

HIPERURICEMIA E HIPERINSULINEMIA COMO DETERMINANTES DA HIPERHOMOCISTEINEMIA EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME METABÓLICA

Sofia Kimi Uehara¹ e Glorimar Rosa²

1 – Doutoranda em Nutrição e Professora Substituta do Departamento de Nutrição e Dietética do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

2 – Doutora em Ciências e Professora Adjunta do Departamento de Nutrição e Dietética do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Endereço para correspondência:

Glorimar Rosa

Departamento de Nutrição e Dietética

Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Centro de Ciências da Saúde - Bloco J - 2º andar - sala 24

Avenida Brigadeiro Trompowsky s/nº - Cidade Universitária - Ilha do Fundão

CEP: 21941 - 590

Telefones: (021) 2562 - 6601 e Fax: (021) 2280 - 8343

e-mail: glorimar@nutricao.ufrj.br

Resumo

Dados brasileiros sobre a homocisteinemia e seus determinantes em indivíduos com síndrome metabólica (SM) são inexistentes. Objetivou-se avaliar as concentrações plasmáticas de homocisteína (hcy) e sua relação com o sexo, idade, tabagismo, pressão arterial, resistência à insulina (RI), dados antropométricos (índice de massa corporal, circunferência da cintura e gordura corporal), bioquímicos (folato plasmático – FP, cobalamina plasmática - CP, folato em eritrócitos - FE, insulinemia, glicemia, uricemia e perfil lipídico), dietéticos (ingestão de folato, cobalamina, piridoxina, bebidas alcoólicas e café) e genéticos (polimorfismo C677T no gene metilenotetrahidrofolato redutase - MTHFR) em 63 indivíduos com SM. Os índices de glicemia, uricemia e perfil lipídico foram determinados por método enzimático-colorimétrico e FP, CP e FE, por diluição de radioisótopos. Insulinemia foi avaliada por radioimunoensaio e a homocisteinemia, por cromatografia líquida de alta eficiência. Avaliou-se a RI pelo HOMA. Extraiu-se o DNA com a resina de Chelex. Avaliou-se o polimorfismo C677T no gene *MTHFR* através da reação em cadeia da polimerase e digestão enzimática. A estatística contemplou os testes t de *Student*, χ^2 e o cálculo do coeficiente de contingência (C) e do *Odds Ratio* (OR). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. No estudo, 39 (62%) e 24 (38%) eram dos sexos feminino e masculino, respectivamente. Os homens apresentaram trigliceridemia, insulinemia e valores de HOMA maiores do que as mulheres. RI (HOMA > 2,71) foi observada em 51,6% (n = 32) dos indivíduos, sendo 18 mulheres e 14 homens. Não houve diferença entre os sexos quanto à homocisteinemia. A frequência de Hhcy (hcy > 10 $\mu\text{mol/L}$) foi de 49,2% (n = 31), sendo 18 mulheres e 13 homens. Dentre as variáveis

investigadas, apenas a uricemia ($C = 0,67$, $\chi^2 = 2,23$, $p = 0,27$) e insulinemia ($C = 0,86$, $\chi^2 = 2,98$, $p = 0,07$) correlacionaram-se positivamente com a Hhcy. No grupo, 33% ($n = 21$) apresentaram o polimorfismo C677T, sendo 19 heterozigotos e 2 homozigotos polimórficos. Não verificamos relação entre a homocisteinemia e o polimorfismo C677T ($OR = 1,7$; $IC\ 95\% = 0,6 - 4,9$). Em indivíduos com SM, a Hhcy esteve associada com a uricemia e insulinemia aumentadas.

Termos de indexação: síndrome metabólica, hiperhomocisteinemia, hiperinsulinemia e hiperuricemia.

Abstract

Information on plasma homocysteine (tHcy) concentrations and its factors associated in Brazilian subjects with MS are inexistent. We investigated the association of homocysteinemia with gender, age, smoking, blood pressure (BP), insulin resistance (IR), C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and anthropometric (body mass index, waist circumference – WC and body fat), biochemical (plasma folate – PF, plasma cobalamin – PC, erythrocyte folate – EF, insulinemia, glycemia, uricemia and lipid profile) and dietary (intake of folate, cobalamin, pyridoxine, coffee and alcohol) data in 63 Brazilian subjects with MS. Glycemia, uricemia and lipid profile were determined by the enzymatic-colorimetric method and PF, PC and EF by radioisotope dilution. Insulinemia and tHcy concentrations were determined by

radioimmunoassay method and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, respectively. IR was measured using the Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance (HOMA-IR) index. The C677T polymorphism in the *MTHFR* gene was assessed by polymerase chain reaction followed by restriction enzyme analysis. Student's t-test, chi-square (χ^2) test, contingency coefficient (C) and odds ratio (OR) and its respective 95% confidence intervals (CI) were used. Men presented higher average values for HOMA-IR and serum concentrations of triglycerides and insulin. There was no significant difference in plasma hcy between the sexes. Hhcy (tHcy>10 μ mol/L) was detected in 49.2% (n = 31; 18 women and 13 men) of the subjects. The frequency of IR (HOMA-IR>2.71) was 51.6% (n = 32; 18 women and 14 men). In this study, tHcy concentrations were positively associated with uricemia (C = 0.67, χ^2 = 2.23, p = 0,27) and insulinemia (C = 0.86, χ^2 = 2.98, p = 0,07). We did not observe association between C677T polymorphism in the *MTHFR* gene and homocysteinemia (OR = 1.7; 95% CI = 0.6 – 4.9). In conclusion, our results suggest that hyperuricemia and hyperinsulinemia are positively associated with tHcy concentrations in Brazilian subjects with MS.

Indexing terms: metabolic syndrome, hyperhomocysteinemia, hyperuricemia, hyperinsulinemia.

Introdução

A síndrome metabólica (SM) é um conjunto de fatores de risco cardiovascular centrado na resistência insulínica (RI) e na obesidade visceral. Além da RI, a hipertensão arterial, a hiperinsulinemia, a intolerância à glicose, a hipertrigliceridemia e a redução da concentração sérica de HDL-colesterol são os componentes clássicos dessa síndrome¹. Concentrações elevadas de ácido úrico sérico² e de homocisteína (hcy) plasmática³ são apontadas como possíveis componentes da SM.

A hcy é um aminoácido oriundo da demetilação da metionina e o aumento de suas concentrações é denominado hiperhomocisteinemia (Hhcy). A Hhcy é um fator de risco cardiovascular independente⁴. Deficiências nutricionais de folato, cobalamina e piridoxina e defeitos genéticos nas enzimas envolvidas no metabolismo da hcy estão associados com a Hhcy⁵. O defeito genético mais comum é o polimorfismo C677T no gene metilenetetrahydrofolato redutase (MTHFR) que resulta na síntese de uma enzima MTHFR com menor atividade catalítica⁶.

Estudos apontam o tabagismo, o consumo de bebidas alcoólicas e de café, o sexo e a idade como possíveis determinantes da Hhcy^{7,8}. A RI parece influenciar os níveis de hcy⁹, porém, os estudos são controversos^{3, 9-16}. Poucos são os estudos que investigaram a associação da RI com a Hhcy em indivíduos com SM^{3,13,15}.

No Brasil, dados sobre a homocisteinemia e seus possíveis determinantes em indivíduos com SM são inexistentes. Os objetivos desse estudo foram avaliar a homocisteinemia e investigar sua associação com o sexo, idade, tabagismo, pressão arterial, dados antropométricos (índice de massa corporal – IMC, circunferência da cintura e gordura corporal), bioquímicos (folato plasmático, cobalamina plasmática, folato em eritrócitos, RI, insulinemia, glicemia, uricemia e perfil lipídico) e dietéticos (ingestão de folato, cobalamina, piridoxina, bebidas alcoólicas e de café) e com fatores genéticos (polimorfismo C677T no gene *MTHFR*) em indivíduos com SM.

Método

Trata-se de um estudo descritivo do tipo transversal no qual foram estudados indivíduos com SM, de ambos os sexos, com faixa etária de 20 a 59 anos e de qualquer cor de pele, atendidos no ambulatório do Serviço de Nutrição do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil. O estudo não incluiu os indivíduos que faziam uso de suplementos vitamínicos e de medicamentos que interferissem nos metabolismos

dos carboidratos e lipídios e os portadores de enfermidades, tais como diabetes melito tipo 2 e doença renal, avaliadas pela história da doença atual.

A SM foi diagnosticada, segundo os critérios do *National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III* (2001)¹⁷. Informações sociodemográficas foram obtidas por meio de um questionário estruturado. A ingestão dietética habitual de folato, cobalamina, piridoxina, bebidas alcoólicas e de café foi avaliada com questionário de frequência alimentar semiquantitativo. A análise da composição química do inquérito dietético foi realizada pelo programa computacional *Food Processor* (Esha Research, Salem, Mass., USA)¹⁸, após adaptação à realidade brasileira.

O peso (kg) e a estatura (m) foram aferidos com balança antropométrica do tipo plataforma com estadiômetro¹⁹. O IMC foi calculado como peso dividido pela estatura elevada ao quadrado (kg/m^2)²⁰. A circunferência da cintura foi medida com fita graduada inelástica²¹. O percentual de gordura corporal foi estimado, segundo *Durnin & Womersley*²² e a pressão arterial foi aferida com uso de esfigmomanômetro.

Após jejum noturno de 12 horas, os voluntários foram submetidos a coleta de sangue. As alíquotas de soro e plasma foram obtidas após centrifugação. As determinações de glicose, ácido úrico, triglicerídios, HDL-colesterol e de colesterol total séricos foram feitas pelo método enzimático (kits CELM[®] e KATAL[®]). Os valores de LDL-colesterol foram calculados²³. A insulina sérica foi determinada por radioimunoensaio (kit COAT-A-COUNT Insulin[®]). A RI foi estimada pelo método HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment*)²⁴.

Folato em eritrócitos (kit Folate; Diagnostic Products[®]), folato plasmático e cobalamina plasmática (kit Dualcount; Diagnostic Products[®]) foram determinados por diluição de radioisótopos. Para o cálculo do folato em eritrócitos, foram obtidos os valores de hematócrito, a partir de sangue integral, por meio de separação celular, por centrifugação. A homocisteinemia foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção por fluorescência²⁵.

O DNA foi extraído do sangue integral com o uso da resina de Chelex[®] – 100 (BioRad)²⁶. A presença da variante 677 C>T foi determinada pela reação em cadeia da polimerase (PCR), seguida da digestão enzimática²⁷.

A análise estatística contemplou o teste *t-Student*, teste χ^2 , cálculo do coeficiente de contingência (C) e a regressão logística. A associação das variáveis dicotômicas (genótipo: CC/CT, sexo: masculino/feminino; fumo: sim/não; consumo de bebidas alcoólicas: sim/não; consumo de café: sim/não) com a Hhcy foi investigada com o cálculo do *Odds Ratio* (OR). Utilizou-se o pacote estatístico SPSS 11,0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Resultados

No presente estudo, participaram 63 indivíduos, sendo que 39 (62%) e 24 (38%) eram dos sexos feminino e masculino, respectivamente. Segundo os valores médios de IMC e de circunferência da cintura, ambos os sexos apresentaram obesidade grau I caracterizada pelo acúmulo de gordura abdominal (Tabela 1). A ingestão dietética habitual de folato esteve abaixo das recomendações (400 $\mu\text{g}/\text{dia}$)²⁸ tanto nos homens quanto nas mulheres.

Os homens apresentaram trigliceridemia, insulinemia e valores de HOMA maiores do que as mulheres (Tabela 2). No grupo, verificamos que 51,6% (n = 32) dos indivíduos apresentaram RI (HOMA > 2,71)²⁹, sendo 18 mulheres e 14 homens. Quadro de hiperinsulinemia (>9 µU/mL)¹² foi observado em 64,5% (n = 40) dos indivíduos, sendo 14 homens e 26 mulheres.

No grupo estudado, observou-se que 19% (n = 12), 21% (n = 13) e 38% (n = 24) dos indivíduos apresentaram, respectivamente, baixas concentrações de cobalamina plasmática (<120 pmol/L)³⁰, folato plasmático (<7 nmol/L)³⁰ e de folato em eritrócitos (<305 nmol/L)³⁰. Não houve diferença entre os sexos quanto à homocisteinemia (Tabela 2). A frequência de Hhcy (hcy > 10 µmol/L)³¹ foi de 49,2% (n = 31), sendo 18 mulheres e 13 homens.

Não verificamos associação da homocisteinemia com a idade, pressão arterial, ingestão dietética de folato, cobalamina e piridoxina, IMC, circunferência da cintura, gordura corporal, glicemia, perfil lipídico, RI e com as concentrações plasmáticas de folato e cobalamina e de folato em eritrócitos.

Os maiores coeficientes de contingência (C) apontaram a uricemia (C = 0,67; $\chi^2 = 2,23$; p = 0,27) e a insulinemia (C = 0,86; $\chi^2 = 2,98$; p = 0,07) como as variáveis contínuas que apresentaram forte associação com a homocisteinemia. Porém, a hipótese da não associação não foi rejeitada. Os resultados da regressão logística demonstraram que a associação é positiva, sendo que a hiperuricemia e a hiperinsulinemia implicam maior risco para a Hhcy. Segundo o coeficiente de determinação (R²), a uricemia (R² = 92%) e a insulinemia (R² = 93%) explicam a variabilidade da homocisteinemia. Entretanto, o ácido úrico

parece ser o melhor preditor da Hhcy, visto que o seu coeficiente angular (0,29) foi maior do que o da insulina (0,10).

No grupo estudado, a frequência dos genótipos CC, CT, TT foi de 64% (n = 42), 32% (n = 19) e 4% (n = 2), respectivamente. Não houve associação do polimorfismo C677T com a Hhcy (OR=1,7; IC 95% = 0,6 - 4,9). Adicionalmente, não verificamos associação da Hhcy com o tabagismo (OR = 1; IC 95%: 0,3 – 3,8), consumo de bebidas alcoólicas (OR = 3,3; IC 95%: 0,1 – 1,1) ou de café (OR = 2,1; IC 95%: 0,04 – 5,6) e com o sexo (masculino) (OR = 1,6; IC 95%: 0,5 – 4,5).

Tabela 1. Dados clínicos, antropométricos e dietéticos do grupo estudado e segundo o gênero.

Variável	Total (n = 63)		Homens (n = 24; 38%)		Mulheres (n = 39; 62%)		p*
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Idade (anos)	48,6	7,6	46,3	8,4	50,0	6,8	0,139
Peso (kg)	92,7	20,2	104,2	18,7	85,7	17,9	0,712
IMC (kg/m²)	33,8	5,4	34,1	4,7	33,6	5,9	0,350
CC (cm)	107,1	11,3	112,1	10,3	104,0	11,0	0,383
GC (%)	41,8	6,0	35,9	5,2	45,5	2,8	0,001**
P sistol (mmHg)	127,6	12,0	130,0	10,2	126,1	12,9	0,168

P diástol (mmHg)	87,3	9,4	90,0	11,0	85,6	7,9	0,253
Folato (µg/dia)	337,0	132,0	395,8	126,5	300,8	123,3	0,930
Cobalamina (µg/dia)	4,2	2,1	4,7	2,4	3,9	1,9	0,939
Piridoxina (mg/dia)	1,4	0,6	1,6	0,5	1,4	0,6	0,822

IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; GC: gordura corporal; P sistol: pressão arterial sistólica; P diástol: pressão arterial diastólica; *valor de p do teste *t* de Student; **estatisticamente significativo (homens *versus* mulheres)

Tabela 2. Dados bioquímicos segundo o gênero do grupo estudado .

Variável	Total (n = 63)		Homens (n = 24; 38%)		Mulheres (n = 39; 62%)		p*
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Glicose (mg/dL)	87,8	17,8	86,6	18,7	88,5	17,5	0,825
Ácido Úrico (mg/dL)	5,8	1,7	6,8	1,8	5,2	1,3	0,089
Triglicerídios (mg/dL)	241,9	86,7	220,0	88,5	207,6	88,1	0,025**
HDL- colesterol (mg/dL)	35,8	8,4	32,6	7,2	37,7	8,6	0,207

LDL- colesterol (mg/dL)	181,5	56,6	178,8	51,6	183,0	59,8	0,390
Colesterol Total (mg/dL)	262,9	61,7	259,3	53,4	265,1	66,9	0,261
Homocisteína (µmol/L)	10,0	3,2	10,5	3,9	9,7	2,7	0,904

*valor de p do teste *t* de *Student*; **estatisticamente significativo (homens *versus* mulheres)

Continuação da Tabela 2

Variável	Total (n = 63)		Homens (n = 24; 38%)		Mulheres (n = 39; 62%)		p*
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Folato em Eritrócitos (nmol/L)	361,0	150,9	334,3	120,5	378,3	167,0	0,188
Folato Plasmático (nmol/L)	14,7	9,3	13,4	7,9	14,5	8,2	0,992
Cobalamina Plasmática	304,2	193,0	293,3	161,7	312,0	215,2	0,122

(pmol/L)							
Insulina							
(μU/mL)	14,5	8,6	16,8	10,4	13,2	7,1	0,010**
HOMA	3,1	1,9	3,6	2,3	2,9	1,7	0,019**

*valor de p do teste *t* de *Student*; **estatisticamente significativo (homens *versus* mulheres)

Discussão

Nossos resultados apontaram a uricemia e a insulinemia como as variáveis que se associaram positivamente com a homocisteinemia em indivíduos com SM, embora a hipótese da não-associação não tenha sido rejeitada, provavelmente devido ao tamanho da amostra. Este achado é diferente dos de outros estudos que investigaram a relação entre a homocisteinemia e a SM^{15, 32, 33}.

A relação entre a uricemia e a homocisteinemia na SM tem sido pouco investigada, sendo encontrados apenas dois estudos^{15, 32}. Ao contrário de Godsland *et al.*¹⁵, Rhee *et al.*³² verificaram associação positiva entre a uricemia e a homocisteinemia, o que está de acordo com os nossos resultados. Os mecanismos que poderiam explicar essa associação não são conhecidos. Sugere-se que o ácido úrico, quando presente em concentrações normais, tem ação

antioxidante. Contudo, quando em excesso, o ácido úrico passa a atuar como um pró-oxidante, contribuindo com o dano oxidativo do glomérulo e posterior disfunção renal³⁴. A função renal é um importante determinante da homocisteinemia⁴. Em nosso estudo, 31,7% (n = 20) dos indivíduos apresentaram hiperuricemia (homens >7 mg/dL e mulheres >6 mg/dL)³⁴.

Semelhante aos nossos resultados, estudos anteriores verificaram que a hiperinsulinemia associada à SM pode interferir no metabolismo da hcy^{3, 13, 35}. Estudo *in vitro* com hepatócitos humanos verificou que a hiperinsulinemia reduziu a atividade das enzimas MTHFR e cistationina β sintase (CβS)³⁶. A MTHFR e CβS são as principais enzimas que regulam, respectivamente, as reações de remetilação e transulfuração que são responsáveis pela manutenção da homocisteinemia⁴.

No presente estudo, não verificamos associação da Hhcy com o polimorfismo C677T no gene *MTHFR* em indivíduos com SM. Na literatura científica, somente um estudo avaliou essa relação em indivíduos com SM, não sendo observada associação³⁷. Não observamos diferença significativa nas concentrações plasmáticas de hcy, folato (FP) e cobalamina (CP) e de folato em eritrócitos (FE) entre os indivíduos com (hcy = 10,2 ± 2,6 μmol/L; FE = 402,1 ± 118, nmol/L; FP = 16,4 ± 9,6 nmol/L; CP = 308,4 ± 190,3 pmol/L) e sem (hcy = 9,9 ± 3,6 μmol/L, FE = 344 ± 163,0 nmol/L; FP = 13,0 ± 6,9 nmol/L; CP = 307,6 ± 197,9 pmol/L) o polimorfismo C677T no gene *MTHFR*.

O adequado estado nutricional de folato e cobalamina, segundo os valores médios de FE, FP e CP, observado nos indivíduos com o polimorfismo C677T no gene *MTHFR*, poderia ter minimizado os efeitos desse polimorfismo sobre a

homocisteinemia. O aumento da homocisteinemia, associado à presença do polimorfismo C677T no gene *MTHFR*, ocorre, principalmente, em indivíduos que apresentam inadequado estado nutricional de folato e cobalamina^{38, 39}.

Conclusão

Nossos resultados sugerem que concentrações séricas elevadas de ácido úrico e de insulina implicam maior risco de Hhcy em indivíduos com SM. Salientamos a importância de estudos que investiguem a Hhcy na população brasileira, objetivando detectar sua prevalência e seus possíveis determinantes, o que permitirá ao nutricionista atuar na sua prevenção e intervir no tratamento nutricional, minimizando a ocorrência das doenças vasculares oclusivas.

Referências Bibliográficas

1. Reaven GM. Banting lecture: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-606.
2. Vuorinen-Markkola H, Yki-Järvinen H. Hyperuricemia and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78:25-9.
3. Meigs JB, Jacques PF, Selhub J, Singer DE, Nathan DM, Rifai N, *et al*. Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome-The Framingham Offspring Study. *Diabetes Care* 2001; 24:1403-10.
4. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19:217-46.

5. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338:1042-50.
6. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10:111-3.
7. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:613-21.
8. Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, Nygard O, Nordrehaug JE, Tell GS, *et al.* Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland homocysteine study, *Am. J. Clin. Nutr.* 2001; 74:130 - 136.
9. Oron-herman M., Rosenthal T, Sela BA. Hyperhomocysteinemia as a component of Syndrome X. *Metabolism* 2003; 52:1491-5.
10. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JMH, Gooren LJG, Asscheman H, Stehouwer CDA. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Atherosclerosis* 1998; 139:197-8.
11. Gallistl S, Sudi K, Mangge H, Erwa W, Borkenstein M. Insulin is an independent correlate of plasma homocysteine levels in obese children and adolescents, *Diabetes Care* 2000; 23:1348 – 1352.
12. Sánchez-Margalet V, Valle M, Ruz FJ, Gascón F, Mateo J, Goberna R. Elevated plasma total homocysteine levels in hyperinsulinemic obese subjects. *J Nutr Biochem* 2002; 13:75-9.
13. Setola E, Monti LD, Galluccio E, Palloshi A, Fragasso G, Paroni R, *et al.* Insulin resistance and endothelial function are improved after folate and vitamin B12

therapy in patients with Metabolic Syndrome: relationship between homocysteine levels and hyperinsulinemia. *Eur J Endocrinol* 2004; 151:483-9.

14. Abbasi F, Facchini F, Humphreys MH, Reaven GM. Plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers are not related to differences in insulin-mediated glucose disposal. *Atherosclerosis* 1999; 146:175-8.

15. Godsland IF, Rosankiewicz JR, Proudler AJ, Johnston DG. Plasma total homocysteine concentrations are unrelated to insulin sensitivity and components of the Metabolic Syndrome in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:719-23.

16 – Tavares EF, Vieira-Filho JPB, Andriolo A, Franco LJ. Relação da homocisteinemia com a sensibilidade à insulina e com fatores de risco cardiovascular em um grupo indígena brasileiro, *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2002; 46: 260 – 268.

17. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA* 2001; 285:2486-97.

18. Food Processor Nutrition Analysis System. Version 12.0. ESHA Corporation: USA; 1984.

19. Gibson RS. Principles of nutritional assessment. New York: Oxford; 1990.

20. WHO. Obesity: prevention and managing the global epidemic: report of a WHO consultation on obesity. Geneva; 1998.

21. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Illinois: Human Kinetics; 1988.

22. Durnin JV, Womersley J. Body fat assessed from total total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974; 32:77-94.
23. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
24. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski BA, Naylor DF, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-19.
25. Ubbink JB, Hayward-Vermaak WJ, Bissbort S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *J Chromatogr* 1991; 365: 441-6.
26. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 1991; 10:506-13.
27. Mutchinick OM, López MA, Luna L, Waxman J, Babinsky VE, Ryvemce Collaborative Group. High prevalence of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab* 1999; 68: 461-7.
28. Institute of Medicine/Food And Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and coline. Washington (DC), National Academy Press; 2000.

29. Geloneze B, Geloneze SR, Ermetice MN, Repetto EM, Tambascia MA. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study, *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 24:219-20.
30. Institute of Medicine/Food And Nutrition Board. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and coline. Washington (DC): National Academy Press; 1998.
31. Omenn GS, Beresford SAA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease – B vitamins and homocysteine. *Circulation* 1998; 97:421-4.
32. Rhee EJ, Hwang ST, Lee WY, Yoon JH, Kim BJ, Kim BS, *et al.* Relationship between metabolic syndrome categorized by newly recommended by International Diabetes Federation criteria with plasma homocysteine concentration. *Endocr J* 2007; 54(6):995-1002.
33. Guven A, Inanc F, Kilinc M, Ekerbicer H. Plasma homocysteine and lipoprotein (a) levels in Turkish patients with Metabolic Syndrome. *Heart Vessels* 2005; 20:290-5.
34. Hayden MR, Tyagi S. Uric acid: a new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: the urate redox shuttle. *Nutrition & Metabolism* 2004; 1:1-15.
35. Björck J, Hellgren M, Rastam L, Lindblad U. Associations between serum insulin and homocysteine in a Swedish population – a potential link between the metabolic syndrome and hyperhomocysteinemia: The Skarabog Project. *Metabolism* 2006; 55:1007-13.

36. Dicker-Brown A, Fonseca VA, Fink LM, Kern PA. The effect of glucose and insulin on the activity of methylene tetrahydrofolate reductase and cystathionine- β -synthase: studies in hepatocytes. *Atherosclerosis* 2001; 158:297-301.
37. Russo GT, Di Benedetto A, Alessi E, Ientile R, Antico A, Nicocia G, *et al.* Mild hyperhomocysteinemia and the common C677T polymorphism of methylene tetrahydrofolate reductase gene are not associated with metabolic syndrome in type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest* 2006; 29(3):201-7.
38. D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, Fermo I, Pagano A, Mazzola G, *et al.* The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), *Thromb Haemost* 2000; 83:563-70.
39. Pullin CH, Ashfieldg-Watt PAL, Burr ML, Clark ZE, Lewis MJ, Moat SJ, *et al.* Optimization of dietary folate or low-dose folic acid supplements lower homocysteine but do not enhance endothelial function in healthy adults, irrespective of the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) genotype. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:1799-805.

Agradecimentos

À CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro.