação em diferentes estudos muitas vezes é inconsistente, devido a interações com fatores ambientais e tamanho amostral reduzido. Nesse sentido, é cada vez maior o número de estudos de base populacional e de metanálises, que buscam superar esses vieses¹³⁵.

Genome-wide association studies (GWAS) ou estudos de associação do genoma completo são considerados ferramentais de última geração em estudos

epidemiológicos para rastreamento genético, no qual são identificadas associações entre variantes genéticas já conhecidas e determinadas doenças. O mapeamento completo do genoma humano^{136,137} e os avanços tecnológicos permitem, atualmente, a genotipagem de milhares de variantes genéticas em um único momento¹³⁸. Basicamente, é feita análise do genoma onde são identificadas alterações comuns [normalmente *single-nucleotide polymorphisms* (SNPs), ou polimorfismos de nucleotídeos únicos] com frequência superior a 1% na população^{139,140}. Diferentemente dos estudos com genes candidatos onde são estudadas poucas regiões cromossômicas simultaneamente, GWAS avaliam todo o genoma e são também denominados estudos guiados por genes não candidatos.

A descoberta da associação entre o gene FTO (*Fat Mass and Obesity Associated*) e excesso de adiposidade através de GWAS é considerado o maior avanço na área de genética da obesidade nos últimos anos e especula-se que polimorfismos desse gene exerçam as maiores contribuições sobre formas poligênicas de obesidade^{9,141}. Paralelamente, o gene MC4R é um forte candidato a determinar a frequência de obesidade, por seu papel na regulação neuroendócrina do apetite¹⁴² e por sua estreita relação com obesidade grave. Mutações no gene MC4R são consideradas as causas mais comuns de obesidade monogênica entre crianças com adiposidade grave¹⁴³.

2.3.1 Gene *Fat Mass and Obesity Associated* (FTO)

O gene FTO (*Fat Mass and Obesity Associated*) foi descrito originalmente em camundongos. Animais com mutações no cromossomo 8 apresentavam assimetrias graves na face e no crânio, sindactilia nos membros anteriores entre outras anormalidades, sendo que nenhuma alteração referente a excesso de peso foi descrita em animais com as denominadas mutações *Ft* (*finger toes*, “dedos unidos”)¹⁴⁴. Em seres humanos, a Síndrome de Bardet-Biedl (distrofia da retina, obesidade, polidactilia, retardo mental, hipogonadismo), que compartilha algumas características com mutações *Ft* em camundongos, está associada a pelo menos 11 regiões cromossômicas diferentes, sendo que em uma delas localiza-se o

gene *BBS2*. Polimorfismos no gene *BBS2* foram associados com obesidade em crianças e adultos caucasianos e, paralelamente, uma pequena alteração cromossômica foi observada próxima a esse gene que correspondia ao cromossomo 8, em camundongos, e ao *locus* do gene *FTO* em seres humanos. Pessoas com essas alterações apresentam fenótipo semelhante às mutações *Ft* (retardo mental, anormalidade nos dedos e também obesidade)¹⁴⁵.

Localizado em seres humanos na região q12.2 do cromossomo 16, as funções do gene *FTO* não estão completamente elucidadas. Sugere-se que potencialize fatores de transcrição envolvidos na adipogênese (contribuindo para a formação e manutenção do tecido adiposo)¹⁴⁶ e que tenha papel na lipogênese e função mitocondrial do músculo esquelético¹⁴⁷. Especula-se também que o gene esteja associado à desmetilação de DNA¹⁴⁸, a sensibilidade à insulina no córtex cerebral¹⁴⁹ e que module a lipólise em células adiposas¹⁵⁰. As evidências indicam que o gene está relacionado a diferenças no comportamento alimentar, saciedade¹⁵¹ e ingestão dietética¹⁵², mas não a gasto energético¹⁵³. A enzima codificada pelo gene (*2-oxoglutarate-dependent nucleic-acid demethylase*) responsável pela desmetilação e regulação da transcrição gênica é altamente expressa no núcleo hipotalâmico¹⁴⁸ e além da regulação da homeostase energética, o hipotálamo é um potente regulador da pressão arterial¹⁵⁴. Assim, especula-se que alterações gênicas em *FTO* possam estar também associadas à modulação dos níveis pressóricos.

A partir de um estudo GWAS, envolvendo a análise de mais de 500.000 polimorfismos, realizado em ingleses, detectou-se a associação entre o gene *FTO* e obesidade, sendo que o polimorfismo de nucleotídeo único (*SNP*) rs9939609 T/A do gene apresentou maior magnitude com excesso de peso. Indivíduos homocigotos para o alelo A (considerado o alelo de risco e com frequência aproximada de 39% nessa população) apresentavam em torno de 3 kg a mais comparativamente aos homocigotos para o alelo T (selvagem) e aproximadamente 1,7 vezes mais risco para obesidade (OR: 1,67; IC 95% 1,47–1,89)⁹. Outros polimorfismos no gene *FTO* foram posteriormente descritos como

fortes preditores de obesidade, mas a variante comum rs9939609 T/A é a que prevalece como a mais estudada entre diversas etnias.

Além de obesidade geral, o gene FTO parece também ter associação com indicadores de adiposidade abdominal. O estudo europeu *Copenhagen City Heart Study*, que avaliou mais de 550 homens com 49 anos, em média, o polimorfismo rs9939609 (22% homozigotos para o alelo de risco) associou-se com IMC (OR: 1,17; IC 95% 1,05–1,30), adiposidade total definida por DEXA (OR: 1,21; IC 95% 1,08–1,36), circunferência da cintura (OR: 1,19; IC 95% 1,05–1,34) e tecido adiposo intra-abdominal (OR: 1,21; IC 95% 1,06–1,39). Nesse estudo, não houve associação entre alterações gênicas em FTO (presença do alelo A), pressão arterial sistólica e diastólica¹¹.

Mulheres pós-menopausicas (com em média 52 ±4 anos, 13,3% homozigotas AA) foram avaliadas em relação ao genótipo rs9939609 T/A em FTO e *Lipid Accumulation Product Index* (LAP) como indicador de obesidade visceral. Após ajuste para tabagismo e idade, mulheres com ao menos um alelo de risco tiveram valores superiores de LAP (cm.mmol.l) comparativamente as homozigotas T/T (42,6 vs. 31,7), assim como pressão arterial sistólica (128,1 vs. 120,5) e diastólica (82,5 vs. 76,7), em mmHg. Nesse estudo os valores de IMC, circunferência da cintura e a prevalência de hipertensão arterial não diferiram entre os grupos¹⁵⁵. Outros autores sugerem que o polimorfismo apresenta associação com IMC e TAS, mas não com TAV¹⁵⁶.

Entre 485 adolescentes eutróficos franco-canadenses, que foram submetidos a um protocolo não invasivo para detecção do índice de modulação simpática do tônus vasomotor, indivíduos homozigotos para o alelo de risco (AA, frequência 12,2%) apresentaram maior elevação da pressão arterial sistólica ao final da análise (4,4 mmHg) acompanhada de um elevado índice de atividade simpática (LF_{DBP} 632 mmHg²). Não houve diferença em relação à pressão arterial diastólica e os adolescentes com genótipo de risco (AA, AT) tiveram acúmulo 38% maior de adiposidade visceral comparativamente aos homozigotos TT¹⁵⁷.

Os estudos entre polimorfismo rs9939609 T/A e diabetes mellitus, assim como em relação à pressão arterial, são controversos. Frayling e cols. detectaram associação entre FTO e diabetes mellitus no primeiro GWAS. Entretanto, após ajustes multivariados, a associação com diabetes mellitus desapareceu, sugerindo um efeito do IMC sobre a doença e não diretamente do polimorfismo⁹.

Entre mais de 2.300 orientais genotipados para o *SNP* não houve diferença estatisticamente significativa entre a distribuição do alelo A de acordo com a presença ou não de diabetes mellitus (29,9% vs. 30,5%)¹⁵⁸. Outro estudo realizado entre mais de 64.000 participantes de uma coorte de base populacional europeia avaliou a associação entre FTO e diabetes mellitus independente de idade, gênero e nível de atividade física, sendo que a presença do alelo de risco em duplicata no *SNP* rs9939609 elevou a chance para a doença (OR: 1,22; IC 95% 1,07–1,39). Após ajuste para IMC, entretanto, a associação perdeu sua significância (OR: 1,09; IC 95% 0,96–1,24)¹⁵⁹. Em uma metanálise de estudos observacionais, que incluiu 23 estudos, realizada em aproximadamente 97.000 orientais mostrou associação significativa do alelo A com diabetes mellitus mesmo após ajuste para IMC (OR: 1,10; IC 95% 1,05–1,16)¹⁶⁰, sugerindo que o efeito do *SNP* sobre a doença poderia ser diferenciado de acordo com a etnia. A presença de outros fatores de risco associados com diabetes mellitus, além da obesidade, também poderia modular a contribuição do polimorfismo sobre a gênese da doença.

2.3.2 Gene *Melanocortin 4 Receptor (MC4R)*

Os neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo, após ativação da leptina, expressam pró-ópio-melanocortina (POMC), que por sua vez origina peptídeos bioativos incluindo as melanocortinas - MSH (α , β e γ)¹⁶¹. Esses peptídeos agem através da ligação com receptores da melanocortina (MC1R a MC5R), que se encontram amplamente distribuídos no sistema nervoso central (SNC). A partir da identificação do gene *agouti* e seu homólogo *AGRP (agouti-related protein)*, detectou-se a importância do sistema da melanocortina na homeostase

energética¹⁶². O *melanocortin 4 receptor* (MC4R) controla o gasto energético e, quando ativado, reduz a ingestão alimentar¹⁴².

Em animais nocauteados, a inativação do gene MC4R originou obesidade grave, de início precoce, hiperfagia e alterações em parâmetros glicêmicos. Por essa razão, iniciou-se a procura de mutações no gene em seres humanos, tendo sido descritas as primeiras em 1998^{163,164}. Atualmente, se reconhece que mutações no MC4R representam a desordem genética mais comum na obesidade humana monogênica, sendo descritas diversas mutações com frequência de até aproximadamente 6% em algumas populações¹⁴³. Localizado em seres humanos na região q22 do cromossomo 18, além da regulação energética¹⁶⁵ e da participação na homeostase glicídica¹⁴³, o gene pode ter implicações na função cardiovascular por ativação adrenérgica¹⁶⁶. Ratos com administração central de α -MSH e ativação hipotalâmica crônica de MC4R apresentam aumento da pressão arterial, sugerindo que o sistema melanocortina está envolvido na regulação dos níveis tensionais via sistema nervoso autônomo¹⁶⁷. Ao contrário, a inativação do gene pode interferir negativamente nos valores pressóricos.

Camundongos homozigotos para deficiência de MC4R (-/-), heterozigotos (+/-) e selvagens (+/+, controles) foram submetidos à aferição da pressão arterial por 24h, durante e após intervenção com dieta hipersódica. Os animais MC4R (-/-) eram gravemente obesos, tinham maior volume de gordura visceral, hiperleptinemia e hiperinsulinemia quando comparados aos outros genótipos, mas a pressão arterial era semelhante. Após administração da dieta hipersódica, não houve elevação da pressão entre os camundongos homozigotos recessivos, sugerindo que apesar da obesidade e resistência a insulina, animais MC4R (-/-) não eram hipertensos nem sensíveis ao sódio¹⁶⁸. Outro estudo que também avaliou animais homozigotos [MC4R (-/-)] obesos e não obesos, submetidos à aferição da pressão arterial por 24h, indicou que, apesar de serem aproximadamente 30% mais pesados e hiperinsulinêmicos comparativamente aos controles [MC4R (+/+)], camundongos com deficiência de MC4R tinham pressão arterial inferior (CT +/+ 114 \pm 3 mmHg, MC4R -/- 108 \pm 4 mmHg). A administração

de leptina entre os controles promoveu redução do peso e da ingestão alimentar, mas elevou a pressão arterial nesses animais¹⁶⁹.

A hipótese de que a inativação do gene estaria associada a valores pressóricos inferiores foi testada em seres humanos. Parâmetros metabólicos e pressão arterial foram avaliados entre 46 indivíduos com deficiência de MC4R oriundos do *Genetics of Obesity Study* e 30 controles com IMC ≥ 25 kg/m² com sequenciamento normal do gene MC4R. A prevalência de diabetes mellitus foi semelhante entre os grupos (20% e 18%), mas hipertensão arterial foi superior entre os controles, comparativamente aos indivíduos com mutação gênica (53% vs. 24%), e após a exclusão dos pacientes em uso de anti-hipertensivos tanto a pressão arterial sistólica quanto a diastólica foi superior entre os controles (PAS/PAD 131 \pm 1 / 79 \pm 7 mmHg; PAS/PAD 123 \pm 1 / 73 \pm 1 mmHg). Indivíduos com deficiência de MC4R também tiveram batimentos cardíacos mais baixos durante a caminhada e após infusão de insulina (estimativas da atividade do sistema nervoso autônomo), assim como excreção urinária de noraepinefrina inferior quando comparados aos controles. No mesmo estudo, agonista de MC4R LY2112688 foi administrado entre 26 controles e em dose máxima (1 mg) elevou a pressão arterial sistólica e diastólica em 24h entre os pacientes (PAS/PAD 9 \pm 2 / 7 \pm 1 mmHg), sem interferência da ação da insulina¹⁷⁰. Outro estudo realizado entre 8 indivíduos com mutação em MC4R e 8 controles (pareados por IMC, idade e gênero) indicou que atividade muscular vasoconstritora da inervação simpática apresentava correlação inversa e significativa com IMC e níveis séricos de leptina entre os casos, além de tendência a valores pressóricos mais baixos¹³.

Estudo GWAS realizado em 2008 entre mais de 16.800 europeus mapeou uma variante genética muito próxima ao gene MC4R (188 kb *downstream*), e o SNP rs17782313 T/C (a frequência do alelo de risco T foi de 24% nessa população) associou-se com aumento do IMC entre mais de 60.300 adultos caucasianos¹⁰. Apesar de um efeito aproximadamente 40% menor sobre excesso de peso comparativamente ao FTO, a variante rs17782313 T/C próxima ao MC4R parece estar também associado ao aumento de circunferência da cintura¹² e do tecido adiposo visceral^{171,172}. Entre 1.350 participantes do *Hong Kong Cardiovascular*

Risk Factors Prevalence Study (CRISPS) que tiveram o genótipo avaliado, entretanto, não houve associação entre o alelo de risco C do SNP rs17782313 e obesidade central, definida por circunferência da cintura ≥ 90 cm, entre os homens, e ≥ 80 cm, entre as mulheres (OR: 1,12; IC 95% 0,87 – 1,44)¹⁷³.

Poucos estudos avaliaram a associação entre essa variante e diabetes mellitus na população. Em dinamarqueses, não houve associação entre a presença do alelo C em rs17782313 (frequência de 25% na população) e diabetes mellitus, apesar de sua associação com obesidade geral (OR: 1,18; IC 95% 1,06–1,30)¹⁵⁹. O mesmo foi observado em chineses¹⁵⁸, finlandeses e franceses¹⁷⁴. Entretanto, entre 5.724 mulheres, participantes da coorte americana *Nurses' Health Study*, houve associação entre polimorfismo e diabetes mellitus auto-referida, independente de IMC e circunferência da cintura, mas apenas entre os indivíduos heterozigotos (OR: 1,15; IC 95% 1,00–1,32, frequência do alelo C 25%). Também se observou ingestão elevada de gorduras e calorias totais entre as portadoras do alelo de risco C¹⁷⁵.

As conclusões acerca da influência de alterações gênicas em MC4R nos níveis pressóricos foram observadas a partir de mutações. O polimorfismo rs17782313 C/T próximo ao gene MC4R poderia refletir as alterações na pressão arterial observadas entre indivíduos com mutações graves. Sabe-se que indivíduos portadores do alelo de risco ao menos não diferem em relação a valores pressóricos comparativamente aos heterozigotos T/T¹⁷⁶.

3. Diabetes Mellitus

3.1 Epidemiologia e Classificação

Diabetes mellitus, doença multifatorial caracterizada por alterações metabólicas e hiperglicemia crônica, associa-se em longo prazo com dano, disfunção e falência de vários órgãos^{177,178}, além de risco para doença e mortalidade cardiovascular¹⁷⁹.

Aproximadamente 350 milhões de indivíduos em todo o mundo (IC 95% 314–382) são acometidos pela doença. Em 1980, as prevalências mundiais de diabetes mellitus, ajustadas para idade, eram de 8,5% entre os homens e 7,5% entre as mulheres e, atualmente, estima-se que 9,8% dos homens e 9,2% das mulheres tenham diagnóstico de diabetes¹⁸⁰. As projeções indicam que até 2030 o aumento dessas proporções será maior entre indivíduos ≥ 65 anos, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento¹⁸¹. No Brasil, o estudo VIGITEL, realizado em 2006, em 27 capitais brasileiras estimou uma prevalência da doença em 5,3% (IC 95% 5,1 - 5,5)¹⁶.

As organizações nacionais¹⁸² e internacionais¹⁸³⁻¹⁸⁵ estabelecem que indivíduos com concentração plasmática de glicose maior ou igual a 126 mg/dl em jejum, e/ou maior ou igual a 200 mg/dl, aferida casualmente e/ou após sobrecarga de glicose oral, são classificados como portadores da doença. Recentemente, estabeleceu-se que valores de hemoglobina glicosilada $\geq 6,5\%$ também caracterizam o diagnóstico da doença^{183,186}.

Envelhecimento populacional¹⁸⁷, obesidade¹⁸⁸, hábitos dietéticos não saudáveis e sedentarismo^{189,190}, nível socioeconômico¹⁹¹ e fatores genéticos¹⁹² são potenciais fatores de risco envolvidos na etiologia de diabetes mellitus. A *International Diabetes Federation* (IDF) estima que 30 a 90% dos indivíduos com diabetes mellitus não tem conhecimento de serem portadores da doença.

4. Obesidade, Hipertensão Arterial e Diabetes Mellitus: fisiopatologia

A complexa relação entre obesidade, diabetes mellitus e hipertensão arterial ainda não está plenamente estabelecida. Obesos são frequentemente acometidos por alterações hormonais, renais, hemodinâmicas e neuroendócrinas que podem estar correlacionados com a etiopatogenia da hipertensão arterial e diabetes mellitus.

Resistência à insulina e hiperinsulinemia são consequências do acúmulo excessivo de tecido adiposo visceral¹⁹³, onde tecidos-avulsos como o músculo esquelético, o fígado e o próprio tecido adiposo não respondem adequadamente à ação do hormônio. Indivíduos obesos apresentam tanto lipólise aumentada^{77,194} quanto armazenamento inadequado de triglicerídeos e, juntamente com ação altamente metabólica do tecido adiposo visceral comparativamente ao subcutâneo¹⁹⁵, eleva-se a liberação de ácidos graxos livres entre esses indivíduos. Compartimentos intracelulares sobrecarregados de ácidos graxos livres promovem uma redução da captação de glicose pelos músculos esqueléticos, estimula a produção de glicose pelo fígado e inibe a secreção de insulina pelas células pancreáticas¹⁹⁵. Um estado crônico de hiperglicemia resultante dessa interação poderia levar ao desenvolvimento de diabetes mellitus.

Alterações provocadas pelo aumento da atividade do sistema nervoso simpático são frequentes em indivíduos obesos e hipertensos, com consequente vasoconstrição periférica e aumento da reabsorção tubular renal de sódio, onde níveis elevados de noradrenalina, em pacientes obesos, associam-se ao aumento atividade simpática do rim¹⁹⁶. Na tentativa de equilibrar a natriurese prejudicada, pode ocorrer aumento do volume sanguíneo consequente à retenção de sódio, elevando a pressão arterial entre obesos. Alterações hemodinâmicas intra-renais podem também ocorrer em função da compressão física exercida pela massa adiposa sobre a medula renal¹⁹⁷.

Níveis de adiponectina estão inversamente correlacionados a quantidade de tecido adiposo no organismo e estão negativamente associados à hipertensão arterial e diabetes mellitus. Estudos em modelo animal mostram que adiponectina estimula a captação e utilização de glicose e oxidação de ácidos graxos, pelo músculo esquelético e células hepáticas, aumentando a secreção, melhora a sensibilidade à insulina e suprime a neoglicogênese hepática. O receptor ativado por proliferadores do peroxisoma (PPAR-gama), fator de transcrição, que induz a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos e promove o metabolismo da glicose, é o principal mediador desses mecanismos, sendo potencializado por antagonistas de receptores da angiotensina¹⁹⁸ e estimulado pela adiponectina,

sendo essa a hipótese mais provável que justifica a hiperadiponectinemia como fator de proteção para diabetes mellitus⁷⁰. O uso de sensibilizadores de insulina sintéticos^{199,200} e de algumas classes de drogas anti-hipertensivas²⁰¹⁻²⁰³ está associado ao aumento dos níveis séricos de adiponectina entre pacientes com hipertensão arterial e com diabetes mellitus.

O sistema renina-angiotensina-aldosterona encontra-se alterado em indivíduos obesos com conseqüente implicação sobre os valores pressóricos¹⁹⁷. Alguns dos componentes do sistema são produtos de adipócitos e contribuem para a diferenciação dessas células (adipogênese)²⁰⁴. Indivíduos obesos apresentam índices elevados de renina e angiotensina II, com aumento da reabsorção de sódio e conseqüente excesso de volume extracelular¹⁹⁷, contribuindo para a elevação dos níveis tensionais. Angiotensinogênio plasmático está positivamente correlacionado com massa adiposa e níveis plasmáticos de leptina¹⁹⁷, que tem ação direta no sistema nervoso simpático²⁰⁵ e na ativação de POMC¹⁶¹, que por sua vez é precursor de melanocortinas¹⁶⁷ envolvidas no aumento da pressão arterial.

Alterações genéticas também podem estar envolvidas na gênese dessas doenças concomitantemente. Apesar de ainda não estar plenamente estabelecido, os genes FTO e MC4R parecem contribuir para o desenvolvimento de diabetes mellitus e alterações em níveis pressóricos em pacientes com obesidade.

5. Justificativa

Obesidade é fator preditor de hipertensão arterial e diabetes mellitus, mas a detecção de compartimentos de tecido adiposo considerados de maior risco é, em alguns casos, enviesada pelos métodos de aferição tradicionalmente realizados. As limitações dos métodos de imagem não permitem seu uso rotineiro, e a validação e utilização de indicadores novos tem sido proposta, na tentativa de aumentar a magnitude de associação com fatores de risco.

Em pacientes com hipertensão arterial, dada a importância da doença em nível de saúde pública, a elevada prevalência de diabetes mellitus e obesidade concomitantemente, é relevante que a utilização de novos indicadores de adiposidade seja testada, uma vez que os estudos, em sua maioria, são realizados na população em geral.

Apesar de ainda ser controversa e seus efeitos de pequena magnitude, a avaliação de genes promotores de excesso de peso é cada vez mais frequente em estudos populacionais e o avanço tecnológico permite que os estudos sejam replicados em diversas populações e etnias. Os mecanismos de ação de determinados genes podem exercer influências paradoxais sobre obesidade e fatores de risco cardiovascular, o que justificaria sua avaliação em indivíduos diferenciados, como os hipertensos ou diabéticos. A associação entre variantes genéticas específicas, relacionadas a obesidade geral e diferentes compartimentos de tecido adiposo detectados por indicadores antropométricos recentemente propostos ainda é desconhecida na maioria da população, incluindo os portadores de hipertensão.

Assim, selecionou-se população de maior risco cardiovascular, pacientes com hipertensão, para investigar-se a associação entre esses polimorfismos e diabetes mellitus. Além disso, buscou-se avaliar se indicadores antropométricos menos frequentemente investigados nessa população seriam preditores de risco para diabetes, através da detecção de depósitos de gordura associadas a risco cardiometabólico.

6. Objetivos

6.1 Objetivo Geral

Determinar a associação entre polimorfismos dos genes FTO e MC4R, indicadores de obesidade e diabetes mellitus entre pacientes com hipertensão arterial sistêmica.

6.2 Objetivos Específicos

Verificar a correlação entre circunferência do pescoço, *Body Adiposity Index* e *Lipid Accumulation Product Index* com indicadores antropométricos tradicionais (circunferência da cintura e índice de massa corporal);

Identificar a associação entre CP, BAI e LAP e diabetes mellitus entre homens e mulheres;

Determinar a frequência dos polimorfismos rs9939609 T/A do gene FTO e rs17782313 T/C do gene MC4R;

Identificar a relação entre os alelos de risco e indicadores antropométricos de obesidade geral (BAI e IMC) e visceral (CP, LAP e CC) em homens e mulheres;

Verificar a associação entre os polimorfismos com valores pressóricos e com diabetes mellitus entre os indivíduos avaliados.

7. Referências

1. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* 2011;377:557-67
2. Bouchard C. Gene-environment interactions in the etiology of obesity: defining the fundamentals. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16(Suppl 3):S5-10
3. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000;404:661-71
4. Comuzzie AG, Allison DB. The search for human obesity genes. *Science* 1998;280:1374-7
5. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010;11:11-8
6. Smith JD, Borel AL, Nazare JA, Haffner SM, Balkau B, Ross R et al. Visceral adipose tissue indicates the severity of cardiometabolic risk in patients with and without type 2 diabetes: results from the INSPIRE ME IAA Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:1517-25
7. Marques, MT. Relação da gordura visceral abdominal e doença coronária avaliada pela tomografia computadorizada de múltiplos detectores. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, SP, 2009
8. Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovasc Disord* 2005;5:26-36
9. Frayling TM, Tipmson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007;316:889-94
10. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet* 2008;40:768-75
11. Kring SII, Holst C, Zimmermann E, Jess T, Berentzen T, Toubro S et al. FTO gene associated fatness in relation to body fat distribution and metabolic traits throughout a broad range of fatness. *PLoS One* 2008;3:e2958

12. Zobel DP, Andreasen CH, Grarup N, Eiberg H, Sørensen TI, Sandbaek A et al. Variants near MC4R are associated with obesity and influence obesity-related quantitative traits in a population of middle-aged people: studies of 14,940 Danes. *Diabetes* 2009;58:757-64
13. Sayk F, Heutling D, Dodt C, Iwen KA, Wellhoner JP, Scherag S et al. Sympathetic function in human carriers of melanocortin-4 receptor gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1998-2002
14. Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;360:1903–13
15. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005;365:217-23
16. Schmidt MI, Duncan BB, Hoffmann JF, Moura L, Malta DC, Carvalho RM. Prevalence of diabetes and hypertension based on self-reported morbidity survey, Brazil, 2006. *Rev Saude Publica* 2009;43:74-82
17. Banegas JR, Rodriguez-Artalejo F, Ruilope LM, Graciani A, Luque M, de la Cruz-Troca JJ, et al. Hypertension magnitude and management in the elderly population of Spain. *J Hypertens* 2002;20:2157-64
18. Graudal NA, Hubeck-Graudal T, Jürgens G. Effects of low-sodium diet vs. high-sodium diet on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterol, and triglyceride (Cochrane Review). *Am J Hypertens* 2012;25:1-15
19. Adrogué HJ, Madias NE. Sodium and potassium in the pathogenesis of hypertension. *N Engl J Med* 2007;356:1966-78
20. da Costa JS, Barcellos FC, Sclowitz ML, Sclowitz IK, Castanheira M, Olinto MT et al. Hypertension prevalence and its associated risk factors in adults: a population-based study in Pelotas. *Arq Bras Cardiol* 2007;88:59-65
21. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Kannel WB, Levy D. Assessment of frequency of progression to hypertension in nonhypertensive participants in the Framingham Heart Study: a cohort study. *Lancet* 2001;358:1682–6
22. Steffens AA, Moreira LB, Fuchs SC, Wiehe M, Gus M, Fuchs FD. Incidence of hypertension by alcohol consumption: is it modified by race? *J Hypertens* 2006;24:1489-92

23. Fuchs FD, Chambless LE, Whelton PK, Nieto FJ, Heiss G. Alcohol consumption and the incidence of hypertension: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Hypertension* 2001;37:1242-50
24. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42:1206–52
25. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2010
26. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G et al. 2007 Guidelines for the management of arterial Hypertension. The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462–1536
27. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A; International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet* 2008;371:1513-18
28. Egan BM, Zhao Y, Axon RN. US Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988-2008. *JAMA* 2010; 303:2043-50
29. Pereira M, Lunet N, Azevedo A, Barros H. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. *J Hypertens* 2009;27:963–75
30. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement of management of hypertension. *J Hypertens* 2003;21:1983–92
31. Zidek W, Naditch-Brûlé L, Perlini S, Farsang C, Kjeldsen SE. Blood pressure control and components of the metabolic syndrome: the GOOD survey. *Cardiovasc Diabetol* 2009;8:51-60
32. Mancia G, Parati G, Borghi C, Ghironzi G, Andriani E, Marinelli L, et al. Hypertension prevalence, awareness, control and association with metabolic abnormalities in the San Marino population: the SMOOTH study. *J Hypertens* 2006;24:837–43
33. Tavassoli A, Gharipour M, Toghianifar N, Sarrafzadegan N, Khosravi A, Zolfaghari B et al. The impact of obesity on hypertension and diabetes control following healthy Lifestyle Intervention Program in a developing country setting. *J Res Med Sci* 2011; 16(Suppl1):S368–76

34. Kjeldsen SE, Naditch-Brule L, Perlini S, Zidek W, Farsang C. Increased prevalence of metabolic syndrome in uncontrolled hypertension across Europe: the Global Cardiometabolic Risk Profile in Patients with hypertension disease survey. *J Hypertens* 2008;26:2064–70
35. Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely MJ, Newell-Morris L, Kahn SE et al. Visceral adiposity is an independent predictor of incident hypertension in Japanese Americans. *Ann Intern Med* 2004;140:992-1000
36. Gus M, Cicheler FT, Moreira CM, Escobar GF, Moreira LB, Wiehe M et al. Waist circumference cut-off values to predict the incidence of hypertension: an estimation from a Brazilian population-based cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19:15-9
37. Marcadenti A, Fuchs SC, Moreira LB, Wiehe M, Gus M, Fuchs FD. Accuracy of anthropometric indexes of obesity to predict diabetes mellitus type 2 among men and women with hypertension. *Am J Hypertens* 2011;24:175-80
38. Meisinger C, Thorand B, Schneider A, Stieber J, Döring A, Löwel H. Sex differences in risk factors for incident type 2 diabetes mellitus. The MONICA Augsburg Cohort Study. *Arch Intern Med* 2002;162:82-9
39. Sun Z, Zheng L, Xu C, Zhang X, Li J, Liu S et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in hypertensive adults in rural China. *Acta Cardiol* 2009;64:351-6
40. Banegas JR, López-García E, Graciani A, Guallar-Castillón P, Gutierrez-Fisac JL, Alonso J et al. Relationship between obesity, hypertension and diabetes, and health-related quality of life among the elderly. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007;14:456-62
41. Franzini L, Ardigò D, Cavalot F, Miccoli R, Rivellese AA, Trovati M et al. Women show worse control of type 2 diabetes and cardiovascular disease risk factors than men: results from the MIND.IT Study Group of the Italian Society of Diabetology. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; Mar 5 [Epub ahead of print]
42. Scholze J, Alegria E, Ferri C, Langham S, Stevens W, Jeffries D et al. Epidemiological and economic burden of metabolic syndrome and its consequences in patients with hypertension in Germany, Spain and Italy: a prevalence-based model. *BMC Public Health* 2010;10:529-40
43. Lee IT, Chiu YF, Hwu CM, He CT, Chiang FT, Lin YC et al. Central obesity is important but not essential component of the metabolic syndrome for predicting diabetes mellitus in a hypertensive family-based cohort. Results from the Stanford Asia-Pacific

Program for Hypertension and Insulin Resistance (SAPPHIRe) Taiwan follow-up study. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:43-52

44. Prospective Studies Collaboration, Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* 2009;373:1083-96

45. Pischon T, Boeing H, Hoffmann K, Bergmann M, Schulze MB, Overvad K et al. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *N Engl J Med* 2008;359:2105-20

46. World Health Organization. BMI Classification. Available from: http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html. [accessed 10.05.12]

47. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)* 2008;32:1431-7

48. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2008-2009. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/presidencial/noticias/noticias_impresao.php?id_noticia=278 [accessed 08.05.12]

49. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev* 2004;84:277-359

50. van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N Engl J Med* 2009;360:1500-8

51. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med* 2009;360:1509-17

52. Vijgen GH, Bouvy ND, Teule GJ, Brans B, Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD. Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. *PLoS One* 2011;6:e17247

53. Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J, Muruzábal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280:827-47

54. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999;100:2473-6

55. Shen W, Wang ZM, Punyanita M, Lai J, Sinav A, Oral JG et al. Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification. *Obesity Res* 2003;11:5-16
56. Krotkiewski M, Björntorp P, Sjöström L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983;72:1150-62
57. Kotani K, Tokunaga K, Fujioka S, Kobatake T, Keno Y, Yoshida S et al. Sexual dimorphism of age-related changes in whole-body fat distribution in the obese. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1994;18:207–2
58. Lemieux S, Prud'homme D, Bouchard C, Tremblay A, Després JP. Sex differences in the relation of visceral adipose tissue accumulation to total body fatness. *Am J Clin Nutr* 1993;58:463-7
59. Hughes VA, Roubenoff R, Wood M, Frontera WR, Evans WJ, Fiatarone Singh MA. Anthropometric assessment of 10-y changes in body composition in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2004;80:475–82
60. Cartwright MJ, Tchkonja T, Kirkland JL. Aging in adipocytes: potential impact of inherent, depot-specific mechanisms. *Exp Gerontol* 2007;42 463–71
61. Tchkonja T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scoble H et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell* 2010;9:667-84
62. Zamboni M, Armellini F, Harris T, Turcato E, Micciolo R, Bergamo-Andreis IA et al. Effects of age on body fat distribution and cardiovascular risk factors in women. *Am J Clin Nutr* 1997;66:111–5
63. Pénicaud L, Cousin B, Leloup C, Lorsignol A, Casteilla L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. *Nutrition* 2000;16:903-8
64. Kreier F, Fliers E, Voshol PJ, van Eden CG, Havekes LM, Kalsbeek A et al. Selective parasympathetic innervations of subcutaneous and intra-abdominal fat – functional implications. *J Clin Invest* 2002;110:1243-50
65. Björntorp P. “Portal” adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis* 1990;10:493–6
66. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796 –1808

67. Baumann H, Gauldie J. Regulation of hepatic acute phase plasma protein genes by hepatocyte stimulating factors and other mediators of inflammation. *Mol Biol Med* 1990;7:147–59
68. Hube F, Lietz U, Igel M, Jensen PB, Tornqvist H, Joost HG et al. Difference in leptin mRNA levels between omental and subcutaneous abdominal adipose tissue from obese humans. *Horm Metab Res* 1996;28:690–3
69. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000;102:1296–1301
70. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006;116:1784-92
71. Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, Pedersen SB, Toubro S, Astrup A et al. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:527-33
72. Chow WS, Cheung BM, Tso AW, Xu A, Wat NM, Fong CH et al. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. *Hypertension* 2007;49:1455-61
73. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009;302:179-88
74. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003;46:459-69
75. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004;291:1730–7
76. Wood IS, de Heredia FP, Wang B, Trayhurn P. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. *Proc Nutr Soc* 2009;68:370–7
77. Carobbio S, Rodriguez-Cuenca S, Vidal-Puig A. Origins of metabolic complications in obesity: ectopic fat accumulation. The importance of the qualitative aspect of lipotoxicity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011;14:520-6

78. Nielsen S, Guo Z, Johnson CM, Hensrud DD, Jensen MD. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest* 2004;113:1582-8
79. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2007;116:39-48
80. Liu J, Fox CS, Hickson DA, May WD, Hairston KG, Carr JJ et al. Impact of abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue on cardiometabolic risk factors: the Jackson Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5419-26
81. Marques MD, Santos RD, Parga JR, Rocha-Filho JA, Quaglia LA, Miname MH et al. Relation between visceral fat and coronary artery disease evaluated by multidetector computed tomography. *Atherosclerosis* 2010;209:481-6
82. Nakamura T, Tokunaga K, Shimomura I, Nishida M, Yoshida S, Kotani K et al. Contribution of visceral fat accumulation to the development of coronary artery disease in non-obese men. *Atherosclerosis* 1994;107:239-46
83. Cornier MA, Després JP, Davis N, Grossniklaus DA, Klein S, Lamarche B et al. Assessing adiposity. A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation* 2011;124:1996-2019
84. Bergman RN, Stefanovski D, Buchanan TA, Sumner AE, Reynolds JC, Sebring NG et al. A better index of body adiposity. *Obesity (Silver Spring)* 2011;19:1083-9
85. Ross R. Advances in the application of imaging methods in applied and clinical physiology. *Acta Diabetol* 2003;40(Suppl 1):S45–50
86. Lee SY, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008;11:566–72
87. Golan R, Shelef I, Rudich A, Gepner Y, Shemesh E, Chassidim Y et al. Abdominal superficial subcutaneous fat: a putative distinct protective fat subdepot in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2012;35:640-7
88. Kaul S, Rothney MP, Peters DM, Wacker WK, Davis CE, Shapiro MD et al. Dual-Energy X-Ray Absorptiometry for quantification of visceral fat. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:1313-8
89. Silver HJ, Welch EB, Avison MJ, Niswender KD. Imaging body composition in obesity and weight loss: challenges and opportunities. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2010;3:337-47

90. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond)* 2008;32:959–66
91. Okorodudu DO, Jumean MF, Montori VM, Romero-Corral A, Somers VK, Erwin PJ et al. Diagnostic performance of body mass index to identify obesity as defined by body adiposity: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)* 2010;34:791–9
92. Gallagher D, Visser M, Sepulveda D, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB. How useful is body mass index for comparison of body fatness across age, sex, and ethnic groups? *Am J Epidemiol* 1996;143:228–39
93. Pouliot MC, Despre's JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 1994;73:460–8
94. de Koning L, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: metaregression analysis of prospective studies. *Eur Heart J* 2007;28:850–6
95. Balkau B, Deanfield JE, Després JP, Bassand JP, Fox KA, Smith SC Jr et al. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168 000 primary care patients in 63 countries. *Circulation* 2007;116:1942-51
96. Ross R, Berentzen T, Bradshaw AJ, Janssen I, Kahn HS, Katzmarzyk PT et al. Does the relationship between waist circumference, morbidity and mortality depend on measurement protocol for waist circumference? *Obes Rev* 2008;9:312-25
97. Bovy-Westphal A, Booke CA, Blöcker T, Kossel E, Goele K, Later W et al. Measurement site for waist circumference affects its accuracy as an index of visceral and abdominal subcutaneous fat in a Caucasian population. *J Nutr* 2010;140:954-61
98. Camhi SM, Bray GA, Bouchard C, Greenway FL, Johnson WD, Newton RL et al. The relationship of waist circumference and BMI to visceral, subcutaneous, and total body fat: sex and race differences. *Obesity (Silver Spring)* 2011;19:402-8
99. Berentzen TL, Ängquist L, Kotronen A, Borra R, Yki-Järvinen H, Iozzo P et al. Waist circumference adjusted for body mass index and intra-abdominal fat mass. *PLoS One* 2012;7:e32213

100. Gradmark AM, Rydh A, Renström F, De Lucia-Rolfe E, Sleigh A, Nordström P et al. Computed tomography-based validation of abdominal adiposity measurements from ultrasonography, dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometry. *Br J Nutr* 2010;104:582-8
101. Kuk JL, Lee S, Heymsfield SB, Ross R. Waist circumference and abdominal adipose tissue distribution: influence of age and sex. *Am J Clin Nutr* 2005;81:1330-4
102. Tchernof A, Lamarche B, Prud'Homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrie F et al. The dense LDL phenotype: associations with plasma lipoprotein levels, visceral obesity and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care* 1996;19:629–37
103. Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Alméras N et al. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation* 2000;102:179-84
104. Kahn HS, Valdez R. Metabolic risks identified by the combination of enlarged waist and elevated triacylglycerol concentration. *Am J Clin Nutr* 2003;78:928–34
105. Sam S, Haffner S, Davidson MH, D'Agostino RB Sr, Feinstein S, Kondos G et al. Hypertriglyceridemic waist phenotype predicts increased visceral fat in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1916-20
106. MacLean DR, Petrasovits A, Connelly PW, Joffres M, O'Connor B, Little JA. Plasma lipids and lipoprotein reference values, and the prevalence of dyslipoproteinemia in Canadian adults. Canadian Heart Health Surveys Research Group. *Can J Cardiol* 1999;15:434-44
107. Wiltgen D, Benedetto IG, Mastella LS, Spritzer PM. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2009;24:1726-31
108. Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol* 2010;10:98-106
109. Wehr E, Gruber HJ, Giuliani A, Möller R, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. The lipid accumulation product is associated with impaired glucose tolerance in PCOS women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:986-90
110. Sambataro M, Perseghin G, Lattuada G, Beltramello G, Luzi L, Pacini G. Lipid accumulation in overweight type 2 diabetic subjects: relationships with insulin sensitivity and adipokines. *Acta Diabetol* 2012 Jan 4 [Epub ahead of print]

111. Bozorgmanesh M, Hadaegh F, Azizi F. Diabetes prediction, lipid accumulation product, and adiposity measures; 6-year follow-up: Tehran lipid and glucose study. *Lipids Health Dis* 2010;9:45-54
112. Kahn HS. The lipid accumulation product is better than BMI for identifying diabetes: a population-based comparison. *Diabetes Care* 2006;29:151-3
113. Wehr E, Pilz S, Boehm BO, März W, Obermayer-Pietsch B. The lipid accumulation product is associated with increased mortality in normal weight postmenopausal women. *Obesity (Silver Spring)* 2011;19:1873-80
114. Bozorgmanesh M, Hadaegh F, Azizi F. Predictive performances of lipid accumulation product vs. adiposity measures for cardiovascular diseases and all-cause mortality, 8.6-year follow-up: Tehran lipid and glucose study. *Lipids Health Dis* 2010;9:100-13
115. Ioachimescu AG, Brennan DM, Hoar BM, Hoogwerf BJ. The lipid accumulation product and all-cause mortality in patients at high cardiovascular risk: a PreCIS database study. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:1836-44
116. Johnson W, Chumlea WC, Czerwinski SA, Demerath EW. Concordance of the recently published body adiposity index with measured body fat percent in European-american adults. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:900-3
117. Freedman DS, Thornton J, Pi-Sunyer FX, Heymsfield SB, Wang J, Pierson Jr RN et al. The body adiposity index (hip circumference ÷ height(1.5)) is not a more accurate measure of adiposity than is BMI, waist circumference, or hip circumference. *Obesity (Silver Spring)* 2012 Apr 9 [Epub ahead of print]
118. López AA, Cespedes ML, Vicente T, Tomas M, Bennasar-Veny M, Tauler P et al. Body adiposity index utilization in a Spanish Mediterranean population: comparison with the body mass index. *PLoS One* 2012;7:e35281
119. Godoy-Matos AF, Moreira RO, Valerio CM, Mory PB, Moises RS. A new method for body fat evaluation, body adiposity index, is useful in women with familial partial lipodystrophy. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:440-3
120. Elisha B, Rabasa-Lhoret R, Messier V, Abdulnour J, Karelis AD. Relationship between the body adiposity index and cardiometabolic risk factors in obese postmenopausal women. *Eur J Nutr* 2012 Jan 1 [Epub ahead of print]

121. Schulze MB, Thorand B, Fritsche A, Häring HU, Schick F, Zierer A et al. Body adiposity index, body fat content and incidence of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2012;55:1660-7
122. Ben-Noun L, Sohar E, Laor A. Neck circumference as a simple screening measure for identifying overweight and obese patients. *Obes Res* 2001;9:470-7
123. Freedman DS, Rimm AA. The relation of body fat distribution, as assessed by six girth measurements, to diabetes mellitus in women. *Am J Public Health* 1989;79:715-20
124. Yang L, Samarasinghe YP, Kane P, Amiel SA, Aylwin SJ. Visceral adiposity is closely correlated with neck circumference and represents a significant indicator of insulin resistance in WHO grade III obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;73:197-200
125. Chung S, Yoon IY, Shin YK, Lee CH, Kim JW, Lee T et al. Endothelial dysfunction and C-reactive protein in relation with the severity of obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep* 2007;30:997-1001
126. Zhang XL, Yin KS, Mao H, Wang H, Yang Y. Serum adiponectin level in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2004;117:1603-6
127. Laakso M, Matilainen V, Keinänen-Kiukaanniemi S. Association of neck circumference with insulin resistance-related factors. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:873-5
128. Ben-Noun L, Laor A. Relationship of neck circumference to cardiovascular risk factors. *Obes Res* 2003;11:226-31
129. Preis SR, Massaro JM, Hoffmann U, D'Agostino RB Sr, Levy D, Robins SJ et al. Neck circumference as a novel measure of cardiometabolic risk: the Framingham Heart study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:3701-10
130. Yang GR, Yuan SY, Fu HJ, Wan G, Zhu LX, Bu XL et al. Neck circumference positively related with central obesity, overweight, and metabolic syndrome in Chinese subjects with type 2 diabetes: Beijing Community Diabetes Study 4. *Diabetes Care* 2010;33:2465-7
131. Fitch KV, Stanley TL, Looby SE, Rope AM, Grinspoon SK. Relationship between neck circumference and cardiometabolic parameters in HIV-infected and non-HIV-infected adults. *Diabetes Care* 2011;34:1026-31
132. Allison DB, Faith MS, Nathan JS. Risch's lambda values for human obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:990-9

133. Bouchard C. Gene–environment interactions in the etiology of obesity: defining the fundamentals. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16(Suppl 3):S5–10
134. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:529-644
135. Masud S, Ye S. Effect of the peroxisome proliferator activated receptor-gamma gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta-analysis. *J Med Genet* 2003;40:773–80
136. The International Human Genome Mapping Consortium. A physical map of the human genome. *Nature* 2001;409:934–41
137. The International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007;449:851–61
138. Mägi R, Pfeufer A, Nelis M, Montpetit A, Metspalu A, Remm M. Evaluating the performance of commercial whole-genome marker sets for capturing common genetic variation. *BMC Genomics* 2007;8:159-67
139. Manolio TA, Guttmacher Alan E, Manolio Teri A. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med* 2010;363:166–76
140. Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA* 2008;299:1335–44
141. Scuteri A, Sanna S, Chen W-M, Uda M, Albai G, Strait J et al. Genome-Wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet* 2007;3:e115
142. Cone RD. The central melanocortin system and energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:211-6
143. Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GSH, Lank EJ, Cheetham T, O’Rahilly S et al. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med* 2003;348:1085-95
144. van der Hoeven F, Schimmang T, Volkmann A, Mattei MG, Kyewski B, Ruther U. Programmed cell death is affected in the novel mouse mutant Fused toes (Ft). *Development* 1994;120:2601–7

145. Green JS, Parfrey PS, Harnett JD, Farid NR, Cramer BC, Johnson G et al. The cardinal manifestations of Bardet–Biedl Syndrome, a form of Laurence–Moon–Biedl Syndrome. *N Engl J Med* 1989;321:1002-9
146. Wu Q, Saunders RA, Szkudlarek-Mikho M, de la Serna I, Chin K-V. The obesity-associated Fto gene is a transcriptional coactivator. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;401:390–5
147. Bravard A, Lefai E, Meugnier E, Pesenti S, Disse E, Vouillarmet J et al. FTO is increased in muscle during type 2 diabetes, and its overexpression in myotubes alters insulin signaling, enhances lipogenesis and ROS production, and induces mitochondrial dysfunction. *Diabetes* 2011;60:258–68
148. Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science* 2007;318:1469–72
149. Tschritter O, Preissl H, Yokoyama Y, Machicao F, Häring HU, Fritsche A. Variation in the FTO gene locus is associated with cerebrocortical insulin resistance in humans. *Diabetologia* 2007;50:2602-3
150. Wåhlén K, Sjölin E, Hoffstedt J. The common rs9939609 gene variant of the fat mass and obesity-associated gene FTO is related to fat cell lipolysis. *J Lipid Res* 2008;49:607-11
151. Cecil JE, Tavendale R, Watt P, Hetherington MM, Palmer CN. An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *N Engl J Med* 2008;359:2558–66
152. Wardle J, Carnell S, Haworth CMA, Farooqi SI, O’Rahilly S, Plomin R, et al. Obesity-associated genetic variation in FTO associated with diminished satiety. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3640-3
153. Berentzen T, Kring SI, Holst C, Zimmermann E, Jess T, Hansen T et al. Lack of association of fatness-related FTO gene variants with energy expenditure or physical activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2904-8
154. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:335–46
155. Ramos RB, Casanova GK, Maturana MA, Spritzer PM. Variations in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene are related to glucose levels and higher lipid

accumulation product in postmenopausal women from southern Brazil. *Fertil Steril* 2011;96:974-9

156. Hotta K, Kitamoto A, Kitamoto T, Mizusawa S, Teranishi H, So R et al. Association between type 2 diabetes genetic susceptibility loci and visceral and subcutaneous fat area as determined by computed tomography. *J Hum Genet* 2012;57:305-10

157. Pausova Z, Syme C, Abrahamowicz M, Xiao Y, Leonard GT, Perron M et al. A common variant of the FTO gene is associated with not only increased adiposity but also elevated blood pressure in French Canadians. *Circ Cardiovasc Genet* 2009;2:260-9

158. Huang W, Sun Y, Sun J. Combined effects of FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 on obesity and BMI in Chinese Han populations. *Endocrine* 2011;39:69-74

159. Thomsen M, Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. β 2-adrenergic receptor Thr164Ile polymorphism, obesity, and diabetes: comparison with FTO, MC4R, and TMEM18 polymorphisms in more than 64,000 individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Mar 30 [Epub ahead of print]

160. Li H, Kilpeläinen TO, Liu C, Zhu J, Liu Y, Hu C et al. Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. *Diabetologia* 2012;55:981-95

161. Pritchard LE, Turnbull AV, White A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signaling and obesity. *J Endocrinol* 2002;172:411-21

162. Lu D, Willard D, Patel IR. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating hormone receptor. *Nature* 1994;371:799-802

163. Yeo GSH, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nature Genet* 1998;20:111-2

164. Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P. A frameshift mutation in MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nature Genet* 1998;20:113-4

165. Cole SA, Butte NF, Voruganti VS, Cai G, Haack K, Kent JW Jr et al. Evidence that multiple genetic variants of MC4R play a functional role in the regulation of energy expenditure and appetite in Hispanic children. *Am J Clin Nutr* 2010;91:191-9

166. Kuo JJ, da Silva AA, Tallam LS, Hall JE. Role of adrenergic activity in pressor responses to chronic melanocortin receptor activation. *Hypertension* 2004;43:370-5

167. Kuo JJ, Silva AA, Hall JE. Hypothalamic melanocortin receptors and chronic regulation of arterial pressure and renal function. *Hypertension* 2003;41:768–74
168. Tallam LS, Stec DE, Willis MA, da Silva AA, Hall JE. Melanocortin-4 receptor-deficient mice are not hypertensive or salt-sensitive despite obesity, hyperinsulinemia, and hyperleptinemia. *Hypertension* 2005;46:326-32
169. Tallam LS, da Silva AA, Hall JE. Melanocortin-4 Receptor Mediates Chronic Cardiovascular and Metabolic Actions of Leptin. *Hypertension* 2006;48:58-64
170. Greenfield JR, Miller JW, Keogh JM, Henning E, Satterwhite JH, Cameron GS et al. Modulation of blood pressure by central melanocortinergic pathways. *N Engl J Med* 2009;360:44-52
171. Liu G, Zhu H, Lagou V, Gutin B, Barbeau P, Treiber FA et al. Common variants near melanocortin 4 receptor are associated with general and visceral adiposity in European- and African-American youth. *J Pediatr* 2010;156:598-605
172. Renström F, Payne F, Nordström A, Brito EC, Rolandsson O, Hallmans G et al. Replication and extension of genome-wide association study results for obesity in 4923 adults from northern Sweden. *Hum Mol Genet* 2009;18:1489-96
173. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, Xu A, Ong KL, Law LS et al. Genetic variants associated with persistent central obesity and the metabolic syndrome in a 12-year longitudinal study. *Eur J Endocrinol* 2011;164:381-8
174. Cauchi S, Stutzmann F, Cavalcanti-Proença C, Durand E, Pouta A, Hartikainen AL et al. Combined effects of MC4R and FTO common genetic variants on obesity in European general populations. *J Mol Med (Berl)* 2009;87:537-46
175. Qi L, Kraft P, Hunter DJ, Hu FB. The common obesity variant near MC4R gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight change and diabetes risk in women. *Hum Mol Genet* 2008;17:3502-8
176. Timpson NJ, Harbord R, Davey Smith G, Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Does greater adiposity increase blood pressure and hypertension risk? Mendelian randomization using the FTO/MC4R genotype. *Hypertension* 2009;54:84-90
177. Brancati FL, Whittle JC, Whelton PK, Seidler AJ, Klag MJ. The excess incidence of diabetic end-stage renal disease among blacks. A population-based study of potential explanatory factors. *JAMA* 1992;268:3079-84

178. van Leiden HA, Dekker JM, Moll AC, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM et al. Risk factors for incident retinopathy in a diabetic and nondiabetic population: the Hoorn study. *Arch Ophthalmol* 2003;121:245-51
179. Barr EL, Zimmet PZ, Welborn TA, Jolley D, Magliano DJ, Dunstan DW, et al. Risk of cardiovascular and all-cause mortality in individuals with diabetes mellitus, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance: the Australian Diabetes, Obesity, and Lifestyle Study (AusDiab). *Circulation* 2007;116:151-7
180. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 2011;378:31-40
181. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047–53
182. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2009. Available from: http://www.diabetes.org.br/attachments/diretrizes09_final.pdf. [accessed 10.05.12]
183. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2012;35(Suppl 1):S64-71
184. IDF Clinical Guidelines Task Force. Global guideline for Type 2 diabetes. Brussels: International Diabetes Federation, 2005.
185. World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. Report of a WHO/IDF consultation. Geneva: WHO, 2006.
186. World Health Organization. Use of glycated hemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. Abbreviated report of a WHO Consultation. Geneva: WHO, 2011
187. Chittleborough CR, Grant JF, Phillips PJ, Taylor AW. The increasing prevalence of diabetes in South Australia: the relationship with population ageing and obesity. *Public Health* 2007;121:92-9
188. Wannamethee SG, Shaper AG. Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1266–72
189. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001;344:1343-50

190. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Willett WC et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001;345:790-7
191. Lee DS, Chiu M, Manuel DG, Tu K, Wang X, Austin PC, et al. Trends in risk factors for cardiovascular disease in Canada: temporal, socio-demographic and geographic factors. *CMAJ* 2009;181:55-66
192. Jin W, Patti M-E. Genetic determinants and molecular pathways in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Clinical Science* (2009);116:99–111
193. Abate N, Garg A, Peshock RM, Stray-Gundersen J, Grundy SM. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J Clin Invest* 1995;96:88-98
194. Martyn JA, Kaneki M, Yasuhara S. Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms. *Anesthesiology* 2008;109:137-48
195. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:367-77
196. Esler M, Rumantir M, Wiesner G, Kaye D, Hastings J, Lambert G. Sympathetic Nervous System and Insulin Resistance: From Obesity to Diabetes. *Am J Hypertens* 2001;14:304–9
197. Segura J, Ruilope LM. Obesity, essential hypertension and renin–angiotensin system. *Public Health Nutrition* 2007;10:1151–5
198. Schupp M, Janke J, Clasen R, Unger T, Kintscher U. Angiotensin Type 1 Receptor Blockers Induce Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g Activity. *Circulation* 2004;109:2054-7
199. Yu JG, Javorschi S, Hevener AL, Kruszynska YT, Norman RA, Sinha M et al. The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 2002;51:2968–74
200. Rizza S, Cardellini M, Porzio O, Pecchioli C, Savo A, Cardolini I et al. Pioglitazone improves endothelial and adipose tissue dysfunction in pre-diabetic CAD subjects. *Atherosclerosis* 2011;215:180-3

201. Furuhashi M, Ura N, Higashiura K, Murakami H, Tanaka M, Moniwa N et al. Blockade of the renin-angiotensin system increases adiponectin concentrations in patients with essential hypertension. *Hypertension* 2003;42:76-81
202. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Ahn JY, Jin DK, Kim HS et al. Vascular and metabolic effects of combined therapy with ramipril and simvastatin in patients with type 2 diabetes. *Hypertension* 2005;45:1088-93
203. Martinez-Martin FJ, Rodriguez-Rosas H, Peiro-Martinez I, Soriano-Perera P, Pedrianes-Martin P, Comi-Diaz C. Olmesartan/amlodipine vs olmesartan/hydrochlorothiazide in hypertensive patients with metabolic syndrome: the OLAS study. *Journal of Human Hypertension* 2011;25:346–53
204. Jing F, Mogi M, Horiuchi M. Role of renin-angiotensin-aldosterone system in adipose tissue dysfunction. *Mol Cell Endocrinol* 2012 Mar 23 [Epub ahead of print]
205. Hall JE, Hildebrandt DA, Kuo J. Obesity hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system. *Am J Hypertens* 2001;14:103-15

8. Artigo 1

Association among Lipid Accumulation Product (LAP), Body Adiposity Index (BAI) and Neck Circumference (NC) with type-2 diabetes in subjects with hypertension

Association among Lipid Accumulation Product (LAP), Body Adiposity Index (BAI) and Neck Circumference (NC) with type-2 diabetes in subjects with hypertension

Aline Marcadenti, MSc^{1,2} and Sandra C. Fuchs, PhD^{1,2}, on behalf of co-authors

¹ Postgraduate Studies Program in Cardiology, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, R. Ramiro Barcelos 2600, 2º. andar, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Division of Cardiology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and the National Institute for Science and Technology for Health Technology Assessment (IATS/CNPq), R. Ramiro Barcelos 2350, Centro de Pesquisa Clínica, 5º. andar, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil.

Running title: diabetes mellitus, hypertension, LAP, BAI, neck circumference

Address for correspondence:

Prof. Sandra C. Fuchs

Post-graduate Studies Program in Cardiology

Centro de Pesquisa Clínica, 5º andar

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Ramiro Barcellos, 2350

90.035-903, Porto Alegre, RS, Brasil

Phone: + 5551-33597621

E-mail: scfuchs@terra.com.br

Word count: 2.060

Number of tables: 4

ABSTRACT

Objective: To detect association among Lipid Accumulation Product Index (LAP), Body Adiposity Index (BAI), neck circumference (NC) and diabetes mellitus in patients with hypertension.

Research Design and Methods: 430 patients (145 men and 285 women) with hypertension (systolic and/or diastolic arterial blood pressure \geq 140/90 mmHg or using antihypertensive drugs) were assessed. Diabetes mellitus was diagnosed according to ADA criteria. Waist and neck circumferences (cm) and body mass index (BMI, kg/m²) were measured. LAP was calculated separately for men and women and BAI was evaluated in percentiles.

Results: Mean age of all patients was 58.3 ± 11.7 years, SBP 154.2 ± 24.9 mmHg, DBP 89.0 ± 14.7 mmHg, BMI 30.1 ± 6.0 kg/m² and total prevalence of diabetes mellitus was 32.5%. Analyses made separately showed that among men BAI at the 75th Percentile increased at about 60% of the risk for type-2 diabetes, in comparison to those in the low Percentile. Among women, those in the upper quartile of LAP and NC had increased risk of type-2 diabetes, in comparison to those in the lowest quartile.

Conclusions: LAP and NC were associated to type-2 diabetes among women with overweight and hypertension and BAI was associated with type-2 diabetes among men.

The accumulated fat in the abdominal region is a risk factor for hypertension and type-2 diabetes. Hypertensive patients are likely to have type-2 diabetes, which increase the risk of cardiovascular disease (1). Abdominal fat includes fat from the subcutaneous (SAT) and visceral adipose tissue (VAT), but fat from abdominal cavity organs is more strongly associated with hypertension (2, 3), type-2 diabetes (3, 4), cardiovascular disease (5), and mortality (6, 7) than SAT.

In the attempt to identify an anthropometric index able to assess visceral obesity, several indicators have been considered. Body mass index (BMI), the most commonly used indicator of excessive weight, does not distinguish lean from fat mass and has low sensitivity to detect total body fat (8). Waist circumference (WC) is a better predictor of hypertension (9) and type-2 diabetes (10) than BMI, but it also does not distinguish VAT from SAT compartments.

Among alternative anthropometric indicators to discriminate visceral from total adiposity, Lipid Accumulation Product Index (LAP) (11) has been used to detect impaired glucose tolerance in women with polycystic ovary syndrome (12), overweight (13), and type-2 diabetes in the general population (14, 15). Body Adiposity Index (BAI) (16) is an option to BMI in determining the percentage of body fat, which is negatively correlated with insulin sensitivity in obese women (17) and with type-2 diabetes, in Caucasians (18). Neck circumference (NC) has been characterized as a pathogenic fat depot, and it was correlated with VAT, detected by imaging methods (19), increased fasting plasma glucose (19, 20), and with other adiposity indicators (21, 22).

Among these several anthropometric indicators, LAP and neck circumference seem to be potentially able to discriminate the visceral compartment as a predictor disease (11, 19) However, none of them has been tested as predictors of type-2 diabetes in patients who already have hypertension. Therefore, the aim of this study was to evaluate LAP, BAI, and neck circumference as independent predictors of type-2 diabetes, in patients with hypertension.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Study Population

This cross-sectional study enrolled men and women, aged 18 to 80 years, with hypertension, selected from primary health care centers, outpatient hypertension clinic of a reference center (Hospital de Clinicas de Porto Alegre), or from the general population, for evaluation and management of hypertension. Participants were mostly from low and middle-income families, of Porto Alegre, southern Brazil.

This analysis included 430 patients with hypertension without previous heart failure, myocardial infarction, or stroke in the six months prior to the enrollment, or other relevant chronic diseases. Pregnant women were excluded. The Research Ethics Committee approved the protocol and all patients signed a consent term in order to participate.

Demographic data (age, sex and self-reported skin color) and information regarding education (years at school) and lifestyle characteristics (smoking, abusive alcohol consumption, physical activity) were collected using a

standardized questionnaire by trained interviewers. Alcohol consumption was detected by type, frequency, and quantity of each beverage. Men and women who had consumed at least 30 or 15 grams of ethanol per day, respectively, were classified as having an abusive consumption. Current or ex-smokers were those participants who had smoked 100 or more cigarettes during lifetime vs. never smokers. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) was used to evaluate physical activity, which was categorized as low to moderate vs. high (23).

Measurement of blood pressure (BP) and anthropometric indicators were made by trained medical students, under the supervision of an attending physician, using an aneroid sphygmomanometer with an adequate sized cuff to the arm circumference. Hypertension was diagnosed by systolic BP ≥ 140 or diastolic BP ≥ 90 mmHg (average of six measurements in three visits) or use of antihypertensive lowering agents (24). Fasting blood glucose ≥ 126 mg/dl, glycated hemoglobin $\geq 6.5\%$ or previous medical diagnosis were used to detect patients with type-2 diabetes (25).

Weight (kg) was measured with patients in light clothes, barefoot, in a 100g scale (Filizola®, model 31, IN Filizola – SA, Sao Paulo, Brazil) and height was obtained with patient barefoot in the standing position, and with both arms hanging freely at the side with palms facing thighs, using a Tonelli® stadiometer with 0.1cm scale, model E120 A (IN Tonelli – SA, Santa Catarina, Brazil). Body Mass Index was calculated by the weight (kg)/height (m)². Waist circumference was obtained with a plastic, flexible, inelastic measuring tape in the middle point between the lower

costal rib and the iliac crest in a perpendicular plane, with patient standing in both feet, approximately 20 cm apart, and with both arms hanging freely. The cut-off points for abdominal obesity were defined according to WHO criteria (≥ 88 cm, for women, ≥ 102 cm, in men). Neck circumference was measured with the head straight and eyes staring forward, horizontally, one inch above the laryngeal prominence. Hip circumference was measured at the level of the widest circumference over the buttocks with the research assistant kneeling at the side of the participant, so that the level of maximum extension could be seen. The anthropometric measurements were carried out in duplicate, one week apart, by certified interviewers independently and periodically reassessed. Body adiposity index was calculated using the formula: $\text{hip (cm)} / [\text{height (m)}^{1.5}] - 18$ (16).

Serum triglycerides were measured by calorimetric enzymatic method, at the certified laboratory of the Hospital. Lipid Accumulation Product Index (LAP) was calculated from waist circumference, in centimeters, plus serum triglycerides, in mmol, for men $[(WC-65) \times TG]$ and women $[(WC-58) \times TG]$ (11).

Sample size and statistical analysis

A sample from 368 patients was necessary to detect a relative risk of at least 1.9, with 80% power and 95% confidence interval (CI), with the prevalence of type-2 diabetes estimated in 28% of obese and 15% non-obese patients (10) and with a 3:1 exposed to non-exposed ratio.

Data were expressed as mean \pm standard deviation (SD) or frequencies (%). Analysis of variance (ANOVA) and Pearson's chi-square test were used [*Statistical*

Package for the Social Science (SPSS), version 17.0, IL, USA]. Pearson's Correlation was used to detect correlation among anthropometric indicators. LAP and neck circumference were presented in quartiles and BAI was categorized at the 75 percentile, separated for men and women (< 31.57%, in men; < 41.73%, in women). The associations between anthropometric indexes and type-2 diabetes were analyzed by modified Poisson's regression and expressed as risk ratio and 95% CI, after the control for confounding factors.

RESULTS

A total of 145 men and 285 women were assessed, with an average of 58.3 ± 11.7 years, systolic BP of 154.2 ± 24.9 mmHg, and diastolic BP of 89.0 ± 14.7 mmHg. Prevalence of diabetes mellitus was 32.5%; 3.3% had abusive alcohol consumption, and 18.4% practiced vigorous physical activity.

Table 1 shows that participants with type-2 diabetes were older, had higher BMI, waist circumference, LAP, and neck circumference, but low diastolic BP. Body adiposity index and systolic BP were similar among type-2 diabetes groups.

Anthropometric indicators presented positive, statistically significant correlations with other Pearson' correlation coefficients, as NC with BMI and WC, and for BAI with BMI, in men. Similar findings were observed among women, for BAI with BMI and WC (Table 2). Although significant, lower correlation coefficients were observed for LAP and WC among men and women.

Table 3 shows in a non-adjusted analysis that most of the anthropometric indicators were associated with type-2 diabetes, among women, and some of them, in men. BMI, NC, and LAP did not reach statistical significance in men, and BAI in women, suggesting that anthropometric indicators varied according to gender.

Table 4 shows the multivariate analysis for the association between anthropometric indicators and type-2 diabetes. Among men, LAP and NC were not associated with type-2 diabetes, after control for confounding factors. However, BAI at the 75th Percentile increased at about 60% of the risk for type-2 diabetes, in comparison to those in the low Percentile. Among women, those in the upper quartile of LAP and NC had increased risk of type-2 diabetes, in comparison to those in the lowest quartile, and the associations were independent of age, physical activity, smoking, and BMI. Multivariate analysis of all anthropometric indicators, but not BAI, included BMI as a confounding factor. It reduced the magnitude of the associations and some lost their explicative power.

CONCLUSIONS

This study showed that hypertensive patients had high BMI and most of the anthropometric indicators were increased among those who had type-2 diabetes. In addition, anthropometric indicators had different distributions in men and women, which demanded a separated analysis by gender. Men with hypertension and high fat percentage had increased risk of type-2 diabetes, which was independent of age, physical activity, and smoking, but not of BMI. Among

hypertensive women, the excessive adiposity associated to type-2 diabetes was detected by LAP and NC, which were independent of age, physical activity, smoking, and BMI. Since these indicators still were significant after the control for BMI, LAP and NC seem to have detected other compartment than total fat mass, which might be the visceral fat. For men, BAI identified the overall adiposity, usually detected by BMI. Considering that BAI has lost its statistical significance after controlling for BMI, it does not improve the assessment of fat mass. Schulze et al. showed that BAI overestimated total body fat percentage, detected by magnetic resonance imaging, among overweight Caucasian men and women (18), and was weaker predictor of type-2 diabetes than abdominal obesity indexes. Since BAI does not assess the visceral compartment and is an alternative to BMI, there is no room supporting its use as a predictor of type-2 diabetes (28, 29).

This study confirmed the lacking of association between LAP and neck circumference with type-2 diabetes, previously identified for men (15, 21). Besides, studies that show association between LAP, NC, elevated glucose indicators and type-2 diabetes in both, men and women, detected that LAP and NC were better predictors among women, than men (15, 19, 26). A potential explanation for this finding was that differences regarding accumulation and metabolism of free fatty acids, and the contribution of these lipids to increase visceral adipose tissue volume, were higher in women (27). Analyses of the Framingham Study have shown that visceral adipose tissue compartments contribute more negatively for the metabolic profile in women than in men (3).

The association between traditional abdominal obesity indicators and type-2 diabetes for hypertensive individuals has been shown (10, 30). However, in these previous studies, there were no control for overall adiposity.

Strengths and limitations

Limitations and strengths of this study should be considered in the interpretation of the results. The diagnosis of diabetes was established by measure of fasting glucose, glycated hemoglobin, or use of anti-diabetic agents, but the two measurements were not done for all participants. However, most of the participants were using anti-diabetic agents or made both lab dosages, therefore the bias is a conservative one. This is, as far as we know, the first study conducted in patients with hypertension that simultaneously evaluated three new adiposity indexes. LAP was an indicator of visceral obesity for women, independently of BMI, making LAP a useful indicator to identify risk of type-2 diabetes in women with hypertension. The results must be confirmed in individuals with other risk profiles and could contribute to trace visceral obesity in clinical settings.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by CNPq, FIPE and FAPERGS.

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

A.M. wrote the manuscript, researched data (including statistical analyses), and takes responsibility for the contents of the article. S.C.F. wrote the manuscript, performed statistical analyses, contributed to the discussion, reviewed and edited the manuscript.

REFERENCES

1. Tuck ML, Corry DB. Prevalence of obesity, hypertension, diabetes, and metabolic syndrome and its cardiovascular complications. *Curr Hypertens Rev* 2010; 6:73–82.
2. Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL et al. Visceral Adiposity Is an Independent Predictor of Incident Hypertension in Japanese Americans. *Ann Intern Med* 2004;140:992-1000
3. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U et al. Abdominal Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue Compartments Association With Metabolic Risk Factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2007;116:39-48
4. Smith JD, Borel AL, Nazare JA et al. Visceral Adipose Tissue Indicates the Severity of Cardiometabolic Risk in Patients with and without Type 2 Diabetes: Results from the INSPIRE ME IAA Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:1517-1525
5. Marques MD, Santos RD, Parga JR et al. Relation between visceral fat and coronary artery disease evaluated by multidetector computed tomography. *Atherosclerosis* 2010;209:481-486

6. Kuk JL, Katzmarzyk PT, Nichaman MZ, Church TS, Blair SN, Ross R. Visceral fat is an independent predictor of all-cause mortality in men. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:336-341
7. McNeely MJ, Shofer JB, Leonetti DL, Fujimoto WY, Boyko EJ. Associations among visceral fat, all-cause mortality, and obesity-related mortality in Japanese Americans. *Diabetes Care* 2012;35:296-298
8. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J et al. Accuracy of Body Mass Index to Diagnose Obesity In the US Adult Population. *Int J Obes (London)*; 32: 959–966
9. Gus M, Cicheler FT, Moreira CM et al. Waist circumference cut-off values to predict the incidence of hypertension: an estimation from a Brazilian population-based cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19:15-921.
10. Marcadenti A, Fuchs SC, Moreira LB, Wiehe M, Gus M, Fuchs FD. Accuracy of anthropometric indexes of obesity to predict diabetes mellitus type 2 among men and women with hypertension. *Am J Hypertens* 2011;24:175-180
11. Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovasc Disord* 2005;5:26-36

12. Wehr E, Gruber HJ, Giuliani A, Möller R, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. The Lipid Accumulation Product Is Associated with Impaired Glucose Tolerance in PCOS Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96: E986–E990
13. Wiltgen D, Benedetto IG, Mastella LS, Spritzer PM. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* 2009;24:1726–1731
14. Kahn HS. The Lipid Accumulation Product Is Better Than BMI for Identifying Diabetes: A population-based comparison. *Diabetes Care* 2006;29:151-153
15. Bozorgmanesh M, Hadaegh F, Azizi F. Diabetes prediction, lipid accumulation product, and adiposity measures; 6-year follow-up: Tehran lipid and glucose study. *Lipids in Health and Disease* 2010;9:45-54
16. Bergman RN, Stefanovski D, Buchanan TA et al. A Better Index of Body Adiposity. *Obesity* 2011;19:1083–1089
17. Elisha B, Rabasa-Lhoret R, Messier V, Abdalnour J, Karelis AD. Relationship between the body adiposity index and cardiometabolic risk factors in obese postmenopausal women. *Eur J Nutr* 2012 Jan 1. [Epub ahead of print]
18. Schulze MB, Thorand B, Fritsche A et al. Body adiposity index, body fat content and incidence of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2012;55:1660-1667

19. Preis SR, Massaro JM, Hoffmann U et al. Neck Circumference as a Novel Measure of Cardiometabolic Risk: The Framingham Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:3701–3710
20. Laakso M, Matilainen V, Keinänen-Kiukaanniemi S. Association of neck circumference with insulin resistance-related factors. *Int J Obes* 2002; 26:873–875
21. Ben-Noun LL, Laor A. Neck Circumference as a Simple Screening Measure for Identifying Overweight and Obese Patients. *Obes Res* 2001;9:470–477
22. Yang GR, Yuan SY, Fu HJ et al. Neck Circumference Positively Related With Central Obesity, Overweight, and Metabolic Syndrome in Chinese Subjects With Type 2 Diabetes: Beijing Community Diabetes Study 4. *Diabetes Care* 2010;33:2465–2467
23. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381-1395
24. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42:1206–1252
25. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012;35(Suppl 1):S64-S71

26. Ben-Noun L, Laor A. Relationship of Neck Circumference to Cardiovascular Risk Factors. *Obes Res* 2003;11:226–231
27. Nielsen S, Guo Z, Johnson CM, Hensrud DD, Jensen MD. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest* 2004;113:1582–1588
28. López AA, Cespedes ML, Vicente T et al. Body adiposity index utilization in a spanish mediterranean population: comparison with the body mass index. *PLoS One* 2012;7:e35281
29. Freedman DS, Thornton J, Pi-Sunyer FX et al. The body adiposity index (hip circumference ÷ height(1.5)) is not a more accurate measure of adiposity than is BMI, waist circumference, or hip circumference. *Obesity (Silver Spring)* 2012 Apr 9 [Epub ahead of print]
30. Bombelli M, Facchetti R, Sega R et al. Impact of body mass index and waist circumference on the long-term risk of diabetes mellitus, hypertension, and cardiac organ damage. *Hypertension* 2011;58:1029-1035

Table 1. Characteristic of participants according to type-2 diabetes [mean \pm SD, n (%)].

	No type-2 diabetes N=288	Type-2 diabetes N=142	P-value
Age (years)	56.8 \pm 12.1	61.2 \pm 10.4	<0.001
Gender			0.7
Men	95 (65.5%)	50 (34.5)	
Women	193 (67.7)	92 (32.3)	
Years of school	7.5 \pm 4.7	7.0 \pm 4.5	0.4
Smoking			0.02
Current or ex-smoker	143 (72.2%)	55 (27.8%)	
Never	145 (62.5%)	87 (37.5%)	
Alcoholic abusive consumption			0.4
Yes	11 (78.6)	3 (21.4)	
No	277 (66.6)	139 (33.4)	
Vigorous physical activity			0.03
Yes	61 (77.2)	18 (22.8)	
No	227 (64.7)	124 (35.3)	
Body Mass Index (kg/m ²)	30.1 \pm 6.0	31.4 \pm 5.3	0.03
Waist circumference (cm)	99.2 \pm 12.7	104.0 \pm 12.1	<0.001
Neck circumference (cm)	37.7 \pm 3.7	39.1 \pm 3.5	<0.001
Body Adiposity Index (%)	35.0 \pm 7.3	35.6 \pm 6.4	0.5
LAP* (cm.mmol.l)	4.0 \pm 0.6	4.3 \pm 0.6	<0.001
SBP [§] (mmHg)	154.3 \pm 25.2	154.2 \pm 24.1	1.0
DBP [†] (mmHg)	90.8 \pm 14.3	85.5 \pm 14.9	<0.001

* Lipid Accumulation Product, log-transformed; § Systolic Blood Pressure; † Diastolic Blood pressure

Table 2. Pearson's correlation (r) among obesity indexes in men and women

	Men			Women		
	BAI	NC	LAP	BAI	NC	LAP
BMI (kg/m ²)	0.79*	0.75*	0.51*	0.88*	0.48*	0.48*
WC (cm)	0.67*	0.72*	0.53*	0.75*	0.50*	0.62*

BMI: Body mass index, WC: Waist circumference, BAI: Body adiposity index (in %), NC: Neck circumference (cm), LAP: Lipid accumulation product (in cm.mmol.l)

* P <0.001

Table 3. Anthropometric indicators among men and women according to type-2 diabetes (mean \pm SD)

	Men			Women		
	No diabetes (n=103)	Diabetes (n=62)	P value	No diabetes (n=233)	Diabetes (n=107)	P value
Body mass index (kg/m ²)	29.0 \pm 4.4	30.5 \pm 4.9	0.07	30.6 \pm 6.5	31.9 \pm 5.4	0.1
Waist circumference (cm)	102.5 \pm 11.1	106.7 \pm 12.7	0.04	97.6 \pm 13.1	102.6 \pm 11.5	0.002
Neck circumference (cm)	40.9 \pm 3.0	41.8 \pm 2.9	0.08	36.2 \pm 2.9	37.6 \pm 2.9	<0.001
Body adiposity index (%)	29.1 \pm 3.9	30.5 \pm 3.7	0.04	37.8 \pm 6.8	38.3 \pm 5.8	0.6
LAP* (cm.mmol.l)	4.1 \pm 0.7	4.3 \pm 0.6	0.09	3.9 \pm 0.6	4.3 \pm 0.6	<0.001

* Lipid Accumulation Product, log-transformed

Table 4. Multivariable analysis* of Lipid Accumulation Product, Neck circumference, Body Adiposity Index with type-2 diabetes according to gender

	Men			Women		
	RR	95% CI	P value	RR	95% CI	P value
Lipid Accumulation Product (cm.mmol.l)*						
Quartil 1 (Reference)	1.00		0.1	1.00		< 0.001
Quartil 2	0.64	0.28-1.49		1.56	0.83-2.95	
Quartil 3	1.33	0.65-2.73		1.61	0.84-3.08	
Quartil 4	0.94	0.41-2.12		2.93	1.62-5.28	
Neck Circumference (cm)*						
Quartil 1 (Reference)	1.00		0.7	1.00		0.001
Quartil 2	1.07	0.55-2.07		1.51	0.82-2.79	
Quartil 3	1.23	0.62-2.44		1.67	0.90-3.11	
Quartil 4	1.44	0.69-3.03		3.30	1.78-6.14	
Body Adiposity Index (%)†						
< P75 (Reference)	1.00		0.03	1.00		0.6
> P75	1.61	1.04-2.49		0.89	0.62-1.30	

* Modified Poisson Regression adjusted for age, physical activity, smoking and BMI

† BAI in the 75th Percentile: ≥31.57 in men; ≥41.73 in women. The analysis was not adjusted for BMI

9. Artigo 2

Effects of *FTO* rs9939906 and *MC4R* rs17782313 on obesity, Type-2 Diabetes and blood pressure in patients with hypertension

**EFFECTS OF *FTO* rs9939906 AND *MC4R* rs17782313 ON OBESITY, TYPE-2
DIABETES AND BLOOD PRESSURE IN PATIENTS WITH HYPERTENSION**

Aline Marcadenti ^{1,2} and Sandra C. Fuchs^{1,2}, on behalf of co-authors

¹ Postgraduate Studies Program in Cardiology, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, R. Ramiro Barcelos 2600, 2º. andar, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Division of Cardiology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and the National Institute for Science and Technology for Health Technology Assessment (IATS/CNPq), R. Ramiro Barcelos 2350, Centro de Pesquisa Clínica, 5º. andar, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil.

Running title: *FTO* rs9939906, *MC4R* rs17782313, obesity, diabetes mellitus, hypertension

Address for correspondence:

Prof. Sandra C. Fuchs

Post-graduate Studies Program in Cardiology

Centro de Pesquisa Clínica, 5º andar

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Ramiro Barcellos, 2350

90.035-903, Porto Alegre, RS, Brasil

Phone: + 5551-33597621

E-mail: scfuchs@terra.com.br

Word count: 2.416

Number of tables: 4

ABSTRACT

Both *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 polymorphisms are associated with obesity and type-2 diabetes in several populations. However, among individuals with hypertension, the contribution of both SNPs on obesity, blood pressure control and type-2 diabetes had not been investigated. The aim of our study was to investigate the association between *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313 with anthropometric indicators, blood pressure, and type-2 diabetes mellitus in patients with hypertension. We genotyped 217 patients (86 men and 131 women) with hypertension (systolic and/or diastolic arterial blood pressure \geq 140/90 mmHg or using antihypertensive drugs). Diabetes mellitus was diagnosed according to ADA criteria. Waist and neck circumferences (cm), Body Adiposity Index (BAI, %), Lipid Accumulation Product Index (LAP) and body mass index (BMI, kg/m²) were measured. Rare allele frequencies were 0.40 for A for *FTO* rs9939609 and 0.18 for C for *MC4R* rs17782313 and we found a positive effect of *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 on BMI among men and women, and on type-2 diabetes mellitus in women with hypertension. In contrast, we found a negative effect of *MC4R* rs17782313 on systolic and diastolic blood pressure in men. The mechanisms associated with *MC4R* common genetic variation over blood pressure may reflect the pathways of melanocortin system.

INTRODUCTION

Obesity is a well-known risk factor for hypertension and type-2 diabetes mellitus¹. Genetic factors play an important role in the development of obesity², but the underlying genetic pathways are poorly understood.

The *FTO* (*fat mass and obesity-associated*) gene was first identified in mouse³ and it has been associated with energy balance^{4, 5}. *MC4R* (*melanocortin 4 receptor*) gene was the first loci in which mutations were associated with morbid obesity in humans beings^{6, 7}. The most common genetic variant of the *FTO* gene (rs9939609 A/T)⁸ and a variant near the *MC4R* gene (rs17782313 C/T)⁹ were detected recently and both single nucleotide polymorphisms (*SNPs*) have been associated with overall^{8, 9} and abdominal obesity¹⁰⁻¹². Cardiovascular risk factors as diabetes mellitus^{13, 14}, insulin resistance¹⁵, and hypertension¹⁶ were associated with the risk allele A for *FTO* rs9939609 and the risk allele C for *MC4R* rs17782313, regardless body mass index^{13, 14}.

FTO gene is strongly expressed in hypothalamus¹⁷, a brain structure involved in the control of energy homeostasis⁵ and regulation of blood pressure¹⁸. The association between the risk allele A for *FTO* rs9939609 polymorphism and elevated blood pressure was demonstrated in Caucasian populations¹⁶. The *MC4R* gene is also expressed in the hypothalamus¹⁹, but when inactivated is associated with lower blood pressure, independently of obesity²⁰. However, this association has been shown only in individuals with mutations²⁰. In the overall

population, individuals carrying the risk allele C for near *MC4R* rs17782313 did not have different blood pressure levels comparing to non-carriers²¹. For type-2 diabetes mellitus risk, studies that evaluated both polymorphisms in the overall population are inconclusive^{8, 22, 23}.

Among individuals with hypertension, who are often obese and have type-2 diabetes²⁴, the contribution of both polymorphisms on obesity, blood pressure control and type-2 diabetes had not been investigated. The aim of this study was to investigate the association between *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313 with anthropometric indicators, blood pressure, and type-2 diabetes mellitus in patients with hypertension.

METHODS

This is a cross-sectional study, which enrolled men and women, aged 18 to 80 years, who had been diagnosed with hypertension, living in the urban area of Porto Alegre, southern Brazil. In total, a sub-sample of 217 patients was genotyped (38.8%) and examined in an outpatient clinic of a reference hospital. The study was approved by the Ethical Committee of our institution, and all patients accepted to participate and signed a consent form.

Genotyping

The DNA was extracted from peripheral blood using NucleoSpin® Blood (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Germany). StepOne™ Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) was used to genotype the *FTO* locus rs9939609 and the *MC4R* locus rs17782313 using TaqMan-based assays (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA).

Outcome variables

Standardized blood pressure (BP) measurement²⁵ was conducted by trained research assistants, using an aneroid sphygmomanometer with an adequate sized cuff to the arm circumference, and the mean of six measurements in three visits was used to diagnose hypertension. The cutoffs were systolic BP ≥ 140 or diastolic BP ≥ 90 mmHg or use of antihypertensive lowering agents²⁶. Fasting blood glucose ≥ 126 mg /dl, glycated hemoglobin $\geq 6.5\%$, or use of anti-diabetic lowering agents were used to detect patients with type-2 diabetes²⁷.

Other covariates

Demographic data and information regarding education (years at school), smoking (ex-smoker or current smoker), abusive alcohol consumption (≥ 30 g ethanol/day in men and ≥ 15 g/day in women), and physical activity (short version of the International Physical Activity Questionnaire, IPAQ)²⁸, categorized as low/moderate or high intensity) were collected using standardized questionnaires by trained interviewers.

Weight (kg) was measured with patients in light clothes, barefoot, in a 100g scale (Filizola®, model 31, IN Filizola – SA, Sao Paulo, Brazil) and height was obtained with patient in Frankfurt plane, using a Tonelli® stadiometer with 0.1cm scale, model E120 A (IN Tonelli – SA, Santa Catarina, Brazil). Body Mass Index was calculated by the weight (kg) / height (m)².

Waist circumference was obtained with a plastic, flexible, inelastic measuring tape positioned in the middle point, between the last costal rib and the iliac crest, in a perpendicular plane, with patient standing in both feet, approximately 20 cm apart, and with both arms hanging freely at the side, with palms facing thighs. Neck circumference was measured with the head straight and eyes staring forward, horizontally, one inch below the laryngeal prominence, and hip circumference at the level of the higher diameter over the buttocks. The anthropometry was carried out in duplicate, with a one week break, by interviewers trained independently and periodically reassessed. Body Adiposity Index (BAI) was calculated using the formula: $\text{hip (cm)} / [\text{height (m)}^{1.5}] - 18^{29}$.

Serum triglycerides were measured by calorimetric enzymatic method using standardized techniques. Lipid Accumulation Product Index (LAP) was calculated from waist circumference, in centimeters, plus serum triglycerides, in mmol, for men $[(\text{WC}-65) \times \text{TG}]$ and women $[(\text{WC}-58) \times \text{TG}]^{30}$.

Analyses

Statistical analyses were performed using SPSS (*Statistical Package for the Social Science*, version 17.0, IL, USA). Means \pm SD and percentages were compared using analysis of variance (ANOVA) or Pearson's chi-square test. We tested the potential relationship of genotype and blood pressure, using analysis of covariance models (ANCOVA), with the adjustment for age and BMI. Modified Poisson's regression (expressed as risk ratio and 95% CI) was used to analyze the association between genotype and type-2diabetes mellitus, after adjustment for age and BMI.

RESULTS

Characteristics of individuals included in the study for each polymorphism are shown in Table 1. Rare allele frequencies were 0.40 for A for *FTO* rs9939609 and 0.18 for C for *MC4R* rs17782313. Genotype frequencies did not differ from those predicted by the Hardy-Weinberg equilibrium ($P= 0.8$ for *FTO* and $P= 0.8$ for *MC4R*).

In total, 86 men and 131 women were assessed, aged 59.8 ± 11.2 years, systolic blood pressure of 152.1 ± 20.6 mmHg, and diastolic blood pressure of 87.7 ± 13.0 mmHg. The prevalence of type-2 diabetes mellitus was 44.7%; 4.2% of the sample reported abusive alcohol consumption and 43.8% were current or ex smokers.

Obesity

According to the polymorphism, as expected, *FTO* rs9939609 individuals with AT and AA genotype, and *MC4R* rs17782313 individuals with CT and CC genotype, had higher BMI. There were no differences between waist circumference, Lipid Accumulation Product, and Body Adiposity Index according to the genotype. Neck circumference, however, was higher among AT/AA carriers than TT carriers according to *FTO* risk allele.

Analyses were conducted separately according to gender (Tables 2 and 3), which showed that neck circumference was still higher among men and women, who carriers AT/AA genotype than homozygotes TT for *FTO* rs9939609. Women carrying risk allele A had also higher Body Adiposity Index and a trend for higher Body Mass Index.

According to *MC4R* rs17782313 genotype, there was no significant difference among anthropometric indexes for men with CT/CC genotype, in comparison to homozygotes TT. Waist circumference and Lipid Accumulation Product Index had a trend to be higher in women with CT and CC genotypes and neck circumference was significantly higher among women carrying risk allele C.

Type-2 Diabetes Mellitus

There were no differences in prevalence of type-2 diabetes according to *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 genotypes. However, analyses made

separately by gender showed a difference in prevalence of diabetes according to men and women, in *MC4R* rs17782313 CT/CC genotype. After adjustment for age and BMI, risk allele C for *MC4R* was associated with type-2 diabetes in women (RR 1.5 95% CI 1.1 – 2.2, P= 0.03), but not among men (RR 0.9 95% CI 0.6 – 1.7, P= 0.9). *FTO* was not associated to diabetes among men (RR 1.1 95% CI 0.7 – 1.7, P= 0.9) and women (RR 1.0 95% CI 0.7 – 1.6, P= 0.9).

Blood Pressure

Carriers of risk alleles (A for *FTO* rs9939609 and C for *MC4R* rs17782313) had average systolic and diastolic blood pressure similar to non carriers, but among *MC4R* rs17782313 individuals CT/CC genotype systolic blood pressure was significantly lower.

Table 4 shows systolic and diastolic blood pressure adjusted for age and BMI, among men and women according to the genotype. *FTO* was not associated with blood pressure in both genders, but among men, with risk allele C for *MC4R* rs17782313, diastolic blood pressure was significantly lower (P= 0.03), and a trend for systolic blood pressure (P= 0.05).

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study showing the effects of a common genetic variant near *MC4R* gene on blood pressure in patients with

hypertension. This association was only described with rare mutations for individuals with inactive *MC4R* gene, and the risk allele C for rs17782313 could reflect the same effect. We found that carriers of risk allele A for *FTO* rs9939609 did not have differences in blood pressure levels, in comparison to homozygotes TT.

As expected, common variant in *FTO* was associated with BMI. Frayling et al.⁸ showed for the first time the contribution of the *SNP* rs9939609 for *FTO* on excess of weight, and this result has been replicated in several populations^{4, 5, 10, 11}. In this study, analysis by gender did not show association between the risk allele A for *FTO* rs9939609 and BMI, among men, and presented a trend toward significance in women. Body adiposity index, a simple index which detects the percentage of total fat was significantly higher among women carrying *FTO* risk allele, and the effect of the gene on women body weight could be essentially over body fat.

This was the first study to evaluate the effect of the *FTO* gene polymorphism on the percentage of total fat, detected by BAI, among hypertensive individuals. The association between *FTO* and anthropometric measures has not been confirmed among men³¹, and it has been shown that the effect of *FTO* on fatness is weak in elderly³². Neck circumference, a simple measure correlated with total and abdominal obesity³³, was higher in men and women with risk allele A, and this effect was shown also for European adolescents³⁴.

Common variant near *MC4R* rs17782313 was associated with BMI and there was a trend to have subjects with high BAI among CT/CC carriers. Analyses conducted in men and women showed higher neck circumference and a trend for higher waist circumference and Lipid Accumulation Product among women, which suggest an effect of the risk allele C on visceral obesity in women with hypertension. Mutation carriers on *MC4R* had increased lean mass⁷ and the variant near *MC4R* could reflect this effect among men, who had proportionally more free-fat mass comparing to women. Furthermore, men and women had differences regarding metabolism of free fatty acids, which increased accumulation on visceral adipose tissue in women when compared to men³⁵. Among Chinese, no association was found between *MC4R* rs17782313 and abdominal obesity detected by waist circumference also³⁶.

In this study, type-2 diabetes was not fully associated with *FTO* and *MC4R* genotypes, but among women carriers of risk allele C for *MC4R* rs17782313 it remained significant after adjustment for age and BMI. Studies which assessed the contribution of polymorphisms in *FTO* and *MC4R* genes on type-2 diabetes mellitus are controversial, probably due to ethnic differences regarding body composition and lifestyle among populations. Among hypertensive women, the effect of risk allele C for *MC4R* rs17782313 on type-2 diabetes could be mediated by increased visceral adipose tissue.

As seen in morbid obese - with no hypertension and with rare mutations in *MC4R* gene, this sample of hypertensive individuals carrier of risk allele C for common

variant near *MC4R* had lower levels of blood pressure in comparison to homozygote non-carriers. After adjustment for age and BMI, the association remained significant in men. It has been widely demonstrated in animal models the contribution of melanocortin system on cardiovascular function³⁷, and, in humans beings, it has been shown how centrally expressed melanocortin 4 receptor (MC4R) not only conveys hypothalamic signals suppressing food intake, but also is involved in blood pressure control²⁰. Common variants near *MC4R* could reflect the same effect, but is unknown if anti-hypertensive drugs or changes in lifestyle could modify the expression of these genes or the effects of both polymorphisms on blood pressure, as it has been shown³⁸.

This study has some limitations and strengths that should be taken into account in the interpretation of the results. The small sample size determined lacking statistical power to detect some associations as significant, and precludes further analysis of effect of confounding factors. The results were exploratory and should be replicated in other populations in order to confirm that risk allele C in *MC4R* rs17782313 for obesity and type-2 diabetes could be protective for high blood pressure.

In conclusion, we found a positive effect of *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 on BMI among men and women, and on type-2 diabetes mellitus in women with hypertension. In contrast, we found a negative effect of *MC4R* rs17782313 on systolic and diastolic blood pressure in men. The exact pathways

of these associations are not entirely clear, but genetic variations near *MC4R* gene could reflect such mechanisms.

PERSPECTIVES

Overall, this study does test a new hypothesis on blood pressure and adds evidence supporting the effect of polymorphisms associated with obesity on type-2 diabetes and anthropometric measures. The mechanisms associated with *MC4R* common genetic variation over blood pressure may reflect the pathways of melanocortin system, but our data support the notion of targeting new approaches as part of an effective therapeutic regime against high blood pressure.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all staff from Gene Therapy Center - Hospital de Clinicas de Porto Alegre and Weimann Laboratory of Clinical Analyses for technical assistance.

SOURCES OS FUNDING

This work was supported by CNPq, FIFE and FAPERGS.

CONFLICT(S) OF INTEREST

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

REFERENCES

1. Tuck ML, Corry DB. Prevalence of obesity, hypertension, diabetes, and metabolic syndrome and its cardiovascular complications. *Curr Hypertens Rev.* 2010;6:73–82.
2. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Pérusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14:529-644.
3. van der Hoeven F, Schimmang T, Volkmann A, Mattei MG, Kyewski B, Ruther U. Programmed cell death is affected in the novel mouse mutant Fused toes (Ft). *Development.* 1994;120:2601–2607.
4. Cecil JE, Tavendale R, Watt P, Hetherington M M, Palmer CN. An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *N Engl J Med.* 2008;359:2558–2566.
5. Wardle J, Carnell S, Haworth CMA, Farooqi SI, O’Rahilly S, Plomin R. Obesity-associated genetic variation in FTO associated with diminished satiety. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:3640-3643.
6. Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P. A frameshift mutation in MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nature Genet.* 1998;20:113-114.

7. Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GSH, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med.* 2003;348:1085-1095.

8. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science.* 2007;316:889-893.

9. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, Inouye M, Freathy RM, Attwood AP, Beckmann JS, Berndt SI; Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Bergmann S, Bennett AJ, Bingham SA, Bochud M, Brown M, Cauchi S, Connell JM, Cooper C, Smith GD, Day I, Dina C, De S, Dermitzakis ET, Doney AS, Elliott KS, Elliott P, Evans DM, Sadaf Farooqi I, Froguel P, Ghorri J, Groves CJ, Gwilliam R, Hadley D, Hall AS, Hattersley AT, Hebebrand J, Heid IM; KORA, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Herrera B, Hinney A, Hunt SE, Jarvelin MR, Johnson T, Jolley JD, Karpe F, Keniry A, Khaw KT, Luben RN, Mangino M, Marchini J, McArdle WL, McGinnis R, Meyre D, Munroe PB, Morris

AD, Ness AR, Neville MJ, Nica AC, Ong KK, O'Rahilly S, Owen KR, Palmer CN, Papadakis K, Potter S, Pouta A, Qi L; Nurses' Health Study, Randall JC, Rayner NW, Ring SM, Sandhu MS, Scherag A, Sims MA, Song K, Soranzo N, Speliotes EK; Diabetes Genetics Initiative, Syddall HE, Teichmann SA, Timpson NJ, Tobias JH, Uda M; SardiNIA Study, Vogel CI, Wallace C, Waterworth DM, Weedon MN; Wellcome Trust Case Control Consortium, Willer CJ; FUSION, Wraight, Yuan X, Zeggini E, Hirschhorn JN, Strachan DP, Ouwehand WH, Caulfield MJ, Samani NJ, Frayling TM, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Deloukas P, McCarthy MI, Wareham NJ, Barroso I, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Kraft P, Hankinson SE, Hunter DJ, Hu FB, Lyon HN, Voight BF, Ridderstrale M, Groop L, Scheet P, Sanna S, Abecasis GR, Albai G, Nagaraja R, Schlessinger D, Jackson AU, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M, Mohlke KL. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 2008;40:768–775.

10. Kring SI, Holst C, Zimmermann E, Jess T, Berentzen T, Toubro S, Hansen T, Astrup A, Pedersen O, Sørensen TI. FTO Gene Associated Fatness in Relation to Body Fat Distribution and Metabolic Traits throughout a Broad Range of Fatness. *PLoS One.* 2008; 3:e2958.

11. Ramos RB, Casanova GK, Maturana MA, Spritzer PM. Variations in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene are related to glucose levels and higher lipid accumulation product in postmenopausal women from southern Brazil. *Fertil Steril.* 2011;96:974-979.

12. Liu G, Zhu H, Lagou V, Gutin B, Barbeau P, Treiber FA, Dong Y, Snieder H. Common variants near melanocortin 4 receptor are associated with general and visceral adiposity in European- and African-American youth. *J Pediatr*. 2010;156:598-605.

13. Li H, Kilpeläinen TO, Liu C, Zhu J, Liu Y, Hu C, Yang Z, Zhang W, Bao W, Cha S, Wu Y, Yang T, Sekine A, Choi BY, Yajnik CS, Zhou D, Takeuchi F, Yamamoto K, Chan JC, Mani KR, Been LF, Imamura M, Nakashima E, Lee N, Fujisawa T, Karasawa S, Wen W, Joglekar CV, Lu W, Chang Y, Xiang Y, Gao Y, Liu S, Song Y, Kwak SH, Shin HD, Park KS, Fall CH, Kim JY, Sham PC, Lam KS, Zheng W, Shu X, Deng H, Ikegami H, Krishnaveni GV, Sanghera DK, Chuang L, Liu L, Hu R, Kim Y, Daimon M, Hotta K, Jia W, Kooner JS, Chambers JC, Chandak GR, Ma RC, Maeda S, Dorajoo R, Yokota M, Takayanagi R, Kato N, Lin X, Loos RJ. Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. *Diabetologia*. 2012;55:981-995.

14. Qi L, Kraft P, Hunter DJ, Hu FB. The common obesity variant near MC4R gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight change and diabetes risk in women. *Hum Mol Genet*. 2008;17:3502-3508.

15. Tschritter O, Haupt A, Preissl H, Ketterer C, Hennige AM, Sartorius T, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. An Obesity Risk SNP (rs17782313) near

theMC4R Gene Is Associated with Cerebrocortical Insulin Resistance in Humans. *J Obes.* 2011;2011:283153.

16. Pausova Z, Syme C, Abrahamowicz M, Xiao Y, Leonard GT, Perron M, Richer L, Veillette S, Smith GD, Seda O, Tremblay J, Hamet P, Gaudet D, Paus T. A Common Variant of the *FTO* Gene Is Associated With Not Only Increased Adiposity but Also Elevated Blood Pressure in French Canadians. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009;2:260-269.

17. Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, Yeo GS, McDonough MA, Cunliffe S, McNeill LA, Galvanovskis J, Rorsman P, Robins P, Prieur X, Coll AP, Ma M, Jovanovic Z, Farooqi IS, Sedgwick B, Barroso I, Lindahl T, Ponting CP, Ashcroft FM, O'Rahilly S, Schofield CJ. *Science.* 2007;318:1469–1472.

18. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Ver Neurosci.* 2006;7:335–346.

19. Cone RD. The central melanocortin system and energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 1999;10:211-216.

20. Greenfield JR, Miller JW, Keogh JM, Henning E, Satterwhite JH, Cameron GS, Astruc B, Mayer JP, Brage S, See TC, Lomas DJ, O'Rahilly S, Farooqi IS.

Modulation of Blood Pressure by Central Melanocortinerbic Pathways. *N Engl J Med.* 2009;360:44-52.

21. Timpson NJ, Harbord R, Davey Smith G, Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Does Greater Adiposity Increase Blood Pressure and Hypertension Risk? Mendelian Randomization Using the *FTO/MC4R* Genotype. *Hypertension.* 2009;54:84-90.

22. Huang W, Sun Y, Sun J. Combined effects of *FTO* rs9939609 and *MC4R* rs17782313 on obesity and BMI in Chinese Han populations. *Endocrine.* 2011;39:69-74.

23. Thomsen M, Dahl M, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. β 2-Adrenergic Receptor Thr164Ile Polymorphism, Obesity, and Diabetes: Comparison with *FTO*, *MC4R*, and *TMEM18* Polymorphisms in More Than 64,000 Individuals. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:1074-1079.

24. Marcadenti A, Fuchs SC, Moreira LB, Wiehe M, Gus M, Fuchs FD. Accuracy of anthropometric indexes of obesity to predict diabetes mellitus type 2 among men and women with hypertension. *Am J Hypertens.* 2011;24:175-180.

25. Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, Hill MN, Jones DW, Kurtz T, Sheps SG, Roccella EJ; Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure

Research. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals. Part 1: Blood pressure measurement in humans – a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure. Hypertension. 2005;45:142–161.

26. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Hypertension. 2003;42:1206–1252.

27. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2012;35(Suppl 1):S64-S71.

28. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, Pratt M, Ekelund U, Yngve A, Sallis JF, Oja P. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. Med Sci Sports Exerc. 2003;35:1381-1395.

29. Bergman RN, Stefanovski D, Buchanan TA, Sumner AE, Reynolds JC, Sebring NG, Xiang AH, Watanabe RM. A Better Index of Body Adiposity. *Obesity*. 2011;19:1083–1089.
30. Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2005;5:26-36.
31. Jacobsson JA, Risérus U, Axelsson T, Lannfelt L, Schiöth HB, Fredriksson R. The common FTO variant rs9939609 is not associated with BMI in a longitudinal study on a cohort of Swedish men born 1920-1924. *BMC Med Genet*. 2009;10:131-139.
32. Jacobsson JA, Almén MS, Benedict C, Hedberg LA, Michaëlsson K, Brooks S, Kullberg J, Axelsson T, Johansson L, Ahlström H, Fredriksson R, Lind L, Schiöth HB. Detailed analysis of variants in FTO in association with body composition in a cohort of 70-year-olds suggests a weakened effect among elderly. *PLoS One*. 2011;6:e20158.
33. Preis SR, Massaro JM, Hoffmann U, D'Agostino RB Sr, Levy D, Robins SJ, Meigs JB, Vasan RS, O'Donnell CJ, Fox CS. Neck Circumference as a Novel Measure of Cardiometabolic Risk: The Framingham Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:3701–3710.

34. Mangge H, Renner W, Almer G, Weghuber D, Möller R, Horejsi R. Rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene and trunk obesity in adolescents. *J Obes.* 2011;2011:186368.
35. Nielsen S, Guo Z, Johnson CM, Hensrud DD, Jensen MD. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest.* 2004;113:1582–1588.
36. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, Xu A, Ong KL, Law LS, Wat NM, Janus ED, Sham PC, Lam KS. Genetic variants associated with persistent central obesity and the metabolic syndrome in a 12-year longitudinal study. *Eur J Endocrinol.* 2011;164:381-388.
37. Kuo JJ, da Silva AA, Hall JE. Hypothalamic melanocortin receptors and chronic regulation of arterial pressure and renal function. *Hypertension.* 2003;41:768–774.
38. Yamada Y, Tsuboi K, Hattori T, Murase T, Ohtake M, Furukawa M, Ueyama J, Nishiyama A, Murohara T, Nagata K. Mechanism underlying the efficacy of combination therapy with losartan and hydrochlorothiazide in rats with salt-sensitive hypertension. *Hypertens Res.* 2011;34:809-816.

Table 1. Characteristic of participants according to polymorphism [mean \pm SD, n (%)]

	rs9939609			rs17782313		
	TT (n=75)	TA/AA (n=142)	P value	TT (n=146)	TC/CC (n=71)	P value
Age (years)	59.6 \pm 11.4	60.2 \pm 11.1	0.7	60.3 \pm 11.3	59.2 \pm 10.8	0.5
Sex			0.9			0.02
Men	30 (34.9)	56 (65.1)		66 (76.7)	20 (23.3)	
Women	45 (34.4)	86 (65.4)		80 (61.1)	51 (38.9)	
Vigorous physical activity			0.7			0.2
Yes	11 (31.4)	24 (68.6)		27 (77.1)	8 (22.9)	
No	64 (35.4)	117 (64.6)		118 (65.2)	63 (34.8)	
BMI* (kg/m ²)	28.9 \pm 4.6	30.7 \pm 5.2	0.02	29.6 \pm 4.8	31.1 \pm 5.4	0.04
WC [†] (cm)	99.5 \pm 11.5	102.1 \pm 11.6	0.1	100.3 \pm 11.2	103.1 \pm 12.1	0.1
NC [‡] (cm)	37.7 \pm 3.4	38.9 \pm 3.8	0.03	38.5 \pm 3.8	38.5 \pm 3.3	0.9
BAI [§] (%)	33.6 \pm 5.8	34.9 \pm 6.9	0.2	33.9 \pm 6.5	35.7 \pm 6.6	0.07
LAP (cm.mmol.l)	4.1 \pm 0.8	4.2 \pm 0.6	0.4	4.1 \pm 0.6	4.2 \pm 0.7	0.2
Type-2 Diabetes			0.7			0.07
Yes	32 (33)	65 (67)		59 (60.8)	38 (39.2)	
No	43 (35.8)	77 (64.2)		87 (72.5)	33 (27.5)	
SBP [¶] (mmHg)	155.2 \pm 22.7	150.8 \pm 19.7	0.1	154.3 \pm 21.8	147.9 \pm 18.1	0.04
DBP [#] (mmHg)	88.9 \pm 13.2	87.1 \pm 13.1	0.3	88.5 \pm 13.4	86.1 \pm 12.4	0.2

*BMI: Body Mass Index

†WC: Waist Circumference

‡NC: Neck Circumference

§BAI: Body Adiposity Index

||LAP: Lipid Accumulation Product, log-transformed

¶SBP: Systolic Blood Pressure

#DBP: Diastolic Blood Pressure

Table 2. Characteristic of men and women according to polymorphism risk allele A for *FTO* rs9939609 [mean \pm SD, n (%)]

	Men			Women		
	TT (n=30)	TA/AA (n=56)	P value	TT (n=45)	TA/AA (n=86)	P value
Idade (anos)	63.9 \pm 8.8	58.9 \pm 11.1	0.03	56.7 \pm 12.2	60.9 \pm 11.1	0.04
BMI* (kg/m ²)	28.3 \pm 4.4	29.7 \pm 4.1	0.1	29.5 \pm 4.7	31.3 \pm 5.8	0.07
WC [†] (cm)	101.3 \pm 12.4	104.1 \pm 10.7	0.3	98.2 \pm 10.8	100.9 \pm 11.9	0.2
NC [‡] (cm)	40.5 \pm 3.0	41.7 \pm 2.6	0.04	35.9 \pm 2.8	36.9 \pm 3.1	0.04
BAI [§] (%)	29.4 \pm 3.2	29.4 \pm 3.5	0.9	36.4 \pm 5.3	38.6 \pm 6.1	0.04
LAP (cm.mmol.l)	4.1 \pm 0.8	4.3 \pm 0.6	0.2	4.1 \pm 0.7	4.1 \pm 0.6	0.9
SBP [¶] (mmHg)	155.2 \pm 22.5	150.1 \pm 19.9	0.3	155.1 \pm 23.1	151.2 \pm 19.6	0.3
DBP [#] (mmHg)	88.5 \pm 14.7	88.5 \pm 11.6	0.9	89.4 \pm 12.2	86.3 \pm 13.9	0.2
Type-2 Diabetes			0.9			0.5
Yes	35.9	64.1		31	69	
No	34	66		37	63	

*BMI: Body Mass Index

†WC: Waist Circumference

‡NC: Neck Circumference

§BAI: Body Adiposity Index

||LAP: Lipid Accumulation Product, log-transformed

¶SBP: Systolic Blood Pressure

#DBP: Diastolic Blood Pressure

Table 3. Characteristic of men and women according to polymorphism risk allele C for *MC4R* rs17782313 [mean \pm SD, n (%)]

	Men			Women		
	TT (n=66)	TC/CC (n=20)	P value	TT (n=80)	TC/CC (n=51)	P value
Idade (anos)	61.1 \pm 10.3	59.2 \pm 11.3	0.5	59.7 \pm 12.1	59.2 \pm 10.8	0.8
BMI* (kg/m ²)	28.9 \pm 4.4	30.1 \pm 4.1	0.3	30.1 \pm 5.4	31.5 \pm 5.7	0.2
WC [†] (cm)	102.5 \pm 11.1	105.1 \pm 11.9	0.4	98.5 \pm 11.1	102.3 \pm 12.2	0.07
NC [‡] (cm)	41.3 \pm 2.9	41.2 \pm 2.7	0.9	36.1 \pm 2.8	37.4 \pm 2.9	0.01
BAI [§] (%)	29.4 \pm 3.4	29.4 \pm 3.5	0.9	37.6 \pm 6.0	38.1 \pm 5.9	0.7
LAP (cm.mmol.l)	4.2 \pm 0.7	4.3 \pm 0.8	0.9	4.0 \pm 0.6	4.2 \pm 0.7	0.07
SBP [¶] (mmHg)	154.3 \pm 21.2	143.8 \pm 18.1	0.04	154.3 \pm 22.4	149.7 \pm 17.9	0.2
DBP [#] (mmHg)	89.8 \pm 12.8	84.1 \pm 11.7	0.08	87.5 \pm 13.9	86.9 \pm 12.8	0.8
Type-2 Diabetes			0.9			0.02
Yes	76.9	23.1		50.0	50.0	
No	76.6	23.4		69.9	30.1	

*BMI: Body Mass Index

†WC: Waist Circumference

‡NC: Neck Circumference

§BAI: Body Adiposity Index

||LAP: Lipid Accumulation Product, log-transformed

¶SBP: Systolic Blood Pressure

#DBP: Diastolic Blood Pressure

Table 4. Systolic and diastolic blood pressure adjusted-means* among men and women according to genotype [mean \pm SD, (CI 95%)]

	Men			Women		
	TT (n=30)	TA/AA (n=56)	P value	TT (n=45)	TA/AA (n=86)	P value
Systolic BP (mmHg)	153.7 \pm 20.7 (146.1 - 161.3)	150.8 \pm 20.9 (145.3 – 156.4)	0.6	155.9 \pm 21.5 (149.6 - 162.2)	150.8 \pm 20.4 (146.4 – 155.3)	0.2
Diastolic BP (mmHg)	89.9 \pm 12.5 (85.4 – 94.4)	87.7 \pm 12.7 (84.5 – 91.0)	0.5	87.5 \pm 12.7 (83.7 – 91.2)	87.2 \pm 12.1 (84.6 – 89.9)	0.9
	TT (n=66)	TC/CC (n=20)	P value	TT (n=80)	TC/CC (n=51)	P value
Systolic BP (mmHg)	154.2 \pm 20.3 (149.2 – 159.1)	144.2 \pm 20.1 (135.3 – 153.2)	0.05	154.1 \pm 20.6 (149.5 – 158.6)	150.2 \pm 20.7 (144.3 – 155.9)	0.3
Diastolic BP (mm Hg)	90.1 \pm 12.2 (87.2 – 92.9)	83.2 \pm 12.1 (77.9 – 88.5)	0.03	87.5 \pm 12.5 (84.8 – 90.2)	86.9 \pm 12.9 (83.5 – 90.5)	0.8

* Means adjusted for age and BMI

NOVELTY AND SIGNIFICANCE

1) What Is New?

Common genetic variants in *FTO* rs9939609 and in *MC4R* rs17782313 are frequently related with obesity and type-2 diabetes but this effect was not tested among patients with hypertension.

2) What Is Relevant?

Maybe *MC4R* rs17782313 polymorphism has the same effect over blood pressure than rare mutations.

3) Summary

Common genetic variants in *FTO* rs9939609 and in *MC4R* rs17782313 have positive effects on obesity and type-2 diabetes mellitus and a negative one over blood pressure among patients with hypertension.

10. Considerações Finais

Este é o primeiro estudo que avaliou a associação entre indicadores antropométricos não tradicionais e diabetes mellitus, em pacientes com hipertensão arterial. Verificamos uma associação importante entre índices supostamente mais acurados para detecção de compartimentos de gordura visceral e diabetes mellitus em mulheres, mas não entre os homens, onde obesidade geral parece apresentar maior risco para a doença. O uso de novos indicadores pode ser encorajado na prática clínica, em função de sua praticidade e baixo custo.

Confirmamos em nossa população a associação entre duas variantes genéticas comuns e excesso de peso, com uma frequência considerável de alelos de risco entre os pacientes avaliados. Observamos também que o comportamento do polimorfismo em MC4R sobre a pressão arterial foi semelhante ao observado em mutações graves e nosso estudo foi o primeiro a detectar tal associação. Nossos resultados devem ser confirmados em estudos com maior número de indivíduos com hipertensão arterial, e devem ser esclarecidos possíveis mecanismos fisiopatológicos envolvidos, assim como alternativas para o tratamento desses pacientes.

Assim, essa população apresenta elevada frequência de alelos considerados de risco em genes associados com obesidade e possivelmente com diabetes mellitus, mas faltam maiores esclarecimentos acerca da associação com pressão arterial. As prevalências de obesidade e diabetes mellitus foram elevadas entre os participantes, e o uso de indicadores alternativos para detecção de tecido adiposo visceral deve ser estimulado na prática clínica durante a avaliação de pacientes com hipertensão arterial sistêmica.