



CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO

**INVESTIGAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE FATORES AMBIENTAIS E
POLIMORFISMOS GENÉTICOS RS7903146 E RS12255372 DO GENE
TCF7L2 NO DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Cristiano Rossa da Rocha

Lajeado, março de 2014

Cristiano Rossa da Rocha

**INVESTIGAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE FATORES AMBIENTAIS E
POLIMORFISMOS GENÉTICOS RS7903146 E RS12255372 DO GENE
TCF7L2 NO DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento, do Centro Universitário UNIVATES, como parte da exigência para obtenção do título de Mestre em Ambiente e Desenvolvimento na área de concentração Espaço e Problemas Socioambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Claudete Rempel
Coorientadora: Profa. Dra. Verônica Contini

Lajeado, março de 2014

Cristiano Rossa da Rocha

**INVESTIGAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE FATORES AMBIENTAIS E
POLIMORFISMOS GENÉTICOS RS7903146 E RS12255372 DO GENE
TCF7L2 NO DIABETES MELLITUS TIPO 2**

A banca examinadora abaixo aprova a dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento, do Centro Universitário UNIVATES, como parte da exigência para obtenção do grau de Mestre em Ambiente e Desenvolvimento na área de concentração de Espaço e Problemas Socioambientais:

Prof^a. Dr^a. Claudete Rempel – Orientadora
Centro Universitário UNIVATES

Prof^a. Dr^a. Verônica Contini – Coorientadora
UNIVATES

Prof. Dr. Marcos Roberto de Oliveira

Prof^a. Dr^a. Ioná Carreno
UNIVATES

Prof^a. Dr^a. Júlia Pasqualini Genro
UFCSPA

Lajeado, março de 2014

Dedico este trabalho,
Aos meus pais, Antão e Maria de Lourdes.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Antão e Maria de Lourdes**,
por estarem junto comigo durante todo esse período. Foi por vocês que consegui concluir essa etapa. Obrigado por todo amor e dedicação, pelos momentos de preocupação e pelas palavras de apoio nas horas em que eu mais precisei.

Aos meus irmãos, **Claiton e Cleverton**,
mesmo que a distância, por muitas vezes, acabe impedindo de sermos mais presentes sei que poderei contar sempre com vocês.

À minha querida “dinda”, **Luci**,
que alegria poder dividir esse momento contigo. Obrigado por tudo que fizestes por mim. Se cheguei até aqui, tens uma grande contribuição nisso.

À minha orientadora, Dr^a. **Claudete Rempel**,
principalmente pela paciência e pelos ensinamentos durante esses dois anos. Minha admiração pela grande profissional que demonstrou ser.

À minha coorientadora, Dr^a. **Verônica Contini**,
pelas contribuições e sugestões na construção desse trabalho.

Ao Sr. **Norberto Andrade e família**,
pelo apoio, torcida e amizade durante esses anos de convivência com vocês.

Ao amigo, **Francisco**,

por esses anos de amizade que vem desde os tempos de graduação. Muito obrigado por me incentivar em mais uma etapa.

Aos amigos e colegas do PPGAD, **Camila, Elisa, Jonas, Darliane, Luís e Rafael Tocantins**,

foram dois anos de estudo, risadas, convivência e trocas de conhecimento. Sucesso a todos vocês.

Aos amigos de Santa Maria, **Camila, Guilherme e Roberta**,

obrigado por tudo...pelos momentos de alegria, festas, desabafos...pelo grande incentivo de vocês.

Aos amigos de Estrela, **Sandra e Jorge**,

pela ajuda na minha chegada a Lajeado e durante esse tempo em que estou morando aqui.

RESUMO

O diabetes mellitus é uma doença crônica, multifatorial que já atinge milhões de pessoas em todo o mundo. Tratada como um problema de saúde pública em nível mundial, os gastos diretos e indiretos com o diabetes tendem a aumentar. A forma com maior ocorrência é do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que está relacionado ao estilo de vida, fatores ambientais e genéticos. Nessa perspectiva, este estudo, de caráter descritivo-exploratório e abordagem qualitativa, tem por objetivo avaliar a relação entre fatores ambientais e dois polimorfismos genéticos do gene *TCF7L2* no DM2 em indivíduos do Vale do Taquari. A amostra foi constituída por 46 indivíduos com DM2, usuários de Unidades Básicas de Saúde de municípios do Vale do Taquari-RS/BR. A extração do DNA, a partir de sangue periférico, já foi realizada em 2011-2012, utilizando-se uma adaptação do método de *salting out*, descrito por Lahiri e Nurnberger (1991). Os polimorfismos rs7903146 e rs12255372 no gene *TCF7L2* foram genotipados através do sistema de discriminação alélica Taqman (Applied Biosystems). Os dados foram analisados empregando-se estatística descritiva e inferencial. Os resultados serão apresentados em tabelas e gráficos e os dados descritos apresentados na forma de média (desvio padrão). Para verificar a normalidade dos dados foi aplicado o teste de Kolmogorov Smirnov. Os testes t de Student, ANOVA e Tukey foram utilizados para comparação dos grupos. Para avaliação da reprodutibilidade dos alelos de risco nos dois polimorfismos foi utilizado o Teste Kappa. O teste de sinal foi utilizado para avaliar a associação entre o sexo e a presença ou ausência do alelo de risco. Os resultados permitiram determinar replicabilidade na presença dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372, sendo que 26 indivíduos apresentam os dois polimorfismos. Porém, não se evidenciaram interações entre os polimorfismos do gene *TCF7L2* com os fatores ambientais associados (consumo de álcool, tabagismo e índice de massa corpórea) ao DM2 na população em estudo.

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 2, estilo de vida, fatores ambientais, fatores genéticos, polimorfismos, *TCF7L2*.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a multifactorial, chronic disease that reaches millions of people all around the world. Seen as a worldwide public health matter, direct and indirect expenditures with diabetes tend to rise. The most common type is type 2 diabetes mellitus (DM2), which is related to people's lifestyle, genetic and environmental factors. In the light of this, this descriptive-exploratory study, through a qualitative approach, aims at assessing the relation between environmental factors and two genetic polymorphisms of *TCF7L2* gene in DM2 in Vale do Taquari's inhabitants. The sample is constituted by 46 subjects with DM2 who are users of Basic Health Units from cities of Vale do Taquari – RS/BR. The peripheral blood patients' DNA collection had already been done in 2011-2012, through an adaptation of Lahiri and Nurnberger's (1991) method *salting out*. Rs7903146 and rs12255372 polymorphisms in the *TCF7L2* gene were genotyped through the allelic discrimination system Taqman (Applied Biosystems). Data were analyzed by the use of descriptive and inferential statistics. The results will be displayed in tables and graphics and data described are presented as an average (standard deviation). In order to verify the data normality, the Kolmogorov-Smirnov test was applied. The Student, ANOVA and Tukey t tests were used to compare groups. To assess the risk alleles' reproducibility in both polymorphisms the Kappa test was used. The sign test was used to assess the association between gender and presence or absence of the risk allele. The results allowed determining replicability in the presence of rs7903146 and rs12255372, being that 26 subjects present both polymorphisms. However, it has not been evidenced the interactions between the *TCF7L2* gene polymorphisms and environmental factors linked (alcohol consumption, smoking and body mass index) to DM2 in the population studied.

Key-words: type 2 diabetes mellitus, lifestyle, environmental factors, genetic factors, polymorphisms, *TCF7L2*.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA – Associação Americana de Diabetes

HbA1c – Hemoglobina Glicada

CDKAL-1 – *CDK5 regulatory subunit-associated protein 1-like 1*

CDKN2A-CDKN2B – *Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/2B*

dL – Decilitro

DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2

DNA – Ácido desoxiribonucleico

FTO – *Fat mass and obesity associated*

GLP-1 – *Glucagon-like peptide*

GSK3B - *Glycogen Synthase Kinase 3 Beta*

GWAS – *Genome wide association study*

HDL – Lipoproteína de alta densidade

HHEX – *Hematopoietically expressed homeobox*

IDE – *Insulin degrading enzyme*

IGF2BP2 - *Insulin-Like Growth Factor 2 mRNA-Binding Protein 2*

IMC – Índice de massa corpórea

KIF11- *Kinesin family member 11*

mg – Miligrama

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Reação em cadeia da polimerase (*polimerase chain reaction*)

RNA – Ácido ribonucleico

SLC30A8 – *Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 8*

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphisms*)

TCF7L2 – *Transcription factor 7 like 2*

Wnt – Combinação das siglas Wg (*wingless*) e INT (gene de interação)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Teia de interações para manifestação do DM2	28
Figura 2 – Média de idade de homens e mulheres que apresentam e não apresentam o alelo de risco.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios para diagnóstico de diabetes mellitus.....	24
Tabela 2 – Descrição da amostra quanto ao coeficiente de mortalidade (por 100.000 hab.) – causa do óbito – diabetes mellitus.....	34
Tabela 3 – Descrição da amostra em relação ao gênero e faixa etária.....	38
Tabela 4 – Descrição da amostra em relação à escolaridade.....	40
Tabela 5 – Descrição da amostra em relação à ocupação.....	40
Tabela 6 – Análise do tabagismo x presença ou ausência dos alelos de risco.....	41

Tabela 07 – Análise do alcoolismo x presença ou ausência dos alelos de risco.....	41
Tabela 08 – Descrição da amostra em relação ao IMC.....	42
Tabela 09 – Média de IMC no sexo masculino e feminino de quem apresenta e não apresenta o alelo de risco no polimorfismo rs7903146.....	42
Tabela 10 – Média de IMC no sexo masculino e feminino de quem apresenta e não apresenta o alelo de risco no polimorfismo rs12255372.....	43
Tabela 11 – Análise do A1C x presença ou ausência dos alelos de risco.....	43

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	14
1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 SAÚDE, AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO.....	18
2.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	21
2.2.1 <i>Epidemiologia do DM2</i>	25
2.2.2 <i>Fatores de riscos para o DM2</i>	27
2.2.3 <i>Patogênese do DM2</i>	29
2.3 DM2 E <i>TCF7L2</i>	31
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	33
3.1 TIPO DE PESQUISA	33
3.2 LOCAL DA PESQUISA	33
3.3 OBJETO DA PESQUISA	33
3.4 COLETA DE DADOS	35
3.5 EXTRAÇÃO DO DNA E PCR	35
3.6 FATORES AMBIENTAIS EM ESTUDO.....	36
3.7 ANÁLISES DOS DADOS.....	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
4.1 DISTRIBUIÇÕES GENOTÍPICAS, ALÉLICAS E PERFIL DOS INDIVÍDUOS	37
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
REFERÊNCIAS.....	46

APRESENTAÇÃO

A possibilidade de estudar, aprender e refletir sobre questões relacionadas à saúde, porém com um foco no campo social, ambiental e tecnológico foram determinantes pela escolha do tema desta pesquisa. Contribuindo com essa decisão, o suporte de um projeto já estruturado e reconhecido dentro do PPGAD.

Percebe-se o quanto é importante uma formação interdisciplinar por parte dos profissionais de saúde, visando desenvolver cidadãos mais completos para atuar não só com cuidados e tratamentos, mas críticos capazes de articular conhecimentos e ideias no campo socioambiental.

A presente pesquisa encontra-se organizada na seguinte sequência:

No capítulo 1 será apresentada a introdução, situando a temática do estudo e delimitando o problema de pesquisa, o qual levou o objetivo da construção dessa pesquisa.

No capítulo 2 será abordada a fundamentação teórica da pesquisa. Serão contextualizados questões relacionadas à saúde, ambiente e desenvolvimento e ao Diabetes mellitus tipo 2.

No capítulo 3 serão apresentados os procedimentos metodológicos para a realização do estudo: modo de abordagem e o método utilizado, o local da pesquisa, objeto e perfil dos indivíduos participantes, como ocorreram as coletas e as análises dessas informações.

No capítulo 4 serão apresentados os resultados e as discussões.

No capítulo 5 serão apresentadas as considerações finais, as reflexões que o estudo proporcionou.

1 INTRODUÇÃO

[...]Se a doença é uma manifestação do indivíduo, a situação de saúde é uma manifestação do lugar (BARCELLOS et al., 2002).

O diabetes mellitus 2 (DM2) vem sendo mundialmente debatido devido ao crescente aumento de pessoas diagnosticadas com a doença. É uma síndrome de etiologia múltipla, adquirida ao longo da vida, que está associada à combinação de fatores genéticos, ambientais e o estilo de vida (SCHIMDT et al., 2011).

Alguns polimorfismos genéticos já foram associados ao surgimento da doença, porém, exigem a presença de fatores de risco ambientais e comportamentais. Diversos fatores ambientais desempenham influência no desenvolvimento desta patologia, principalmente dieta hipercalórica e o estilo de vida sedentário, levando, com isso, a alterações metabólicas e danos às células beta-pancreáticas (PASSA, 2002).

Por outro lado, apesar dos fatores ambientais, vários estudos comprovam que alguns indivíduos são mais propensos a desenvolver a doença devido à presença de polimorfismos genéticos (VASCONCELOS et al., 2010).

Esta doença provoca, em longo prazo, disfunção e falência de vários órgãos e está associada ao aumento da mortalidade e ao alto risco de desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares, bem como de neuropatias (SARTORELLI; FRANCO, 2003).

Conforme dados do Sistema de Informação de Atenção Básica do Ministério da Saúde, as análises epidemiológicas mostram o número crescente de indivíduos com DM2. O município de Lajeado/RS apresentava 404 indivíduos cadastrados com DM2 em janeiro de 2008. Estes números aumentaram para 1.079 indivíduos em janeiro de 2014. Isso justifica a necessidade de investigar a doença, buscando medidas e soluções que proporcionem uma melhor qualidade de vida para a população acometida (BRASIL, 2014; TAVARES et al., 2009).

Nessa perspectiva, o questionamento que norteia o presente estudo consiste em: os fatores ambientais interagem com os polimorfismos genéticos rs7903146 e rs12255372 do gene *TCF7L2* e influenciam no DM2 em indivíduos usuários de Unidades Básicas de Saúde de Lajeado, Teutônia, Estrela, Travesseiro, Encantado, Roca Sales e Taquari?

Para tanto, a pesquisa tem por objetivo geral avaliar a interação entre fatores ambientais e polimorfismos genéticos no DM2 em indivíduos usuários de Unidades Básicas de Saúde de Lajeado, Teutônia, Estrela, Travesseiro, Encantado, Roca Sales e Taquari. Os objetivos específicos são apresentados a seguir:

- ✓ Descrever o perfil dos indivíduos participantes da pesquisa, cujas amostras sanguíneas foram analisadas;
- ✓ Determinar as frequências alélicas dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 do gene *TCF7L2* dos participantes da pesquisa;
- ✓ Identificar os principais fatores ambientais associados ao DM2 nos usuários de Unidades Básicas de Saúde de municípios do Vale do Taquari em análise;
- ✓ Investigar a interação entre os polimorfismos rs7903146 e rs1255372 do gene *TCF7L2* com os fatores ambientais associados ao DM2.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo apresenta o embasamento teórico que deu suporte para a pesquisa. Por tratar-se de um assunto amplo, que compreende várias áreas de conhecimento, se tornou importante as definições de saúde, ambiente e desenvolvimento para uma melhor compreensão da temática.

Após definir estes fundamentos, o capítulo abordará as questões relacionadas diretamente com o DM2, como epidemiologia, fatores ambientais e patogênese.

Concluindo o capítulo, as relações do hormônio GLP-1 e do gene *TCF7L2* com o DM2 definirão a importância da pesquisa.

2.1 Saúde, ambiente e desenvolvimento

O movimento ambiental traz a ideia da interdependência entre saúde, desenvolvimento econômico, qualidade de vida e condições ambientais. Esse novo conceito mostra-se relevante na medida em que colabora com o planejamento de novas ações de promoção e proteção à saúde (AUGUSTO et al., 2001).

O perfil epidemiológico brasileiro atual indica que grande parte dos problemas de saúde estão relacionados com a urbanização e a industrialização. Estes fatores proporcionam para as populações novos padrões de consumo, condições sociais, econômicas e culturais. Esse contexto, cada vez mais diversificado e desigual, está refletido diretamente na saúde humana (AZAMBUJA, 2011).

Em 1946, a Organização Mundial de Saúde (OMS) conceituava saúde como um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas pela ausência de doenças e enfermidades (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE,

1946). Comparando esse conceito, definido pela OMS em 1946, com uma visão mais ampliada de saúde, é possível fazer alguns questionamentos: em meio a tantas transformações naturais, sociais e econômicas é possível definir o que é bem-estar? Como as diferentes culturas definem saúde? Como se atinge um completo estado de bem-estar?

O conceito de saúde como completo bem-estar torna-se utópico, visto que esta ideia induz a uma condição de equilíbrio a qual é contraditória aos novos modos de viver saudável, mesmo que em uma condição de doença (MENICUCCI, 2009).

Nesse sentido, o processo de viver com ou sem saúde não se restringe a uma evidência orgânica, natural e objetiva e nem como um estado de equilíbrio, mas está intimamente relacionada às características de cada contexto sociocultural e aos significados que cada indivíduo atribui ao seu processo de viver. A patologia é redefinida com foco nas relações pessoais. Não se trata apenas os indivíduos, mas os sistemas de relações em que eles estão inseridos (MELUCCI, 2004).

O entendimento de saúde e doença passam pelos sentimentos, crenças e valores que os indivíduos têm de si mesmo e dos males que os acometem. Segundo Birman (1991), a saúde está na ordem do simbólico e dos conceitos que os indivíduos têm em relação ao próprio corpo. Estes conceitos são definidos de acordo com a cultura e das relações pessoais. Isso poderá alterar seu funcionamento biológico, psicológico, afetivo e emocional.

Percebe-se então que as noções de saúde e doença são construídas social e culturalmente, pois os indivíduos consideram-se doentes ou saudáveis segundo a classificação de sua sociedade e dos critérios que ela estabelece. Muitas vezes os indivíduos são rotulados por ingressarem em algum programa de tratamento; eles passam da condição de pessoas/indivíduos para serem considerados, por exemplo, diabéticos. A patologia vai servir para que eles pertençam a determinados grupos sociais ou sejam rotulados socialmente (MELUCCI, 2004).

Ao buscar a representação de saúde e doença nos diferentes grupos sociais, podem ser encontrados diversos sentidos. Percebe-se que as tradições, mitos, experiências, imposições e limitações que se situam em diferentes contextos sociais refletem na cultura dos grupos e no jeito de ser de cada indivíduo (OGATA, 2008).

Esses diferentes contextos sociais tornam o sistema uma unidade ambivalente, mutável, embrenhado na ordem-desordem-interação-organização; o próprio sistema se auto-organiza, produz causas que produzem efeitos que produzem causas (MORIN, 2003).

De acordo com Langdon (2003), discussões no âmbito da antropologia, já na primeira metade do século XX, também começam a questionar o modelo biomédico que colocava a doença apenas como um processo biológico/corporal.

A antropologia, em que um dos objetivos é entender o ser humano e reconhecer as diferentes soluções que as diversas culturas dão para os problemas, contribui na construção de novos conceitos relacionados ao binômio saúde-doença (BECKER et al., 2009).

Em meados da década de 70, a partir de relatório feito a pedido do Ministério da Saúde e Bem-Estar do Canadá, foi divulgado um novo conceito de campo da saúde considerando que todas as causas de doenças e mortes decorriam de quatro fatores determinantes e interligados: as características biofísicas do indivíduo, o estilo de vida ou padrões comportamentais, a inadequação dos serviços de saúde, poluição e agravos ambientais (LALONDE, 1996).

De acordo com Augusto et al. (2001), as relações entre saúde e ambiente integram as dimensões históricas, espaciais e coletivas das situações vividas pelos indivíduos e suas populações. Como afirma Pelicioni (1998), existe uma total inter-relação entre as alterações do meio ambiente e a qualidade de vida dos indivíduos.

Essas ideias baseiam-se no conceito de saúde apresentado e discutido na VIII Conferência Nacional de Saúde:

[...] a saúde é a resultante das condições de alimentação, habitação, educação, renda, meio-ambiente, trabalho, transporte, emprego, lazer, liberdade, acesso e posse da terra e acesso a serviços de saúde. É, assim, antes de tudo, o resultado das formas de organização social da produção, as quais podem gerar grandes desigualdades nos níveis de vida (BRASIL, 1986).

Essa relação entre saúde e ambiente pode ser chamada de visão holística do mundo, caracterizadas por um processo complexo cujas partes estão inseridas em

ecossistemas, os quais se constituem como espaços de desenvolvimento humano (SAMAJA, 2000).

Compartilhando com esse mesmo pensamento, Capra (2006a) chama este processo de visão ecológica, tornando o conceito de ecologia mais profundo e amplo que o usual. O mesmo autor define que a percepção ecológica profunda reconhece a independência fundamental de todos os fenômenos e o fato de que indivíduos e sociedades estão encaixados nos processos cíclicos da natureza, pertencendo a uma mesma teia.

Segundo afirmam Navarro et al. (2002), observam-se a emergência de uma série de doenças que estão diretamente relacionadas à intensificação de processos de degradação socioambiental, interesses econômicos, deterioração dos programas de saúde e padrões de comportamento.

Corroborando com esta ideia, Starfield (2002, p.22) afirma:

[...] a saúde de um indivíduo ou uma população é determinada por sua combinação genética, mas grandemente modificado pelo ambiente social e físico, por comportamentos que são cultural ou socialmente determinados e pela natureza da atenção à saúde oferecida.

Neste contexto, dominada por uma visão sistemática, o universo deixa de ser visto como uma máquina composta por diversos objetos, para ser descrito como um todo dinâmico, indivisível, cujas partes estão inter-relacionadas e só podem ser entendidas como um modelo de um processo cósmico (CAPRA, 2006a).

A saúde humana, portanto, pode ser vista como um resultado das dinâmicas socioambientais sobre a carga genética dos indivíduos. Nesse caso, o ambiente pode tanto promover a saúde como prejudicá-la (ITANI; VILELA JUNIOR, 2013).

Os riscos à saúde ocasionados por essa teia de elementos, muitas vezes, não são inteiramente previsíveis. Por essa razão, cada vez mais, tornam-se fundamentais e necessárias novas tecnologias, avanços da ciência, sociedades mobilizadas e políticas públicas efetivas (AZAMBUJA, 2011).

2.2 Diabetes mellitus tipo 2

O diabetes mellitus pertence a um grupo de doenças que tem como característica principal elevadas taxas de glicose no sangue. O corpo utiliza,

principalmente, dois hormônios (insulina e glucagon) para alcançar a estabilidade dos níveis de glicose no sangue (CASPERSEN et al., 2012).

A insulina é liberada na circulação a partir das células beta das Ilhotas de Langerhans do pâncreas. A insulina permite que a glicose sanguínea seja captada por determinados órgãos, principalmente músculos estriados e tecido adiposo. Além disso, a taxa de oxidação da glicose é elevada perante sinalização dependente de insulina. Outras vias metabólicas não associadas à oxidação de glicose são estimuladas por insulina, incluindo a síntese de glicogênio em alguns tipos celulares (MARIEB, 2009).

Já as células alfa do pâncreas produzem glucagon, que facilita a liberação de glicose dos estoques de glicogênio e faz os níveis de glicose se manterem normais na circulação, ou mesmo os elevar, dependendo do estado metabólico acima do normal fisiológico (O'KEEFE JR, 2010)).

Existe uma conexão entre o trato gastro intestinal e o pâncreas, efetuada pelos chamados hormônios intestinais ou peptídeos similares ao glucagon, denominados GLP-1 (*Glucagon-Like Peptide 1*). Esse hormônio é conhecido como incretina, cuja função consiste em promover o aumento da secreção de insulina dependente de glicose (DRUCKER, 2002).

O efeito incretínico é o processo pelo qual a glicose oral possui efeito estimulatório mais intenso sobre a secreção de insulina, comparado quando essa mesma quantidade de glicose é administrada por via endovenosa. Em seres humanos, esse efeito parece ser mediado pelos chamados hormônios incretínicos, que possuem diversos efeitos glucorregulatório e hoje constituem uma das novas terapias para o tratamento do DM2 (HUDA et al., 2006).

O GLP-1 representa o produto do gene do pré-pró-glucagon e é regulado no sistema nervoso central (hipófise e hipotálamo) e sintetizado nas células L do íleo, duodeno e do cólon distal em resposta à alimentação, após a qual é rapidamente liberada para a veia porta (IRWINNI; FLATT, 2009).

Diversos são os efeitos metabólicos do GLP-1 no organismo humano; este peptídeo exerce ação de saciedade (influenciando no peso corporal), aumenta a

secreção de insulina (glicose-dependente). Por estimular a expressão do gene da insulina e por potencializar todos os passos de sua biossíntese, aumenta a captação de glicose nos tecidos periféricos (músculo, tecido adiposo e fígado), além de ter efeito proliferativo e anti-apoptótico sobre as células beta-pancreáticas. Torna o esvaziamento gástrico mais lento, e inibe secreção ácido-gástrica e a hiperglicemia inapropriada (CERASI; FERRANNINI, 2004).

De acordo com Manjunatha et al. (2011), o DM2 é a forma mais comum de diabetes, sendo responsável por cerca de 90% a 95% dos casos diagnosticados. Neste tipo de diabetes, o corpo não produz insulina suficiente ou as células do organismo tornam-se resistentes à insulina. Isso quer dizer que o DM2 pode ocorrer mesmo com elevados níveis de insulina circulante no sangue. Os mesmos autores afirmam que a resistência à insulina ocorre quando parte da musculatura corpórea, tecido adiposo e células hepáticas não respondem adequadamente à insulina.

Para Mohan (2010), a resistência à insulina é uma resposta biológica abaixo da normal a uma dada concentração de insulina, ou seja, a eficiência em induzir a captação de glicose pelas células já não é eficiente. Esse processo pode causar disfunção da célula beta via um mecanismo de exaustão, devido a um contínuo estímulo da célula beta, pois o pâncreas tenta acompanhar a demanda por insulina, aumentando sua secreção. Esse quadro acarreta uma condição chamada de hiperinsulinemia e a uma posterior hiperglicemia.

Os principais sintomas do DM2 são a poliúria (eliminação de volumes excessivos de urina), polidipsia (sensação de sede exagerada), polifagia (apetite acentuado) e perda involuntária de peso. Outros sintomas relacionados são a fadiga e a fraqueza (por aumento na proteólise muscular e isto causado, principalmente, por uma não atuação adequada da insulina), letargia, prurido cutâneo e vulvar, balanopostite e infecções de repetição. Entretanto, na maioria dos casos, o diabetes mellitus é assintomático fazendo com que o diagnóstico seja realizado quando a doença encontra-se em fases mais avançadas (BRUNNER; SUDDARTH, 2009; GOMES et al., 2006).

Segundo Gross et al. (2002) os testes laboratoriais mais comuns utilizados para suspeita de diabetes ou regulação glicêmica alterada são: glicemia de jejum,

teste de tolerância à glicose (TTG-75g) e glicemia casual. A tabela 1 a seguir refere-se aos valores de taxas glicêmicas no sangue:

Tabela 1 - Critérios para diagnóstico de diabetes mellitus

	Jejum (8hs)	2h após 75g de glicose
Glicemia normal	<100	<140
Tolerância à glicose diminuída	≥100 e <126	≥140 e <200
Diabetes Mellitus	≥126	≥200

Fonte: Adaptado pelo autor com base em Gross et al. (2002)

A dosagem da glicose no sangue não determina parâmetros eficientes no controle da glicemia durante um longo intervalo de tempo. Nesse sentido, um dos testes bioquímicos mais importantes para o controle do DM2 e dos riscos de complicações crônicas é a dosagem da hemoglobina glicada (HbA1c). A hemoglobina glicada é definida por um grupo de substâncias formadas a partir da reação entre a hemoglobina A (HbA), contida na hemácia ou glóbulo vermelho, e um açúcar. Ela mostra o histórico do controle da doença nos últimos 60 a 90 dias, que é o tempo de vida das hemácias. Nesse período, a hemoglobina vai incorporando a glicose, em função da concentração que existe desse açúcar no sangue. Se as taxas de glicose estiverem alta, haverá um aumento da HbA1c. É devido a esse controle, de quanto a hemoglobina incorporou glicose durante seu tempo de permanência na circulação, que a dosagem da HbA1c é relevante. (DE BEM; KUNDE, 2006; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2003).

A grande vantagem da HbA1c está no fato de não sofrer grandes alterações, como nos testes de glicemia plasmática que podem sofrer oscilações em razão da influência de fatores como alimentação, exercícios, medicamentos. No adulto, níveis acima de 7% de HbA1c estão associados a riscos de complicações crônicas. Os valores ideais para adultos e jovens adultos são de níveis de HbA1c abaixo de 7%. Em crianças e idosos esses valores podem ser alterados devido ao risco de eventos de hipoglicemia (SUMITA; ANDRIOLO, 2008).

O DM2 acarreta uma série de complicações agudas e crônicas, que são responsáveis por altos índices de morbimortalidade, caracterizando-o como um

distúrbio crônico de etiologia multifatorial. Dentre as complicações agudas encontram-se a cetoacidose, com índices de mortalidade variando entre cinco e 15% dos casos, hiperglicemia e doença periodontal. Já as complicações crônicas são classificadas como microvasculares – retinopatia, nefropatia e neuropatia – e macrovasculares – doença arterial coronariana, doença cerebrovascular e vascular periférica (MORAIS et al., 2009).

Nos casos de complicações macrovasculares, vários estudos têm avaliado a associação entre marcadores inflamatórios circulantes e o risco de desenvolver esse tipo de complicação. Dentre esses biomarcadores, a proteína C reativa (PCR) tem sido utilizada como marcador bioquímico precoce e sensível da resposta aos processos infecciosos ou inflamatórios. A PCR é uma das proteínas de fase aguda, ou seja, a concentração sérica se eleva logo após a ocorrência de uma agressão ao organismo. Nos casos de pacientes diabéticos com doença arterial coronariana, a PCR pode apresentar-se com níveis elevados (MOURA, 2006; MAIA et al., 2002).

O tratamento para o DM2 consiste em mudanças no estilo de vida, como orientação sobre o diabetes ao portador da patologia, novos hábitos alimentares e atividades físicas. Aliado a isso, o uso de fármacos que visam o controle glicêmico é fundamental. Os fármacos disponíveis para a regulação da glicemia são a metformina, sulfoniluréias (glibenclamida e glicazida) e insulina (NPH e regular) (FIORIN; SUPLICY, 2012).

2.2.1 Epidemiologia do DM2

Juntamente com as doenças cardiovasculares e hipertensão arterial, o diabetes figura como um dos principais problemas do quadro sanitário brasileiro e mundial. Seu alto índice de prevalência e o crescente número de casos requerem intervenções individuais e coletivas (GOMES, 2011).

O DM2 é uma das principais causas de morbimortalidade em sociedades ocidentais, sendo quatro milhões de mortes/ano relativas ao diabetes e suas complicações, o que representa 9% da mortalidade mundial total (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2000).

A Federação Internacional de Diabetes estima que 285 milhões de adultos, com idade de 20 a 79 anos, sofria de diabetes em 2010. Esse número tende a aumentar para 438 milhões em 2030, sendo a maioria diagnosticada com DM2 (HERDER; RODEN, 2011).

No Brasil, estima-se que para o mesmo período, o número passe de 4,5 milhões para 11,3 milhões de pessoas diabéticas, fazendo com que o país torne-se o oitavo, em nível mundial, com maior índice de diabetes (FREITAS; GARCIA, 2012).

No Vale do Taquari/RS, conforme pesquisa realizada em 2009 pelo Grupo de Pesquisas em Diabetes, Hipertensos e Plantas Medicinais do Centro Universitário Univates, 50% dos usuários das Unidades Básicas de Saúde apresentavam índice de glicemia em jejum acima de 100mg/dL de sangue (REMPEL et al., 2010)

Além do impacto social e pessoal, esse crescimento da doença reflete diretamente nos sistemas de saúde e na economia do país, tanto em questões de produtividade como de custos (NARAYAN et al., 2006).

O grande impacto econômico ocorre notadamente nos serviços de saúde, como consequência dos crescentes custos do tratamento da doença e, sobretudo, das complicações, como doença cardiovascular, diálise por insuficiência renal crônica e cirurgias para amputações de membros inferiores. O gasto governamental exclusivamente com hospitalizações atribuíveis ao DM2 é expressivo, 2,2% do orçamento executado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2006).

Segundo dados fornecidos pela Associação Americana de Diabetes (ADA), em 2007 os custos totais de diabetes diagnosticados chegaram a 174 bilhões de dólares. Desse total, US\$116 bilhões foram para os custos diretos com a doença e outros US\$ 58 bilhões foram destinados para custos indiretos (redução da capacidade laboral, mortalidade precoce com impacto na força de trabalho, redução da autonomia e da qualidade de vida). Além disso, a pesquisa permitiu evidenciar que os custos médicos com pessoas diabéticas diagnosticadas foram 2,3 vezes mais elevados do que com pessoas não diabéticas (ADA, 2008).

No Brasil, em 2007, o custo anual do tratamento ambulatorial do DM2 foi de R\$ 2.952.000,00 para 1.000 pacientes (R\$ 2.952,00/por paciente), sendo 63,3% destinados para os custos diretos e 36,7% para os custos indiretos (BAHIA et al., 2009).

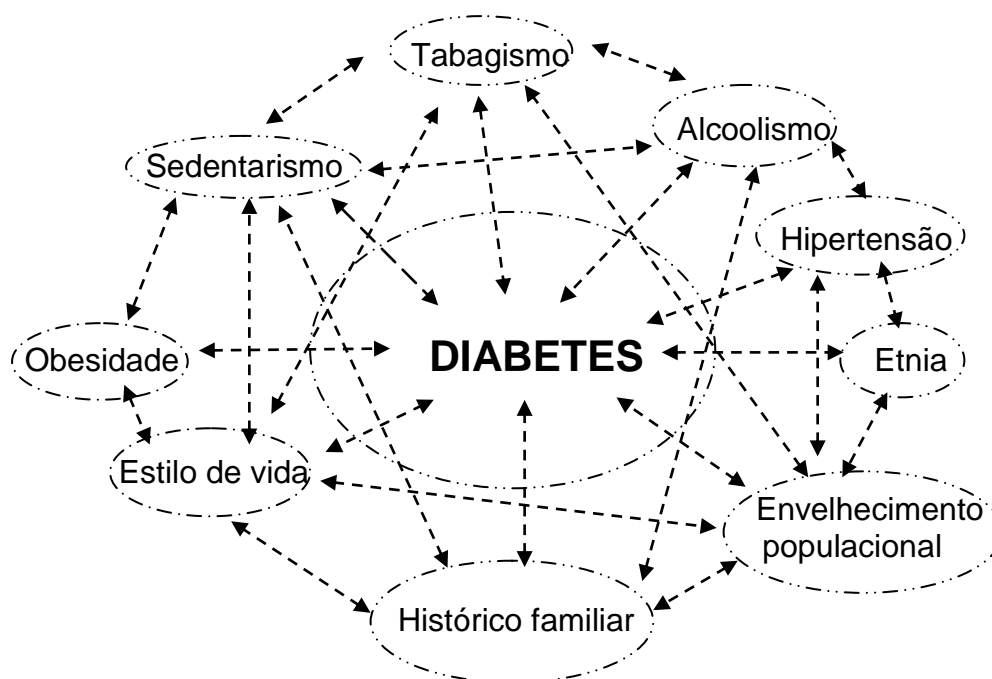
Mendes (2010), afirma que a descoberta precoce do DM2 é importante para a saúde pública e pode ser detectada através de campanhas, ações de rastreamento e práticas de saúde mais abrangentes. Considerando as características distintas das condições agudas e crônicas da doença, há a necessidade dos sistemas de saúde organizarem-se de modo a dar conta dessas diferenças.

Tomando por base esse contexto epidemiológico, percebe-se a necessidade na reformulação dos modelos de atenção dos sistemas de saúde frente ao atendimento das condições crônicas do diabetes. A eficiência, eficácia e efetividade devem ser prioridades quando se quer chegar a resultados positivos.

2.2.2 Fatores de riscos para o DM2

Não se pode pensar em causas isoladas para o DM2. Como mostra a figura 1, vários fatores interagindo entre si juntamente com uma base poligênica são determinantes para a manifestação da doença. O estilo de vida da população está diretamente relacionado com a incidência da doença (VASCONCELOS et al., 2010).

Figura 1 – Teia de interações para manifestação do DM2



Fonte: Adaptado pelo autor com base em Capra (2006b)

O sedentarismo e a obesidade são fatores importantes no aumento de casos de DM2 em adultos, independente do índice de massa corporal (IMC) ou de histórico familiar, e estão relacionados com a resistência à insulina (SARTORELLI; FRANCO, 2003).

Considera-se obesa a pessoa com índice de massa corporal maior ou igual a 30 kg/m^2 . O indivíduo obeso apresenta uma massa adipócita acima do normal, causando aumento na produção de moléculas que provocam uma série de alterações fisiopatológicas, como o aumento na concentração de TNF- α (fator de necrose tumoral) e interleucina 6, que são antagonistas à ação da insulina.. As consequências são um desequilíbrio glicêmico em função da menor extração de insulina pelo fígado, com aumento da produção hepática de glicose e diminuição da captação de glicose pelo tecido muscular e tecido adiposo (AGUIAR; MANINI, 2013; GUIMARÃES et al., 2007).

O consumo de dietas hipercalóricas, com a substituição de alimentos naturais ricos em fibras, vitaminas e minerais por produtos industrializados, aliados a padrões de comportamentos sedentários da população, compõem um dos principais fatores etiológicos da obesidade (CARVALHO et al., 2012).

Estudos mostram que o aumento da atividade física reduz o risco de desenvolvimento de DM2 através do aumento da ação da insulina e da captação da glicose pelo músculo. Um dos benefícios dos exercícios físicos é sua atuação sobre os glicotransportadores GLUT4 e o consequente aumento da sensibilidade à insulina (LYRA et al., 2006; COLBERG, 2003).

A melhora na qualidade de vida fez aumentar a expectativa de vida e o número de pessoas com mais de 65 anos de idade. Estima-se que para o ano de 2050, no Brasil, existirão mais idosos do que crianças. Com isso as previsões para o aumento de casos de pessoas com diabetes também aumentam (VERAS, 2009).

Diversos são os fatores associados ao envelhecimento que interagem e contribuem para a intolerância à glicose e ao DM2: aumento da adiposidade visceral, diminuição da atividade física associada a algum grau de sarcopenia, resultando em mudanças na composição corporal e na resistência à insulina. O envelhecimento é também associado à deficiência na secreção da insulina pela célula beta-pancreática (FRANCISCO et al., 2010; SELVIN et al., 2006).

O consumo de álcool apresenta indícios que podem explicar o desenvolvimento do diabetes. Fatores como aumento na sensibilidade à insulina, elevação das taxas de colesterol HDL e triglicerídeos no sangue após consumo exagerado de álcool são citados no estudo de Howard et al. (2004).

Outro risco para o DM2 é o tabagismo, que apresenta altos índices mundiais. Inflamação e estresse oxidativo, danificando e diminuindo a função das células beta-pancreáticas, estão associados ao tabagismo (DING; HU, 2007).

Observou-se no estudo realizado por Olivarius et al. (1993), que em indivíduos com diagnóstico recente de DM2 os índices de fumantes e ex-fumantes eram mais altos do que os não-fumantes.

2.2.3 Patogênese do DM2

O DM2 é resultado da interação entre estilo de vida, fatores ambientais e de uma combinação de variantes genéticas. Polimorfismos de nucleotídeos únicos

(SNPs) em determinados segmentos do DNA são considerados fatores de predisposição no desenvolvimento do DM2 (SLADEK et al., 2007; STAIGER et al., 2009).

Pesquisas indicam que a influência genética tem uma importância no desenvolvimento de DM2. A identificação de genes suscetíveis para o DM2 tem sido investigada comparando a frequência de determinados alelos entre populações doentes e sadias (FARBSTEIN et al., 2010).

Evidências obtidas, inicialmente, a partir de estudos de história familiar e com indivíduos gêmeos, reforçam que fatores genéticos apresentam um importante papel na determinação da susceptibilidade individual ao desenvolvimento do DM2 (DEUS; CONCEIÇÃO, 2012).

A predisposição genética faz-se presente, sendo que os parentes de primeiro grau de indivíduos com DM2 possuem maior probabilidade de desenvolverem intolerância à glicose e o diabetes (MIRIAN et al., 2007).

A forma como o DM2, se apresenta, com vários fatores determinantes e o complexo processo de influência genética prejudicam a identificação precisa dos genes que estão relacionados com a doença. No entanto, pesquisas apontam para mais de 40 loci genéticos referenciados, porém isso representa menos de 10% do componente genético da doença. Recentemente estudos de varredura genômica – *Genome wide association study* (GWAS) – têm introduzido e validado sucessivamente novos *loci*; curiosamente, muitos parecem associar-se mais a funções relacionadas com a secreção insulínica do que à insulina resistência (GUELHO et al., 2013; LONG et al., 2012).

Portanto, a maioria dos estudos relacionados com a genética do diabetes consiste em identificar genes associados com a doença e suas complicações. Recentes avanços revelaram a participação de polimorfismos em novos genes (*TCF7L2*, *SLC30A8*, *IDE-KIF11- HHEX*, *CDKAL1*, *CDKN2A-CDKN2B*, *IGF2BP2*, *FTO*), alguns com função ainda desconhecida (TAYLOR et al., 2007; HELGASON et al., 2007).

Estudos concluíram que variantes genéticas comuns do gene transcription factor 7-like 2 (*T-cell specific, HMG-bos*) - *TCF7L2*, no cromossomo 10 (10q25), estão associadas a um risco aumentado de DM2 entre pessoas com intolerância à glicose. Os polimorfismos dos *TCF7L2* associam-se a um aumento de aproximadamente 50% no risco de DM2 em indivíduos portadores (FLOREZ et al., 2006; GRANT et al., 2006).

De acordo com esses estudos, dois polimorfismos (rs7903146 e rs12255372) localizados no *TCF7L2* estão associados com a disfunção das células beta pancreáticas, fazendo com que a capacidade de secreção individual de insulina em resposta à glicose fique afetada. Por isso, esse genótipo é relevante para o DM2.

2.3 DM2 e *TCF7L2*

Dados epidemiológicos reforçam a associação entre variantes genéticas comuns do gene *TCF7L2* com o risco de DM2 em diferentes etnias. Apesar dos mecanismos que envolvem o gene *TCF7L2* no DM2 serem pouco conhecidos, tem sido avaliada sua associação com a redução da secreção de insulina pelo pâncreas, redução do efeito das incretinas e redução da vida média das células beta do pâncreas (TONG et al., 2009).

Foi observado que dois SNPs, localizados em um íntron do gene *TCF7L2* (rs7903146 e rs12255372), afetam a resposta da célula beta pancreática ao GLP-1, durante *clamp* hiperglicêmico (método que permite a capacidade de secreção individual de insulina em resposta à glicose) combinado com a infusão de GLP-1. Estes dados foram corroborados pela comparação dos efeitos do SNP rs7903146 na secreção da insulina, após infusão intravenosa de glicose comparada com administração oral. Portanto, a possível associação entre polimorfismos do gene *TCF7L2* e diabetes se relaciona a diferentes efeitos de ações dos hormônios incretínicos (NAIDU et al., 2012).

Foi relatado um risco 1,32 vezes maior para o desenvolvimento de DM2, para cada cópia do alelo de risco T do polimorfismo rs7903146 do gene *TCF7L2*, para homens e mulheres, respectivamente (CORNELIS et al., 2009).

Para o presente estudo, foram selecionados os SNPs rs7903146 e rs12255372. O SNP rs7903146 localiza-se no íntron 3 do gene *TCF7L2*, e é constituído pelos alelos: C e T, sendo T o alelo de risco. O SNP rs12255372 localiza-se no íntron 4, sendo constituído pelos alelos: G e T, sendo o último o alelo de risco (PROKUNINA-OLSSON et al.,2009).

O *TCF7L2* codifica um componente do fator de transcrição do complexo beta-catenina-fator de transcrição 7-like 2, envolvido na via de sinalização do Wnt. As Wnts são glicoproteínas secretadas por diferentes células, que se ligam a receptores de superfície celular, desempenhando um papel crítico na embriogênese e no controle de proliferação de células- β e diferenciação celular, estando também envolvido em diversos processos fisiológicos na vida adulta, como a secreção da insulina. Estas proteínas estão relacionadas com a homeostase da glicose, ou seja, na ausência de secreção de Wnts, a β -catenina é rapidamente fosforilada pela GSK3B e degradada. Na presença de Wnts, os níveis de β -catenina se elevam, e esta se liga a receptores nucleares *TCF7L2*, havendo a subsequente ativação de diferentes genes e proteínas envolvidos na proliferação e diferenciação celular, assim como na expressão e secreção de GLP-1 (SMITH, 2007; MOTA et al., 2012)

Florez et al. (2006) utilizaram técnicas por interferências no RNA e superexpressão por transfecção demonstraram que, em ilhotas humanas, o *TCF7L2* é necessário para a sobrevivência e proliferação da célula beta-pancreática, bem como para a secreção de insulina estimulada pela glicose e incretinas.

Raitakari et al. (2007) complementam que o produto do gene *TCF7L2* é o fator de transcrição 4 (TCF4) de células T humanas, que atua na cascata de sinalização Wnt. Este fator de transcrição regula a transcrição do gene pró-glucagon nas células enteroendócrinas, gene que codifica o hormônio insulínico GLP-1 *in vitro*.

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 Tipo de pesquisa

Para chegar aos objetivos propostos pela pesquisa, o presente estudo caracteriza-se como transversal e descritivo, com abordagem quantitativa. Esse tipo de pesquisa permite descrever a ocorrência da doença segundo variáveis individuais, geográficas ou temporais (HADDAD, 2004).

A abordagem quantitativa da pesquisa contribui para a determinação da natureza e das condições múltiplas referente às patologias em estudo, visando classificações nosográficas, projetos terapêuticos e planejamento para a qualidade de vida (JEKEL, 2005).

3.2 Local da pesquisa

Laboratório de Biologia Molecular do Centro Universitário Univates.

3.3 Objeto da pesquisa

Foram analisadas amostras de sangue de indivíduos com DM2. Estas amostras são de participantes que fizeram parte do grupo de pessoas acompanhadas no período de 2011 a 2012 na pesquisa em Diabetes, Hipertensão e Plantas Medicinais, vinculada ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde do Centro Universitário UNIVATES.

Todos os indivíduos são maiores de 18 anos, de ambos os sexos, euro derivados autodeclarados, não estando presentes africanos, indianos e orientais. Todos os participantes responderam ao questionário semiestruturado e realizaram coletas trimestrais de sangue, verificação de pressão arterial, avaliação do pé diabético e controle de peso nas unidades básicas de saúde.

Da amostra inicial de 104 participantes, foram excluídos os indivíduos com doenças infectocontagiosas, deficientes mentais, mulheres grávidas, anões e indivíduos com câncer. Para a pesquisa em estudo, foram excluídas as amostras sanguíneas dos indivíduos que não possuíam todos os dados completos, totalizando 46 amostras.

Os municípios de residência dos participantes pertencem ao Vale do Taquari/RS e correspondem a Lajeado, Teutônia, Estrela, Travesseiro, Encantado, Roca Sales e Taquari. Estes municípios foram escolhidos por terem sido os que apresentaram usuários de Unidades Básicas de Saúde com maiores índices glicêmicos em pesquisa realizada anteriormente pelo grupo (REMPEL et al., 2010).

Os índices do Ministério da Saúde, com base nos dados disponibilizados no DATASUS, comprovam a importância de pesquisar a temática como se pode observar na Tabela 2, onde se pode constatar o alto coeficiente de mortalidade em decorrência do diabetes nos municípios participantes da pesquisa.

Tabela 2 - Descrição da amostra quanto ao coeficiente de mortalidade (por 100.000 habitantes) - causa do óbito – Diabetes Mellitus

Cidade/Ano	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Encantado	5,3	20,9	10,3	20,2	25,0	34,6	14,7
Estrela	50,0	24,7	24,5	17,1	13,5	16,7	6,6
Lajeado	37,1	15,9	14,0	18,1	25,2	24,7	32,3
Roca Sales	10,8	21,5	32,1	42,8	32,0	32,0	19,3
Taquari	30,0	29,6	36,5	35,4	45,4	41,3	41,4
Teutônia	31,6	26,5	17,3	12,4	16,1	35,5	15,0
Travesseiro	43,5	131,3	X	x	91,1	46,0	40,6

Fonte: Fonte do autor adaptado da base de dados SIM/SINASC (2009)

3.4 Coleta de dados

Todos os dados utilizados na pesquisa, como idade, gênero, escolaridade, ocupação, tabagismo, alcoolismo, IMC, HbA1c e proteína C reativa foram coletados do banco de dados do Grupo de Pesquisa em Diabetes e Hipertensão da Univates.

3.5 Extração do DNA e PCR

Os procedimentos de extração do DNA e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram realizados no período de setembro a outubro de 2013. As amostras foram obtidas a partir de 4 mL de sangue periférico, coletado em tubo contendo ácido etileno diaminotetracético (EDTA, 25mM). O DNA foi extraído a partir do sangue total, utilizando uma adaptação da técnica de *salting out* descrita por Lahiri e Nurnberger (1991) e posteriormente foram armazenadas em freezer a -4°C.

Os polimorfismos foram genotipados pela técnica de discriminação alélica TaqMan® (Applied Biosystems), em equipamento de PCR em tempo real *StepOne* (Applied Biosystems), respeitando o protocolo do fabricante. O sistema TaqMan® utiliza uma sonda (fragmento de DNA marcado usado para hibridizar outra molécula de DNA) com moléculas fluorescentes para permitir a detecção de sequências específicas nos fragmentos de DNA amplificados na PCR. Esta sonda é marcada com uma molécula fluorescente (fluoróforo) e outra de apagamento intramolecular (*quencher*) além do par de *primers* que se utilizam na PCR comum (NOVAIS; PIRES-ALVES, 2004).

Enquanto a sonda não estiver ligada ao DNA, o sinal da fluorescência é baixo devido à presença do *quencher*. Quando a sonda está anelada ao DNA, o *quencher* é separado do fluoróforo, resultando em um aumento da intensidade da fluorescência que é o sinal quando a sequência alvo foi estabelecida. Assim, para a genotipagem de polimorfismos tipo SNP são necessárias duas sondas, uma para cada alelo possível. (Meijermann et al., 2007).

3.6 Fatores ambientais em estudo

Os fatores escolhidos para as análises foram o consumo de álcool, tabagismo e índice de massa corpórea (IMC). Esses fatores, como relatados anteriormente, interagem no desenvolvimento do DM2. Não foram encontrados estudos demonstrando a relação do alcoolismo e do tabagismo com o DM2 na região, o que fortaleceu a opção por esses fatores. Já a escolha pela obesidade deve-se ao fato de estar diretamente associada ao DM2, causando resistência à insulina.

3.7 Análises dos dados

Os dados foram analisados empregando-se estatística descritiva e inferencial. Para análise estatística, foi utilizado o software BIOESTAT 5.0 (AYRES et al., 2007).

Os resultados serão apresentados em tabelas e gráficos e os dados descritos são apresentados na forma de média (desvio padrão). Para verificar a normalidade dos dados foi aplicado o teste de Kolmogorov Smirnov. O teste t de Student, ANOVA e Tukey foram utilizados para comparação dos grupos. Para avaliação da reprodutividade dos alelos de risco nos dois polimorfismos foi utilizado o Teste Kappa. O teste de sinal foi utilizado para avaliar a associação entre o sexo e a presença ou ausência do alelo de risco.

A aplicação do teste qui-quadrado (χ^2) permitiu verificar a associação entre as variáveis qualitativas e Correlação de Pearson para as variáveis quantitativas. O nível de significância adotado foi de 5%, sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Distribuições Genóticas, Alélicas e perfil dos indivíduos

No grupo DM2 avaliado foi possível verificar que, para o polimorfismo rs7903146, 16 (34,8%) apresentam o genótipo CC, 23 (50,0%) eram portadores do genótipo CT e sete (15,2%) eram portadores do genótipo TT. Para o polimorfismo rs12255372, 16 (34,8%) apresentam o genótipo GG, 24 (52,2%) eram portadores do genótipo GT e seis (13,0%) eram portadores do genótipo TT.

Pelo teste Kappa, conclui-se que há boa replicabilidade na presença dos dois polimorfismos nos indivíduos analisados. Dos 46 indivíduos analisados, 30 (65,21%) apresentam o alelo de risco T no polimorfismo rs7903146 e 30 (65,21%) apresentam o alelo de risco T no polimorfismo rs12255372. O número de indivíduos que apresentaram os alelos de risco nos dois polimorfismos foi de 26 (56,52%).

Embora com etnias diferentes do estudo aqui apresentado, outras pesquisas apresentaram resultados semelhantes. A pesquisa realizada por Bordhini (2007) com 1.031 índios asiáticos, revelou que a frequência dos alelos de risco em ambos os polimorfismos foi significativamente maior em indivíduos diabéticos. Outros estudos realizados na Itália, Japão e Rússia demonstraram a relação do diabetes com os alelos de risco dos polimorfismos em estudo (CICCACCI et al., 2012; HAYASHI et al., 2007; POTAPOV et al., 2010).

O estudo demonstrou, quanto ao perfil sociodemográfico, que a média de idade dos participantes foi de 64 ($\pm 9,51$) anos, sendo 34 (73,91%) mulheres. Constatou-se um número maior de indivíduos, 16 (34,78%), situados na faixa etária entre 60 e 69 anos, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Descrição da amostra em relação ao gênero e faixa etária

Variável	Categoria	n	%
Sexo	Feminino	34	73,91
	Masculino	12	26,09
Faixa etária	40-49	3	6,53
	50-59	13	28,26
	60-69	16	34,78
	70-79	13	28,26
	80-89	1	2,17

Fonte: dados da pesquisa

No estudo realizado por Ferreira, Rosado (2012) com idosos de um programa de saúde para a terceira idade, 84,4% da amostra eram do sexo feminino. Dados semelhantes apontaram na pesquisa de Cotta et al. (2009), com hipertensos e diabéticos no município de Teixeira – MG, em que 74,4% dos entrevistados eram mulheres.

Na avaliação da presença ou ausência do alelo de risco nos polimorfismos, verificou-se que há diferença estatística significativa, no gênero feminino, entre ter e não ter o alelo de risco nos dois polimorfismos ($p < 0,05$). No entanto, não há diferença estatística significativa, no gênero masculino, entre ter e não ter o alelo de risco nos dois polimorfismos ($p > 0,05$).

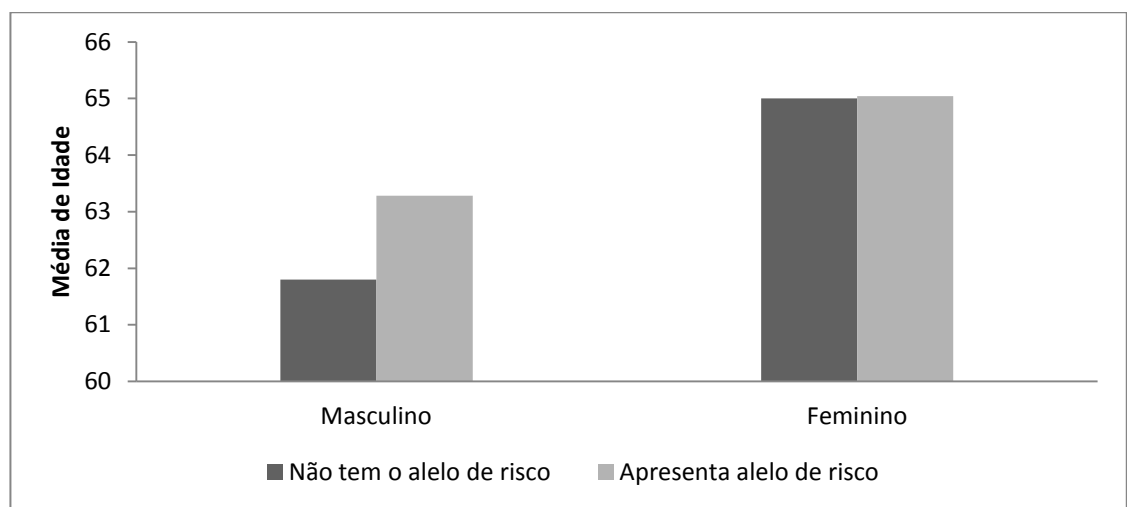
Estudos indicam que a prevalência de DM2 é maior no sexo feminino (FRANCO, 1998; MALERBI, 1992; ORTIZ; ZANETTI, 2001). Esta prevalência de mulheres pode estar relacionada a fatores socioculturais relacionados à saúde, ao hábito de estarem acostumadas com consultas de rotinas desde a juventude e pelo maior número de programas de saúde destinado a elas. Justamente por se cuidarem mais, as mulheres descobrem antes a doença. Já grande parte da população masculina não tem essa preocupação com a saúde, por isso acabam sendo minoria nas pesquisas.

Em relação à faixa etária, Torres et al. (2010) indicam em seu estudo transversal, também com pessoas diabéticas, que 53,3% da amostra apresentava idade superior a 60 anos. Em outra pesquisa realizada em Porto Alegre/RS, por Grillo e Gorini (2007), a amostra teve 34,4% dos indivíduos com idade entre 60 – 69 anos, semelhante ao grupo aqui estudado. Outros estudos apresentam prevalência

de DM2 com o aumento da idade (MALERBI; FRANCO, 1992; SOUZA et al., 2003; TORQUATO et al., 2003).

Porém, na presente pesquisa, verificou-se que não há diferença estatística significativa na idade de homens e mulheres quando analisado a presença ou ausência dos alelos de risco T nos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 ($\chi^2 = 0.008$ e $p = 0.9267$), conforme pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 – Média de idade de homens e mulheres que apresentam e não apresentam o alelo de risco



Fonte: Dados da pesquisa

Não se pode sugerir que a idade seja um dos fatores responsáveis pelo diabetes. Contudo, em uma rede onde vários fatores se encontram, a idade pode vir a ser um agravante da doença. Podemos, sim, afirmar que com o passar dos anos, muitas vezes, as atividades físicas diminuem, dando lugar ao sedentarismo e à obesidade (TAVARES et al., 2009). Fortalecendo essa ideia, a pesquisa em discussão nos mostra que apenas quatro indivíduos (8,69%) estão exercendo algum tipo de trabalho não doméstico. O restante da amostra encontra-se aposentada ou desempregada.

Os dados contidos na Tabela 4 indicam o grau de escolaridade da amostra. Observou-se que a maioria, 38 (82,60%), possui o ensino fundamental incompleto, cinco (10,87%) indivíduos são analfabetos e nenhum indivíduo possui ensino médio ou superior completo.

Tabela 4 - Descrição da amostra em relação à escolaridade.

Escolaridade	N	%
Analfabeto	5	10,87%
Ensino Fundamental Incompleto	38	82,60%
Ensino Fundamental Completo	3	6,53%
Ensino Médio Completo	-	-
Ensino Superior Incompleto	-	-

Fonte: Dados da pesquisa

No que se refere ao nível de escolaridade, os resultados da pesquisa vão ao encontro de outros estudos (Lyra et al.,2010; Silva et al., 2006; Souza et al., 2003) porém, como é uma característica da região a agricultura familiar e a maioria dos entrevistados exercia esse tipo de atividade, não se pode concluir que existe uma relação entre a baixa escolaridade e o desenvolvimento da doença. Contudo, o baixo nível de escolaridade apresentado, pode indicar certa dificuldade para compreender sobre sua condição de saúde.

Quanto à ocupação, os dados indicam que a maioria da amostra encontra-se aposentada; apenas três (6,52%) indivíduos estão trabalhando (Tabela 5).

Tabela 5: Descrição da amostra em relação à ocupação.

Ocupação	N	%
Está na ativa	3	6,52%
Aposentado	14	30,43%
Pensionista	7	15,21%
Desempregado	5	10,87%
Aposentado e Pensionista	13	28,27%
Desempregado e Pensionista	4	8,70%

Fonte: Dados da pesquisa

As características quanto aos hábitos e costumes indicam que 34 (73,92%) indivíduos nunca fumaram e 29 (63,04%) têm o hábito de ingerir bebidas alcoólicas.

Contribuindo com este índice, não foi encontrada relação entre ter sido, ser ou não fumante com a presença ou ausência dos alelos de risco nos polimorfismos do gene TCF7L2. Os valores obtidos para o polimorfismo rs7903146 foram $G=4,42$ e $p=0,11$ e para o polimorfismo rs12255372 os resultados foram $G=5,28$ e $p=0,07$, conforme mostrado na tabela 06.

Tabela 06 - Análise do tabagismo x presença ou ausência dos alelos de risco:

Polimorfismo	Tabagismo	n=46		G	P
		CC	CT/TT		
rs7903146	Não fumante	11	23	4,42	0,11
	Ex-fumante	3	7		
	Fumante	2	--		
rs12255372	Não fumante	12	22	5,28	0,07
	Ex-fumante	2	8		
	Fumante	2	--		

Fonte: Dados da pesquisa

Essa não relação entre tabagismo e os polimorfismos em estudo vai de encontro com outros estudos que indicam uma significativa relação entre tabagismo e diabetes. Conforme pesquisa realizada por Wannamethee et al. (2001), que objetivou estudar os efeitos do cigarro, em homens com idade entre 40-59 anos, na Inglaterra, os resultados mostraram que foram encontrados 290 casos incidentes, dentro de um universo de 7.124 homens sem histórico de diabetes, doenças coronarianas ou acidente vascular cerebral. Nesses casos, o tabagismo indicou aumento do risco de diabetes, mesmo após ajuste de outros fatores que poderiam estar associados à doença, como idade e IMC.

Também não se encontrou associação estatística significativa entre o alcoolismo e a presença ou ausência dos alelos de risco. No polimorfismo rs7903146 os resultados foram $\chi^2=0,343$ e $p=0,56$ e no polimorfismo rs12255372 os resultados apresentados foram $\chi^2=0,003$ e $p=0,96$, conforme mostrado na tabela 07.

Tabela 07 - Análise do alcoolismo x presença ou ausência dos alelos de risco:

Polimorfismo	Alcoolismo	n=46		χ^2	P
		CC	CT/TT		
rs7903146	Bebe	5	12	0,343	0,56
	Não bebe	11	18		
rs12255372	Bebe	6	11	0,003	0,96
	Não bebe	10	19		

Fonte: Dados da pesquisa

Conforme pode ser observado na tabela 8, o IMC teve média de 30,51 (4,10) kg/m^2 , indicando que na população estudada prevalece a obesidade I. Resultados estes superiores a pesquisa realizada por Gomes et al. (2006) em um estudo

multicêntrico nacional realizado em diferentes regiões do Brasil. Nessa pesquisa a média do IMC foi de 28,3 kg/m², estando a amostra acima do peso, conforme classificação da OMS.

Tabela 8 - Descrição da amostra em relação ao IMC

Faixa IMC	N	%
Normal (18,5 a 24,99)	2	4,35%
Acima do peso (25 a 29,99)	21	45,65%
Obesidade I (30 a 34,99)	17	36,95%
Obesidade II (35 a 39,99)	6	13,05%
Obesidade III (Acima 40)	-	-

Fonte: Dados da pesquisa

Conforme Gomes et al.(2006), nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, 69% dos avaliados que apresentaram obesidade eram do sexo feminino, indo ao encontro dos levantamentos feitos neste estudo, na qual as mulheres apresentaram índices de obesidade maiores em relação aos homens. Dados semelhantes foram encontrados na pesquisa realizada por Ukoli et al. (1995).

Não há diferença estatística significativa no IMC de homens e mulheres quando analisado a presença ou ausência dos alelos de risco nos polimorfismos ($\chi^2=0.092$; $p=0.9034$ são valores referentes ao polimorfismo rs7903146 e $\chi^2=0,057$; $p=0.8115$ compreendem valores do rs12255372). As tabelas 09 e 10 apresentam os resultados:

Tabela 09 - Média de IMC no sexo masculino e feminino de quem apresenta e não apresenta o alelo de risco no polimorfismo rs7903146:

	IMC de quem não apresenta alelo de risco em rs7903146	IMC de quem apresenta alelo de risco em rs7903146	Média
Masculino	30,45	27,94	29,195
Feminino	30,53	31,3	30,915
Média	30,49	29,62	

Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 10 - Média de IMC no sexo masculino e feminino de quem apresenta e não apresenta o alelo de risco no polimorfismo rs12255372:

	IMC de quem não apresenta alelo de	IMC de quem apresenta alelo de risco	Média
--	---	---	--------------

	risco em rs12255372	em rs12255372	
Masculino	30,45	27,94	29,195
Feminino	31,03	31,06	31,045
Média	30,74	29,5	

Fonte: Dados da pesquisa

Não houve correlação estatística significativa entre o IMC e A1C ($r = 0,16$, $p = 0,28$) e também não houve correlação estatística significativa entre IMC e PCR ($r = 0,27$; $p = 0,07$). No entanto, há correlação estatística positiva e regular estatística entre A1C e PCR ($r = 0,47$; $p < 0,05$).

Também não foram determinadas diferenças estatísticas significativas na A1C de homens e mulheres quando analisado a presença ou ausência dos alelos de risco T nos polimorfismos. Os valores são apresentados na tabela 11.

Tabela 11 - Análise da A1C x presença ou ausência dos alelos de risco:

Polimorfismo	Gênero	n=46			χ^2	p
		CC	CT/TT	Média		
rs7903146	Masc.	6,58	5,54	6,06	0,006	0,94
	Fem.	6,53	6,88	6,70		
	Média	6,55	6,21			
rs12255372	Masc.	6,58	5,54	6,06	0,003	0,96
	Fem.	6,61	5,84	6,22		
	Média	6,59	5,69			

Fonte: Dados da pesquisa

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa buscou avaliar a relação entre fatores ambientais e polimorfismos genéticos no DM2. A relação saúde e meio ambiente passa por constantes transformações; compreender como os mecanismos do *TCF7L2* e os SNPs associados a esse gene, juntamente com os fatores ambientais, agem no metabolismo da glicose podem revelar novos conhecimentos sobre o diabetes.

O perfil dos indivíduos participantes apresentou uma população idosa, com média de 64 anos, composta em sua maioria por mulheres obesas. O nível de escolaridade dessa amostra foi baixo, 38 dos indivíduos possuem apenas o ensino fundamental incompleto e a maioria está aposentada ou desempregada. Em relação aos hábitos e costumes, 73,92% da amostra não fuma, porém 63,04% têm o hábito de consumir algum tipo de bebida alcoólica.

Analisando as distribuições genótípicas e alélicas foi possível determinar a presença do alelo de risco T de ambos os polimorfismos no gene *TCF7L2*. Houve associação da presença destes alelos de risco com o DM2 nos indivíduos do sexo feminino. Sugere-se assim, que esse alelo de risco T pode estar influenciando de alguma forma o DM2.

Os principais fatores identificados com o DM2 foram a obesidade, que é uma consequência de uma alimentação inadequada. O tabagismo e o alcoolismo foram escolhidos pelo autor na perspectiva de encontrar alguma interação com a doença, visto que são fatores que causam danos à saúde. Contudo, na atual pesquisa, não foi verificada interação entre estes fatores e a presença ou ausência dos alelos de risco T dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 o gene *TCF7L2*.

Mesmo que muitos dos determinantes genéticos do DM2 já sejam estudados, há muitas variações e implicações ambientais ainda não tão bem relatadas. A

análise de interação entre fatores ambientais sobre os genéticos poderá auxiliar na busca de novas terapias, bem como direcionar escolhas no tratamento do DM2 pelos profissionais de saúde, diminuindo assim prejuízos à saúde da população, gastos com o sistema de saúde e aumentando a qualidade de vida da população. Portanto, ressalta-se a importância de novos estudos, com uma amostragem maior para comparação dos resultados de ambas as pesquisas.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Ricardo Schinaider de; MANINI, Ricardo. A fisiologia da obesidade: bases genéticas, ambientais e sua relação com o diabetes. **ComCiência**, Campinas, n.145, fev 2013.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Economics costs of diabetes in the U.S. in 2007. **Diabetes Care**, v. 31, n. 3, p. 596-615, mar/2008.
- AUGUSTO, L.G.S.; et al.. **Pesquisa (ação) em Saúde Ambiental**. Complexidade, contexto e compromisso social (Org.). Ed. Universitária UFPE. Recife, 2001.
- AUGUSTO, L. G. S. Saúde e ambiente na perspectiva da saúde coletiva. **Pesquisa (ação) em saúde ambiental**, Recife, v. 2, p. 3-5, 2005.
- AYRES, M. et al.. **Bioestat - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biomédicas**. 5.ed. Belém: Mamirauá, 2007.
- AZAMBUJA, Maria Inês Reinert et al. Saúde urbana, ambiente e desigualdades. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, [S.l.], v. 6, n. 19, p. 110-115, abr. 2011. Disponível em: <<http://rbmfc.org.br/rbmfc/article/view/151/298>>. Acesso em: 04 Jan. 2014.
- BAHIA, Luciana et al.. Custos do tratamento ambulatorial do diabetes mellitus tipo 2 no Sistema Único de Saúde (SUS). In: Congresso da Sociedade Brasileira de Diabetes, 17., 2009, Fortaleza, CE. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.abem-sbem.org.br/arquivo/>>. Acesso em: 23 out. 2012.
- BARCELLOS, Christovam de Castro et al.. Organização espacial, saúde e qualidade de vida: análise espacial e uso de indicadores na avaliação de situações de saúde. 2002.
- BECKER, Sandra Greice et al . Dialogando sobre o processo saúde/doença com a Antropologia: entrevista com Esther Jean Langdon. **Rev. bras. enferm.**, Brasília , v. 62, n. 2, Apr. 2009 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-71672009000200025&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 02 out. 2013.

BIRMAN, Joel. Interpretação e representação na saúde coletiva. **Physis – Rev. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.1, n.2, p. 7-22, 1991.

BODHINI, Dhanasekaran et al.. The rs12255372(G/T) and rs7903146(C/T) polymorphisms of the TCF7L2 gene are associated with type 2 diabetes mellitus in Asian Indians. **Metabolism – Clinical and Experimental**, v.56, n.9, p.1174-78, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Anais da 8ª Conferência Nacional de Saúde**. Brasília(DF), 1986. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/cidadao>>. Acesso em 05 março 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção básica à saúde. Departamento de atenção básica. Diabetes mellitus. **Cadernos de Informação de Saúde Rio Grande do Sul**. 2009. Disponível em: <tabnet.datasus.gov.br/tabdata/cadernos/rs.htm>. Acesso em 12 dez. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção básica à saúde. Departamento de atenção básica. Diabetes mellitus. **Cadernos de atenção básica**. 2006. Disponível em: <http://www.prosaude.org/publicacoes/diversos/cad_AB_DIABETES.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção básica à saúde. Departamento de atenção básica. Diabetes mellitus. **Sistema de Informação de Atenção Básica**. 2014. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?siab/cnv/SIABSrs.def>>. Acesso em 12 fev. 2014.

BRUNNER, L.S.; SUDDARTH, D.S. Tratado de Enfermagem: Médico-Cirúrgica. v.1, v.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

CAPRA, Fritjof. **O ponto de mutação**. São Paulo: Cultrix, 2006a.

CAPRA, Fritjof. **A teia da vida**. São Paulo: Cultrix, 2006b.

CARVALHO, Fernanda Sanches et al. Importância da orientação nutricional e do teor de fibras da dieta no controle glicêmico de pacientes diabéticos tipo 2 sob intervenção educacional intensiva. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 56, n. 2, p. 110, 2012.

CASPERSEN, Carl J et al.. Aging, Diabetes, and the Public Health System in the United States. **American Journal of Public Health**, v. 102, n. 8, ago/2012.

CERASI, E.; FERRANNINI, E.. Landmark papers in insulin secretion. **London: Science Press**, 2004.

CICCACCI, Cinzia; et al. TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes: association with retinopathy and cardiovascular autonomic neuropathy, **Acta Diabetol**, v. 50(5), p. 789-799, 2012.

COLBERG, S. R. **Atividade Física e Diabetes**. Barueri, SP: Manole, 2003.

COLTRO, Wendell K. T. et al.. Microssistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 1986-2000, 2007.

COTTA, Rosângela Minardi Mitre et al . Perfil socio-sanitário e estilo de vida de hipertensos e/ou diabéticos, usuários do Programa de Saúde da Família no município de Teixeira, MG. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro , v. 14, n. 4, ago 2009.

CORNELIS, M. C. et al.. TCF7L2, dietary carbohydrate, and risk of type 2 diabetes in US women. **Am J Clin Nutr.**, v. 89, n. 4, p. 1256-1262, Apr. 2009.

DE BEM, Andreza Fabro; KUNDE, Juliana. A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações crônicas do diabetes mellitus. **J Bras Patol Med Lab**, v.42, n.3, p. 185-191, junho/2006.

DEUS, K.J.; CONCEIÇÃO, R.S. Diabetes mellitus tipo 2 – the genetic – nutrients approach. **Nutrire: rev Soc Bras Alim Nutr**, São Paulo, v.37, n.2, p.119-214, ago. 2012.

DING, Eric L.; HU, Frank B. Smoking and type 2 diabetes: underrecognized risks and disease burden. **JAMA**, v.298, n.22, dec/2007.

DRUCKER, D.J. Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides. **Gastroenterology**, v.122:531-44, 2002.

FARBSTEIN, D.; LEVY, A. The genetics of vascular complications in Diabetes mellitus. **Cardiology Clinics**, v. 28, p. 477-496, 2010.

FERREIRA, Patrícia Moraes; ROSADO, Gilberto Paixão. Perfil de usuários e percepção sobre a qualidade do atendimento nutricional em um programa de saúde para a terceira idade. **Rev. bras. geriatr. gerontol.**, Rio de Janeiro , v. 15, n. 2, 2012 .

FIORIN, Daniela; SUPLICY, Henrique L. Como diagnosticar e tratar Diabetes mellitus tipos 2. **RBM**, v.69, p. 32-40, dezembro/2012.

FLOREZ, Jose C. et al.. TCF7L2 Polymorphisms and Progression to Diabetes in the Diabetes Prevention Program. **N. Engl. J. Med.**, v. 355, p. 241-250, jul/2006.

FRANCISCO, Priscila Maria Stolses Bergamo et al. Diabetes auto-referido em idosos: prevalência, fatores associados e práticas de controle. **Cad. saúde pública**, v. 26, n. 1, p. 175-184, 2010.

FRANCO L. J. **Estudo sobre a prevalência do diabetes mellitus na população de 30 a 60 anos de idade no município de São Paulo**. São Paulo (SP): Escola Paulista de Medicina; 1988.

FREITAS, Lúcia Rolim Santana de; GARCIA, Leila Posenato. Evolução da prevalência do diabetes e deste associado à hipertensão arterial no Brasil: análise

da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios, 1998, 2003 e 2008. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 21, n. 1, março/2012.

GOMES, Romeu. As representações sociais e a experiência com o diabetes: um enfoque socioantropológico. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 27, n.6, junho/2011.

GOMES, Marília de Brito et al.; Prevalência de Sobrepeso e obesidade em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 no Brasil: estudo multicêntrico nacional. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 50, n. 1, fev. 2006.

GRANT, S. F. A. et al.. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. **Nature Genetics**, v. 38, p. 320-323, 2006.

GRILLO, Maria de Fátima Ferreira; GORINI, Maria Isabel Pinto Coelho. Caracterização de pessoas com diabetes mellitus tipo 2. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v.60, n.1, jan/fev 2007.

GROSS, Jorge L. et al.. Diabetes Mellito: Diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 46, n.1, fev 2002.

GUELHO, Daniela et al.. Diabetes Mellitus – um (continuun) fisiopatológico. **Rev Port de Endocrinol Diabetes Metab**, v.8, n.1, p.44-49, 2013.

GUIMARAES, Daniella Esteves Duque et al.. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Rev. Nutr.**, Campinas , v. 20, n. 5, Oct. 2007 .

HADDAD, N. **Metodologia de estudos em ciências da saúde**. São Paulo: Roca, 2004.

HAYASHI, Toshihid; et al. Replication study for the association of *TCF7L2* with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. **Diabetologia**, Japan, v. 50 (5), p. 980 – 4, 2007.

HELGASON, Agnar et al.. Refining the impact of *TCF7L2* gene variants on type 2 diabetes and adaptive evolution. **Nature Genetics**, v. 39, p. 218-225, 2007.

HERDER, Christian; RODEN, Michael. Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 41, n. 6, p. 679-692, jun/2011.

HOWARD, A. A. et al.. Effect of alcohol consumption on diabetes mellitus: a systematic review. **Annals Intern. Med.**, v. 140, n. 3, p. 211-219, 2004.

HUDA, M.S. et al.. Gut peptides and the regulation of appetite. **Obes Rev**, v.7, n.2, p.163-82, 2006.

IRWIN, N.; FLATT, P.R. Evidence for beneficial effects of compromised gastric inhibitory polypeptide action in obesity – related diabetes and possible therapeutic implications. **Diabetologia**, v.52, p.1724-31, 2009.

ITANI, Alice; VILELA JUNIOR, Alcir. Meio ambiente & saúde: desafios para a gestão. **InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 1, n. 3, 2013.

JEKEL, J.F. et al. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LAHIRI, D.K.; NURNBERGER, J.I. Jr.. A rapid non-enzymatic method for preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Res.**, v.19, p. 5444, 1991.

LALONDE, M. A new perspective on the health of Canadians, pp. 3-5. In: OPAS. **Promoción de la Salud: Una Antología**. Publ. Cient. 557, OPAS, Washington, 1996.

LANGDON, E. J. Cultura e os processos de saúde e doença. In: BRASIL, Ministério da Saúde. **Anais do Encontro Cultura, Saúde e Doença**. Londrina, p.91-107, 2003.

LONG, Jirong; et al. Evaluation of Genome-wide Association Study-identified Type 2 Diabetes Loci in African Americans. **American Journal of Epidemiology**, EUA, v.176 (11), p. 995-1001, 2012.

LYRA, Ruy et al.; Prevalência de diabetes melito e fatores associados em população urbana adulta de baixa escolaridade e renda do sertão nordestino brasileiro. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 54, n. 6, ago 2010.

LYRA, Ruy et al.; Prevenção do diabetes mellitus tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 50, n. 2, 2006.

MAIA, L.N. et al.. Evidências epidemiológicas da inflamação e emprego dos marcadores inflamatórios da placa vulnerável. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**. v.12, p.662-671, 2002.

MALERBI, D., FRANCO L.J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 years. **Diabetes Care**, v.15, n.11, p.1509-16, 1992.

MANJUNATHA, Goud B. K. et al.. An overview of diabetes mellitus with emphasis on biochemical and clinical management. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 8, n. 1, p. 96-100, May-Jun/2011.

MARIEB, Elaine N. **Anatomia e fisiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2009.

MARTINHAGO, Ciro D. et al.. Determinação precoce do sexo fetal pela análise do DNA no plasma materno. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, Mar. 2006 .

MEIJERMANN L.. Pharmacogenetic screening of the gene deletion and duplications of CYP2D6. **Drug Metab Rev.**, v.39, n.1, p.45-60, Jan/2007.

MELUCCI, Alberto. **O jogo do Eu: A mudança de si em uma sociedade global**. São Leopoldo: UNISINOS, 2004.

MENDES, Eugênio V. As redes de atenção à saúde. **Ciênc. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.15, n.5, ago/2010.

MENICUCCI, Telma Maria Gonçalves. O sistema Único de Saúde – 20 anos: balanço e perspectivas. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.7, p.1620-25, julho/2009.

MOHAN, Harsh. **Textbook of pathology**. 6. ed. Índia: Jaypee, 2010.

MORAIS, Gleycianne Ferreira da Cruz et al.. O diabético diante do tratamento, fatores de risco e complicações crônicas. **Rev. Enferm. UERJ**, Rio de Janeiro, v.17, n.2, p.240-5, abr/jun 2009.

MORIN, Edgar. **Introdução ao pensamento complexo**. 4. ed. Lisboa: Instituto Piaget, 2003.

MOTA, L. M. H. et al.. Ausência de associação entre o genótipo CC do polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2 e artrite reumatoide. **Rev Bras Reumatol.**, v. 52, n. 4, p.518-528, 2012.

MOURA, Perpétua Angélica de. et al.. Concentrações séricas de fibrinogênio e de proteína C reativa como biomarcadores inflamatórios na predição de risco da doença aterosclerótica em pacientes com sobrepeso. **Rev Bras Nutr Clin**, v.21, n.4, p.290-295, 2006.

NAIDU, R. et al.. A.Genetic variations in transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene: association of TCF7L2 rs12255372(G/T) or rs7903146(C/T) with breast cancer risk and clinico-pathological parameters. **MedOncol.**, v. 29, n. 2, p.411-417, June 2012

NARAYAN, K. M. V. et al.. Impact of recent increase in incidence on future diabetes burden. **Diabetes Care**, v. 29, n. 9, p. 2114-2116, 2006.

NAVARRO, M.B.M. et al.. Doenças Emergentes e Reemergentes, Saúde e Ambiente. In: MINAYO, M.C.S.; MIRANDA, A. C. (Orgs.). **Saúde e Ambiente Sustentável: estreitando nós**. Rio de Janeiro: Abrasco, p.37-50, 2002.

NOVAIS, Caroline M., PIRES-ALVES, Melissa. PCR em tempo real. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v.33, p.10-13, jul/dez 2004.

OGATA, Márcia N. et al.. Health, citizenship and quality of life: study of the social representations of workers that a popular cooperative. **Rev. APS**, Juiz de Fora, v. 11, n. 2, p. 172-180, abr/jun 2008.

O'KEEFE, Jr., JAMES, H. **Fundamentos em diabetes**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

Olivarius N.D. et al.. Epidemiology of renal involvement in newly diagnosed middle-aged and elderly diabetic patients. Cross-sectional data from the population-based study "Diabetes Care in General Practice", Denmark. **Diabetologia**; 36:1007-16, 1993.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS – **Carta da Organização Mundial de Saúde**, 1946. Disponível em: <<http://www.onu.org.br/conheca-a-onu/documentos/>>.

ORTIZ, Maria Carolina Alves; ZANETTI, Maria Lúcia. Levantamento dos fatores de risco para diabetes mellitus tipo 2 em uma instituição de ensino superior. **Rev Latino-am Enfermagem**, v. 9, n. 3, p. 58-63, 2001.

PASSA, P. Diabetes trends in Europe. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 18, p. S3–S8, 2002.

POTAPOV, Viktor A; et al. *TCF7L2* rs12255372 and *SLC30A8* rs13266634 confer susceptibility to type 2 diabetes in a Russian population. **Russian Journal of Genetics**, Russian, v.46 (8), p. 1001-1008, 2010.

PELICIONI, Maria Cecília Focesi. Educação ambiental, qualidade de vida e sustentabilidade. **Saude soc.**, São Paulo, v. 7, n. 2, dez. 1998.

PROKUNINA-OLSSON, L. et al.. Tissue-specific alternative splicing of *TCF7L2*. **Hum MolGenet.**, v. 18, n. 20, p. 3795-3804, Oct. 2009.

RAITAKARI, O. T. et al. Variation of the transcription factor 7-like 2 (*TCF7L2*) gene predicts impaired fasting glucose in healthy young adults. **Diabetes Care**, v. 30, p. 2299-2301, Sept. 2007.

REIS, André; VELHO, Gilberto. Bases genéticas do Diabetes Mellitus Tipo 2. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 46 (4), p. 426-432, 2002.

REMPEL, Claudete et al.. Perfil dos usuários de Unidades Básicas de Saúde do Vale do Taquari: fatores de risco de diabetes e utilização de fitoterápicos. **ConScientiae Saúde** (Impresso), v. 9, p. 17-24, 2010.

SAMAJA, J.A. **A reprodução social e a saúde** – Elementos teóricos e metodológicos sobre a questão das relações entre saúde e condições de vida. Ed. Casa da Qualidade. Salvador, 2000.

SARTORELLI, D.S, FRANCO, L. J. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. **Cad Saúde Pública**, v. 19, p. 29-36, 2003.

SELVIN, E. et al.. The burden and treatment of diabetes on elderly individuals in the U.S. **Diabetes Care**, v. 29, p. 2415-2419, 2006.

SCHIMIDT, M. I. et al.. Doenças crônicas no Brasil: carga e desafios atuais. *The Lancet*, p. 61-74, 2011.

SHEFFEL, Rafael S.; et al. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito do tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Rev Assoc Med Bras**, Porto Alegre, v. 50(3), p.263-267, 2004.

SILVA, M.I.G. et al.; Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Rev Bras Farmacogn**, 16:455-62, 2006.

SLADEK, Robert. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, v. 445, p. 881-885, 2007.

SMITH, U. TCF7L2 and type 2 diabetes-we WNT to know. **Diabetologia**, v. 50, n. 1, p. 5-7, Jan. 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2** [página da internet], 2000. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/Links>. Acesso em: 10 jul 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. **A importância da hemoglobina glicada para avaliação do controle glicêmico em pacientes com diabetes mellitus: aspectos clínicos e laboratoriais** [página da internet], 2003. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320070131101214.pdf>>. Acesso em: 14 dez 2013.

SOUZA, Luiz José de et al.; Prevalência de diabetes mellitus e fatores de risco em Campos dos Goytacazes, RJ. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo , v. 47, n. 1, fev. 2003.

STAIGER, H. Pathomechanisms of Type 2 Diabetes Genes Endocrine. **Reviews**, v. 30, p. 557-585, 2009.

STARFIELD, B. **Atenção primária: equilíbrio entre necessidades de saúde, serviços e tecnologia**. Brasília: UNESCO, Ministério da Saúde, 2002.

SUMITA, Nairo Massakazu; ANDRIOLO, Adagmar. Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes mellitus e na avaliação de risco das complicações crônicas. **J Bras Patol Med Lab**, v.44, n.3, p.169-174, junho/2008.

TAVARES, D. M. S. et al..Perfil de clientes submetidos a amputações relacionadas ao diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 62, n. 6, p. 825-830, 2009.

TAYLOR, K. D. et al.. Genome-wide association: which do you want first: the good news, the bad news, or the good news? **Diabetes**, v. 56, p. 2844 –2848, 2007.

TONG, Y.et al. Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to Type 2 diabetes mellitus: a large human genome epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. **BMC Medical Genetics**, v. 10, n. 15, p. 1-25, 2009.

TORQUATO, M. T. et al.. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 years in Ribeirão Preto (São Paulo), Brazil. **São Paulo Med J**, v.121, n.6, p.224-30, 2003.

TORRES, Heloisa Carvalho et al. Análise sociodemográfica e clínica de indivíduos com diabetes tipo 2 e sua relação com o autocuidado. **Cogitare Enferm**, Paraná, v. 15, n. 1, jan/mar 2010.

UKOLI, F.A. et al.; Body fat distribution and other anthropometric blood pressure correlates in a Nigerian urban elderly population. **Cent J Med.** 1995;41(5):54-161.

VASCONCELOS, Hérica Cristina Alves de et al . Fatores de risco para diabetes mellitus tipo 2 entre adolescentes. **Rev. esc. enferm. USP**, São Paulo, v. 44, n. 4, 2010.

VERAS, R. Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações. **Rev. Saúde Pública**, v. 43, p. 548-554, 2009.

WANNAMETHEE, S. Goya et al., Smoking as a modifiable risk factor for type 2 diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care*, v. 24, n. 9, Sep. 2001.