

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE GLICOHEMOGLOBINA,
CURVAS GLICÊMICAS E PROTEÍNA C REATIVA
COMO PREDITORES COMPLEMENTARES PARA O
DIAGNÓSTICO DE PRÉ-DIABETES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Marcelo Biavaschi

**Santa Maria, RS, Brasil
2015**

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE GLICOHEMOGLOBINA,
CURVAS GLICÊMICAS E PROTEÍNA C REATIVA COMO
PREDITORES COMPLEMENTARES PARA O DIAGNÓSTICO
DE PRÉ-DIABETES**

Marcelo Biavaschi

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Bioquímica Toxicológica**

**Orientadora: Vera Maria Melchiors Morsch
Co-Orientadora: Roberta Schmatz**

**Santa Maria, RS, Brasil
2015**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado.

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE GLICOHEMOGLOBINA, CURVAS GLICÊMICAS E PROTEÍNA C REATIVA COMO PREDITORES COMPLEMENTARES PARA O DIAGNÓSTICO DE PRÉ-DIABETES

elaborada por
Marcelo Biavaschi

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica Toxicológica

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Vera Maria Melchiors Morsch
(Presidente/Orientadora)

Prof. Dr. Denis Broock Rosemberg (UFSM)

Prof^a. Dr^a. Jamile Fabbrin Gonçalves (IF-Farroupilha)

Santa Maria, 12 de março de 2015.

DEDICATÓRIA

À minha família, Raquel, Clara e Rafael

Aos meus alunos

Aos meus amigos professores, colegas de trabalho

*Pelo significado deste trabalho, carinho, incentivo,
apoio, compreensão e dedicação para comigo.*

AGRADECIMENTOS

Aproveito o momento para manifestar aqui, os meus agradecimentos a todos aqueles que contribuíram para que eu chegasse a esta etapa, tão importante da minha vida acadêmica. Gostaria de trazer da memória todas as pessoas que fizeram e fazem parte da minha formação. Relíquias, preciosas, que trago desde os primeiros passos: amigos, professores, orientadores que, mesmo de longe, estão sempre perto. Mas, por necessidade, serei mais breve.

Este trabalho não seria possível sem a oportunidade que tive de todo o Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica da UFSM. Não foi preciso mais do que alguns minutos para perceber a distinção com que as pessoas e o trabalho são tratados ali. Agradeço o acolhimento, a seriedade, a competência, a dedicação de todo o serviço, professores, colegas e funcionários, mas em especial à Professora Vera (minha orientadora) que durante todo o tempo foi a minha referência, à Professora Maria Rosa e à minha co-orientadora Roberta, que também não mediram esforços para a minha formação. A todas vocês, o meu profundo agradecimento e gratidão.

Agradeço aos pacientes. No anonimato e sem recompensa e, talvez com despesas, contribuíram, sem medir esforços, para que o trabalho pudesse ser realizado, e para o progresso científico, fornecendo material biológico para ser estudado e informações pessoais. A todos o meu muitíssimo obrigado.

Agradeço ao Departamento de Clínica Médica da UFSM e à Direção Clínica do HUSM pelo consentimento para que pudesse desenvolver o trabalho. Agradeço aos colegas de trabalho, professores da semiologia e médicos clínicos da equipe do pronto socorro, pela compreensão e colaboração. Agradeço aos meus alunos, que colaboraram para minha motivação.

Agradeço à comissão examinadora, pela colaboração e profissionalismo com que contribuíram para a finalização do trabalho, o seu aprimoramento. Minha profunda gratidão.

Agradeço à minha família, minha querida esposa Raquel e queridos filhos, Clara e Rafael, pelo incentivo e compreensão. Força sempre e motivo forte de prosseguir.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE GLICOHEMOGLOBINA, CURVAS GLICÊMICAS E PROTEÍNA C REATIVA COMO PREDITORES COMPLEMENTARES PARA O DIAGNÓSTICO DE PRÉ-DIABETES

AUTOR: MARCELO BIAVASCHI

ORIENTADORA: VERA MARIA MELCHIORS MORSCH

CO-ORIENTADORA: ROBERTA SCHMATZ

Data e local de Defesa: Santa Maria, 12 de março de 2015.

Diabetes Mellitus (DM) é um grupo heterogêneo de doenças que apresentam em comum a hiperglicemia. A prevalência e a morbimortalidade destacam-no como um problema de saúde pública. A American Diabetes Association (ADA) considera a glicemia de jejum alterada, glicemia em jejum $>99<126\text{mg/dL}$, e a intolerância à glicose, glicemia na 2ª hora no teste oral de tolerância à glicose (2h-TTGO) $\geq 140<200\text{mg/dl}$, como diagnósticos de pré-diabetes e, recomenda que a glicohemoglobina (HbA1c), $\geq 5.7<6.5\%$, também seja usada como mais um critério para se diagnosticar pré-diabetes. Entretanto o diagnóstico de pré-diabetes, através destes métodos, mostra-se discordante em até 70% das vezes. Nesse sentido, este trabalho teve por objetivo avaliar outras variáveis que podem contribuir para o diagnóstico de pré-diabetes, como a relação entre os níveis de HbA1c, de proteína C reativa (PCR) e as alterações na curva glicêmica durante o TTGO, em indivíduos que apresentam risco aumentado de desenvolver diabetes mellitus tipo 2. Foram avaliados também o perfil lipídico, o perfil oxidativo através do malondialdeído e proteína carbonil, e o índice de resistência insulínica através do Homeostatic Model Assessment-IR (HOMA-IR). Foram selecionados 59 indivíduos não diabéticos, familiares de pacientes diabéticos e não diabéticos atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria e no programa alusivo ao dia internacional do Diabetes. Eram indivíduos entre 40 e 60 anos, com $\text{IMC} \geq 25\text{Kg/m}^2$ que, após uma avaliação clínica e à resposta a um questionário, foram submetidos a coletas de sangue em jejum de 12 horas, para determinação dos parâmetros bioquímicos e do estresse oxidativo. Então, foram submetidos ao TTGO com 75g de glicose, com coletas em 30, 60 e 120 minutos, para exame das glicemias. Excluídos 5 pacientes que obtiveram o diagnóstico de diabetes, restaram 54 participantes que foram separados em dois subgrupos, com história familiar de diabetes em parente de primeiro grau (HF+) ou, sem história familiar (HF-). Posteriormente, dos 54 indivíduos, foram excluídos 6 participantes sem pré-diabetes e com $1\text{h-TTGO} \leq \text{glicemia de jejum}$. Os 48 indivíduos então, foram separados em 2 grupos: 01 sem pré-diabetes e com $1\text{h-TTGO} > \text{glicemia de jejum}$, e 01 com pré-diabetes. Os resultados encontrados indicam que não há diferença significativa entre os grupos com HF+ e HF-, e também não há diferença significativa entre os grupos com pré-diabetes e sem pré-diabetes e com $1\text{h-TTGO} > \text{glicemia de jejum}$, se considerados os níveis de HbA1c, PCR, perfil lipídico e malondialdeído. Houve diferença significativa entre os grupos com pré-diabetes e sem pré-diabetes e com $1\text{h-TTGO} > \text{glicemia de jejum}$, se analisados os níveis glicêmicos, a insulinemia, o HOMA-IR e a proteína carbonil. Não houve diferença nos outros parâmetros, entre estes grupos. Estes resultados permitem identificar preditores de maior risco cardiovascular e de diabetes, em indivíduos sem pré-diabetes e com $1\text{h-TTGO} > \text{glicemia de jejum}$, semelhante aos indivíduos com o diagnóstico de pré-diabetes estabelecido pelos critérios da ADA.

Palavras-chave: pré-diabetes, curva glicêmica, glicohemoglobina e proteína C reativa.

ABSTRACT

Master Dissertation

Post-Graduate Program in Biological Science: Toxicological Biochemistry
Federal University of Santa Maria

Assessment of Glycohemoglobin, Plasma Glucose Curve and C-Reactive Protein as complementary predictors to diagnose prediabetes

AUTOR: MARCELO BIAVASCHI

ADVISOR: VERA MARIA MELCHORS MORSCH

CO-ADVISOR: ROBERTA SCHMATZ

Place and date of defense: Santa Maria, 12 de março de 2015.

Diabetes Mellitus (DM) is a heterogeneous group of diseases that have hyperglycemia as a common condition. Prevalence as well as morbidity and mortality stand out as public health problems. The American Diabetes Association (ADA) has considered impaired fasting glucose, if fasting glucose $>99 < 126$ mg/dl and impaired glucose tolerance, if glycemia 2h in oral tolerance test (2h-OGTT) $\geq 140 < 200$ mg/dl, prediabetic conditions. It also recommends that glycohemoglobin (HbA1c) ($\geq 5.7 < 6.5\%$) be used as a criterion to diagnose prediabetes. However, the diagnosis of prediabetes are not in agreement up to 70% of the times when these methods are used. Thus, this study aimed to assess other variables that may contribute to the diagnosis of prediabetes, such as the relationship between levels of HbA1c, C-reactive protein (CRP) and alterations in the blood glucose curve during the OGTT in individuals who are at increased risk of developing type 2 diabetes mellitus. Lipid profile, oxidative profile through malondialdehyde and carbonyl protein, and the insulin resistance index by Homeostatic Model Assessment-IR were also analyzed. We selected 59 individuals who were non-diabetic and relatives of diabetic and non-diabetic patients who were assisted at the University Hospital of Santa Maria and on the International Day of the Diabetes program. The subjects were between 40 and 60 years old with $BMI \geq 25$ Kg/m² who firstly had a clinical evaluation and answered a questionnaire. Then, they underwent blood sampling after fasting for 12 hours to determine the biochemical parameters and oxidative stress. Next, individuals underwent OGTT with 75g of glucose and blood was collected after 30, 60 and 120 min to assess blood glucose. Five patients who had a diagnosis of diabetes were excluded and the 54 participants who remained were divided into two subgroups: with family history of diabetes in first-degree relative (FH+) or without family history (FH-). Subsequently, 6 patients without prediabetes and with $1h\text{-OGTT} \leq$ fasting glycemia were excluded out of 54 participants. Then, 48 subjects were divided into two groups, one without prediabetes and with $1h\text{-OGTT} >$ fasting glycemia and the other with prediabetes. Results showed no significant difference between groups with HF+ and HF-. Moreover, there was no significant difference between the group with prediabetes and the group without prediabetes and with $1h\text{-OGTT} >$ fasting glycemia, when considering the levels of HbA1c, CRP, profile lipid and malondialdehyde. However, a significant difference was observed between these two groups when glucose levels, insulin, HOMA-IR and carbonyl protein were analyzed. There was no difference between the groups regarding the other parameters. These results identify predictors to increased cardiovascular and diabetes risk in individuals without prediabetes and with $1h\text{-OGTT} >$ fasting glycemia, which are similar to those predictors in individuals with prediabetes established by the ADA criteria.

Keywords: prediabetes, glycemic curve, glycohemoglobin, C-reactive protein.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

INTRODUÇÃO

FIGURA 1 - Leucócitos e inflamação de baixo grau no tecido adiposo	20
FIGURA 2 - Processo de Ativação do FN-κB	23
FIGURA 3 - Relação da A1c e o risco de complicações microvasculares em DM	27

MANUSCRITO

FIGURA 1 - Shape of plasma glucose curve in subjects with (a) 1h-OGTT \leq fasting glycemia, (b) 1h-OGTT > fasting glycemia, (c) prediabetes and (d) diabetes	50
--	----

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

TABELA 1 - Critérios para investigação de DM em indivíduos assintomáticos	14
TABELA 2 - Critérios diagnósticos das categorias glicêmicas.....	15
TABELA 3 - Valores aproximados de glicemia média e os valores correspondentes de HbA1c.....	26

MANUSCRITO

TABLE 1 - Anthropometric and biochemical characteristics, MDA and carbonyl protein of subjects FH- or FH+	46
TABLE 2 - Plasma glucose curve, HbA1c, CRP and HOMA-IR of subjects FH- or FH+	47
TABLE 3 - Anthropometric and biochemical characteristics, MDA and carbonyl protein of subjects with 1h-OGTT>fasting glycemia and Prediabetes..	48
TABLE 4 - Plasma glucose curve, HbA1c, CRP and HOMA-IR of subjects with 1h-OGTT>fasting glycemia and Prediabetes.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADA** - American Diabetes Association
- AGEs** - Produtos Finais da Glicação Avançada
- ATP** - Adenosina Trifosfato
- CRM** - Cadeia respiratória mitocondrial
- DM** - Diabetes Mellitus
- DM2** - Diabetes Mellitus Tipo 2
- ERO** - Espécies reativas de oxigênio
- FN-Kb** - Fator Nuclear Kappa-B
- Hb** - Hemoglobina
- HbA1c** - GlicoHemoglobina
- H₂O₂** - Peróxido de oxigênio
- HO** - Radical hidroxila
- 1h-TTGO** - Glicemia 1h após sobrecarga oral com 75 g de glicose
- 2h-TTGO** - Glicemia 2h após sobrecarga oral com 75 g de glicose
- IFG** - Glicemia de Jejum Alterada
- IGT** - Intolerância à Glicose
- IL1** - Interleucina 1
- IL-6** - Interleucina 6
- IL8** - Interleucina 8
- IL10** - Interleucina 10
- IMC** - Índice de Massa Corporal
- LDL** - Lipoproteína de baixa densidade
- MDA** - Malondealdeído
- O₂⁻** - Ânion superóxido
- PAI-1** - Inibidor do Ativador do Plasminogênio – 1
- PCR** - Proteína C Reativa
- PDM** - Pré-diabetes
- TNF-α** - Fator de Necrose Tumoral α
- TTGO** - Teste de sobrecarga oral com 75g de glicose
- RAGE** - AGE-receptores

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Carta de aprovação pelo Comitê de Ética	59
--	-----------

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	29
Objetivo Geral.....	29
Objetivos específicos	29
APRESENTAÇÃO	30
MANUSCRITO – Assessment of Glycohemoglobin, Plasma Glucose Curve and C-Reactive Protein as complementary predictors to diagnose prediabetes	31
Abstract	32
Introduction	33
Research Design and Methods	34
Statistical analysis	35
Results	36
Discussion	37
Acknowledgements	42
Conflict of Interest	43
References	43
CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	53

INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus (DM) é considerado um grupo heterogêneo de doenças que cursam com resistência e/ou deficiência insulínica, cujo denominador comum é a hiperglicemia (ADA, 2008).

Atualmente, há cerca de 285 milhões de indivíduos com diabetes no mundo e, projeta-se que haverá 552 milhões em 2030 (Michael Bergman, 2013). A epidemia tem maior intensidade em países em desenvolvimento (Diretrizes SBD, 2013-2014). O crescimento e o envelhecimento populacional (Goodarz et al., 2011), a maior urbanização, a crescente prevalência da obesidade e do sedentarismo, bem como a maior sobrevivência dos pacientes, contribuem para o aumento do número de casos de DM (Diretrizes SBD, 2013-2014).

No Brasil, no final da década de 1980, estimou-se que a prevalência de DM na população adulta era 7,6% (Malerbi e Franco, 1992). Números menos abrangentes, mais atuais, apontam para 13,5% na cidade de São Carlos-SP (Bosi et al, 2009) e para 15% em Ribeirão Preto-SP (Moraes et al., 2010).

Não bastasse a prevalência elevada de DM, registros brasileiros de 2010 mostram que a mortalidade por esta doença (por 100 mil habitantes) apresenta acentuado aumento com o avanço da idade. Variando de 0,50 para faixas etárias menores do que 29 anos, a 213,4 para indivíduos de 60 anos ou mais. Quando se analisa apenas a causa básica do óbito, verifica-se que DM figura entre a quarta e a oitava posições (Diretrizes SBD, 2013-2014).

A doença macrovascular (representada pela doença vascular cerebral e cardiovascular) é a principal causa de morte nos pacientes com DM e responde por 80% dos casos. A doença microvascular é a maior causa de morbidade entre os indivíduos com DM (DeFronzo e Abdul-Ghani, 2011). A retinopatia diabética é a principal causa de cegueira em pessoas com idade entre 20 e 74 anos. A nefropatia diabética, que acomete cerca de 35% dos indivíduos com diabetes, é a principal causa de insuficiência renal crônica em pacientes que ingressam em programas de diálise, inclusive no Brasil (Camargo e Gross, 2004). A neuropatia diabética é responsável por 50 a 70% das amputações não traumáticas em membros inferiores (Bianca et al, 2011).

A grande maioria dos casos de DM decorre de duas categorias etiopatogênicas: Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1) e o Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) (ADA, 2008). O DM1 resulta de uma deficiência absoluta da secreção de insulina e de graus variados de resistência insulínica e, frequentemente está relacionado a um processo imunológico, com evidências sorológicas de auto-imunidade (Cernea e Dobreanu, 2013; ADA, 2008). Já o DM2, muito mais prevalente, é decorrente de uma combinação de resistência à ação da insulina e de uma secreção compensatória inadequada deste hormônio.

O nível glicêmico suficiente para causar alterações patológicas e funcionais em vários tecidos, mas sem causar sintomas clínicos, pode estar presente por um período variável de tempo, antes de se diagnosticar DM2. Durante esta fase assintomática, é possível demonstrar uma anormalidade no metabolismo dos carboidratos, através da glicemia de jejum e/ou após uma sobrecarga oral de glicose (ADA, 2008).

As recomendações para se investigar DM em indivíduos assintomáticos estão listadas na Tabela 1. A avaliação é considerada para todo indivíduo adulto que estiver com Índice de Massa Corporal (IMC) ≥ 25 Kg/m² e que tenha um ou mais fatores de risco para DM. Como a idade é um determinante importante para se desenvolver DM, o teste passa a ser indicado para indivíduos sem outro fator de risco, a partir dos 45 anos (ADA, 2010).

O pré-diabetes (PDM), que reflete glicemias acima dos valores normais, mas insuficientes para o diagnóstico de DM, representa um estado de alto risco para o desenvolvimento de DM (Michael Bergman, 2013) e associa-se ao aumento do risco cardiovascular (Defronzo e Abdul-Ghani, 2011). A glicemia de jejum alterada (IFG) e a intolerância à glicose (IGT) (Tabela 2) são consideradas condições diagnósticas de PDM (ADA, 2008). Há um segmento muito maior de indivíduos com PDM do que com DM no mundo. Apenas nos Estados Unidos, há cerca de 79 milhões de indivíduos com PDM (Michael Bergman, 2013). 50 a 60% dos indivíduos que apresentam PDM terão DM2 entre 5 e 10 anos (Abdul-Ghani e Lyssenko, 2010) e 5 a 10% dos indivíduos com PDM desenvolvem DM a cada ano (Abdul-Ghani et al., 2010).

Tabela 1– Critérios para investigação de Diabetes em indivíduos assintomáticos

1. Testar DM se IMC \geq 25 Kg/m ² e fator de risco adicional
<ul style="list-style-type: none"> • Inatividade física • Diabetes em parentes em primeiro grau • Descendente de populações de alto risco • Mulheres com recém nascido com \geq 4Kg ou com Diabetes Gestacional prévio • Hipertensão arterial ou sob tratamento anti-hipertensivo • Colesterol HDL \leq 35 mg/dl ou Triglicerídeos \geq 250 mg/dl • Mulheres com ovários policísticos • Glicohemoglobina \geq 5.7 %, IGT ou IFG prévios • Condições associadas com resistência insulínica (p.ex.obesidade e <i>acantosis nigricans</i>) <p>2. Na ausência de critérios acima, testar DM em indivíduos a partir dos 45 anos</p> <p>3. Se resultados normais, reavaliar em 3 anos</p>
<p>IMC (índice de massa corporal) pode ser mais baixo para grupos étnicos de alto risco. IGT: intolerância à glicose; IFG: glicemia de jejum alterada. Adaptado de ADA 2010.</p>

A progressão de um estado glicêmico normal para DM2 segue uma sequência de alterações no metabolismo da glicose. O primeiro estágio é caracterizado por um longo período de resistência insulínica, aumento compensatório da secreção insulínica e por um aumento no volume de células β pancreáticas. O segundo estágio é caracterizado pela perda da capacidade compensatória da célula β , em secretar insulina suficiente para vencer a resistência insulínica, e por alterações gênicas na própria célula β . Neste momento, os valores normais da glicemia não são mais mantidos, e há uma perda da secreção de insulina na primeira fase, sobretudo quando a glicemia de jejum alcança 114 mg/dL. Nesse estágio, a segunda fase de secreção insulínica está preservada. No terceiro estágio ocorre o desenvolvimento de DM. É quando a célula β perde definitivamente, a capacidade em compensar a resistência insulínica, diminuindo ainda mais a capacidade secretória. Neste estágio, a glicemia alcança níveis próximos de 130 mg/dL. O quarto estágio é marcado por uma descompensação mais aguda da glicemia e, o quinto estágio é caracterizado por uma perda profunda do volume das células β (Weir et al., 2004). No UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) ficou demonstrado que no momento em que

ocorre o desenvolvimento de DM, já ocorreu uma perda de 50% do volume das células β (UKPDS, 1995).

Tabela 2 – Critérios diagnósticos das categorias glicêmicas

Método	Categoria Glicêmica			
	Normal	PDM		DM
Glicemia (mg/dl)		IFG	IGT	
• jejum	< 100	$\geq 100 < 126$		≥ 126
• 2h-TTGO	< 140		$\geq 140 < 200$	≥ 200
• casual e sintoma clássico				≥ 200
HbA1c (%)	<5%?	$\geq 5.7 < 6.5$		≥ 6.5

O jejum é definido como a falta de ingestão de glicose por ≥ 8 horas; Glicemia plasmática casual é aquela aferida a qualquer hora do dia;

Sintomas clássicos de DM: poliúria, polidipsia e emagrecimento não explicado;

O diagnóstico de DM deve ser confirmado pela repetição do teste em outro dia, a menos que haja hiperglicemia e descompensação metabólica aguda ou sintomas óbvios de DM.

IFG (Glicemia de Jejum Alterada); IGT (Intolerância à Glicose);

2h-TTGO (glicemia 2h após sobrecarga oral com 75 g de glicose);

HbA1c (GlicoHemoglobina), PDM: Pré-Diabetes; DM: Diabetes.

Adaptado de ADA,2010

Embora IFG e IGT sejam consideradas PDM em mesmo grau, há diferenças entre estas categorias glicêmicas, como evidenciado nas curvas glicêmicas obtidas com o teste de sobrecarga oral com 75 g de glicose (TTGO). Os indivíduos com glicemia de jejum alterada demonstram um aumento glicêmico excessivo, com pico em 1h, mas a concentração de glicose retorna ao normal ou quase normal em 2h. Por outro lado, os indivíduos com intolerância à glicose demonstram um aumento glicêmico mais gradual, e a glicemia em 2h permanece marcadamente elevada (Abdul-Ghani e Lyssenko, 2010).

Em estudo conduzido para avaliar as alterações na ação e na secreção de insulina, demonstrou-se que os indivíduos com glicemia de jejum alterada apresentam maior resistência do que defeito na secreção insulínica, se comparados com os indivíduos com intolerância a glicose. Por outro lado, os indivíduos com

intolerância à glicose, apresentam menor secreção de insulina, do que os indivíduos com glicemia de jejum alterada (Abdul-Ghani et al., 2006).

Os indivíduos com IGT isolado apresentam moderada a intensa resistência insulínica no músculo, e a secreção insulínica é alterada na primeira e segunda fases. Os indivíduos com glicemia de jejum alterada isolada apresentam moderada resistência insulínica no fígado, a secreção insulínica está alterada na primeira fase, e a sensibilidade insulínica no músculo é normal ou quase normal (Abdul-Ghani et al., 2006).

No fígado, a resistência insulínica se manifesta por um excessivo aumento da glicemia no estado de jejum, apesar de haver hiperinsulinemia, e uma menor supressão insulínica na produção de glicose após a alimentação. No músculo, a resistência à insulina é manifestada por uma captação periférica de glicose diminuída e finalmente, por hiperglicemia após uma ingestão de alimentos ricos em carboidratos (DeFronzo e Abdul-Ghani, 2011). A IGT está mais relacionada com o desenvolvimento de DM e com o risco cardiovascular do que a IFG (Abdul-Ghani, 2010).

A falência progressiva da célula β é o principal fator responsável pelo desenvolvimento de DM2 e de sua progressão (Kahn, 2003). Fatores alimentares, como os ácidos graxos e a glicose, marcadores inflamatórios, e a própria hiperinsulinemia, contribuem para uma célula β disfuncional (Schofield e Sutherland, 2012). Em estudo realizado em mulheres hispânicas, que tiveram Diabetes Mellitus Gestacional, demonstrou-se que o ganho de peso foi o principal fator relacionado com o declínio da função compensatória da célula β (Xiang et al., 2010).

A secreção normal de insulina pela célula β , se dá de uma maneira pulsátil. Há uma liberação coordenada de insulina a cada 4 minutos, que alcança um pico e retorna ao estado basal. Estes pulsos de liberação mantêm as concentrações de insulina na circulação porta nos estados de jejum e pós alimentar. Cerca de 70% da secreção de insulina são liberados de maneira pulsátil (Schofield e Sutherland, 2012).

A liberação de insulina é regulada basicamente pela glicose. Quando a glicemia aumenta, os transportadores de glicose (GLUT 2) transportam-na para o interior da célula β , onde é convertida em glicose-6-fosfato pela hexoquinase IV. A glicose-6-fosfato então entra na glicólise. Com o catabolismo da glicose intracelular, a concentração de ATP intracelular aumenta, fechando os canais de K^+ na

membrana plasmática, despolarizando-a. Em resposta, há influxo de Ca^{2+} para o interior da célula, a uma concentração suficiente para provocar a liberação da insulina por exocitose (Lehninger, 2011).

Em indivíduos normoglicêmicos, a infusão de glicose endovenosa provoca a secreção e a liberação de insulina em um padrão bifásico. Há um pico de insulina que surge em 3 a 5 minutos após o início da infusão, e que dura cerca de 10 minutos (primeira fase de secreção da insulina). Em seguida, há uma fase de secreção mais lenta e mais progressiva, que se estende enquanto durar a infusão de glicose (segunda fase de secreção de insulina). No momento do diagnóstico de diabetes, a primeira fase de secreção de insulina está abolida e a segunda fase está reduzida ou atrasada. A redução da primeira fase de secreção insulínica já pode ser encontrada em indivíduos com IFG e IGT e em indivíduos normoglicêmicos com história familiar de diabetes (Guillausseau et al., 2008).

A ação da insulina é mediada por uma complexa rede de sinalizadores. Inicialmente a insulina liga-se ao seu receptor (IR) sobre a membrana da célula alvo, causando a fosforilação/ativação do substrato do receptor de insulina (IRS), que está associado com a ativação de duas vias sinalizadoras: a via fosfatidilinositol 3-Kinase (PI3K) – AKT / proteína kinase B (PKB) e a via ras-mitogênica – proteína kinase ativada (MAPK). A PKB ativada, estimula o movimento do transportador de glicose, o GLUT 4, das vesículas membranosas internas para a membrana plasmática, aumentando a captação de glicose para o interior da célula (Lehninger, 2011). A via MAPK não é implicada com as ações metabólicas, mas medeiam os efeitos da insulina no crescimento e na mitogênese (Un Ju Jung e Choi, 2014).

Evidências sobre a história natural de DM2 mostram que há uma predisposição genética para desenvolver a doença (Shannon et al., 2014; Bianca et al., 2011). Primeiramente os indivíduos herdam genes que lhes conferem resistência tecidual à ação da insulina e, posteriormente outros fatores como a obesidade e a inatividade física, podem agravar esta susceptibilidade (DeFronzo e Abdul-Ghani, 2011), aumentando a resistência insulínica, caracterizada pela resposta tecidual diminuída, à ação da insulina (Un Ju Jung e Choi, 2014).

A obesidade é um fator predisponente à resistência insulínica (DeFronzo e Abdul-Ghani, 2011). O tecido adiposo é composto por 02 tipos celulares principais: o adipócito e as células mononucleares (leucócitos). Há dois tipos de tecido adiposo: o

marrom, responsável pela termogênese, e o branco, que apresenta funções endócrinas e de depósito (Longbiao et al., 2014).

O excesso de lipídeos ingeridos na dieta ou os ácidos graxos, que ultrapassarem a capacidade de depósito do tecido adiposo, podem ser liberados na circulação e desencadear resistência insulínica no fígado e no músculo (Deborah e Christopher, 2008). Ácidos graxos livres como a acil-coenzima A, as ceramidas e o diacilglicerol podem piorar as vias sinalizadoras da insulina por ativar as proteínas kinases como a proteína C kinase, MAPK, c-jun N terminal Kinase e o Fator Nuclear κ B (FN- κ B). Os ácidos graxos livres servem como ligantes do complexo de receptores Toll-Like 4 (TLR4), estimulam a produção de citocinas pelos macrófagos (Un Ju Jung e Choi, 2014), podem inibir a captação de glicose mediada pela insulina e, em um processo mais prolongado, diminuem a secreção de insulina pela célula β . Os ácidos graxos também aumentam a produção do plasminogênio e do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) (Jaspinder, 2014).

O tecido adiposo age como um órgão endócrino ativo, que secreta fatores bioativos conhecidos como adipocinas. Estas agem como moléculas sinalizadoras, no controle do apetite e da saciedade, na distribuição de gordura corporal, na sensibilidade e secreção insulínicas, na inflamação, gasto energético, pressão arterial, angiogênese, hemostasia e na função endotelial. Entre as mais de 600 adipocinas, há algumas com função na resposta inflamatória, como as interleucinas 1 (IL1), 6 (IL-6), 8 (IL8) e 10 (IL10), o fator de necrose tumoral α (TNF- α), a proteína C reativa (PCR), a proteína quimiotática dos monócitos (MCP-1) e o PAI-1 (Matthias, 2012). Entre outras adipocinas secretadas pelo tecido adiposo, também se encontram a leptina e adiponectina (Poulos e Hausman, 2010; Un Ju Jung e Choi, 2014).

A leptina é um hormônio proteico que age no cérebro, onde tem efeito sobre a inibição do apetite (Matthias, 2014) e sobre o gasto de energia. Esta adipocina também tem ação sobre a angiogênese (Matthias, 2012), a resposta imune e o controle da pressão arterial (Campfield et al., 1995). A leptina possui efeitos específicos na função dos linfócitos-T, através da regulação da proliferação de células envolvidas na resposta imune (Marti e Marcos e Martinez, 2001), resultando no aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (Lord, 1998).

A adiponectina também está envolvida na resposta inflamatória e na regulação do balanço energético. Desenvolve um papel anti-inflamatório e

anorexígeno (Ronti e Lupattelli e Mannariano, 2006). Apesar de ser o mais abundante fator produzido exclusivamente pelo tecido adiposo, ao contrário da grande maioria das adipocinas, a concentração plasmática de adiponectina é menor em obesos. Além disso, encontra-se grande correlação negativa entre a adiponectina e os marcadores inflamatórios (Ouchi, 2003).

No tecido adiposo normal, os principais tipos celulares imunes são os macrófagos (M2) com propriedade anti-inflamatória, e as células T (CD8+ e CD4+), que secretam a IL-10, com atividade anti-inflamatória, e o fator de crescimento transformante β , os quais mantêm a homeostasia no tecido adiposo. No tecido adiposo hipertrófico, há hipóxia tecidual e estresse oxidativo, que orquestram a produção de citocinas pró-inflamatórias pelo sistema imune, como a IL-6 e o TNF- α (Longbiao, 2014). O predomínio de macrófagos M2 dá lugar aos macrófagos ativado M1, com propriedade pró-inflamatória, contribuintes para a resistência insulínica. As adipocinas recrutam monócitos pró-inflamatórios, neutrófilos, mastócitos, células natural killer, células dendríticas, células B e T Helper, contribuindo para uma inflamação de baixo grau (Figura 1), (Eduardo, 2013) que está relacionada com o desenvolvimento de doença cardiovascular, resistência insulínica e DM2 (Laaksonen, 2004).

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória produzida pelo tecido adiposo, pelas células endoteliais, macrófagos e linfócitos. Pode induzir a formação de proteínas que se ligam ao receptor da insulina e pode “down-regular” a globulina ligante dos corticosteroides, aumentando a fração livre do cortisol e contribuindo para a resistência insulínica (Laaksonen, 2004). Também está envolvida com o desenvolvimento da hipertensão arterial (Fernandez-Real, 2003). A IL-6 estimula a secreção de outras citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e o TNF- α (Laaksonen, 2004).

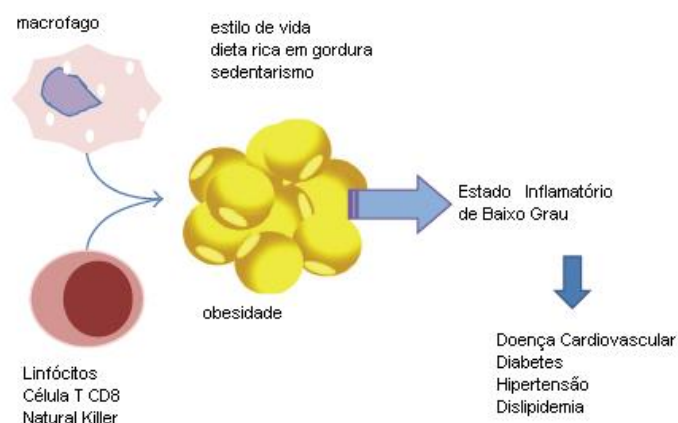


Figura 1–Leucócitos e inflamação de baixo grau no tecido adiposo.

Adaptado de Eduardo F., 2013.

O TNF- α é uma adipocina multifatorial, implicada com a sobrevivência e a apoptose celular, a inflamação e, com a resistência insulínica (Matthias, 2014). O TNF- α inibe as vias de sinalização do substrato 1 do receptor da insulina (Jaspinder, 2014), e induz a ativação do FN- κ B, que se relaciona com o desenvolvimento de inflamação crônica de baixo grau, disfunção endotelial, resistência insulínica, hipertensão arterial e dislipidemia (Eduardo, 2013). O FN- κ B está retido no citoplasma, ligado à sua proteína inibitória I κ B. Através de diferentes estímulos o I κ B- α é dissociado do complexo FN- κ B/I κ B- α e degradado por proteólise. Este processo envolve a fosforilação do I κ B- α por uma I κ B-Kinase (IKK). A degradação do I κ B- α ocasiona a ativação do FN- κ B, que se traduz pela sua translocação do citoplasma para o núcleo, onde se liga a sítios específicos do DNA, e induz a expressão de genes importantes para síntese de citocinas pró-inflamatórias e de moléculas de adesão do endotélio vascular (Figura 3) (Zamboni et al., 2007).

A PCR é uma proteína da fase aguda da inflamação, produzida nos hepatócitos em resposta ao estímulo de citocinas, em especial a IL-6 (Toss, 1997). A PCR apresenta atividade pró-coagulante. Além disso, ela induz a ativação do FN- κ B, a liberação de moléculas de adesão e ativa o PAI-1. A PCR também provoca a quimiotaxia dos monócitos, liga-se aos neutrófilos, favorece a captação de partículas modificadas de LDL colesterol pelos macrófagos e induz a ativação do sistema complemento, aumentando a injúria tecidual (Koenig, 2001).

A PCR tem sido considerada preditora de resistência insulínica, diabetes, síndrome metabólica (Laaksonen, 2004 ; Fernandez-Real, 2003) e de doenças

cardiovasculares (Koenig, 2001). Valores até 1 mg/L são considerados normais, constituindo baixo risco, e $>1 < 3$ mg/L e >3 mg/L, constituem médio e alto risco cardiovascular, respectivamente (Ridker, 2001). Há uma relação positiva entre os níveis elevados de PCR e o índice de massa corporal (IMC), a resistência insulínica e a hiperglicemia (Jaspinder, 2014).

A IL-1 está relacionada com a perda da função e com a apoptose da célula β , em indivíduos com diabetes tipo 1 (Maedler, 2004). Em indivíduos com DM2 comprovou-se que as células β produzem IL-1 sob o estímulo de níveis aumentados de glicose e que há uma diminuição dos antagonistas dos receptores da IL-1, um inibidor competitivo do ligante da IL-1 no receptor tipo 1. Os antagonistas protegem a célula β do efeito tóxico da hiperglicemia (glicotoxicidade) e da apoptose (Claus, 2007). Em estudo in vitro, demonstrou-se que a exposição prolongada das ilhotas de Langerhans à leptina, diminuiu a expressão do antagonista do receptor da IL-1 e induziu a liberação de IL-1, causando a piora da função da célula β , a ativação da caspase-3 e a apoptose celular (Maedler, 2004).

A glicotoxicidade, a lipotoxicidade e/ou a glicolipototoxicidade são fenômenos que podem estar envolvidos em todas as formas de DM, exercendo efeito deletério à célula β , adicional à predisposição genética e aos fatores ambientais (Poitout e Robertson, 2008). Ficou demonstrado que a exposição de linhagens de células β a concentrações mais altas de glicose piorou, progressivamente, a expressão gênica insulínica, o estoque de insulina e a secreção insulínica induzida pela glicose (Robertson, 1992).

Risetti et al, demonstrou que um aumento sustentado da glicose, como 15 mg/dL, causou uma diminuição de 75% na secreção de insulina pela célula β (Rossetti, 1990). Em estudo multivariado, ajustado para idade, história familiar de diabetes, índice de massa corporal, nível de atividade física, tabagismo e níveis de triglicerídeos séricos, demonstrou-se um aumento progressivo do risco de desenvolver DM2 quando a glicemia de jejum era ≥ 87 mg/dL. Quando os níveis de triglicerídeos eram ≥ 150 mg/dL e a glicemia entre 91 e 99 mg/dL, havia uma razão de risco de 8.23 para desenvolver DM2. Em análise com o IMC, quando este era ≥ 30 e a glicemia de jejum entre 91 e 99 mg/dL, havia uma Razão de Risco 8.29 para desenvolver DM2 (Tirosh et al., 2005).

A glicotoxicidade está relacionada com o estresse oxidativo (Evans et al., 2003). Este, ocorre quando há um predomínio de espécies reativas de oxigênio

(ERO) e/ou de nitrogênio (ERN), que agem como oxidantes. O estresse oxidativo pode decorrer do excesso de formação das espécies reativas, da depleção dos antioxidantes, ou de ambos (Johansen et al., 2005). As ERO compreendem uma variedade de moléculas e radicais livres derivados do metabolismo do oxigênio molecular. O ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) é o precursor de muitas ERO. O ânion superóxido pode ser dismutado espontaneamente ou através da enzima superóxido dismutase (SOD), originando o peróxido de oxigênio (H_2O_2). Este pode ser reduzido à água e O_2 pela glutathiona peroxidase (GSH-Px) ou pela catalase, na mitocôndria ou nos lisossomas, respectivamente (Johansen et al., 2005). Na presença dos íons ferro ou cobre, o peróxido de hidrogênio pode formar o radical hidroxila (HO^{\bullet}), altamente reativo (Bianca et al., 2011).

Sob condições normais, o superóxido gerado é eliminado pelo mecanismo de defesa anti-oxidante. Em condições fisiológicas, as ERO agem como moléculas sinalizadoras no sistema de defesa, como na fagocitose e na função neutrofílica, e na vasodilatação. Quando em excesso, podem causar danos nas proteínas, nos carboidratos, nos lipídeos e no DNA (Bianca et al., 2011).

A toxicidade da hiperglicemia pode se dar através do aumento da formação do radical hidroxila pela auto-oxidação da glicose, e pela via dos polióis, através da aldose redutase, podendo aumentar a concentração de radical superóxido e de peróxido de hidrogênio (Johansen et al., 2005; Yabe-Nishimura, 1998). Também há aumento da geração do radical superóxido através da NAD(P)H oxidase e da cadeia respiratória mitocondrial, em indivíduos com hiperglicemia (Johansen et al., 2005).

A lipotoxicidade também está relacionada com o estresse oxidativo. Em indivíduos com DM2, demonstrou-se uma relação inversa entre os níveis de lipídeos no plasma e a proporção de glutathiona reduzida/oxidada (um potente sistema antioxidante endógeno).

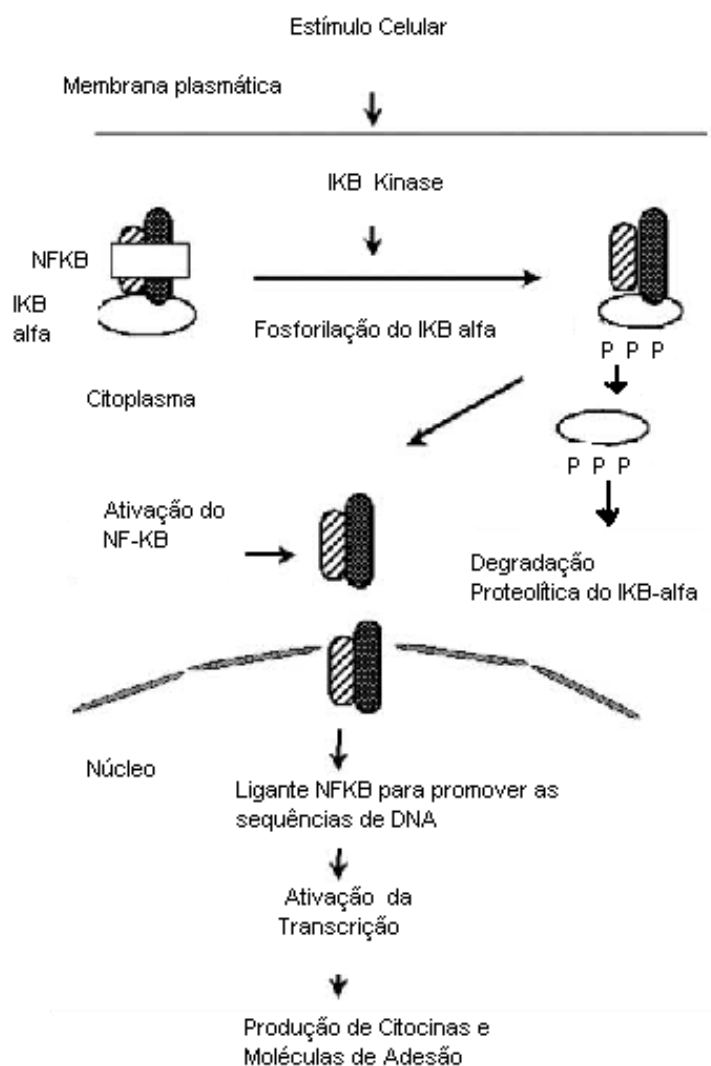


Figura 2 – Processo de Ativação do FN-κB
Adaptado de Zamboni et al., 2007.

Em indivíduos saudáveis, a infusão de ácidos graxos desencadeou estresse oxidativo, comprovado pelos níveis elevados de malondialdeído, um produto da oxidação lipídica, e baixos níveis de glutatona reduzida/oxidada. Os ácidos graxos livres também aumentam a geração do radical superóxido na mitocôndria. E consequentemente, os produtos da peroxidação lipídica estão relacionados com a inibição da secreção insulínica pelas ilhotas pancreáticas (Evans et al., 2003). A peroxidação lipídica é reconhecida como um importante contribuinte para a fisiopatologia da inflamação. Em baixas concentrações, o produto da peroxidação lipídica, o 4-hidroxinonenal (4-HNE), age como um potente estimulante mitogênico

da célula muscular lisa, e em altas concentrações, induz apoptose em vários tipos celulares (Ramana, 2011). Em indivíduos com síndrome metabólica e naqueles com DM, comprovou-se que há um aumento da peroxidação lipídica, como evidenciado pelos níveis aumentados de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Yokota, 2013; Ramana, 2011).

A vulnerabilidade das células β ao estresse oxidativo aumenta na medida em que ocorre uma “downregulation” nas enzimas antioxidantes como a catalase, a glutathione peroxidase e a superóxido dismutase (Evans et al., 2003; Poitout e Robertson, 2008; Ramana, 2011; Yokota, 2013). Estudos demonstram que o aumento das concentrações de antioxidantes como a glutathione, mostraram proteger as ilhotas pancreáticas dos efeitos tóxicos da ribose (um oxidante mais potente que a glicose) sobre os efeitos deletérios no mRNA da insulina, no estoque de insulina e na secreção de insulina estimulada pela glicose (Tanaka, 2002).

A glicotoxicidade também pode ser explicada através dos efeitos dos produtos finais da glicação avançada (AGEs). Os AGEs são moléculas formadas não enzimaticamente, a partir da redução da glicose com o grupo amino de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. A primeira reação na formação dos AGEs é a condensação do grupo carbonil do açúcar redutor, com o grupamento amino livre, do grupo proteico. Então é formada uma base Schiff (Aldimina), a qual pode ser transformada covalentemente em um produto de Amadori. A combinação de níveis elevados de glicemia e de processos oxidativos e não oxidativos resultam em novos rearranjos no produto de Amadori, originando um produto final da glicação (AGE), irreversível. Para proteínas de meia vida longa, como a hemoglobina, o produto de Amadori ainda é reversível (Otto et al., 2014).

As propriedades pró-inflamatórias e pró-oxidantes dos AGEs se dão através da sua interação com os seus receptores na superfície celular (RAGE), expressos sobre os monócitos/macrófagos, linfócitos T, células endoteliais, células dendríticas, fibroblastos, células musculares lisas, células da glia e neuronais, condrócitos e queratinócitos (Otto et al., 2014). Após a interação AGE-RAGE, ocorre a ativação de vias sinalizadoras, geradoras de ERO, como a p21ras, cdc42rac, a Proteína Kinase Mitogênica-Ativada (MAPK) (Huebschmann et al., 2006). Os AGEs aumentam a expressão dos RAGEs sobre a superfície celular de vários tipos celulares e induzem a ativação sustentada do FN- κ B, criando e perpetuando um círculo vicioso, entre os AGEs e o estresse oxidativo (Yamagishi et al., 2011).

A glicohemoglobina (GHb) foi um dos primeiros produtos de Amadori a serem conhecidos (Huebschmann et al., 2006). Embora não seja considerado um AGE, pode ser um precursor de AGEs (Otto et al., 2014).

Há vários sítios de glicação na molécula de hemoglobina, mas o resíduo terminal de valina na cadeia α corresponde a aproximadamente 60-80% da glicose ligada. Outros açúcares podem se ligar à molécula e contribuem para a fração total glicada (HbA1). O componente especificamente ligado à glicose é conhecido como HbA1c (Camargo e Gross, 2004).

Três fatores principais contribuem para o nível da HbA1c: a glicemia, a meia-vida do eritrócito de 120 dias e a permeabilidade da membrana eritrocitária. Portanto, a HbA1c traduz a média glicêmica nos últimos 120 dias (Katarzyna e Liliana, 2010), mas a glicemia encontrada nos últimos 30 dias, contribui com até 50% do seu resultado final. Em geral, a relação da HbA1c com a glicemia pode ser previsível através da equação: $\text{Glicose (mg/dL)} = (1.98\% \text{HbA1c} - 4,29)/0,056$ (Tabela 3) (Camargo e Gross, 2004).

O resultado final da HbA1c pode sofrer a interferência de outros fatores. Cuidados com a temperatura e com o tempo de estocagem do material (Camargo e Gross, 2004), a presença de hemoglobinas anômalas, como ocorre nas hemoglobinopatias e estados anêmicos que alterem a meia vida do eritrócito (Bry, 2001); o uso de drogas como os salicilatos e o álcool, que podem gerar derivados acetilados de Hb, o que pode interferir com a carga elétrica, e interferindo com a interpretação dos resultados; o uso prolongado de vitamina C e características raciais são alguns dos itens a serem considerados no momento da interpretação do resultado da HbA1c (Camargo e Gross, 2011).

Entretanto, a HbA1c é um parâmetro de referência para se avaliar o controle glicêmico em pacientes com DM, e relaciona-se com o risco para o desenvolvimento e a progressão das complicações crônicas do diabetes (Figura 6) (DCCT, 1993; UKPDS, 1995). Além disso, os níveis de HbA1c também mostram-se relacionados com o risco cardiovascular e com a mortalidade, mesmo em indivíduos não diabéticos. Isso ficou demonstrado no estudo na coorte de Norfolk, do European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Norfolk), onde o risco de morte aumentou proporcionalmente ao aumento das concentrações de HbA1c, sobretudo quando a HbA1c era maior do que 5% (Khaw, 2001).

Tabela 3 – Valores aproximados da glicemia média e valores correspondentes de HbA1c

HbA1c (%)	Glicemia média (mg/dl) estimada pela glicemia de jejum
4	85
5	112
6	139
7	166
8	193
9	220
10	248
11	275
12	302

Adaptado de Rohlfing et al., 2002.

Mais recentemente, a ADA recomendou que a HbA1c fosse utilizada como mais um critério diagnóstico de PDM e DM2 (Figura 2) (ADA, 2010). Considerando a praticidade em se aferir a HbA1c, e por ser um método relativamente padronizado, com baixa variabilidade individual, que não requer jejum ou horário específico para a verificação, tornou-se um método útil para o rastreio populacional de PDM e DM, contribuindo para o diagnóstico mais precoce destas condições (Katarzyna e Liliana, 2010).

Entretanto, a concordância diagnóstica entre os métodos glicêmicos (glicemia de jejum e 2h-TTGO) e HbA1c, chega a apenas 30%. Isso provoca uma reclassificação de diagnósticos, onde a maioria dos indivíduos considerados pré-diabéticos pelo método glicêmico, passam a ser considerados como não tendo PDM através da HbA1c, e vice-versa (Olson et al., 2010).

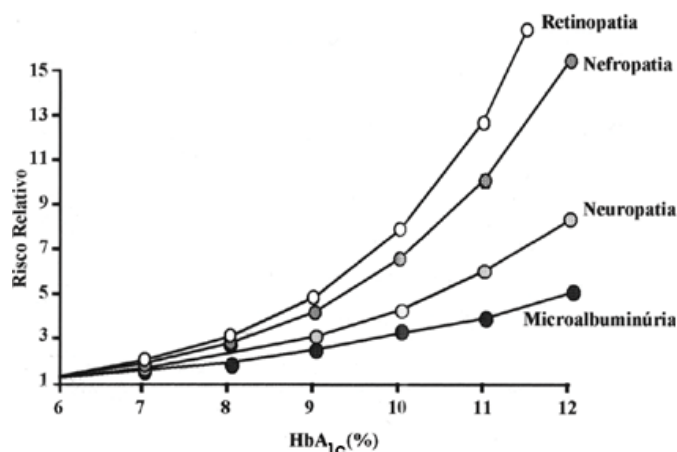


Figura 3 – Relação da HbA_{1c} e o risco de complicações microvasculares em DM.

Adaptado de DCCT, 1993.

A baixa concordância entre estes métodos reflete a fisiopatologia multifatorial do metabolismo da glicose. A glicemia de jejum alterada está predominantemente relacionada com a resistência insulínica hepática, enquanto a intolerância à glicose relaciona-se com a resistência insulínica no músculo. Cada uma destas situações está relacionada com defeitos na secreção de insulina, em diferentes níveis (Abdul-Ghani et al., 2006). Ambos os diagnósticos baseiam-se em medidas glicêmicas pontuais, através da glicemia em jejum e 2h-TTGO, respectivamente (ADA 2010). Por outro lado, a HbA_{1c} reflete uma exposição mais prolongada à glicose, significando uma média glicêmica (Camargo e Gross, 2004).

Outras variáveis, não padronizadas, que podem ser consideradas para o diagnóstico de PDM são a forma da curva glicêmica no TTGO, com exame das glicemias em jejum, 30, 60 e 120 minutos após a sobrecarga oral com 75 g de glicose, e o valor glicêmico alcançado na primeira hora da curva glicêmica (Abdul-Ghani e Lissenko et al., 2010; Abdul-Ghani e Stern et al., 2010).

Os indivíduos com tolerância normal à glicose apresentam maior probabilidade de ter a curva glicêmica no TTGO, com padrão bifásico (aumento inicial da glicemia com posterior declínio), enquanto os indivíduos com intolerância à glicose apresentam um padrão monofásico (aumento gradual da glicemia). Em indivíduos que apresentam o declínio mais rápido da glicemia até o nível basal no TTGO, o risco de apresentar DM2 futuramente é menor, se comparados com os

indivíduos onde o declínio da glicemia é mais lento, mesmo que os níveis ainda permaneçam nos limites considerados normais. Em um estudo, onde se examinou a curva glicêmica após a sobrecarga oral com 75 g de glicose, observou-se que não houve risco de desenvolver DM2 em até 8 anos, quando a glicemia não se elevou nos primeiros 30 minutos, além do limite basal. Por outro lado, quando a glicemia se elevou em 30 minutos, mas retornou ao valor basal em 60 ou 120 minutos, o risco de DM2 aumentou para 1.8 e 2.1%, respectivamente. Quando a glicemia não retornou ao valor basal em até 120 minutos, então o risco de DM2 aumentou para 2.9% (Abdul-Ghani e Lissenko et al., 2010).

Em um estudo recente, foi demonstrado a importância dos valores da glicemia em 1h após a sobrecarga oral do 75 g de glicose. Níveis glicêmicos maiores que 125mg/dL, mesmo se a glicemia de jejum e 2h forem normais, são relacionados com o aumento do risco de desenvolver diabetes (Abdul-Ghani e Stern et al., 2010).

É possível prevenir ou retardar o desenvolvimento de DM2, por mudanças no estilo de vida, abrangendo mudanças no hábito alimentar e na atividade física, além do uso de medicações (DPP Research Group, 2002). Daí a importância em se identificar os indivíduos com PDM precocemente, sob uma investigação mais abrangente, para que possam se beneficiar da orientação sobre as medidas preventivas.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a associação das diferentes curvas glicêmicas, com os níveis de glicohemoglobina (HbA1c), de proteína C reativa (PCR) e dos marcadores do estresse oxidativo, malondialdeído (MDA) e proteína carbonil (PC), em indivíduos com pré-diabetes.

Objetivos específicos

- Avaliar a concordância entre os diferentes perfis das curvas glicêmicas e os níveis séricos de HbA1c.e PCR.
- Avaliar os indicadores do estresse oxidativo (MDA e carbonilação protéica) em soro da população estudada.
- Avaliar a associação entre os níveis lipídicos e os perfis das curvas glicêmicas.
- Avaliar a associação da insulinemia basal com os diferentes perfis das curvas glicêmicas.

APRESENTAÇÃO

Os resultados desta dissertação estão apresentados sob a forma de manuscrito, o qual se encontra no item “MANUSCRITO”. As seções sobre Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Bibliografia encontram-se no próprio manuscrito e representam a íntegra deste estudo. O item **CONCLUSÃO**, encontrado no final desta dissertação, apresenta interpretações e comentários gerais a respeito dos resultados apresentados no manuscrito contido neste trabalho.

As **REFERÊNCIAS** referem-se somente às citações que aparecem no item **INTRODUÇÃO** desta dissertação.

O manuscrito está formatado nas normas da revista Diabetology&Metabolic Syndrome, na qual será submetido.

Assessment of Glycohemoglobin, Plasma Glucose Curve and C-Reactive Protein as complementary predictors to diagnose prediabetes

Marcelo Biavaschi¹, Roberta Schmatz², Jessié Martins Gutierrez², Luciane Jacob³, Pauline da Costa², Thabara Campos⁴, Isadora Scaburi⁴, Maria Rosa Chitolina² Schetinger, Vera Maria Melchiors Morsch².

¹ Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Santa Maria, RS

² Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, RS

³ Departamento de Estatística, Universidade Federal de Santa Maria, RS

⁴ Acadêmicas de Medicina, Universidade Federal de Santa Maria, RS

Corresponding author:

•Vera Maria Melchiors Morsch

Universidade Federal de Santa Maria

Departamento de Química

Contato: (55) – 3220-9557

Email: veramorsch@gmail.com

•Marcelo Biavaschi

Universidade Federal de Santa Maria

Departamento de Clínica Médica

Contato: (55) - 3220-8508

Email: msbiacr@gmail.com

Abstract

Objective— The shape of the plasma glucose curve has been considered as a predictor for diabetes in the future. This study aims to assess the relationship between glycohemoglobin, c-reactive protein, oxidative stress markers levels and the shape of the plasma glucose curve during the oral glucose tolerance test (OGTT).

Research Design and Methods— A transversal study was carried out with 59 non-diabetic subjects with increased diabetes risk who underwent an OGTT to analyze glycemia, insulin, glycohemoglobin, lipids, c-reactive protein, malondialdehyde and carbonyl protein. Glycemia was assessed at fasting, 30, 60 and 120 minutes.

Results— Overall, 26 individuals had prediabetes, 28 did not have prediabetes (22 had 1h-OGTT>fasting glycemia, 6 had 1h-OGTT≤fasting glycemia) and 5 had diabetes. The 1h-OGTT≤fasting glycemia and diabetes groups were excluded, and then a non-parametric test (Mann-Whitney U test) was used to analyze data. There were no statistical differences between 1h-OGTT>fasting glycemia and prediabetes groups in the analysis of glycohemoglobin [5.15 (4.8-5.4); 5.20 (5.10-5.4); $p=0.17$], c-reactive protein [3.70 (1.8-8.9); 3.96 (1.45-7.13); $p=0.38$], lipids and malondialdehyde, but there were differences in fasting, 30, 60 and 120 minutes glycemia, insulin level [11(8-13); 13(10-18); $p=0.04$], Homeostatic Model Assessment-IR [2.45(1.93-2.95); 3.30(2.51-5.02); $p=0.00$] and carbonyl protein [0.48 (0.42-0.58); 0.57 (0.5-0.76); $p=0.02$].

Conclusions— These results identify predictors to increased cardiovascular and diabetes risk in individuals without prediabetes and with 1h-OGTT>fasting glycemia, which are similar to predictors in individuals with prediabetes established by the American Diabetes Association criteria.

Introduction

Type 2 diabetes mellitus is a worldwide public health burden because of its high prevalence and cost (1; 2). Early detection of diabetes or prediabetes, an intermediary stage between normal glucose tolerance and type 2 diabetes, is the objective for programs of diabetes mellitus management and prevention (3).

The American Diabetes Association (ADA) recommends to assess diabetes in asymptomatic adults if BMI $\geq 25 \text{Kg/m}^2$ and one or more risk factors such as first-degree relative with diabetes, and if age > 45 years old, even if there is not any other risk factor. Diabetes and prediabetes must be diagnosed by glycemia (at fasting and/or 2h-OGTT and casual glycemia) and/or by glycohemoglobin (HbA1c) (2). However, there is only a 30% diagnostic agreement between these methods (4). In addition, conventional methods, such as the normal 2-hour oral glucose tolerance test (2h-OGTT), have failed to identify an increased risk to develop type 2 diabetes and cardiovascular disease in individuals with glycemia >125mg/dl at 1-hour after oral glucose tolerance test (1h-OGTT) (5). Moreover, in some cases, normal glycemia and HbA1c may not be able to completely rule out chances of prediabetes (5; 6).

The great variability of these tests may be explained by variations in lab techniques as well as ethnic, family and constitutive conditions (7; 8; 9), which may interfere in the cut-off values established for the diagnosis of prediabetes. For example, gain in fat mass in obesity would produce dramatic changes in adipokines, oxidative stress markers as well as low grade inflammation which contribute to insulin resistance and modifications of glycemic levels (10; 11; 12).

Thus, the aims of our study were to assess what the biochemical characteristics are, including the shape of the glucose curve on OGTT, inflammatory markers, HbA1c level and oxidative stress markers in subjects with prediabetes.

Research Design and Methods

This was a transversal study which enrolled 59 relatives recruited from patients at the University Hospital of Santa Maria or the ones who answered the call from the program for International Day of Diabetes in the city of Santa Maria, South of Brazil.

Inclusion criteria were age from 40 to 60 years old and BMI ≥ 25 kg/m². Exclusion criteria included the diagnosis of diabetes, anemia or other chronic diseases or acute illnesses at the moment of the study, and use of statin, metformin, and tobacco. All subjects answered questionnaires about lifestyle, previous disease, drugs use and personal and family history. The patients were then clinically evaluated by an experienced physician and blood collection was carried out in the early morning, after 12 h of fasting. Body Mass Index (BMI) was calculated as weight (kg)/ (height [m])². Waist girth was recorded as the average of two measurements taken after breathing in and breathing out at the midpoint between the lowest rib and the iliac crest. Individuals wearing light clothes were weighed without shoes. Prediabetes was defined by ADA criteria for Impaired Fasting Glucose when fast glucose plasma levels were from 100 mg/dL (5.6 mmol/L) to 125 mg/dL (6.9 mmol/L) or Impaired Glucose Tolerance when 2-h OGTT levels were from 140 mg/dL (7.8 mmol/L) to 199 mg/dL (11.0 mmol/L), and when HbA1c $\geq 5.7 < 6.5\%$ (2).

Plasma glucose concentrations were measured as soon as the blood was collected at 0, 30, 60 and 120 minutes after 75g oral glucose, by glucose oxidase method, using a Vitrus 950 (Johnson & Johnson®). Serum insulin was measured at

basal by Chemiluminescence IMMULITE® 2000 FSH; HbA1c was measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC); Hemogram was assessed by Impedance; C-reactive protein (CRP) was measured by turbidimetry; tryglycerides, total cholesterol and high-density lipoprotein (HDL) were measured by dry chemistry assay in the Vitrus 950. Low density lipoprotein was calculated by Friedwald's formula ($LDL=CT-HDL-TG/5$); malondialdehyde (MDA) levels were measured by Jentzsch (13), using the reaction with thiobarbituric acid as lipidic peroxidation marker; carbonyl protein was measured according to Levine (14). Homeostatic Model Assessment-IR was established by the following formula: $Glycemia (mMol) \times Insulin (uU/mL) \div 22,5$ (15). Serum and plasma were stored in a freezer at $-30^{\circ}C$ for further evaluations of oxidative stress.

Fifty-four subjects (59 minus 5 patients with diabetes) were classified according to their positive or negative family history of diabetes in first degree relatives, respectively (FH+) or (FH-). After that, these 54 subjects were classified into two groups : one without prediabetes (6 subjects with $1h-OGTT \leq$ fasting glycemia and 22 subjects with $1h-OTTG >$ fasting glycemia) and the other with prediabetes which had 26 subjects. The group without prediabetes and $1h-OGTT \leq$ fasting glycemia and the one with diabetes were excluded.

Statistical analysis

A non-parametric test (Mann-Whitney U test) for independent groups was used. A margin of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Overall, 30 individuals reported knowledge of type 2 diabetes in first degree relatives, or positive family history (FH+), while 24 did not have a family history of type 2 diabetes in first degree relatives (FH-). Forty-four percent of subjects (26) had prediabetes and 8.5% type 2 diabetes. In those individuals with prediabetes, 26 were diagnosed by glucose plasma concentration, and 5 by glucose plasma concentration and HbA1c together. There was an agreement of 19% between glycemic and HbA1c methods to diagnose prediabetes. Ninety percent of the group (54 minus 6 subjects) had glucose plasma concentrations higher than fasting glycemia at 30 and 60 minutes after OGTT.

Anthropometric and biochemical features, MDA and carbonyl protein of subjects FH- or FH+ are shown in Table 1. Plasma glucose curve, HbA1c, CRP and HOMA-IR are shown in table 2. We did not find differences between groups FH- or FH+.

Anthropometric and biochemical features, MDA and carbonyl protein of subjects with 1h-OGTT>fasting glycemia and prediabetes are shown in Table 3. There was statistical difference in carbonyl protein, which was higher in subjects with prediabetes than in subjects with 1h-OGTT>fasting glycemia.

Plasma glucose curve, HbA1c, CRP and HOMA-IR are shown in Table 4. As expected, there were statistical differences between plasma glucose concentrations, insulin level and HOMA-IR in 1h-OGTT>fasting glycemia / prediabetes groups. On the other hand, there was not statistical difference among any other parameters. The medians for HbA1c and for CRP were 5.20% and 3.96 mg/L, respectively, for patients with prediabetes, and, for individuals without prediabetes and 1h-

OGTT>fasting glycemia, the medians for HbA1c and for CRP were 5.15% and 3.7mg/L, respectively. The shape of plasma glucose curve of all subjects without prediabetes ($1\text{h-OGTT} \leq \text{fasting glycemia}$, $1\text{h-OGTT} > \text{fasting glycemia}$), with prediabetes and diabetes are shown in Fig.1.

Discussion

Positive family history (FH+) for type 2 diabetes mellitus is a risk factor for the development of type 2 diabetes (2). Nevertheless, we did not find differences between groups of individuals with and without type 2 diabetes in first-degree relatives. However, the FH+ group showed a propensity toward higher levels in the parameters that we discuss below. Although the small number of participants in this study may have restricted a more comprehensive viewpoint of the results, it remains difficult to assess family type 2 diabetes since there is a substantial number of people who are unaware of a type 2 diabetes diagnosis or who will develop type 2 diabetes during aging. However, the environment has dramatically influenced both groups.

The current criteria for diagnosing prediabetes and type 2 diabetes are supported by plasma fasting glucose, 2h-OGTT and HbA1c level (2). However, some studies have shown the glycemia level at 1h-OGTT to be another important predictor of individuals at risk of developing diabetes (16; 5; 6). In agreement with the literature, we have shown that individuals with an increased risk to develop type 2 diabetes presented increased plasma glucose concentrations at 1h-OGTT. This occurred in all subjects whether or not they had prediabetes established by ADA criteria. Abdul-Ghani (6) demonstrated a relation between risk of type 2 diabetes and 1h-OGTT glycemia. Individuals whose glucose plasma concentration following OGTT was higher than fasting plasma glucose within 60 minutes had higher risk for future type 2 diabetes compared with individuals whose plasma glucose concentration

returned to their fasting glucose level. In addition, in individuals with normal glucose tolerance, and whose plasma glucose concentration fell below fasting plasma glucose at 30 minutes, the risk of developing type 2 diabetes in 7- 8 years was 0%. In another study (5), the increase of glycemia at 1h-OGTT (>125 mg/dl) was associated with a higher incidence of type 2 diabetes, independent of the level of fasting plasma glucose concentration.

In the study by Darin et al (4), the most notable finding is that glycemic methods and HbA1c agree around 30% to diagnose prediabetes. Our results showed around 19% agreement between glycemic and HbA1c methods to diagnose prediabetes by ADA criteria. On the other hand, the median of HbA1c in prediabetes subjects was 5.20%, which is below the level recommended by ADA ($\geq 5.7 < 6.5\%$) (2). Some factors may influence the final result of HbA1c, such as blood disease, drugs use and glycemic variability (7; 8; 9). In this study, racial characteristics may have contributed for finding this result, suggesting the necessity of utilizing a lower HbA1c level to diagnose prediabetes in South Brazil, for example.

HbA1c is a pattern parameter to assess glycemic control in patients with diabetes and has been related to the mean of plasma glucose concentration in the last two or three months. The HbA1c/glycemia relation can be assessed by the equation: $\text{glucose (mg/dL)} = (1.98\% \text{ HbA1c} - 4.29) / 0.056$ (8; 9). HbA1c has been associated with the development of chronic complications and risk of diabetes progression (17; 18). In addition, the level of HbA1c is related to cardiovascular risk and mortality in patients without diabetes as has been shown in the Norfolk cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Norfolk), where the death risk increased when the HbA1c was higher than 5% (19).

Prediabetes, in which blood glucose concentrations are higher than normal but do not reach the conclusive definition of diabetes, represents a high-risk state for diabetes development (3). Impaired Glucose Tolerance and Impaired Fasting Glucose are representatives of prediabetes (2; 3; 20; 21). Long time follow-up studies of patients with Impaired Glucose Tolerance have demonstrated conversion to type 2 diabetes in more than 50% of the cases (22). Impaired β cell glucose sensitivity is a characteristic of even minimal Impaired Glucose Tolerance (23) and the progressive failure of β cell to compensate for the existing level of tissue insensitivity to insulin is the determinant factor in the development of type 2 diabetes (24; 25; 26).

Based on findings from UKPDS (18), it has been suggested that β cell function is reduced by 50% at the time of diagnosis of diabetes and that it begins from 10–12 years before diagnosis. β -cell dysfunction is genetically determined, and impaired first-phase insulin secretion is early in the course of diabetes, as it has been reported in subjects with Impaired Glucose Tolerance, as well as in normoglycaemic first-degree relatives of patients with type 2 diabetes (22). Pancreatic β cells are highly sensitive to blood glucose concentrations and changes in homeostasis influence their function. The adverse or toxic influences on pancreatic β cell function and survival caused by excessive glucose and/or lipid levels have been known as glucotoxicity, lipotoxicity or glicolipotoxicity (27; 28; 29). Hyperglycemia causes glucotoxicity, which in turn causes hyperglycemia, leading to a cycle of continuously impaired β cell function (27).

A sustained rise in the plasma glucose concentration of as little as 15 mg/dl has caused a 75% inhibition of insulin secretion by the perfused pancreas in a study in vitro (28). The deficit of β cell mass in type 2 diabetes seems to be due for the most

part to increased β cell apoptosis (25), associated with a variety of proapoptotic mechanisms, including glucose-induced synthesis of IL-1 β (29) and increased generation of reactive oxygen species, inducing chronic oxidative stress and mitochondrial damage, thus contributing to cell death (29; 27). We did not find statistical differences in oxidative stress markers between groups with and without positive family history for type 2 diabetes, but carbonyl protein was higher in prediabetes than in non prediabetes with 1h-OGTT>fasting glycemia groups. On the other hand, the MDA, which means the level of lipid peroxidation in both groups, was not different between these groups. Lipid peroxidation products are related with low grade inflammation, insulin resistance as well as impaired insulin secretion (30). They are also used as markers of oxidative stress and can contribute to cellular damage (31).

All groups of the study had BMI>25 Kg/m². Declining β cell function has been shown to be associated with weight gain. Anny Xiang et al (33) demonstrated that in women who had gestational diabetes, the weight gain was the main factor related with the impaired β cell function. Tirosh et al (32) demonstrated that BMI \geq 30 and fasting plasma glucose levels from 91 to 99 mg/dl resulted in a hazard ratio of 8.29 to develop type 2 diabetes, as compared with BMI< 25 and fasting plasma glucose level < 86 mg/dl. In vitro, it has been shown that chronic exposure of human islets to leptin, a hormone secreted by fat tissue, decreased β cell production of interleukin 1 receptor antagonist and induced interleukin 1 β release from the islet preparation, leading to impaired β cell function, caspase-3 activation, and apoptosis (25).

In addition, fat tissue secretes inflammatory markers such as interleukin 6 and tumor necrosis factor α , which contribute to insulin resistance and low-grade inflammation. Several studies have indicated that inflammation, as measured by

CRP, predicts cardiovascular disease and the development of type 2 diabetes (34). CRP is a protein of the acute phase of inflammation secreted in the liver after IL6 influence. It amplifies the immune response and contributes to inflammation (35). There is a positive relation between CRP levels and BMI, insulin resistance, hyperglycemia (36) diabetes and metabolic syndrome (34; 37) and cardiovascular disease. CRP levels above 3 mg/L show high risk to cardiovascular disease (38). In this study, the median of CRP was higher than 3 mg/L not only in the group with prediabetes but also in the group without prediabetes and 1h-OGTT>fasting glycemia.

The weakness of this study was the small number of subjects. Perhaps a higher number would allow a more comprehensive analysis of the result. Nevertheless, our results are in agreement with the literature, mainly when the impact of the 1h-OGTT is analyzed.

Overall, all groups of the study showed increased risk for type 2 diabetes in the future, which has been known by BMI higher than 25 Kg/m² and age higher than 45 years old, but 40% of subjects presented normal fasting glycemia and 2h-OGTT. On the other hand, all groups, except that with glycemia 1h-OGTT≤fasting glycemia (data not shown), presented one-hour glycemia higher than fasting glycemia as well as HbA1c and CRP levels which are predictors of higher cardiovascular and diabetes risk.

Besides these promising observations, the contribution of this work is to show the strong similarity between groups with prediabetes established by ADA criteria and those without prediabetes and glycemia at 1h-OGTT>fasting glycemia. This group may be displaying a stage of diabetes development even earlier than prediabetes

itself. A cohort study would be needed in order to ascertain this with greater certainty. In addition, in our country, lower HbA1c levels than those recommended by the ADA should be considered in the diagnosis of prediabetes.

Finally, when there is a disagreement between glycemia and HbA1c methods to diagnose prediabetes, the glucose curve from the OGTT at 0, 30, 60 and 120 minutes can be assessed. In addition, it is necessary to recognize the variability of HbA1c in the diagnosis of prediabetes and that even HbA1c levels $> 5 < 5.7\%$ are related to increased cardiovascular and diabetes risk. In this sense, CRP can also be assessed in order to know the intensity of the low grade inflammation. These factors together improve the knowledge for clinical diagnoses and can contribute to understand what prediabetes is and what we can do to treat it.

CONTRIBUTORS

MB designed the conceptual framework, recruited the sample, did the data analyses and interpretation, and wrote the manuscript. VMMM, MRCS and RS advised and reviewed the manuscript. LJ did data analyses. JMG and PC analysed oxidative stress markers, TC and IS helped with the recruitment of sample. Blood collect was done by a chemical analyses laboratory – LABIMED.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq), *Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul* (FAPERGS) and *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES).

CONFLICT OF INTEREST

There is no potential conflict of interest in this paper.

REFERENCES

1. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes.** Epidemiologia e prevenção do diabetes mellitus. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes.* 2013-2014, pp. 1-4.
2. **American Diabetes Association.** Standards of Medical Care in Diabetes—2010. *Diabetes Care.* January de 2010, Vol. 33, pp. 11-58.
3. **Bergman, Michael.** Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine.* 2013, Vol. 43, pp. 504-513.
4. **Darin E. Olson, Mary K. Rhee, Kirsten Herrick, David C. Ziemer, Jennifer G. Twombly, Lawrence S. Phillips.** Screening for Diabetes and Pre-Diabetes With Proposed A1C-Based Diagnostic Criteria. *Diabetes Care.* 2010, Vol. 33, pp. 2184–2189.
5. **Muhammad A. Abdul-Ghani, Michael P. Stern, Valeriya Lyssenko, Tiinamaija Tuomi, Leif Groop, Ralph A. DeFronzo.** Minimal Contribution of Fasting Hyperglycemia to the Incidence of Type 2 Diabetes in Subjects With Normal 2-h Plasma Glucose. *Diabetes Care.* 2010, Vol. 33, pp. 557–561.
6. **Muhammad A. Abdul-Ghani, Valeriya Lyssenko, Tiinamaija Tuomi, Ralph A. DeFronzo, Leif Groop.** The shape of plasma glucose concentration curve during OGTT predicts future risk of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2010, Vol. 26, pp. 280–286.
7. **Lynn Bry, Philip C. Chen, and David B. Sacks.** Effects of Hemoglobin Variants and Chemically Modified Derivatives on Assays for Glycohemoglobin. *Clinical Chemistry.* 2001, Vol. 47, pp. 153–163.
8. **Camargo, Joíza Lins e Gross, Jorge Luiz.** Glico-hemoglobina (HbA1c): aspectos clínicos e analíticos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004, Vol. 48, pp. 451-463.
9. **Katarzyna Homa, Liliana Majkowska.** Difficulties in interpreting HbA1c results. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej.* 2010, Vol. 120, pp. 148-153.
10. **Blüher, Matthias.** Adipokines—removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Molecular Metabolism.* 2014, Vol. 3, pp. 230–240.
11. **Choi, Un Ju Jung and Myung-Sook.** Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int. J. Mol. Sci.* April de 2014, Vol. 15, pp. 6184-6223.
12. **Longbiao Yao, Oana Herlea-Pana, Janet Heuser-Baker, Yitong Chen, and Jana Barlic-Dicen.** Roles of the Chemokine System in Development of Obesity, Insulin Resistance, and Cardiovascular Disease. *Journal of Immunology Research.* March de 2014, pp. 1-11.
13. **Jentsch AM, Bachmann H, Furst P, Biesalski HK.** Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med.* 1996, Vol. 20, pp. 251–256.
14. **Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER.** Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1990, Vol. 186, pp. 464-78.
15. **Bruno Geloneze, Ana Carolina Junqueira Vasques, Christiane França Camargo Stabe, José Carlos Pareja, Lina Enriqueta Frandsen Paez de Lima Rosado, Elaine Cristina de Queiroz, Marcos Antonio Tambascia, BRAMS Investigators.** HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome – Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009, Vol. 53, pp. 281-287.
16. **Joon Young Kim, Michael I. Goran, Claudia M. Toledo-Corral, Marc J. Weigensberg, Myunghan Choi, Gabriel Q. Shaibi.** One-Hour Glucose During an Oral Glucose Challenge Prospectively Predicts b-Cell Deterioration and Prediabetes in Obese Hispanic Youth. *Diabetes Care.* 2013, Vol. 36, pp. 1681–1686.

17. **DCCT.** The Diabetes Control and Complications Trial Research Group . *N Engl J Med.* 1993, Vol. 329, pp. 977-86.
18. **Group, U.K. Prospective Diabetes Study (UKPDS).** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 1998, Vol. 352, pp. 837-51.
19. **KayTee Khaw, Nicholas Wareham, Robert Luben, Sheila Bingham, Suzy Oakes, Ailsa Welch, Nicholas Day.** Glycated haemoglobin, diabetes, and mortality in men in Norfolk cohort of European Prospective Investigation of Cancer and Nutrition (EPICNorfolk). *BMJ.* 2001, Vol. 322, pp. 1-6.
20. **Americam Diabetes Association.** Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2008, Vol. 31, pp. S55-S60.
21. **Muhammad A. Abdul-Ghani, Christopher P. Jenkinson, Dawn K. Richardson, Devjit Tripathy, and Ralph A. DeFronzo.** Insulin Secretion and Action in Subjects With Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance. *Diabetes.* 2006, Vol. 55, pp. 1430-1435.
22. **Guillausseau P.J, Meas T, Virally M, Laloï-Michelin M, Médeau V, Kevorkian J. P.** Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism.* 2008, Vol. 34, pp. S43-S48.
23. **Ferrannini, E. e Mari, A.** Beta cell function and its relation to insulin action in humans: a critical appraisal. *Diabetologia.* 2004, Vol. 47, pp. 943–956.
24. **Kathrin Maedler, Pavel Sergeev, Frédéric Ris, José Oberholzer, Helen I. Joller-Jemelka, Giatgen A. Spinas, Nurit Kaiser, Philippe A. Halban, and Marc Y. Donath.** Glucose-induced β cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J. Clin. Invest.* 2002, Vol. 110, pp. 851–860.
25. **Kathrin Maedler*, Pavel Sergeev, Jan A. Ehses, Zoltan Mathe, Domenico Bosco, Thierry Berney, Jean-Michel Dayer, Manfred Reinecke, Philippe A. Halban, and Marc Y. Donath.** Leptin modulates B cell expression of IL-1 receptor antagonist and release of IL-1B in human islets. *PNAS.* 2004, Vol. 101, pp. 8138–8143.
26. **Jorge Luiz Gross, Sandra R.G. Ferreira, José Egídio de Oliveira.** Glicemia Pós-Prandial. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003, Vol. 47, pp. 728-738.
27. **Simona Cernea, Minodora Dobreanu.** Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochimica Medica.* 2013, Vol. 23, pp. 266–80.
28. **Ralph A. DeFrpnzo, Riccardo C. Bonadonna, Eleuterio Ferrannini.** Pathogenesis of NIDDM. A Balanced Overview. *Diabetes Care.* 1992, Vol. 15, pp. 318-368.
29. **Vincent Poitout, R. Paul Robertson.** Glucolipototoxicity: Fuel Excess and B-Cell Dysfunction. *Endocrine Reviews.* 2008, Vol. 29, pp. 351–366.
30. **Ramana, Kota V.** ALDOSE REDUCTASE: New Insights for an Old Enzyme. *Biomol Concepts.* april de 2011, Vol. 2, pp. 103–114.
31. **Takashi Yokota, Shintaro Kinugawa, Mayumi Yamato, Kagami Hirabayashi, Tadashi Suga, Shingo Takada, Kuniaki Harada, Noriteru Morita, Noriko Oyama-Manabe, Yasuka Kikuchi, Koichi Okita, Hiroyuki Tsutsui.** Systemic Oxidative Stress Is Associated With Lower Aerobic Capacity and Impaired Skeletal Muscle Energy Metabolism in Patients With Metabolic Syndrome. *Diabetes Care.* 2013, Vol. 36, pp. 1341-1346.
32. **Amir Tirosh, Iris Shai, Dorit Tekes-Manova, Eran Israeli, David Pereg, Tzipora Shochat, Ilan Kochba, Assaf Rudich.** Normal Fasting Plasma Glucose Levels and Type 2 Diabetes in Young Men. *N Engl J Med.* 2005, Vol. 353, pp. 1454-62.

33. **Anny H. Xiang, Miwa Kawakubo, Enrique Trigo, Siri L. Kjos, Thomas A. Buchanan.** Declining B-Cell Compensation for Insulin Resistance in Hispanic Women With Recent Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* . 2010, Vol. 33, pp. 396-401.
34. **Laaksonen D.E, Niskanen L, Nyssönen K, Punnonen K, Tuomainen T. P, Valkonen V. P, Salonen R, Salonen J.T.** C-reactive protein and the development of the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetologia*. 2004, Vol. 47, pp. 1403–1410.
35. **Koenig, Wolfgang.** C-Reactive Protein and Cardiovascular Risk: Has the Time Come for Screening the General Population? *Clinical Chemistry*. 2001, Vol. 47, pp. 9-10.
36. **Kaur, Jaspinder.** A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*. 2014, pp. 1-21.
37. **Jose Manuel Fernandez-Real, Wifredo Ricart.** Insulin Resistance and Chronic Cardiovascular Inflammatory Syndrome. *Endocrine Reviews* . 2003, Vol. 24, pp. 278-301.
38. **Jennifer K. Pai, Tobias Pischon, Jing Ma, JoAnn E. Manson, Susan E. Hankinson, Kaumudi JSHIPURA, Gary C. Curhan, Nader Rifai, Carolyn C. Cannuscio, Meir J. Stampfer, Eric B. Rimm.** Inflammatory Markers and the Risk of Coronary Heart Disease in Men and Women. *N Engl J Med* . 2004, Vol. 351, pp. 2599-610.

Table 1- Anthropometric and biochemical characteristics, MDA and carbonyl protein of subjects FH- or FH+

	FH-	FH+	<i>P</i>
Number	24	30	
Sex (F/M)	18/6	24/6	
Race (W/B)	15/9	22/8	
Age (years)	46.50(44-49)	49(44-51)	0.14
BMI (Kg/m ²)	28.50(27-3)	28.50(27-30.5)	0.92
Waist (cm)	90(83-99.5)	90.50(88-99)	0.42
Insulin (uUI/ml)	11.50(7.5-13)	12.50(8-17)	0.30
T. Chol (mg/dl)	213(193-226)	206.50(178-246)	0.86
HDL (mg/dl)	58(46-67)	55(49-63)	0.95
TG (mg/dl)	108(70.5-160)	111.50(85-178)	0.74
LDL (mg/dl)	127.20(107.50-143.30)	124.10(105-162.20)	0.82
Hb (g/dl)	13.45(12.7-14.1)	13.50(13-14.1)	0.82
MDA (nmol/mg)	38.29(31.1-43.8)	34.30(26.45-40.07)	0.37
	(n:15)	(n:15)	
CP (nmol/mg))	0.49(0.41-0.56)	0.55(0.44-0.69)	0.19
	(n:15)	(n:15)	

Data are median (range). BMI= body mass index,CP= carbonyl protein, MDA=malondialdehyde, Hb= hemoglobin, LDL=low density lipoprotein,HDL= high density lipoprotein,TG=triglycerides,T.Chol= total cholesterol, FH= family history

Table 2- Plasma glucose curve, HbA1c, CRP and HOMA-IR of subjects FH- or FH+

Parameters	FH-	FH+	<i>P</i>
Number	24	30	
Glucose(mg\dl)			
Fasting	95(89-102)	99(93-108)	0.29
30 min.	145.5(128-167)	161(147-175)	0.09
60 min.	123.50(108.5-182)	142.50(119-172)	0.30
120 min.	106.50(83.5-127.5)	113(97-130)	0.44
HbA1c (%)	5.10(5-5.3)	5.30(5-5.4)	0.09
CRP (mg/L)	2.73(1.05-5.72)	3.80(1.62-8.9)	0.32
HOMA-IR	2.6(1.89-3.29)	2.95(2.01-4.21)	0.27

Data are median (range). CRP= C-Reactive Protein, HbA1c=glycohemoglobin, HOMA-IR=Homeostatic Model Assessment, FH=family history

Table 3- Anthropometric and biochemical characteristics, MDA and carbonyl protein of subjects with 1h-OGTT>fasting glycemia and prediabetes

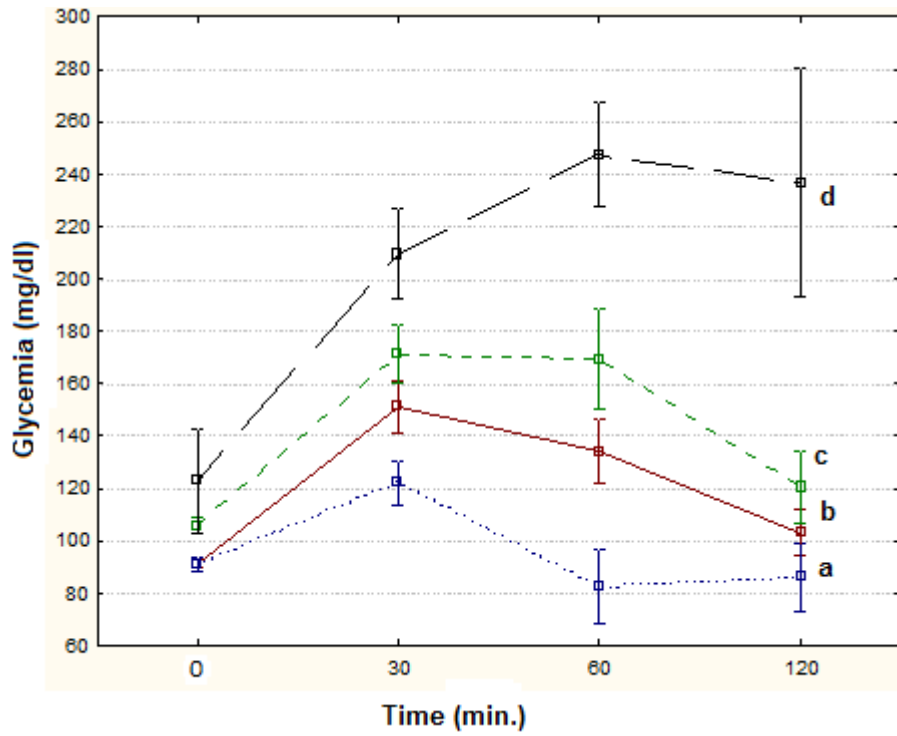
Parameters	1h-OGTT>FG	Prediabetes	P
Number	22	26	
Sex(F/M)	19/3	18/8	
Race(W/B)	16/6	17/9	
Age(years)	48(44-51)	49(46-53)	0.32
BMI (Kg/m ²)	28.46(26.29-30.47)	29.85(27.16-32.79)	0.19
Waist(cm)	88(83-93)	93(88-104)	0.05
Insulin(uUI/ml)	11(8-13)	13(10-18)	0.04*
T.Chol(mg/dl)	194(172-230)	218.50(191-244)	0.10
HDL(mg/dl)	55(48-64)	54(45-62)	0.37
TG(mg/dl)	94.50(73-139)	137.50(85-192)	0.09
LDL(mg/dl)	113.60(89.20-148)	131(114.20-151.80)	0.17
Hb(g/dl)	13.50(12.9-13.8)	13.80(13-15.10)	0.38
MDA(nmol/mg)	38.23(31.1-42.9)	29.5(26.25-35.85)	0.08
	(n:15)	(n:15)	
CP(nmol/mg)	0.48(0.42-0.58)	0.57(0.5-0.76)	0.02*
	(n:15)	(n:15)	

Data are median (range). BMI= body mass index, Hb=hemoglobin, CP= carbonyl protein,MDA=malondialdehyde, T.Chol= total cholesterol, HDL= high density lipoprotein, LDL=low density lipoprotein, FG= Fasting Glycemia, TG= triglycerides, *= statistical significance

Table 4- Plasma glucose curve, HbA1c, CRP and HOMA-IR of subjects with 1h-OGTT>fasting glycemia and prediabetes

Parameters	1h-OGTT>FG	Pre-diabetes	<i>P</i>
Number	22	26	
Glycemia (mg\dl)			
Fasting	93(88-96)	106(101-112)	0.00*
30 min.	150.50(134-166)	163(149-196)	0.02*
60 min.	122(113-150)	169(134-197)	0.00*
120 min.	103.50(89-116)	124(106-144)	0.02*
HbA1c (%)	5.15(4.8-5.4)	5.20(5.10-5.4)	0.17
CRP (mg/L)	3.70(1.8-8.9)	3.96(1.45-7.13)	0.38
HOMA-IR	2.45(1.93-2.95)	3.30(2.51-5.02)	0.00*

Data are median (range). HbA1c=glycohemoglobin; CRP=C-Reactive Protein; HOMA-IR= Homeostatic Model Assessment-IR; FG=Fasting Glycemia
 * = statistical significance



**Fig. 1- Shape of plasma glucose curve in subjects with
 (a) 1h-OGTT ≤ fasting glycemia, (b) 1h-OGTT > fasting glycemia,
 (c) prediabetes and (d) diabetes**

CONCLUSÃO

Considerando que estes resultados contribuem para identificar as características metabólicas, em indivíduos que apresentam alterações na primeira hora da curva glicêmica, e as características metabólicas dos indivíduos com o diagnóstico, estabelecido, de pré-diabetes, torna-se importante pontuar as seguintes observações:

1. A mediana da glicohemoglobina e da proteína c reativa encontrados nos pacientes com pré-diabetes são 5.20% e 3.96 mg/L, respectivamente. Estes pacientes apresentam elevação da glicemia em 30,60 e 120 minutos, acima da glicemia em jejum.
2. O nível da glicohemoglobina e da proteína C reativa encontrados nos indivíduos sem pré-diabetes, mas que apresentavam a glicemia em 30 e 60 minutos na curva glicêmica, acima da glicemia de jejum, não diferiram da glicohemoglobina e da proteína C reativa encontradas em indivíduos com pré-diabetes.
3. O nível do marcador da peroxidação lipídica, malondialdeído, não diferiu entre os grupos com pré-diabetes e sem pré-diabetes mas com a glicemia 1h-TTGO > glicemia de jejum. Entretanto o nível do marcador da carbonilação proteica, proteína carbonil, foi mais alto, significativamente, no grupo de indivíduos com pré-diabetes. Não houve diferença desses marcadores entre os grupos com HF+ e HF- para diabetes mellitus.
4. O perfil lipídico encontrado nos indivíduos sem pré-diabetes e com a glicemia 1h-TTGO > glicemia de jejum, não diferiu significativamente daquele encontrado nos indivíduos com pré-diabetes.
5. A insulinemia basal e o índice HOMA-IR foram maiores nos indivíduos com pré-diabetes do que nos indivíduos sem pré-diabetes e com a glicemia 1h-TTGO > glicemia de jejum.

Os resultados encontrados neste estudo permitem concluir que os pacientes que apresentam a glicemia em 30 e 60min. após a sobrecarga oral com glicose, acima dos valores da glicemia de jejum, também apresentam marcadores de inflamação de baixo grau e de média glicêmica, nos últimos 3 meses, semelhantes aos indivíduos com o diagnóstico de pré-diabetes. Os níveis de proteína C reativa e de glicohemoglobina encontrados nesses pacientes, também são preditores de maior risco cardiovascular e de diabetes. Os níveis de glicohemoglobina encontrados nos indivíduos com pré-diabetes em nossa região, são mais baixos do que os níveis recomendados pela American Diabetes Association para o diagnóstico de pré-diabetes.

Finalmente, sugerimos um estudo de Coorte, para conhecer a evolução clínica dos indivíduos que não apresentam pré-diabetes, e que apresentam as glicemias da primeira hora da curva glicêmica, acima da glicemia de jejum.

REFERÊNCIAS

ABDUL-GHANI, M. A. et al. Insulin Secretion and Action in Subjects With Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance Results From the Veterans Administration Genetic Epidemiology Study. **Diabetes**, v. 55, p.1430–1435, 2006.

ABDUL-GHANI M. A.; STERN, P. M. et al. Minimal Contribution of Fasting Hyperglycemia to the Incidence of Type 2 Diabetes in Subjects With Normal 2-h Plasma Glucose. **Diabetes Care**, v. 33, p. 557–561, 2010.

ABDUL-GHANI, M.A.; JENKINSON, C. P. et al. Insulin secretion and action in subjects with impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: results from the Veterans Administration Genetic Epidemiology Study. **Diabetes**, v. 55, p. 1430–1435, 2006.

ABDUL-GHANI, M. A.; LYSSSENKO, V. The shape of plasma glucose concentration curve during OGTT predicts future risk of type 2 diabetes. **Diabetes Metab Res Rev** , v. 26, p. 280–286, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION(ADA). Standards of Medical Care in Diabetes—2010. **Diabetes Care**, v. 33 (suppl), s11-61, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION(ADA). Position Statement. **Diabetes Care**, v. 31, supplement 1, s55-s60, 2008.

BIANCA, M. S. et al. The role of uncoupling protein 2 (UCP2) on the development of type 2 diabetes mellitus and its chronic complications. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 55, p. 239-248, 2011.

BOSI, P. L. et al. Prevalência de diabetes mellitus e tolerância à glicose diminuída na população urbana de 30 a 79 anos da cidade de São Carlos, São Paulo. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.53, p. 726-732, 2009.

BRY, L.; CHEN, P. C.; SACKS, D. B. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. **Clin Chem**, v. 47, p. 153-163, 2001.

CAMARGO, J. L.; GROSS, J. L. Glico-Hemoglobina (HbA1c): Aspectos Clínicos e Analíticos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 48, p. 451-463, 2004.

CAMPFIELD, L. A. et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, v. 269, p. 546-549, 1995.

CERNEA S.; DOBREANU M. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. **Biochemia Medica**, v. 23, P. 266-280, 2013.

CLAUS, M. L. et al. Interleukin-1–Receptor Antagonist in Type 2 Diabetes Mellitus. **N Engl J Med**, v. 356, p. 517-526, 2007.

DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. (DCCT) The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med**, v. 329, p. 977-986, 1993.

DIABETES PREVENTION PROGRAM (DPP) RESEARCH GROUP. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. **N Engl J Med**, v. 346, p. 393-403, 2002.

DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES(SBD). Epidemiologia e prevenção do diabetes mellitus. **Diretrizes SBD**, p. 01-04, 2013.

DEBORAH, M. M.; CHRISTOPHER, B. N. Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β cell failure in type 2 diabetes. **Molecular Cell Biology**, v. 9, p. 193- 205, 2008.

DeFRONZO, R.; ABDUL-GHANI, M. A. Assessment and Treatment of Cardiovascular Risk in Prediabetes: Impaired Glucose Tolerance and Impaired Fasting Glucose. **Am J Cardiol**; v.108[suppl], p. 3B–24B, 2011.

EDUARDO, F. et al. Mechanisms of Chronic State of Inflammation as Mediators That Link Obese Adipose Tissue and Metabolic Syndrome. **Mediators of Inflammation**, v. 2013, p. 01-12, 2013.

EVANS, J. L. et al. Are Oxidative Stress-Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β Cell Dysfunction ? **Diabetes**, v. 52, p. 1–8, 2003.

FERNANDEZ-REAL, J. M.; RICART W. Insulin Resistance and Chronic Cardiovascular Inflammatory Syndrome. **Endocrine Reviews**, v. 24, p. 278–301, 2003.

GOODARZ, D. et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. **Lancet**, v. 378, p. 31-40, 2011.

GUILLAUSSEAU, P.J. et al. Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. **Diabetes & Metabolism**, v. 34, p. S43-S48, 2008.

HUEBSCHMANN, A. G. et al. Diabetes and Advanced Glycoxidation End Products. **Diabetes Care**, v. 29, p. 1420-1432, 2006.

JASPINDER, K. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. **Cardiology Research and Practice**, v. 2014, p. 01-22, 2014.

JOHANSEN, J. S. et al. Oxidative stress and the use of antioxidants in Diabetes: Linking basic science to clinical practice. **Cardiovascular Diabetology**, v. 4, p. 1-11, 2005.

KATARZYNA H.; LILIANA M. Difficulties in interpreting HbA1c results. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej**, v.120, p.148-153, 2010.

KAHN, S. E. The relative contributions of insulin resistance and β cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 46, p. 3–19, 2003.

KHAW, K-T. et al. Glycated haemoglobin, diabetes, and mortality in men in Norfolk cohort of European Prospective Investigation of Cancer and Nutrition (EPIC-Norfolk). **BMJ**, v. 322, p. 1-6, 2001.

KOENIG, W. C-Reactive Protein and Cardiovascular Risk: Has the Time come for Screening the General Population? Editorial. **Clinical Chemistry**, v. 47 (1), 2001.

LAAKSONEN, D. E. C-reactive protein and the development of the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. **Diabetologia**, v. 47, p.1403–1410, 2004.

LEHNINGER. PRINCÍPIOS DE BIOQUÍMICA. Regulação pela glicose, da secreção de insulina nas células β pancreáticas. **5ª Edição**, p. 924; 440-442, 2011.

LONGBIAO, Y. et al. Roles of the Chemokine System in Development of Obesity, Insulin Resistance, and Cardiovascular Disease. **Journal of Immunology Research**, v. 2014, p. 01-11, 2014.

LORD, G. M. et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. **Nature**, v. 394, p. 897-901, 1998.

MAEDLER, K. et al. Leptin modulates γ cell expression of IL-1 receptor antagonist and release of IL-1 β in human islets. **PNAS**, v.101, p. 8138-8143, 2004.

MALERBI, D.; FRANCO, L. J. the Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30 a 69 years. **Diabetes Care**, v. 15, p. 1509-1516, 1992.

MARTI, A.; MARCOS, A.; MARTINEZ, J. Obesity and immune function relationships. **Obesity Reviews**, v. 2, p. 131-140, 2001.

MATTHIAS, B. Clinical Relevance of Adipokines. **Diabetes Metab J**, v. 36, 317-327, 2012.

MATTHIAS, B. Adipokines –removing road blocks to obesity and diabetes therapy. **Molecular Metabolism**, v. 3, p. 230-240, 2014.

MICHAEL BERGMAN. Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus. **Endocrine**, v. 43, p. 554-513, 2013.

MORAES, A. S. et al. Prevalência de diabetes mellitus e identificação de fatores associados em adultos residentes em área urbana de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil 2006: Projeto OBEDIARP. **Cad Saúde Pública**, v. 26, p. 929-941, 2010.

OLSON, D. E. et al Screening for Diabetes and Pre-Diabetes With Proposed A1C-Based Diagnostic Criteria. **Diabetes Care**, v. 33, p. 2184–2189, 2010.

OTTO, C. et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. **Redox Biology**, v. 2, p. 411–429, 2014.

OUCHI, N. et al. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. **Current Opinion in Lipidology**, v. 14, p. 561-566, 2003.

POITOUT, V.; ROBERTSON R. P. Glucolipotoxicity: Fuel Excess and β Cell Dysfunction. **Endocrine Reviews**, v. 29, p. 351–366, 2008.

POULOS, S.P.; HAUSMAN, D.B.; HAUSMAN, G. J. The development and endocrine functions of adipose tissue. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 323, n. 1, p. 20-34, 2010.

RAMANA, K. V. Aldose Reductase: New Insights for an Old Enzyme. **Biomol Concepts**, April 1; 2(1-2): 103–114, 2011.

RIDKER, P. M. High-sensitivity C-reactive protein. Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 103, p. 1813-1818, 2001.

ROBERTSON, R. P. et al. Preservation of insulin mRNA levels and insulin secretion in HIT cells by avoidance of chronic exposure to high glucose concentrations. **J Clin Invest**, v. 90, p. 320–325, 1992.

ROHLFING, C. L. et al. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. Analysis of glucose profiles and HbA1c in the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes Care**, v. 25, p. 275-278, 2002.

RONTI, T.; LUPATTELLI, G.; MANNARIANO, E. The endocrine function of adipose tissue: an up date. **Clinical Endocrinology**, v. 64, p. 355-365, 2006.

ROSSETTI, L.; GIACCARI, A.; DeFRONZO, R.A. Glucose Toxicity. **Diabetes Care**, v. 13, p. 610-630, 1990.

SCHOFIELD, C. J.; SUTHERLAND, C. Disordered insulin secretion in the development of insulin resistance and Type 2 diabetes. **Diabet. Med**, v. 29, p. 972–979, 2012.

SHANNON, D. S. et al. Genetic Risk of Progression to Type 2 Diabetes and Response to Intensive Lifestyle or Metformin in Prediabetic Women With and Without a History of Gestational Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 37, p. 909-911, 2014.

TANAKA Y. et al. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic β cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 99, p.12363–12368, 2002.

TIROSH, A. et al. Normal Fasting Plasma Glucose Levels and Type 2 Diabetes in Young Men. **N Engl J Med** , v. 353, p.1454-1462, 2005.

TOSS, H. et al. Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. **Circulation**, v. 96, p. 4204-4210, 1997.

U.K. PROSPECTIVE DIABETES STUDY 16 (UKPDS). Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. **Diabetes**, v. 44, p. 1249 –1258, 1995.

UN JU JUNG ; CHOI, M-S. Obesity and Its Metabolic Complications:The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Int. J. Mol. Sci**, v. 15, p. 6184-6223, 2014.

WEIR,G. C.; BONNER-WEIR S. Five stages of evolving b-cell dysfunction during progression to diabetes. **Diabetes**, v. 53 (12, suppl 3), p. S16–S21, 2004.

XIANG, A. et al. Declining β -Cell Compensation for Insulin Resistance in Hispanic Women With Recent Gestational Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 33, p. 396-401, 2010.

YABE-NISHIMURA, C . Aldose Reductase in Glucose Toxicity: A Potential Target for the Prevention of Diabetic Complications. **Pharmacological Reviews**, v. 50, p. 21-33, 1998.

YAMAGISHI, S et al., Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes. **Biochim. Biophys. Acta**, 2011.

YOKOTA, T. et al. Systemic Oxidative Stress Is Associated With Lower Aerobic Capacity and Impaired Skeletal Muscle Energy Metabolism in Patients With Metabolic Syndrome. **Diabetes Care**, v. 36, p. 1341–1346, 2013.

ZAMBONI, M. et al. Adiponectin gene expression and adipocyte NF-KB transcriptional activity in elderly overweight and obese women: inter- relationships with fat distribution, hs-CRP, leptin and insulin resistance. **International Journal of Obesity**, v. 31, p. 1104–1109, 2007.

ANEXO A

CARTA DE APROVAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA MARIA/ PRÓ-REITORIA
DE PÓS-GRADUAÇÃO E



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação dos níveis de Glicohemoglobina (A1c), Curvas Glicêmicas e Proteína C Reativa (PCR) como complementares para o diagnóstico de pré-diabetes

Pesquisador: Vera Maria Melchior Morsch

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 11897012.0.0000.5346

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 203.902

Data da Relatoria: 25/01/2013

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

os termos estão adequados

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

aprovar o projeto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SANTA MARIA, 24 de Fevereiro de 2013

Assinador por:
Félix Alexandre Antunes Soares
(Coordenador)