



ELEONORA BELTRAME COMUCCI

**“NÍVEIS SÉRICOS DA PROTEÍNA CARREADORA DO RETINOL 4 E
RISCO CARDIOVASCULAR NO DIABETES MELLITUS TIPO 2.”**

**CAMPINAS
2012**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ELEONORA BELTRAME COMUCCI

**“NÍVEIS SÉRICOS DA PROTEÍNA CARREADORA DO RETINOL 4 E
RISCO CARDIOVASCULAR NO DIABETES MELLITUS TIPO 2.”**

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). MARCOS ANTONIO TAMBASCIA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas para obtenção de título de Mestre em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO/ TESE DEFENDIDA PELA ALUNA ELEONORA BELTRAME COMUCCI E ORIENTADO PELO PROF. DR. MARCOS ANTONIO TAMBASCIA.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS
2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

C739n Comucci, Eleonora Beltrame, 1985-
Níveis séricos da proteína carreadora do retinol 4 e
risco cardiovascular no diabetes mellitus tipo 2 / Eleonora
Beltrame Comucci. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012.

Orientador : Marcos Antonio Tambascia.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Obesidade. 2. Síndrome X metabólica. 3.
Resistência à insulina. 4. Mulheres. 5. Pré-Menopausa.
I. Tambascia, Marcos Antonio, 1948-. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Serum levels of retinol-binding protein 4 and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus.

Palavras-chave em inglês:

Obesity

Metabolic syndrome X

Insulin resistance

Women

Premenopause

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Mestre em Clínica Médica

Banca examinadora:

Marcos Antonio Tambascia [Orientador]

João Eduardo Nunes Salles

Andrei Carvalho Sposito

Data da defesa: 23-10-2012

Programa de Pós-Graduação: Clínica Médica

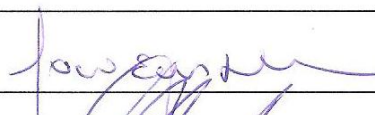
Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Eleonora Beltrame Comucci

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Tambascia

Membros:

1. Prof. Dr. João Eduardo Nunes Salles



2. Prof. Dr. Andrei Carvalho Sposito



3. Prof. Dr. Marcos Antonio Tambascia



Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 23/10/2012

DEDICATÓRIA

Aos meus Pais, Olga e Alceste;

À minha Companheira, Maria Carolina;

À minha Madrinha, Ana Regina in memoriam.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Marcos Antonio Tambascia, meu Orientador, por abrir as portas da Universidade Estadual de Campinas contribuindo para meu crescimento profissional.

Aos Professores Dr. Bruno Geloneze Neto e José Carlos Pareja, pelo acolhimento.

Ao Professor Dr. Gabriel Forato Anhê, pela valiosa contribuição no aprimoramento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Ricardo de Lima Zollner, esta conquista não seria possível sem sua colaboração.

À Adriana Peredo Lisboa, Secretária do programa de Clínica Médica, por sua paciência e atenção.

Aos amigos Ana Carolina Vasques e Antônio Calixto por todo suporte pessoal e profissional.

À equipe do LIMED: Ana Cláudia Felici, Christiane Stabe, Cleliani Silva, Daniela Schiavo, Daniella Camilo, Daniella Regiani, Fabiana Lopes, Fernanda Hirsch, Fernanda Satake, Francieli Barreiro, Gisele Lambert, Liane Rocha, Luzia de Paula, Marcelo Lima, Maria da Saúde Oliveira, Mariana Ferrari, Nathália Wlliane, Patrícia Brito, Sabrina Nagassaki, Thaís Lemes.

Às voluntárias do estudo.

Ao Gastrocentro, Faculdade de Ciências Médicas e à Universidade Estadual de Campinas, estar aqui é um sonho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

“O mundo me intriga e não posso imaginar que este relógio exista e não haja relojoeiro.”

Voltaire

RESUMO

Objetivos: avaliar os níveis séricos de RBP4 em pacientes obesas diabéticas em comparação a pacientes não diabéticas na pré-menopausa. Avaliar a correlação da concentração sérica de RBP4 com marcadores bem estabelecidos de RI e SM. Comparar entre os grupos a porcentagem de gordura corporal (%GC) e espessura da camada íntima-média carotídea (EIMC), verificando a influência do DM2 nos grupos.

Métodos: foram avaliadas mulheres (n = 139) divididas em três grupos: Grupo 1 (Controles; n = 45); Grupo 2 (Obesas; n = 53); Grupo 3 (Obesas DM2; n = 41), denominados G1, G2 e G3. Foram avaliados parâmetros bioquímicos, antropométricos e de composição corporal.

Resultados: houve diferença estatística significativa entre os grupos nos parâmetros relativos à caracterização da amostra quanto aos perfis esperados da síndrome metabólica, DM2 e obesidade. Porém, os níveis de RBP4 não se comportaram como esperado se comparado aos primeiros estudos à respeito da proteína carreadora do retinol.

Conclusões: A RPB4 não se mostrou um bom marcador de RI e risco cardiovascular, pois entre os grupos sua distribuição não foi uniforme. De acordo com a análise dos dados obtivemos em G1 correlações positivas da RBP4 com IMC ($p < 0,05$), hemoglobina glicada ($p < 0,05$), insulinemia de jejum ($p < 0,05$); em G2 com hemoglobina glicada ($p < 0,01$); G3 com hemoglobina glicada ($p < 0,05$), glicemia de jejum ($p < 0,01$), HOMA-IR ($p < 0,01$).

ABSTRACT

Objectives: to evaluate the levels of serum RBP4 in premenopausal obese diabetic patients compared with nondiabetic patients. To evaluate the correlation between serum RBP4 with well-established markers of IR and MS. Compare between groups the percentage of body fat (% BF) and thickness of carotid intima-media (CIMT), checking the influence of T2DM into groups.

Methods: We evaluated 139 women which were divided into 3 groups: Group 1 (Control, n = 45), Group 2 (obese, n = 53) and group 3 (obese T2DM, n = 41), known as G1, G2 and G3. We assessed biochemical, anthropometric and body composition parameters.

Results: There was no statistically significant difference between groups in the parameters for sample characterization regarding the expected profiles of metabolic syndrome, type 2 diabetes and obesity. However, RBP4 levels did not behave as expected when compared to the first studies about the retinol-binding protein.

Conclusions: The RPB4 is not a good marker of IR and cardiovascular risk, because distribution between the groups was not uniform. According to data analysis, we obtained in G1 positive correlations of RBP4 with BMI ($p < 0.05$), and glycated hemoglobin ($p < 0.05$), fasting insulin ($p < 0.05$); in G2 with glycated hemoglobin ($p < 0.01$); G3 with glycated hemoglobin ($p < 0.05$), fasting glucose ($p < 0.01$), HOMA-IR ($p < 0.01$).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, GÁFICOS e TABELAS

Figura 1. Causas da obesidade. Natureza multifatorial da obesidade.....	22
Figura 2. Adipoquinas secretadas pelo TA.....	28
Figura 3. Cromossomo 10. Localização do gene da RBP4 (10q23.33).....	32
Figura 4. Mecanismo de ação da RBP4 em animais knockout GLUT4.	35
Figura 5. Mecanismo de transporte do retinol através da membrana celular.....	39
Figura 6. Células Pancreáticas. Adaptado de:.....	44
Figura 7. Interação entre sinalização da insulina e vias inflamatórias.	45
Quadro 1 – Valores de glicose plasmática (mg/dL) para diagnóstico de <i>diabetes mellitus</i> e estágios pré-clínicos	64
Quadro 2 – Protocolo para a realização do teste de bioimpedância.....	67
Figura 8. Bioimpedância tetrapolar.	68
Figura 9. Corte histológico da artéria carótida.....	71
Figura 10. Ultrassom de carótida.....	72
Tabela 1. Comparação de médias entre grupos – antropometria e EIMC.....	77
Tabela 2. Comparação de médias entre grupos – parâmetros bioquímicos	79
Gráfico 1. Distribuição de idades entre G1, G2 e G3.	80
Gráfico 2. Distribuição do IMC entre G1, G2 e G3.	81
Gráfico 3. Distribuição das medidas da EIMC entre G1, G2 e G3.....	82

Gráfico 4. Distribuição das medidas de circunferência do pescoço entre G1, G2 e G3.	83
Gráfico 5. Distribuição das medidas de circunferência da cintura entre G1, G2 e G3.	84
Gráfico 6. Distribuição das medidas de circunferência do quadril entre G1, G2 e G3.	85
Gráfico 7. Distribuição das medidas de diâmetro abdominal sagital entre G1, G2 e G3.	86
Gráfico 8. Relação cintura-quadril entre G1, G2 e G3.	87
Gráfico 9. Distribuição do percentual de gordura corporal entre G1, G2 e G3.	88
Gráfico 10. Distribuição da concentração de RBP4 entre G1, G2 e G3.	89
Gráfico 11. Distribuição da concentração de hemoglobina glicada entre G1, G2 e G3.	90
Gráfico 12. Concentração da glicemia em jejum a entre G1, G2 e G3.	91
Gráfico 13. Distribuição dos níveis de insulina entre G1, G2 e G3.	92
Gráfico 14. Índice HOMA-IR entre G1, G2 e G3.	93
Gráfico 15. Níveis de colesterol total, HDL e LDL colesterol em G1, G2 e G3,	94
Gráfico 16. Níveis séricos de triglicérides em G1, G2 e G3.	95
Gráfico 17. Níveis de GGT em G1, G2 e G3.	96
Gráfico 18. Níveis de AST e ALT em G1, G2 e G3.	97
Gráfico 19. Correlação entre os níveis de RBP4 e IMC.	98
Gráfico 20. Correlação entre os níveis de RBP4 e hemoglobina glicada (%)	99
Gráfico 21. Correlação entre os níveis de RBP4 e insulina.	100
Gráfico 22. Correlação entre os níveis de RBP4 e glicemia de jejum.	101

Gráfico 23. Correlação entre os níveis de RBP4 e HOMA-IR.	102
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

% GC	Percentual de gordura corporal
ADA	American Diabetes Association
AGL	Ácidos graxos livres
ALT	Alanina aminotransferase
AR	Ácido retinóico
AST	Aspartato aminotransferase
BYPASS	Em português "desvio"
Ca	Cálcio
CoIT	Colesterol total
CRABP	Do inglês "cellular retinoic acid binding protein", em português "proteína ligante do ácido retinóico celular"
CRBP	Do inglês "cellular retinol binding protein", em português "proteína ligante do retinol celular"
DAS	Diâmetro abdominal sagital
DCV	Doença cardiovascular
DM1	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
DP	Desvio padrão

EIMC	Espessura da íntima média carotídea
ELISA	Do inglês "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay", em português "ensaio enzimático de imunoabsorção"
GGT	Gama glutamiltransferase
GIP	Do inglês "glucose-dependent insulintropic peptide", em português "polipeptídeo insulíntrópico glicose dependente"
GLP-1	Do inglês "glucagon-like peptide-1", em português "peptídeo semelhante ao glucagon 1"
GLP-2	Do inglês "glucagon-like peptide-2", em português "peptídeo semelhante ao glucagon 2"
GLUT4	Do inglês "glucose transporter type 4", em português "transportador de glicose tipo 4"
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL	Do inglês "high density lipoprotein", em português "lipoproteínas de densidade alta"
HOMA-IR	Do inglês "homeostasis model assessment insulin resistance index", em português "modelo de avaliação da homeostase - resistência à insulina"
HPLC	Do inglês "high performance liquid chromatography", em português "cromatografia líquida de alta performance"
IBGE	Instituto Brasileiro de geografia e estatística

IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
IRS-1 / 2	Do inglês "insulin receptor substrate", em português "substrato receptor de insulina"
K⁺	Potássio
LDL	Do inglês "low density lipoprotein", em português "lipoproteínas de densidade baixa"
MO	Macrófagos
NGT	Do inglês "normal glucose tolerant", em português "tolerância normal à glicose"
OGTT	Do inglês "oral glucose tolerance test", do português "teste de tolerância oral à glicose" (TTOG)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Do inglês "polymerase chain reaction", do português "reação em cadeia da polimerase"
PI3K	Do inglês "Phosphatidylinositol 3-kinase", em português "fosfatidilinositol 3- kinase"
RBP4	Do inglês "Retinol binding protein 4", em português "Proteína carreadora do retinol 4"

RCV	Risco cardiovascular
RI	Resistência à insulina
RNAm	RNA mensageiro
SM	Síndrome metabólica
SNC	sistema nervoso central
SNPs	Do inglês "single nucleotide polymorphisms", em português "polimorfismo de único nucleotídeo"
STRA6	Do inglês "stimulated by retinoic acid gene homolog 6", em português "gene homólogo estimulado pelo ácido retinóico 6"
TA	Tecido adiposo
TAV	Tecido adiposo visceral
TG	Triglicerídeos
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
V.O.	Via oral
VLDL	Do inglês "very low density lipoprotein", em português "lipoproteínas de densidade muito baixa"
WHO	Do inglês "World Health Organization", em português "organização mundial da saúde (OMS)"

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
1.1. <i>OBESIDADE – CONCEITO e EPIDEMIOLOGIA.....</i>	21
1.2. <i>O TECIDO ADIPOSEO.....</i>	24
1.1.1. <i>ADIPOCINAS E SEU PAPEL NO DESENVOLVIMENTO DE SM, DCV E DM2</i>	27
a) <i>TNF-α</i>	29
b) <i>IL-6</i>	29
c) <i>PAI-1</i>	30
d) <i>Angiotensina II</i>	30
e) <i>Adiponectina</i>	30
f) <i>Visfatina</i>	31
g) <i>Leptina</i>	31
h) <i>Proteína Carreadora do Retinol 4 (Retinol Binding Protein 4 – RPB4).....</i>	31
1.3. <i>DIABETES MELLITUS TIPO 2 e RESISTÊNCIA À INSULINA</i>	41
1.3.1. <i>Resistência à Insulina – Diagnóstico</i>	49
a) <i>Métodos indiretos:</i>	49
b) <i>Métodos diretos:</i>	52
c) <i>Outros indicadores de RI:</i>	53
1.4. <i>Doença e Risco Cardiovascular no DM2</i>	54
1.4.1. <i>Perfil Lipídico no DM2 e EIMC</i>	56
2. OBJETIVOS.....	58
2.1. <i>Objetivo principal.....</i>	59
2.2. <i>Objetivos específicos.....</i>	59

3. METODOLOGIA	60
3.1. <i>Pacientes</i>	61
3.1.1. Diagnóstico do DM2	64
3.2.1. Anamnese	65
3.2.2. Avaliação antropométrica, composição corporal.....	66
3.2.3. Análises Bioquímicas	69
3.2.3. Avaliação da RI.....	70
3.2.4. Avaliação da EIMC	70
3.3. <i>Análises estatísticas</i>	73
3.4. <i>Aspectos Éticos</i>	74
4. RESULTADOS.....	75
5. DISCUSSÃO	103
6. CONCLUSÕES	108
7. BIBLIOGRAFIA.....	110
8. ANEXOS e APÊNDICES.....	123
ANEXO 1: <i>Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - FCM / Unicamp</i>	124
ANEXO 2: <i>Comprovante de submissão de artigo científico</i>	126
APÊNDICE 1: <i>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</i>	127

1. INTRODUÇÃO

1.1. OBESIDADE – CONCEITO e EPIDEMIOLOGIA

A prevalência de DM2 tem aumentado de forma alarmante nas ultimas décadas paralelamente ao aumento da incidência de obesidade. (1)

Mundialmente, foi estimado que 1,6 bilhões de adultos (com 15 anos ou mais) estavam com sobrepeso (IMC entre 25 e 30 kg/m²) e 400 milhões estavam obesos (IMC > 30 kg/m²) em 2005. Em 2015, é esperado que haja 2,3 bilhões de indivíduos com sobrepeso e mais de 700 milhões de adultos obesos. (2)

No Brasil, segundo pesquisa do IBGE realizada em 2008 e 2009, a obesidade atinge 12,4% dos homens e 16,9% das mulheres adultos. (3)

Embora a obesidade possa ser simplesmente definida como uma desordem de excesso de gordura corporal, a maior parte dos efeitos ocorre em outros tecidos como hepático, musculoesquelético, sistema vascular, etc.

O desequilíbrio energético, principal causa da obesidade, é resultado da soma dos seguintes fatores: aumento da ingestão alimentar, diminuição do gasto de energia e capacidade de estocar ou consumir gordura. As causas são as mais variadas e estão ilustradas na (**FIG. 1**). (2)

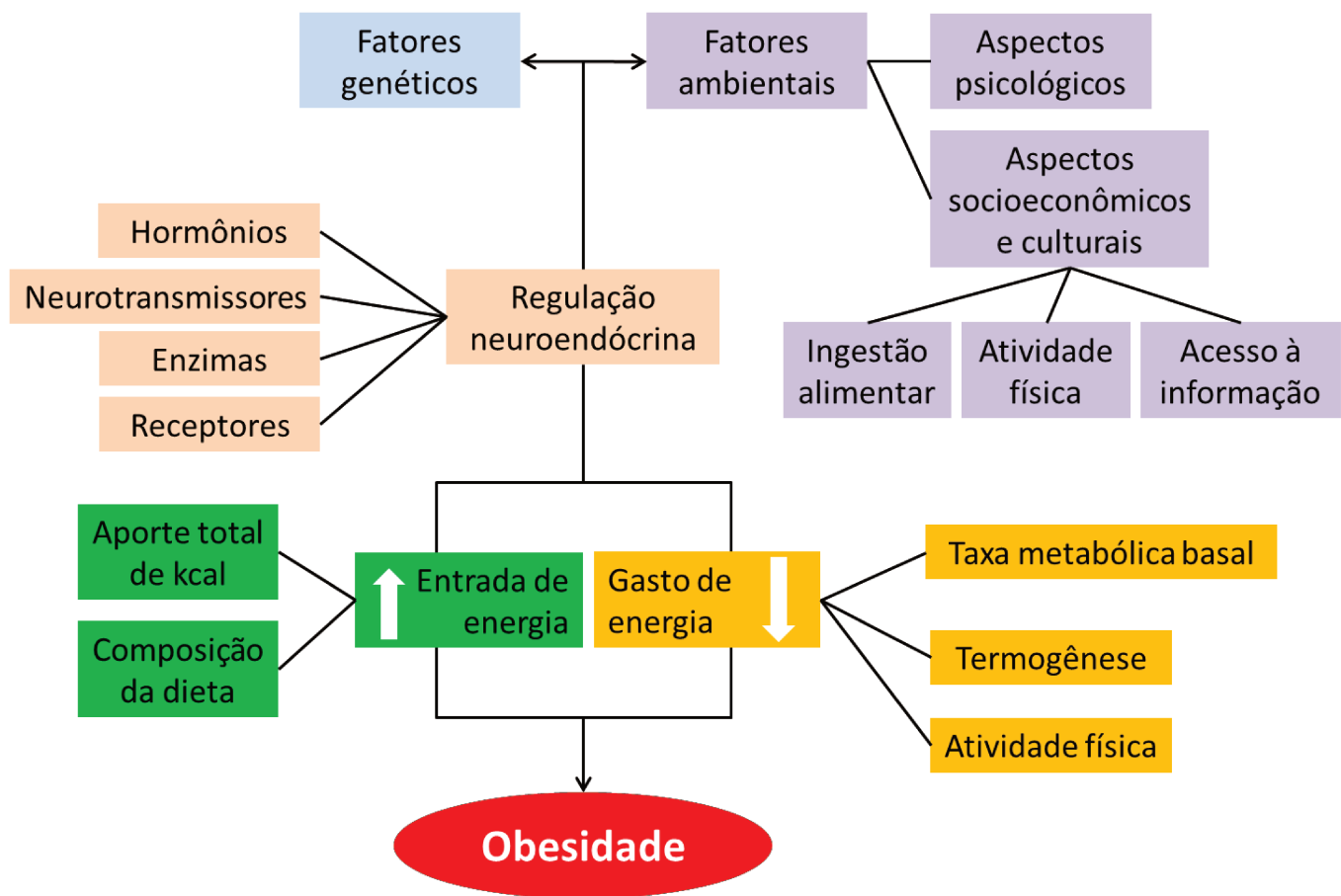


Figura 1. Causas da obesidade. Natureza multifatorial da obesidade.

A complexa etiopatogenia relacionando obesidade, DM2, HAS e dislipidemias envolve mecanismos que vão desde o aumento da RI passando pela produção, nos adipócitos, de fatores circulantes pró-inflamatórios e pró-oxidantes. (4)

A obesidade está associada com o risco aumentado de desenvolvimento de resistência à insulina, DM2 e doenças cardiovasculares através de diversos mecanismos. Estes mecanismos serão mais explorados ao longo deste trabalho.

1.2. O TECIDO ADIPOSEO

O tecido adiposo (TA) é o maior órgão endócrino do corpo humano, regulando a homeostasia da glicose, produção de esteroides, o funcionamento do sistema imune, hematopoese e a função reprodutiva. (5)

Além de ser a maior fonte de combustível do corpo, o tecido adiposo e os macrófagos (MO) contidos no mesmo são responsáveis por secretar citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo TNF- α e IL-6. (6)

O consumo de alimentos, atividade física, herança genética, fatores psicológicos, gênero e características étnicas estão entre os fatores importantes que contribuem para a quantidade e localização da distribuição do tecido adiposo. A quantidade de adipócitos reflete o balanço entre o depósito de gordura (lipogênese) e sua degradação (lipólise). Os lipídios contam 85% do peso do tecido adiposo, e 95% do conteúdo dos adipócitos é preenchido por TG. Os 5% restantes são água e proteínas, incluindo adipoquinas – fatores endócrinos e parácrinos, incluindo membros da família das citocinas. (6)

Os adipócitos têm origem das células tronco mesenquimais, entretanto possuem aspectos morfológicos e funcionais diferentes. Deste modo, os adipócitos da região intra-abdominal têm pouca capacidade de proliferação e diferenciação, mas possuem maior capacidade de aumentar seu volume do que os adipócitos da região subcutânea periférica. Por possuírem menor número de receptores de insulina, são mais resistentes à ela e portanto mais lipolíticos. Por outro lado, exibem mais receptores β -adrenérgicos e respondem aos estímulos

catecolaminérgicos com aumento da lipólise e liberação de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol. Em suma, estes adipócitos têm menos capacidade de armazenar gordura. (7)

Na região periférica os adipócitos são menores em tamanho, porém mais diferenciáveis e proliferativos. São mais sensíveis a insulina e apresentam menos receptores β -adrenérgicos e mais receptores α -1-adrenérgicos. Assim são menos lipolíticos. O que significa dizer que possuem alta capacidade de estocar gordura. (7)

Apesar de forte relação epidemiológica o excesso de peso não explica todo o risco no desenvolvimento do DM2. Jean Vague, em 1947, iniciou estudos que deixaram evidentes que a obesidade central estava mais relacionada ao DM2 do que a obesidade periférica, ou seja, indivíduos com maior relação cintura-quadril ou circunferência abdominal. (8) É necessário, porém, avaliar através de métodos de imagem mais complexos onde, se no compartimento visceral ou subcutâneo, esta adiposidade está localizada pois a adiposidade visceral está mais ligada ao desenvolvimento de RI e DM2. (9)

Há também relações com a escassez do TA e DM2, por exemplo no caso de pacientes lipoatróficos. Recentes estudos nocautearam em animais o gene do transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) do adipócito. Estes animais apresentaram RI em músculos e fígado, inclusive com queda na atividade da fosfatidil-inositol-3-quinase (PI3K) – efeitos similares presentes no DM2. (10)

Mais tarde desenvolveram um modelo sem TA, havendo nestes animais deposição ectópica de gordura preservando-se os mesmos efeitos do DM2. Cirurgicamente implantaram tecido adiposo nos animais, revertendo-se a condição do DM2. (11) Foi sugerido então, o conceito de “deposição ectópica de gordura” realizando a ligação entre deposição intramuscular e intra-hepática de gordura com a RI. (12)

É bem estabelecido o conceito de que a obesidade, especialmente central, está ligada ao aumento da RI e doenças crônicas correlatas, como HAS, DCV, DM2 e esteatose hepática não alcoólica. Entretanto, ainda nos anos 80, descreveram a existência de indivíduos metabolicamente obesos porém com peso normal. Estes indivíduos eram insulinoresistentes, com notada deposição ectópica de gordura. O que permanece em discussão é a forma como estes diferentes modos e mecanismos de deposição de gordura ocorrem e afetam a sensibilidade à insulina. (13)

1.1.1. ADIPOCINAS E SEU PAPEL NO DESENVOLVIMENTO DE SM, DCV E DM2

Adipocinas (ou adipoquinas) são citocinas produzidas e secretadas pelo TA. Muitos estudos propuseram um papel central deste órgão endócrino predominantemente nas rotas de armazenagem de gordura e ação insulínica. A produção desregulada dessas adipoquinas pode modificar a homeostase metabólica, as quais têm sido sugeridas como bons marcadores plasmáticos de síndrome metabólica. As adipoquinas desempenham um papel importante na homeostasia energética, sensibilidade à insulina (SI), resposta imunológica e doença vascular (DV). **(FIG. 2)**

Podem ser agrupadas, de acordo com a principal função, em adipoquinas com função imunológica, cardiovascular, metabólica e endócrina (6):

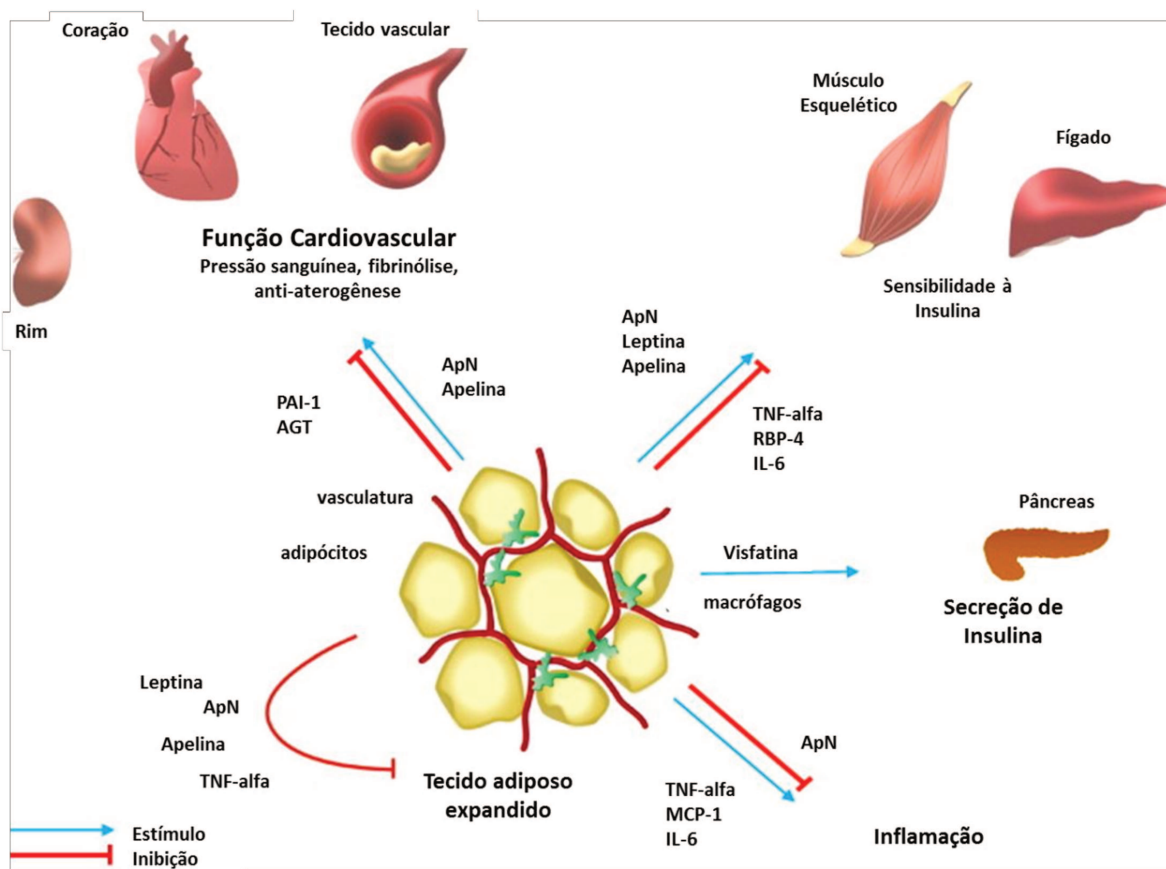


Figura 2. Adipoquinas secretadas pelo TA. Adaptado de: Maury E.

Endocrinology – 1,16- 314 (2010).

A interleucina 6 (IL-6), o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e os fatores do complemento B, C3 e D (adipsina) são adipoquinas com função imunológica. São produzidas pelos adipócitos em resposta a estímulos infecciosos ou inflamatórios contribuindo significativamente para a inflamação sistêmica. (6,14)

a) **TNF- α** é uma citocina pró-inflamatória, produzido pelo tecido muscular, adiposo e linfóide. Diminui a resposta à insulina através da diminuição da expressão à superfície celular dos transportadores de glicose (GLUT4), fosforilação do substrato 1 dos receptores de insulina (IRS-1) e fosforilação específica do receptor da insulina. É também proposta ação reguladora da massa de tecido adiposo, através da diminuição da diferenciação dos pré-adipócitos e induz a apoptose (*in vitro*) e da indução da lipólise (*in vitro* e *in vivo*). Existe associação dos níveis séricos do TNF- α com a RI, observando-se valores elevados na obesidade que diminuem com a perda de peso (6, 15).

b) **IL-6** é uma citocina imunomoduladora com ação pró-inflamatória e endócrina. O TA (preferencialmente a gordura visceral) é a principal fonte de IL-6 circulante nos estados não inflamatórios (8,9). Também ocorre secreção de IL-6 no hipotálamo onde se pensa que desempenha um papel na regulação do apetite e no gasto energético. Os seus níveis estão aumentados na obesidade (tanto os séricos como os do tecido adiposo) e diminuem com a perda de peso. É também marcador de RI (14,15).

No grupo das moléculas com função cardiovascular destacam-se as componentes do eixo renina-angiotensina e o inibidor de ativação do plasminogênio (PAI-1).

c) **PAI-1** é uma proteína anti-fibrinolítica produzida, sobretudo pelo fígado e também tecido adiposo, que é a sua principal fonte na obesidade. Os níveis de PAI-1 correlacionam-se com a gordura visceral (obesidade central). Esta molécula está envolvida na patogênese DCV pois é promotor da aterogênese, através do aumento da deposição de plaquetas e fibrina na placa ateromatosa em formação. O aumento os seus níveis está associado a enfarte agudo do miocárdio e trombose venosa profunda. (6,14)

d) **Angiotensina II** (AT -II). São produzidos pelo TA todos os componentes do eixo renina-angiotensina. Os adipócitos expressam receptores desta adipoquina e sua ativação promove a diferenciação do pré-adipócito induzindo a lipogênese, o que sugere papel no eixo na regulação do metabolismo e do peso corporal. (15).

e) **Adiponectina** é uma proteína produzida somente nos adipócitos e seus níveis encontram-se diminuídos na obesidade e RI. Tem função anti-aterogênica e regula a homeostasia dos lipídios e glicose. Potencializa a ação da insulina e reduz a

produção de glicose hepática. Induz a oxidação de lipídios e tem ação anti-inflamatória. (6)

f) **Visfatina** é produzida pelo tecido adiposo visceral (TAV) e tem ação insulino-mimética *in vitro* e *in vivo*, através da ligação e ativação do receptor da insulina. (6)

g) **Leptina** é uma citocina com função endócrina e tem produção quase exclusiva pelo TA que é regulada por alterações induzidas pela insulina neste tecido, sendo que seus níveis estão correlacionados com a massa de TA. Além disso, tem uma ação reguladora da imunidade e resposta inflamatória. A resistência à ação da leptina poderá conduzir ao DM2 associado à obesidade. (4)

h) **Proteína Carreadora do Retinol 4 (*Retinol Binding Protein 4 – RPB4*)**

A proteína carreadora do retinol 4 (RBP4) é uma adipoquina com descoberta recente, relatada por contribuir com a RI e DM2.

A RBP4 pertence à família das lipocalinas. São proteínas que transportam pequenas moléculas hidrofóbicas. Ela transporta a vitamina A (retinol) do fígado para os tecidos periféricos. O gene que codifica esta proteína localiza-se no cromossomo 10 (10q23.33) próximo às regiões que codificam genes ligados ao aumento dos níveis de glicemia de jejum (17), como por exemplo o gene TCF7L2 (10q25.3) que controla os genes CREB e FoxO1 (**FIG. 3**). (18)

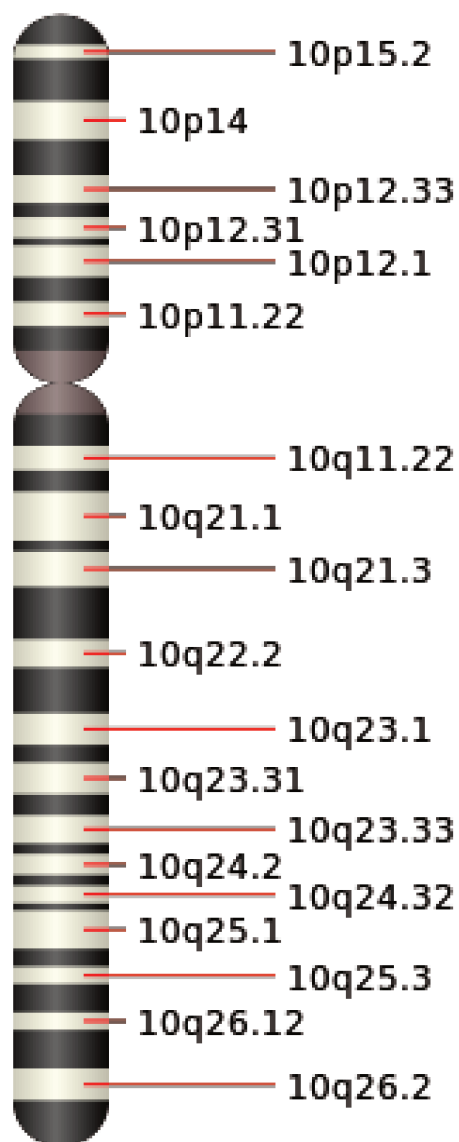


Figura 3. Cromossomo 10. Localização do gene da RBP4 (**10q23.33**) e um dos responsáveis pelo aumento da glicemia de jejum (**10q25.3**). NCBI Map Viewer.

O fígado é responsável pela maior expressão de RBP4. Entretanto, a segunda maior expressão desta proteína fica por conta do TA, cerca de 20% a 40% do que é expresso no fígado. (19)

A função fisiológica exata da RBP4 derivada do adipócito não está clara. Um recente estudo mostrou que a vitamina A e seus metabolitos regulam o mecanismo de adipogênese. A deficiência genética que causa diminuição na síntese do ácido retinóico diminuiu a obesidade induzida por dieta em ratos. (20,21)

A produção de RBP4 está elevada em modelos animais com resistência à insulina grave (*knockout* GLUT4 apenas no tecido adiposo), levando ao *upregulation* dos níveis e expressão da RBP4, além de hiperglicemia através da interferência da sinalização insulínica, porque causa a inibição da PI3K e do IRS-1, no músculo esquelético e no fígado. (21)

A proteína transmembrana transportadora de glicose GLUT4 é o agente limitante do uso de glicose pelo músculo e tecido adiposo. Quando há RI, a expressão do GLUT4 é diminuída no tecido adiposo, mas não no músculo esquelético. Este fato é quase universal nos estados em que há RI: obesidade, DM2 e SM. (22)

Animais com super-expressão do GLUT4 apenas no tecido adiposo, e expressão normal nos músculos, mostraram menor RI do que os que tiveram o GLUT4 nocauteado apenas no tecido adiposo, sugerindo que algum fator ecretado pelo tecido adiposo provoca este efeito nas vias de sinalização da insulina. (22)

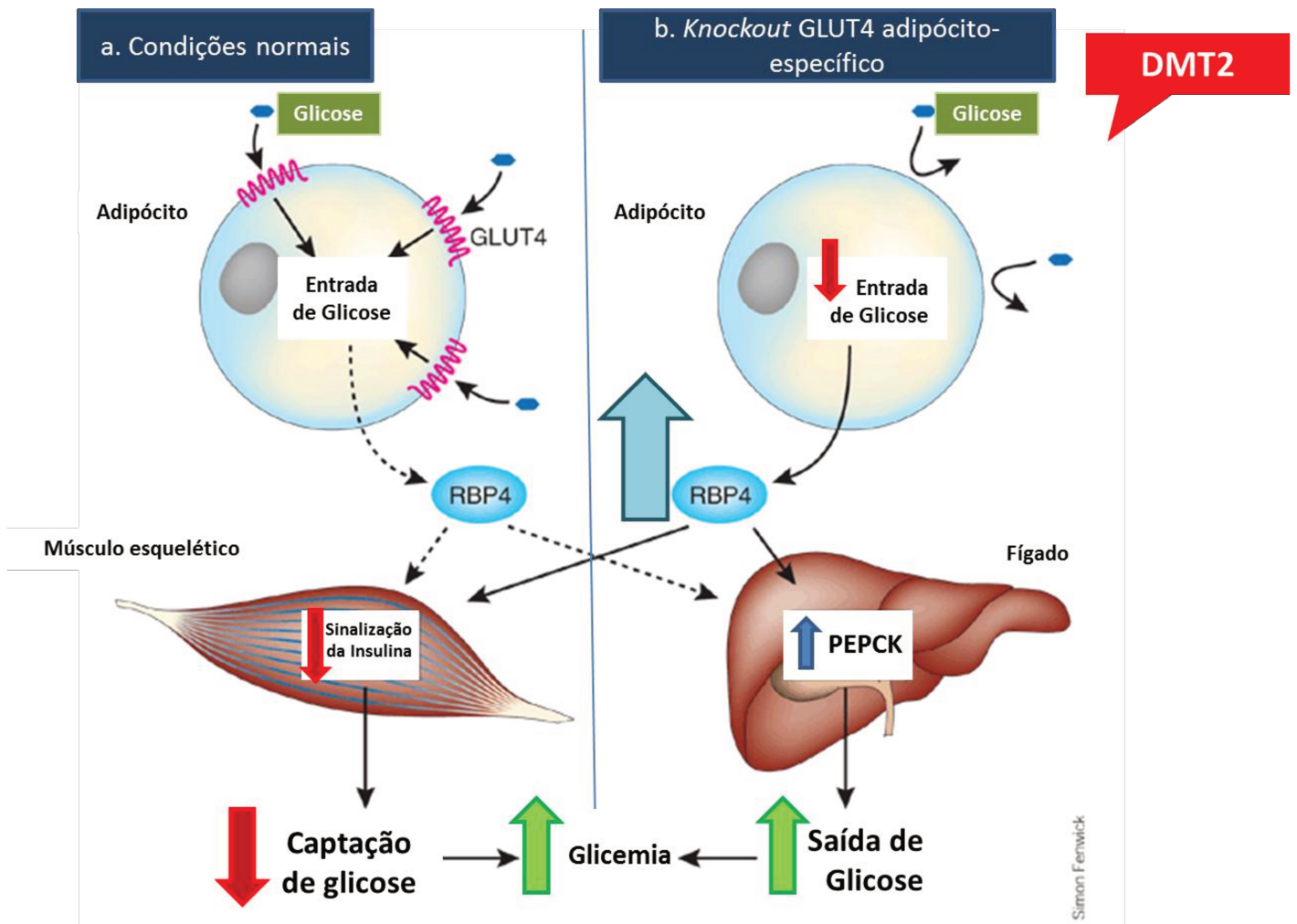


Figura 4. Mecanismo de ação da RBP4 em animais knockout GLUT4.

Adaptado de: Tamori Y. Nature Medicine - 12, 30 - 31 (2006)

Ao nível dos tecidos periféricos a RBP4 pode agir diretamente ligando-se aos receptores da superfície celular ou através do ácido retinóico (AR) (que liga-se ao CRBP – *cellular retinol binding protein*).

Mesmo antes da RBP4 ser considerada uma adipocina, existiam relatos de aumento de RBP4 no soro e urina de pacientes com DM2. Contudo, não foi sugerida nenhuma causalidade. (23,24)

Os níveis séricos de RBP4 estão aumentados em indivíduos com tolerância diminuída à glicose, DM2 e se correlacionam inversamente com a sensibilidade à insulina em indivíduos não diabéticos com histórico de DM2 familiar. Os níveis de RBP4 se correlacionam com o grau de resistência à insulina nestes sujeitos e esta relação é independente da obesidade. (25,26)

Há muitas variantes genéticas do gene codificador da RBP4 associadas com RI e DM2. Sendo assim há a possibilidade de alteração em diversos parâmetros correlatos. Como exemplos podemos citar: dois haplótipos (SNP (alelo de risco): rs3758538(A), rs3758539(G), rs10882283(G), c248C44T(C), rs12265684(G), rs10882273(C); e rs3758539(G), 390C(G), 406T(C), rs36014035(G), rs12265684(G), rs34571439(T), rs12766992(G), rs10882273(C)) estão significativamente aumentados em caucasianos com DM2 quando comparados a controles saudáveis. (27).

Quatro SNPs na população da Mongólia (SNP (alelo de risco): rs3758539(A), rs7094671(T), rs12265684(C), e 7542T>del(del)) e os haplótipos na população do

sul da Índia (rs3758538(C), rs3758539(T), rs36014035(G), e rs34571439(T)) também foram associados ao DM2. (27,30).

O haplótipos (SNP (alelo de risco) rs3758538(A), rs3758539(G), rs10882283(G), c248C44TOC(T), rs12265684(G), rs10882273(C)) é também associado a altas taxas de glicemia de jejum e no TTOG de duas horas em pacientes não diabéticos caucasianos. (27).

Na população da Mongólia, um SNP na região regulatória do gene da RBP4 (SNP (alelo de risco) rs3758539(A)) está associada com crescentes níveis de RBP4 circulante em pacientes com DM2. (30)

Recentemente, três SNPs (SNP (alelo de risco): rs974456 (T), rs736118 (A), and rs4886578 (A)) e dois haplótipos (SNP (alelo de risco): rs974456(C), rs736118(G), rs4886578(G) e (rs974456(T), rs736118(A), rs4886578(A)) no gene codificador do receptor de superfície de alta afinidade para a RBP4, STRA6, foi associado ao DM2. (27).

Além da menor sensibilidade à insulina, um efeito negativo da RBP4 na secreção das células- β é sugerida. Níveis aumentados de RBP4 estão negativamente associados com a secreção de insulina, especialmente em pacientes caucasianos obesos e com SNPs no gene da RBP4 (SNP (alelo de risco): rs3758539(A) e rs34571439(G)) (31)

Estudos identificaram um receptor localizado na superfície celular denominado STRA6 (*stimulated by retinoic acid gene homolog 6*). Essa proteína transmembrana, com alta afinidade para a RBP4, é a maior mediadora da captação intracelular de retinol. *SNPs* (*single nucleotide polymorphisms*) na proteína STRA6 foram ligados à ocorrência do DM2 **(FIG. 5)**. (27)

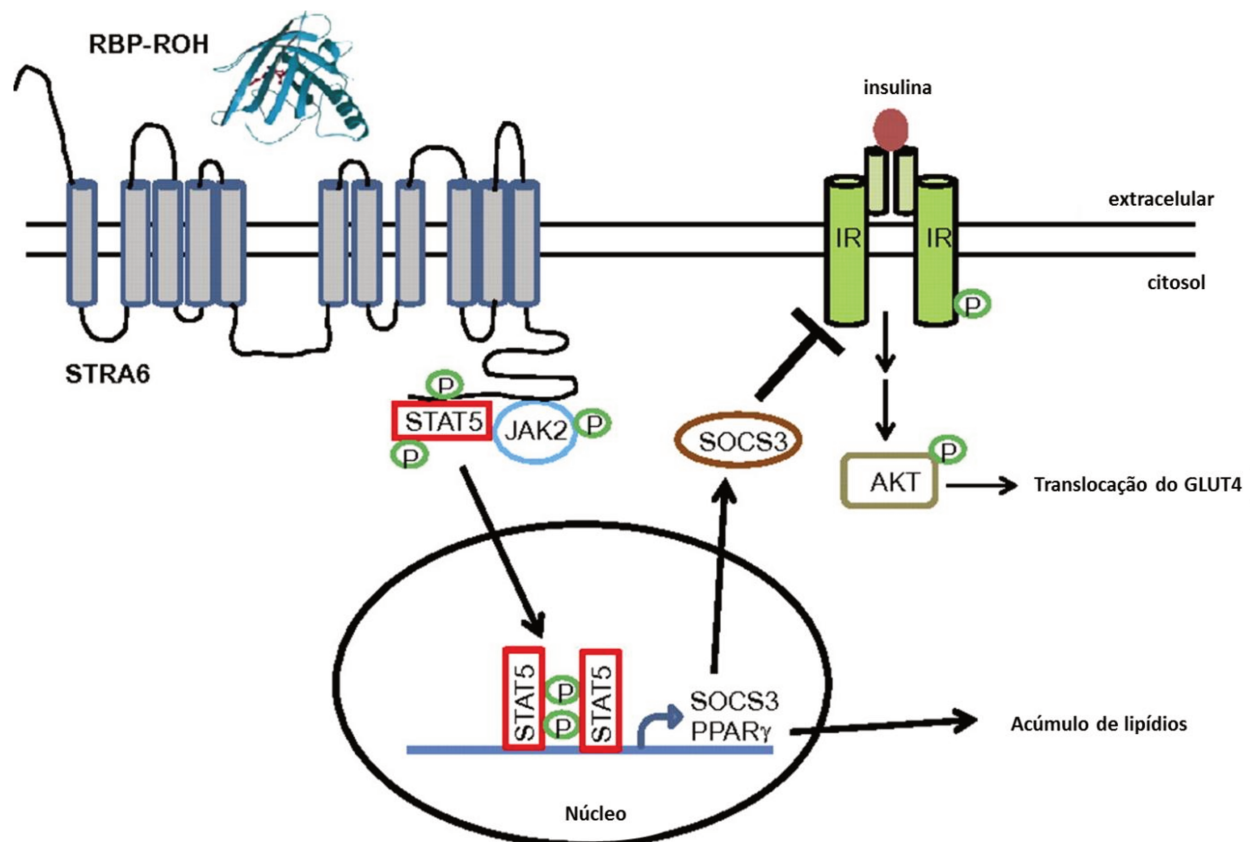


Figura 5. Mecanismo de transporte do retinol através da membrana celular. Via de sinalização da RBP-ROH/STRA6/JAK/STAT. Adaptado de: Berry D C et al. PNAS 2011;108:4340-4345

Trabalhos menos recentes sugerem que em humanos os níveis séricos elevados de RBP4 estão associados com a gravidade da resistência à insulina, DM2, obesidade e síndrome metabólica. (6)

Por outro lado há certa variedade de recentes estudos que não encontram na proteína carreadora do retinol um biomarcador preciso de RI e SM em pacientes diabéticos ou não. (32,33,34)

Há também alguns trabalhos que indicam redução nos níveis de RBP4 após *bypass* gástrico com acentuada perda de gordura corporal (35) e aqueles apontando que o índice RBP-retinol está aumentado em pacientes com DM2 e não os níveis de RBP4 propriamente ditos. (36)

1.3. DIABETES MELLITUS TIPO 2 e RESISTÊNCIA À INSULINA

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é considerado, tanto nos países desenvolvidos como em desenvolvimento, uma das grandes epidemias mundiais do século. O aumento no número de casos é atribuído ao envelhecimento populacional, aos avanços terapêuticos no tratamento da doença, e mais fortemente, ao estilo de vida dos indivíduos que predispõem ao acúmulo de gordura corporal, como por exemplo: sedentarismo, excesso alimentar, etc. Existem diversas evidências sobre a viabilidade da prevenção, tanto do DM2 quanto de suas complicações. (37)

Em termos mundiais, 135 milhões apresentavam a doença em 1995, 240 milhões em 2005 e há projeção para atingir 366 milhões em 2030, sendo que dois terços habitarão países em desenvolvimento (38)

Entre 1986 e 1988, estimou-se que, em média, 7,6% dos brasileiros com idades entre 30 e 69 anos apresentavam DM, incidindo igualmente nos dois sexos, porém, aumentava com a idade e adiposidade corporal. Em cidades como São Paulo e Porto Alegre, foram observadas as maiores taxas, sugerindo o papel da urbanização e industrialização na patogênese do DM2. (39)

Diante de dados alarmantes é fundamental que se reforce o papel definitivo do estilo de vida moderno que acarreta acúmulo de adiposidade corporal, especialmente na região visceral, onde apresenta maiores efeitos nocivos. (40)

A fisiopatologia do DM2 envolve uma combinação variável de resistência à insulina (principalmente no fígado e músculo) e diminuição na secreção da insulina pelas células beta do pâncreas. Ambas as situações podem ser influenciadas por fatores genéticos e ambientais. Além disto, outras alterações se relacionam com a fisiopatologia do DM2, dentre elas a desregulação da secreção hormonal nos eixos êntero-hipotalâmico e êntero-insular, refletindo a natureza multifatorial da doença. (41)

A incapacidade da célula beta em responder à crescente demanda periférica de insulina, observada durante a evolução progressiva da RI em indivíduos intolerantes à glicose, é aceito hoje como o fenômeno determinante no desenvolvimento do DM2. Alguns fatos corroboram tal conceito. Primeiro, todos os pacientes com DM2 tem disfunção mensurável da célula beta; segundo, a magnitude da insulino-resistência, após instalada sofre pequeno ou nenhum incremento com o tempo, por outro lado, a deterioração da função da célula beta é progressiva; terceiro, há perda progressiva da resposta da célula beta à terapêutica com sulfoniluréias. (42)

Durante a evolução da resistência à insulina, particularmente em indivíduos obesos, observa-se aumento progressivo da concentração sanguínea basal de insulina. Esse incremento pode ser mantido em algumas pessoas, e perdido em outras. As primeiras se manterão normoglicêmicas e resistentes à insulina, enquanto as segundas perderão definitivamente a capacidade de manter a homeostase da glicose. (43)

A deposição ectópica de gordura é melhor preditora e tem papel mais importante no desenvolvimento da RI se comparado à deposição e avaliação da gordura visceral. Isto ocorre porque as células musculares e hepáticas, repletas de gordura, sofrem interferência no seu metabolismo normal. Os metabólitos dos triglicerídeos tem a capacidade de influir na sinalização da insulina, transporte de glicose, fosforilação e síntese de glicogênio muscular bem como aumento da gliconeogênese hepática. (44)

A insulina é um hormônio produzido pelas células- β pancreáticas (**FIG. 6**), tendo sua síntese ativada quando ocorre o aumento dos níveis plasmáticos de glicose e aminoácidos, agindo em diversos tecidos, particularmente nos músculos, fígado e TA. (45)

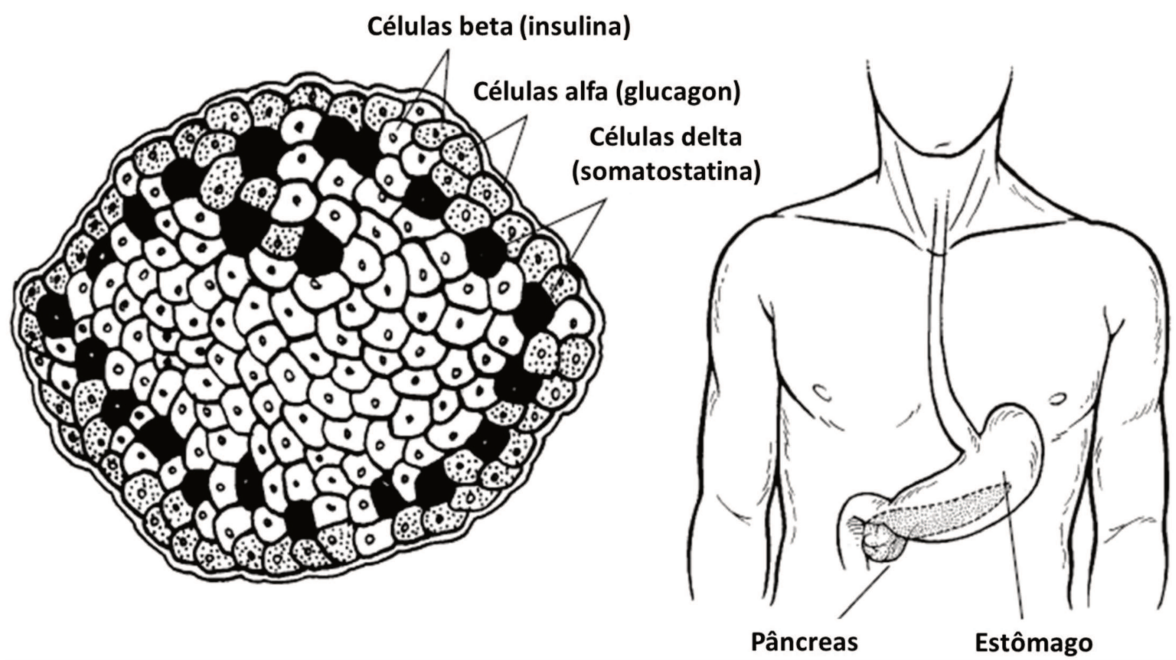


Figura 6. Células Pancreáticas. Adaptado de: Type 1 Diabetes For Dummies. 2008; p.29.

A cascata de sinalização da insulina divide-se em duas vias principais (**FIG. 7**).

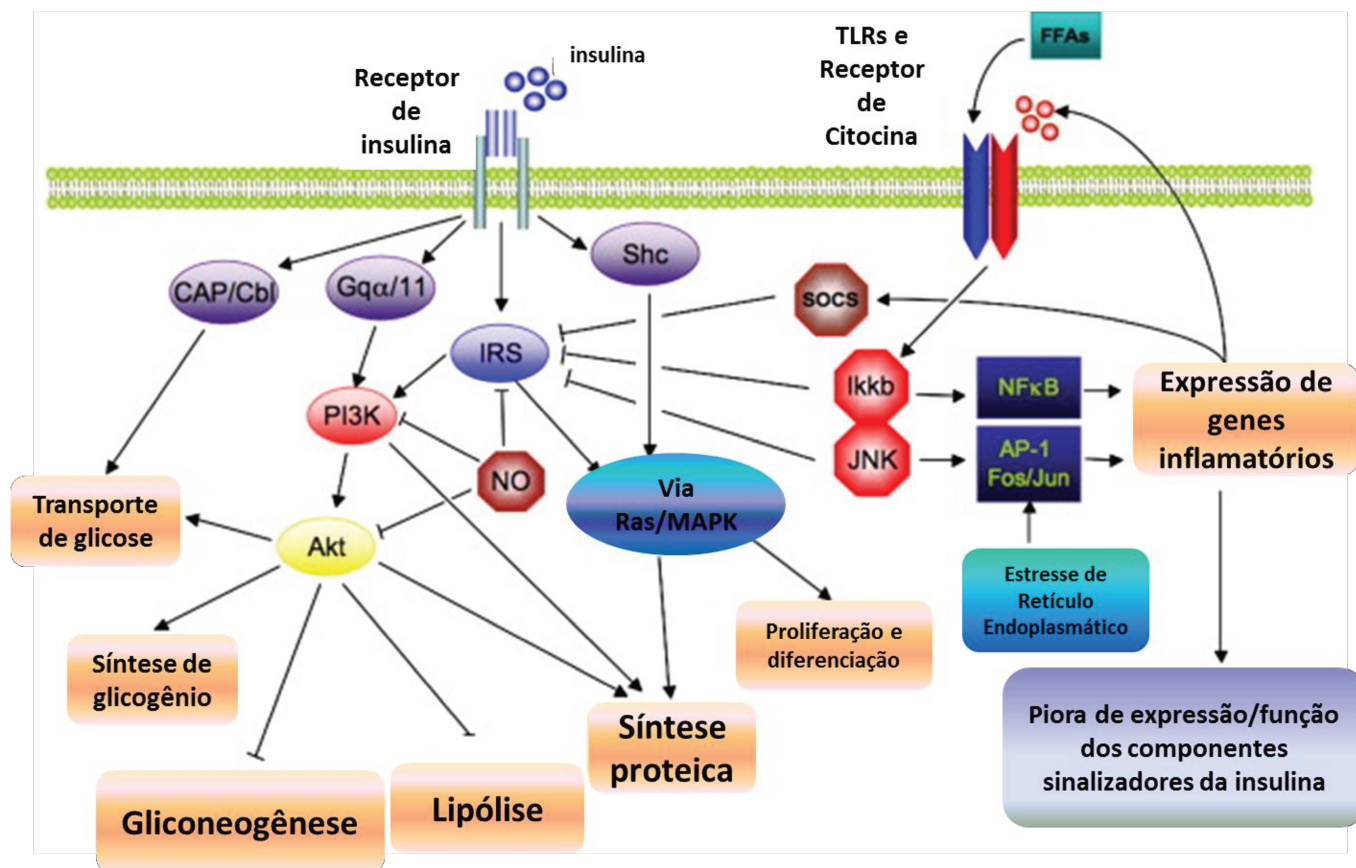


Figura 7. Interação entre sinalização da insulina e vias inflamatórias.

Adaptado de: de Luca. FEBS Letters 2008;582(1);97-105.

A via PI3K/AKT medeia a ação da insulina no metabolismo de nutrientes, incluindo a glicose. A via Ras/MAPK medeia o efeito da insulina na expressão gênica e também interage com a via PI3K-AKT para controlar o crescimento e diferenciação celular. A ativação do receptor de insulina leva à fosforilação em tirosina do receptor IRS-1, iniciando o sinal de transdução. A estimulação das vias inflamatórias do NFκB e AP-1 Fos/Jun resulta na ativação das serina-quinases, Iκkb e Jnk1, as quais reduzem a capacidade de sinalização do IRS-1. Algumas proteínas reguladoras negativas do IRS-1 incluem as proteínas Socs e NO (óxido nítrico), aumentados durante a inflamação e que promovem a degradação do IRS. O óxido nítrico também reduz a atividade da via PI3K/Akt através da s-nitrosação da Akt. (46)

No DM2 a RI caracteriza-se por alteração nas vias de sinalização da insulina, além de redução na fosforilação do IRS-1 e IRS-2, na atividade da PI3K, na translocação dos transportadores de glicose e na atividade das enzimas intracelulares. Diversos estudos têm mostrado que a ativação da via MAPK pela insulina não está reduzida no DM2 e nos estados de RI, podendo até mesmo estar aumentada. Sendo assim, por promover a proliferação e diferenciação celular, a via da MAPK contribuiria para desenvolvimento de aterosclerose associada à RI. (46)

A RI e o DM2 são considerados poligênicos, envolvendo polimorfismos em diversos genes que codificam as proteínas envolvidas nas vias de sinalização e secreção da insulina. Alguns estudos *in vivo* com genes de codificação

nocauteados (IR, IRS-2, Akt-2) provocam DM2, enquanto outros não (PI3K, IRS-1, GLUT4), evidenciando a complexidade de tais mecanismos. (46)

A associação entre obesidade e DM2 é bem conhecida, entretanto alguns mecanismos permanecem desconhecidos. Alguns hormônios, citocinas, proteínas sinalizadoras podem desempenhar tanto funções metabólicas quanto imunológicas. A resposta inflamatória crônica, ainda que de baixo grau no caso de alguns obesos, favorece o catabolismo e suprime as vias anabólicas, incluindo a via de sinalização da insulina. Esta teoria é demonstrada pelo aumento da produção de TNF- α no TA de humanos obesos. As vias metabólica e inflamatória estão intimamente ligadas, principalmente pelo fato dos macrófagos (MO) e adipócitos exercerem funções sobrepostas e terem expressão gênica muito semelhante. Na obesidade os MO se acumulam no tecido adiposo branco e são capazes de produzir mediadores inflamatórios que induzem a RI. Este mecanismo primário de inibição das vias da insulina pode ser um dos responsáveis por causar RI, pois a produção do TNF- α têm a capacidade de aumentar a fosforilação em serina do IRS-1 e IRS-2 e bloquear os eventos subsequentes da sinalização da insulina. (47)

Em paralelo à fosforilação em serina dos IRS-1 e IRS-2 também pode ocorrer a s-nitrosação do IR, IRS-1 e Akt induzidas por iNOS, agravando assim a RI principalmente no músculo. (47)

Sendo assim, os mecanismos citados acima, podem em parte explicar a RI observada no DM2 e obesidade.

1.3.1. Resistência à Insulina – Diagnóstico

Em populações não diabéticas, a RI pode estar acompanhada de alterações metabólicas/cardiovasculares, que compreendem: HAS, hipertrigliceridemia, redução do HDL-c, aumento do LDL-c, intolerância aos carboidratos, obesidade centrípeta, aumento do PAI-1, hiperuricemia e doença cardiovascular aterosclerótica. Esse conjunto de alterações é conhecido como Síndrome Metabólica (SM). Em virtude destas associações é importante avaliar in vivo a sensibilidade à insulina. Os métodos de avaliação podem ser divididos em diretos e indiretos. Os métodos diretos analisam os efeitos de uma quantidade estabelecida de insulina injetada em certo indivíduo. Por outro lado, a ação insulínica pode ser avaliada pelo efeito de insulina endógena, principalmente nas condições de homeostasia.

a) Métodos indiretos:

- **Insulinemia de jejum:** em indivíduos resistentes à insulina, seu valor encontra-se elevado. Tal metodologia é útil para estudos populacionais. (48)

- **Homeostasis model assessment (HOMA):** modelo matemático publicado por Mathews et al. em 1985 do qual derivam outros dois índices HOMA-IR e HOMA- β , que visam estimar a RI pelas seguintes equações:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulina (mU/L)} \times \text{Glicemia (mmol/L)}}{22,5}$$

$$\text{HOMA-}\beta = \frac{\text{Insulina (mU/L)} \times 20}{\text{Glicemia (mmol/L)} - 3,5}$$

Foram encontradas fortes correlações entre a RI avaliada pelo HOMA e pelo clamp euglicêmico-hiperinsulinêmico, método padrão ouro para avaliação da RI. Porém, o HOMA é questionável porque assume que a RI seria a mesma no fígado e tecidos periféricos. Ainda assim é uma boa alternativa às técnicas mais sofisticadas. (49)

- **HOMA-Adiponectinemia (HOMA-AD):** parte da premissa de que o uso combinado de parâmetros do metabolismo glicídico e funcional do TA pode gerar um índice laboratorial com aplicabilidade clínica. (50)

- **QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index):** tal qual o HOMA se baseia na homeostasia. O QUICKI foi deduzido a partir de dados obtidos com

clamp e teste de tolerância intravenosa. No Brasil este método apresenta boas correlações com marcadores de SM. (51)

- **Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG):** estima a sensibilidade à insulina a partir da ativação da homeostasia glicose-insulina. Consiste na ingestão oral de 75 g de glicose em cinco minutos, com determinação da glicose e insulina a cada 15 ou 30 minutos, durante 2 ou 3 horas, realizado após jejum noturno de 8 a 12 horas. Neste método há algumas desvantagens, como por exemplo variação na absorção de glicose pelo TGI e a impossibilidade de verificar o grau de supressão hepática na produção de glicose, assim como sua metabolização. (52)

- **Frequent Sample IV Glucose Tolerance Test (FSIVGTT):** modelo matemático, desenvolvido em 1979 por Bergman et al., que estima a sensibilidade à insulina através da injeção intravenosa deste hormônio. É vantajoso quando deseja-se estudar a primeira e segunda fase de secreção da insulina. Por outro lado não é aplicável em diabéticos tipo 1 e tipo 2 insulino dependentes. (53)

b) Métodos diretos:

- **Insulin Tolerance Test (KITT):** é injetada insulina e medida a taxa de glicose nos tempos -5, 0, 3, 5, 7, 10 e 15. A queda da glicemia é determinada por dois fatores: supressão da produção hepática de glicose e estímulo a captação de glicose pelos tecidos insulinosensíveis. A interpretação do KITT baseia-se no tempo de queda da glicemia: quanto mais rápida a queda, mais sensibilidade à insulina. Há boa correlação do método com clamps euglicêmicos e hiperglicêmicos. Mas do ponto de vista de efeitos colaterais, principalmente em indivíduos saudáveis, o risco de hipoglicemia ainda é uma questão importante a ser considerada. (54)

- **Técnica do CLAMP:** representa o maior avanço no estudo da RI in vivo. Permite examinar, tanto no músculo quanto no fígado, a sensibilidade à insulina e a sensibilidade da célula- β à glicose em situações constantes de glicemia e insulinemia. Se um indivíduo é relativamente resistente à insulina será necessário infundir menores quantidades de glicose para uma dada quantidade de insulina. O teste pressupõe completa supressão hepática de glicose, que pode ser quantificada independentemente pela infusão de glicose marcada radioativamente. (55)

c) Outros indicadores de RI:

Na impossibilidade de utilização dos métodos supracitados existem outros meios complementares para avaliação da RI. São eles: EIMC, hormônios, enzimas, marcadores inflamatórios, fatores de coagulação, indicadores antropométricos e composição corporal. Estes dois últimos avaliam o fenótipo do indivíduo e podem ser agrupados segundo o tipo de obesidade que eles avaliam – central ou generalizada. (56)

1.4. Doença e Risco Cardiovascular no DM2

O DM2 causa um risco cardiovascular a longo prazo similar ao observado em pacientes sem diabetes mas que tiveram um infarto do miocárdio. (57)

Há uma série de mecanismos pelos quais a aterosclerose se desenvolve em pacientes com DM2: desenvolvimento prematuro de anormalidades endoteliais, hiperatividade plaquetária, proliferação celular aumentada após danos arteriais, propensão a remodelamento arterial adverso e fibrinólise debilitada com tendência a trombose e inflamação. (58)

Nos estados pré-diabéticos a disfunção endotelial (DE) é talvez a mais precoce de todas as manifestações. Uma monocamada de células endoteliais que fica no interior dos vasos sanguíneos serve como uma barreira vital entre o lúmen e a parede do vaso, e certamente desempenha papel essencial na homeostasia do vaso. Embora a função desta camada continua a ser investigada, funções biológicas que estão ligadas ao funcionamento normal são: regulação do fluxo sanguíneo (incluindo o tônus vasomotor), hemostasia, transporte de nutrientes e leucócitos, proliferação e migração das células vasculares musculares lisas. A perda dessas funções normais são supostamente marcadores precoces do desenvolvimento de aterosclerose. (59)

O DM2 leva a estas alterações precoces provavelmente devido a hiperglicemia, HAS, dislipidemia e RI. Portanto, a DE é um marcador precoce de desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares decorrentes do DM2. (60)

A DE não é o único marcador de danos nos pacientes portadores de DM2, mas é facilmente demonstrada em estágios precoces do desenvolvimento do diabetes. Pacientes com microalbuminúria, tolerância a glicose diminuída e histórico familiar de primeiro grau com DM2 têm aumentados os níveis de marcadores de disfunção endotelial. (61)

É sabido que a DE está ligada ao aumento dos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias. Estudos epidemiológicos numerosos ligaram um aumento nos níveis basais de citocinas (IL-6, PCR) ao desenvolvimento do DM2 e adiposidade central. Estudos recentes demonstraram que a modulação no eixo de citocinas – com fármacos ou redução de TA visceral – resultaram numa melhora global da função endotelial e redução dos níveis circulantes de citocinas e marcadores de DE. (62-67)

1.4.1. Perfil Lipídico no DM2 e EIMC

As dislipidemias e hipertensão comumente coexistem com o DM2, representando alto risco para AVC. Entretanto, mesmo fazendo ajustes para estes fatores, o DM2 permanece como fator independente de predizer eventos neurológicos isquêmicos, sugerindo importante contribuição dos fatores relacionados ao diabetes. (43,62)

No DM2 as anormalidades no metabolismo de lipídios ocorrem concomitantemente com falha na atividade da insulina, levando à liberação de AGL do TA para o fígado, e síntese hepática aumentada de VLDL. Essa anormalidade no perfil lipídico – caracterizada por LDL levemente aumentado, baixo HDL e alto TG – está associado com RCV aumentado em pacientes com DM2. O grau de elevação dos níveis de TG está diretamente relacionado ao grau de intolerância à glicose e controle glicêmico, com menos efeito nos níveis de HDL e LDL. (68,69)

Inicialmente, a aterosclerose progride na parede arterial promovendo seu espessamento, sem redução do diâmetro luminal. Algumas técnicas não-invasivas vêm sendo utilizadas na avaliação de todas as suas fases, inclusive as mais precoces. Dentre elas, a quantificação da espessura da íntima-média carotídea (EIMC) utilizando imagens ultrassonográficas é um método seguro, sem exposição à radiação e de baixo custo, que permite uma avaliação direta de todas as fases da aterosclerose, sendo útil tanto no seu diagnóstico como no seu acompanhamento. (70)

Em pacientes com DM2 a EIMC aumentada está associada com doença arterial coronária e é preditora de eventos futuros, como por exemplo infarto agudo do miocárdio. Demonstrando que há forte correlação entre espessamento da EIMC e disfunção endotelial nestes pacientes. (71)

Num estudo realizado com 1192 indivíduos detectou-se que o aumento da EIMC foi duas vezes maior na população com DM2 do que nos pacientes normoglicêmicos, mesmo após correção para outros fatores de risco. (72)

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

- Estudar a relação dos níveis séricos de RBP4 em pacientes obesas diabéticas em comparação a pacientes obesas não diabéticas e mulheres de peso normal na pré-menopausa.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a correlação da concentração sérica de RBP4 com marcadores bem estabelecidos de RI, SM e RCV: EIMC, IMC, colesterol total e frações, TG, GGT, AST, ALT, HbA1c, HOMA-IR, insulina e glicemia de jejum.

3. METODOLOGIA

3.1. Pacientes

Este estudo foi realizado com 139 mulheres no Laboratório de Investigação em Metabolismo e Diabetes (LIMED) – Gastrocentro / UNICAMP.

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta universidade.

Todas as participantes forneceram termo de consentimento livre e esclarecido antes da participação.

A partir do total (n = 139) foram formados três grupos: Grupo 1 (Controles; n = 45); Grupo 2 (Obesas; n = 53); Grupo 3 (Obesas DM2; n = 41), doravante denominados G1, G2 e G3.

Foram considerados os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de inclusão G1:

- Mulheres adultas em idade pré-menopausa.
- Concordância em participar voluntariamente do estudo, assinando o termo de consentimento fornecido.
- Capacidade de entender os procedimentos do estudo.
- IMC acima de 18,5 até 29,9 kg/m²

- Não diabéticas com valores normais de glicemia em jejum, confirmados pelo TTOG.

Critérios de inclusão G2:

- Mulheres adultas em idade pré-menopausa.
- Concordância em participar voluntariamente do estudo, assinando o termo de consentimento fornecido.
- Capacidade de entender os procedimentos do estudo.
- IMC acima de 30 kg/m²
- Não diabéticas com valores normais de glicemia em jejum, confirmados pelo TTOG.

Critérios de inclusão G3:

- Mulheres adultas em idade pré-menopausa.
- Concordância em participar voluntariamente do estudo, assinando o termo de consentimento fornecido.
- Capacidade de entender os procedimentos do estudo.
- Portadoras de DM2 há mais de um ano (segundo critérios da SBD)

- IMC acima de 30 kg/m²
 - Todas as voluntárias deste grupo faziam uso de metformina.

Crerios de exclusão para G1, G2 e G3:

- Mulheres na menopausa
- Portadoras de DM1
- Diabéticas em uso de insulina
- Pacientes em uso de glicocorticoides V.O. ou injetável por 14 dias consecutivos nos últimos 3 meses
- Pacientes com alteração da função renal (creatinina > 1,4 mg/dl)
- Pacientes com alteração da função hepática: AST e ALT 3 vezes acima do limite superior do método
- Presença de doença sistêmica grave (neoplasia, insuficiência cardíaca, etc.)
- IMC abaixo de 18,5 kg/m²
- Não desejo em participar ou incapacidade de fornecer o consentimento solicitado.

3.1.1. Diagnóstico do DM2

As voluntárias selecionadas tiveram o diagnóstico de tolerância normal à glicose ou de DM2 confirmado segundo os valores do teste de glicemia basal e do teste de 2h após sobrecarga de 75g glicose, realizados após jejum noturno de 8 horas.

No Quadro 2 estão apresentados os pontos de corte para o diagnóstico.

Quadro 1 – Valores de glicose plasmática (mg/dL) para diagnóstico de *diabetes mellitus* e estágios pré-clínicos

Categoria	Jejum*	2h após 75g de glicose	Casual
Glicemia normal	< 100	< 140	-
Tolerância à glicose diminuída	Maior que 100 a menor que 126	Igual ou superior a 140 e menor que 200	-
Diabetes <i>mellitus</i>	≥ 126	≥ 200	Igual ou superior a 200 com (sintomas clássicos)***

*Define-se jejum como a falta de ingestão calórica por, no mínimo, oito horas.

**Glicemia casual é a realizada a qualquer hora do dia, sem se observar o intervalo desde a última refeição.

***Os sintomas clássicos de diabetes incluem poliúria, polidipsia e perda não explicada de peso.

Fonte: SBD. (73)

3.2. Técnica, testes e exames

3.2.1. Anamnese

Foi realizada anamnese para coleta de dados demográficos, história médica pregressa e antecedentes familiares de doenças de interesse: obesidade, diabetes tipo 2, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e dislipidemias. Foram coletadas também informações referentes aos hábitos de vida, incluindo medicação em uso, prática de exercício físico (modalidade, frequência e duração), volume de ingestão hídrica, horas de sono por noite, tabagismo e consumo de bebida alcoólica.

As aferições da frequência cardíaca de repouso e da pressão arterial foram realizadas seguindo as normas propostas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia. (74)

3.2.2. Avaliação antropométrica, composição corporal

A avaliação antropométrica foi realizada por um único avaliador. Foram aferidos peso, estatura, DAS (diâmetro abdominal sagital), perímetros do pescoço, cintura, quadril e da coxa. O peso foi aferido em balança eletrônica digital e a estatura em estadiômetro fixo na parede. Os perímetros foram aferidos com fita métrica flexível inelástica. As medidas foram tomadas em duplicatas. Em situações em que houve diferença > 1 cm entre as duas medidas foi realizada terceira medida, sendo utilizados os dois valores mais próximos (75).

O IMC foi calculado a partir das medidas de peso e altura e está apresentado em Kg/m^2 , sendo utilizado o critério da WHO (76) para classificação do estado nutricional.

O percentual de gordura corporal foi avaliado por bioimpedância elétrica tetrapolar (**FIG. 8**) com a utilização do equipamento *Bioimpedance Analyzer - BIA 310*. Antes da realização da bioimpedância tetrapolar, cada voluntária foi orientada a seguir o protocolo proposto por Lukaski (77). (**Quadro 2**).

Quadro 2 – Protocolo para a realização do teste de bioimpedância

Recomendações
▪ Não fazer uso de nenhum diurético nos 7 dias que antecedem o teste; ▪ Não consumir bebidas alcoólicas nas 48 horas anteriores ao teste; ▪ Não realizar atividade física extenuante nas 24 horas anteriores ao teste; ▪ Estar em jejum de alimentos, bebidas e água por 4 horas antes do teste; ▪ Urinar pelo menos 30 minutos antes da realização do teste; ▪ Permanecer 5 minutos deitado, em decúbito dorsal, antes da execução do teste.



Figura 8. Bioimpedância tetrapolar. *Bioimpedance Analyzer - BIA 310*
Manual do usuário.

3.2.3. Análises Bioquímicas

Amostras de sangue foram coletadas para dosagem dos níveis de: colesterol total, HDL colesterol, triglicérides, gama glutamil transferase, AST e ALT, ácido úrico (método colorimétrico enzimático), hemograma completo, hemoglobina glicada (HPLC), insulina (quimioluminescência), creatinina, uréia, cálcio, fósforo, albumina, proteína C reativa (nefelometria automatizada ultrasensível).

O nível de LDL colesterol foi calculado usando o método de Friedewald. A glicose plasmática foi medida pela técnica da glicose oxidase (Beckman Analisadores de glicose; Beckman, Fullerton, CA).

A RBP4 foi dosada em duplicata através de ELISA (Phoenix Pharmaceuticals, INC). Para realização da análise estatística foi considerada a média dos dois valores obtidos. Os coeficientes de variação intra e interensaio foram de 4,5% e 7%, respectivamente.

3.2.3. Avaliação da RI

O índice HOMA-IR foi utilizado para avaliar a resistência à insulina indiretamente.

3.2.4. Avaliação da EIMC

A medida da espessura do complexo intimal (**FIG 9; FIG 10**) da artéria carótida comum foi medida à partir de 1,5 cm da bifurcação, na parede proximal, usando o aparelho de ultrassom LOGIQ e (GE Healthcare, Reino Unido) em modo B, com um transdutor linear de 12-MHz. O transdutor foi manipulado de forma que o diâmetro do lúmen carotídeo fosse aumentado de forma longitudinal. (78)

Foram realizadas três medidas de EIMC, sendo que a média entre as três foi considerada para as análises estatísticas. (78)

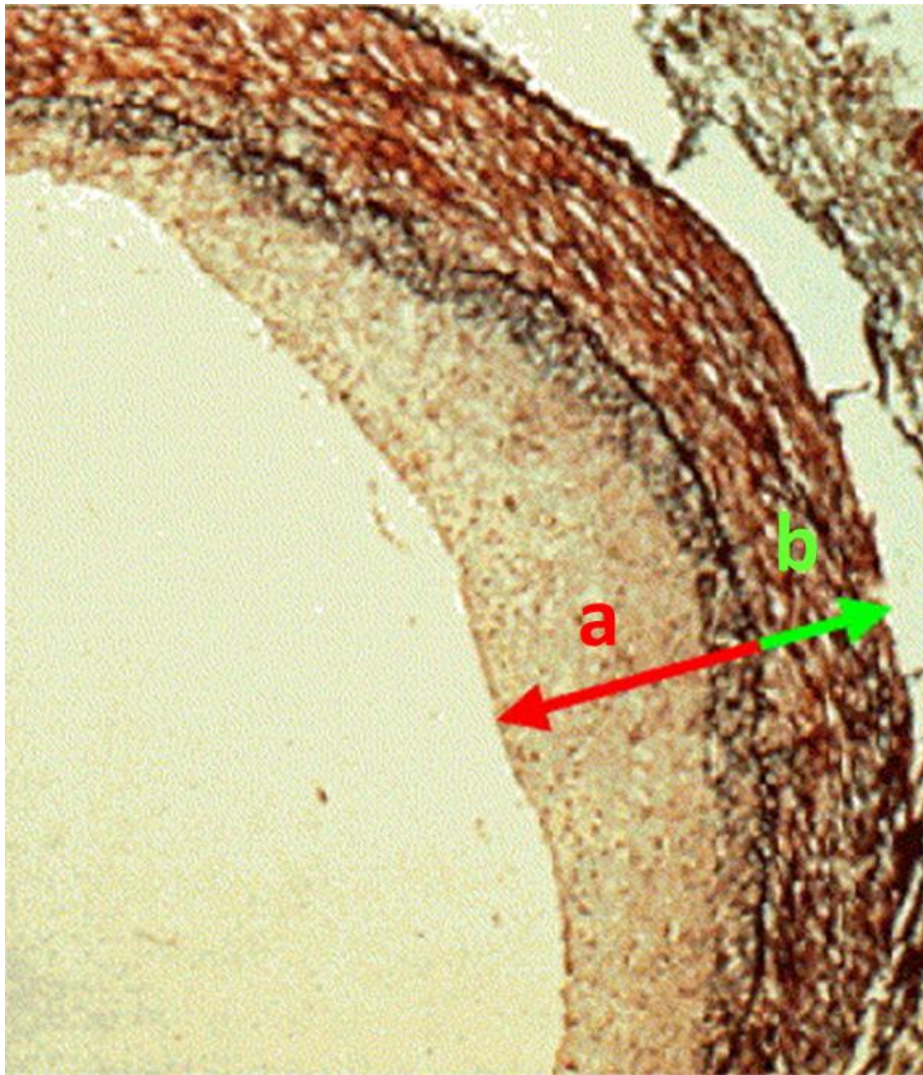


Figura 9. Corte histológico da artéria carótida. a) camada íntima; b) camada média.

Devine P.J. Journal of Nuclear Cardiology, V. 13, 2006, 710-718.

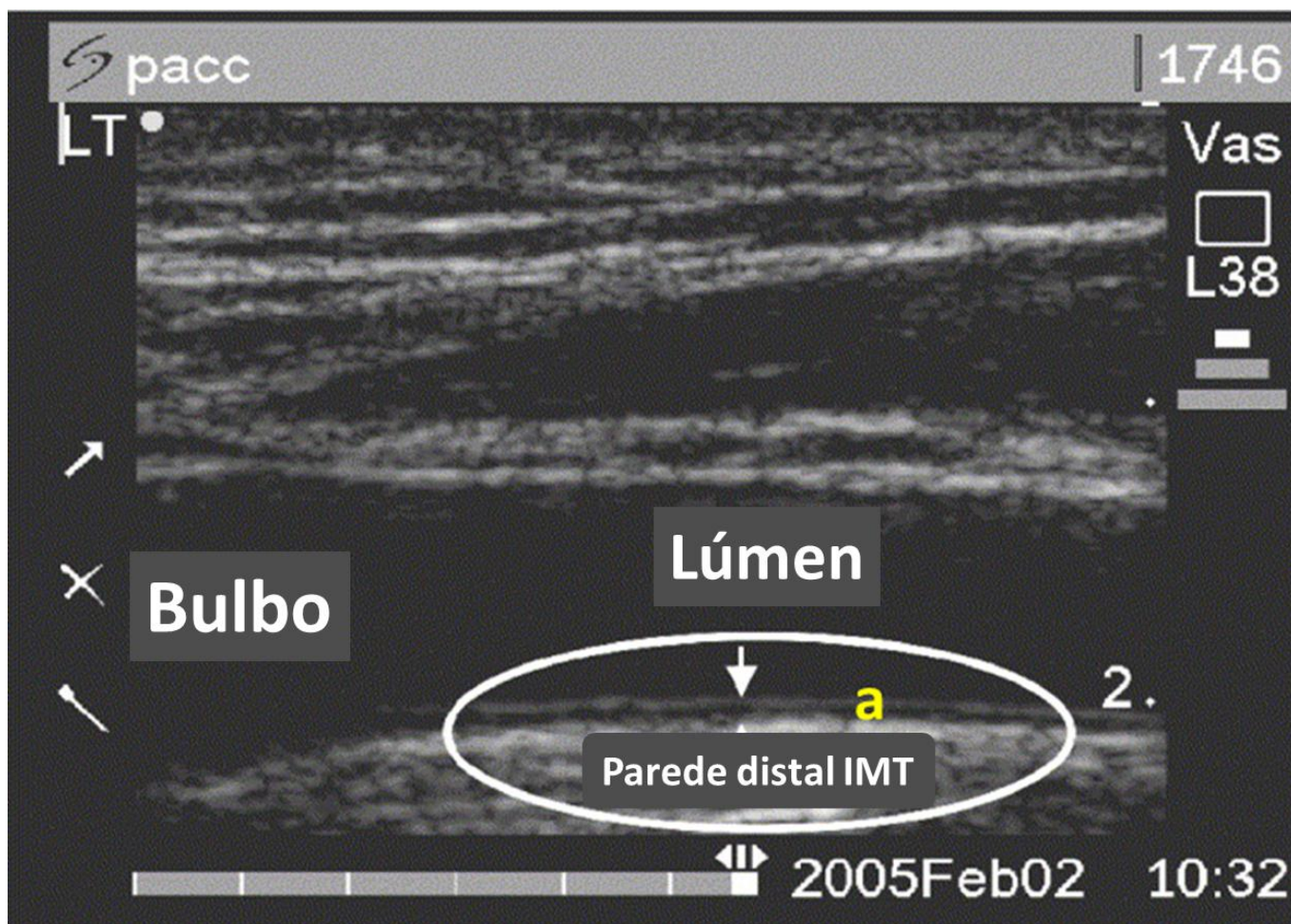


Figura 10. Ultrassom de carótida. a) Medida do complexo intimal. Devine P.J.

Journal of Nuclear Cardiology, V. 13, 2006, 710-718.

3.3. Análises estatísticas

A construção do banco de dados e as análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). Na análise descritiva, as variáveis contínuas foram descritas por meio de medidas de tendência central e de dispersão.

O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição das variáveis estudadas. A comparação entre os três grupos de estudo (G1, G2 e G3) foi realizada com a aplicação do teste de Kruskal Wallis.

Em situações em que houve diferença estatística significativa, foi empregado o teste *post-hoc* de Bonferroni para identificar quais grupos diferiram entre si. As correlações entre a variável de estudo RBP4 com as demais parâmetros antropométricos, de composição corporal e metabólicos foram analisadas pelo teste de correlação de Spearman. O nível de significância adotado como base para decisão foi inferior a 5% ($p < 0,05$).

3.4. Aspectos Éticos

A obtenção do consentimento livre e esclarecido foi realizada pelo pesquisador principal e constou das seguintes etapas, seguindo as orientações da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (79).

- **Esclarecimento verbal**

Consiste em uma explicação verbal ao paciente realizada pelo pesquisador, abrangendo os seguintes tópicos:

- Objetivos da pesquisa;
- Justificativa e procedimentos que serão utilizados na pesquisa;
- Riscos possíveis e benefícios esperados;
- Garantia do sigilo quanto aos dados envolvidos na pesquisa;
- Liberdade de se recusar a participar, sem nenhuma forma de prejuízo.

- **Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido**

O termo de consentimento livre e esclarecido (**Anexo 1**) foi apresentado às voluntárias e havendo concordância das mesmas, foi preenchido e assinado em duas vias, sendo uma para o sujeito da pesquisa e outra arquivada pela pesquisadora.

4. RESULTADOS

Os dados relativos aos parâmetros antropométricos e referentes às medidas de EIMC estão na **Tabela 1**.

Nos grupos G1 e G2 houve diferença entre peso corporal, IMC, circunferência do pescoço, circunferência da cintura, circunferência do quadril, diâmetro abdominal sagital, relação cintura quadril, percentual de gordura corporal, taxa metabólica basal e percentual de massa magra.

Os grupos G1 e G3 diferiram quanto à idade, peso corporal, IMC, EIMC (0,489 vs. 0,738 mm), circunferência do pescoço, circunferência da cintura, circunferência do quadril, diâmetro abdominal sagital, relação cintura-quadril, percentual de gordura corporal, taxa metabólica basal e percentual de massa magra.

Tabela 1. Comparação de médias entre grupos – antropometria e EIMC

	Grupos					
	G1 Controles (n = 45)		G2 Obesas não DM2 (n = 53)		G3 Obesas DM2 (n = 41)	
	Média ± Desvio Padrão					
Idade (anos)	37 _a	± 7,5	39 _{a,b}	± 7,0	43 _b	± 7,0
Peso corporal (kg)	63,1 _a	± 8,0	91,3 _b	± 12,3	93,9 _b	± 13,5
Altura (m)	1,61 _a	± 0,06	1,60 _a	± 0,06	1,59 _a	± 0,07
IMC (kg/m²)	24,3 _a	± 2,4	35,6 _b	± 4,6	37,0 _b	± 4,5
EIMC (mm)	0,489 _a	± 0,14	0,538 _a	± 0,17	0,738 _b	± 0,19
Circunferência do pescoço (cm)	33,8 _a	± 1,8	37,4 _b	± 2,1	39,0 _c	± 2,5
Circunferência da cintura (cm)	85,9 _a	± 7,4	107,8 _b	± 10,2	115,9 _c	± 10,0
Circunferência do quadril (cm)	100,5 _a	± 6,1	119,7 _b	± 10,3	119,9 _b	± 9,5
Diâmetro abdominal sagital (cm)	18,4 _a	± 1,8	24,0 _b	± 2,9	26,0 _c	± 2,9
Relação cintura-quadril	0,85 _a	± 0,04	0,90 _b	± 0,06	0,97 _c	± 0,06
Gordura corporal (kg)	31,8 _a	± 3,7	40,7 _b	± 3,9	40,7 _b	± 3,5

Nota: Valores em mesma linha e subtabela que não compartilham o mesmo subscrito são significativamente diferentes a $p < 0,05$.

Os dados relativos aos parâmetros bioquímicos estão na Tabela 2.

Entre os grupos G1 e G2 houve diferença significativa para as seguintes dosagens: insulina e HOMA-IR.

Entre os grupos G1 e G3 as diferenças foram significantes nos níveis de: RBP4, HbA1c, insulina, glicemia de jejum, HOMA-IR, HDL e LDL colesterol, triglicérides, GGT, AST e ALT.

Tabela 2. Comparação de médias entre grupos – parâmetros bioquímicos

	Grupo		
	G1	G2	G3
	Controles (n = 45)	Obesas Não DM2 (n = 53)	Obesas DM2 (n = 41)
	Média ± Desvio Padrão		
[RBP4] (ng/ml)	104,8 _a ± 76,8	87,9 _{a,b} ± 38,0	72,2 _b ± 15,6
Hemoglobina Glicada (%)	5,2 _a ± 0,88	5,5 _a ± 0,91	7,6 _b ± 2,07
Insulina (mU/l)	6,9 _a ± 4,2	12,7 _b ± 7,5	14,6 _b ± 11,3
Glicemia de jejum (mg/dL)	78,7 _a ± 8,6	82,2 _a ± 10,9	147,7 _b ± 66,9
HOMA-IR	1,3 _a ± 0,8	2,5 _b ± 1,5	5,0 _c ± 3,6
Colesterol total (mg/dL)	183 _a ± 33,6	191 _a ± 41,7	183 _a ± 38,5
HDL colesterol (mg/dL)	54 _a ± 11,0	50 _a ± 12,7	39 _b ± 9,2
LDL colesterol (mg/dL)	110 _a ± 31,1	121 _a ± 34,7	108 _a ± 33,3
Triglicérides (mg/dL)	94 _a ± 56,6	118 _a ± 71,0	193 _b ± 191,4
Gama - glutamiltransferase (U/L)	23 _a ± 19,0	27 _a ± 20,9	40 _b ± 21,8
Alanina-amino-transferase (U/L)	17 _a ± 8,9	18 _a ± 10,6	30 _b ± 18,2
Aspartato-amino-transferase (U/L)	19 _a ± 5,1	19 _a ± 6,0	24 _b ± 11,9

Nota: Valores em mesma linha e subtabela que não compartilham o mesmo subscrito são significativamente diferentes a $p < 0,05$.

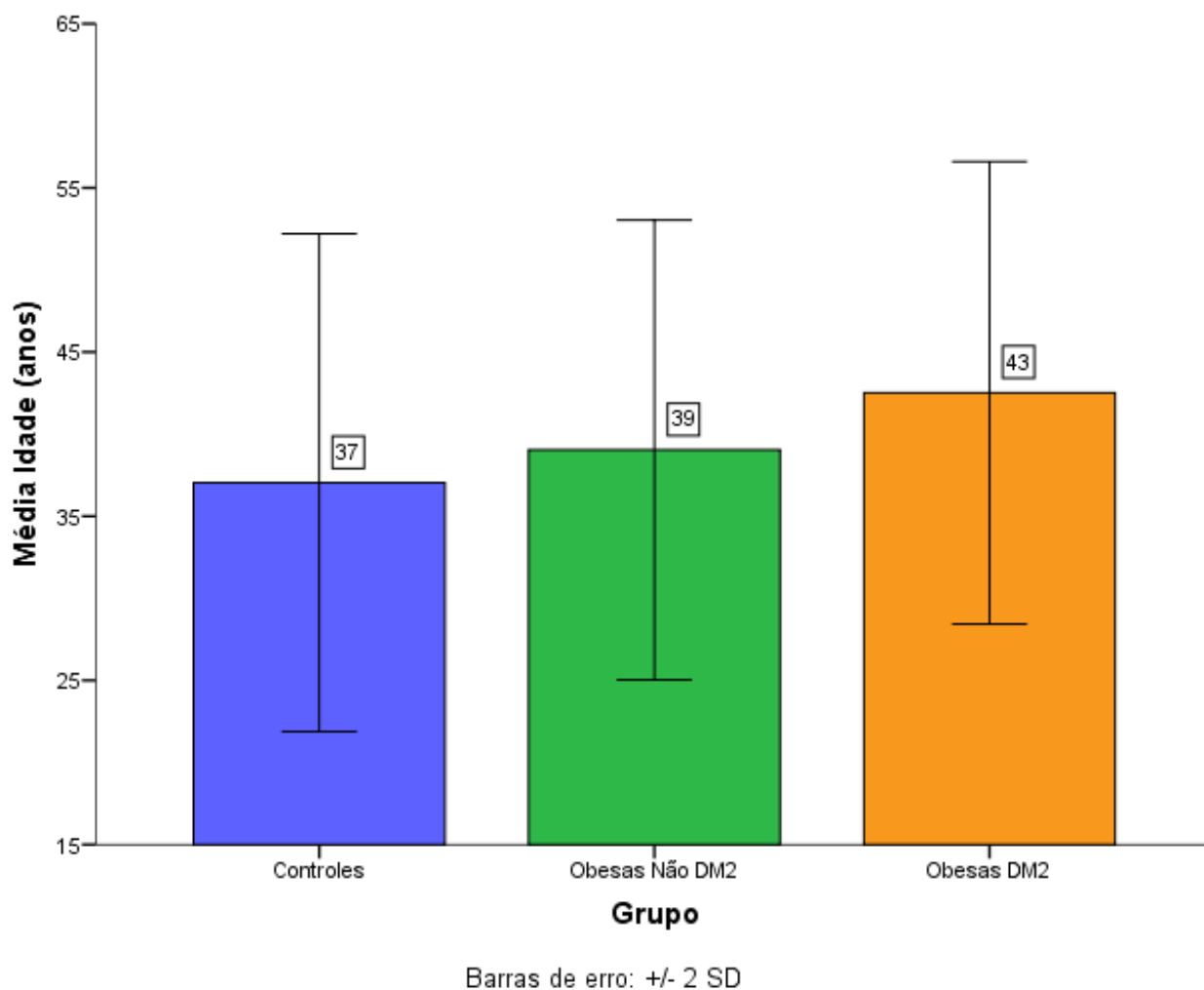


Gráfico 1. Distribuição de idades entre G1, G2 e G3.

Houve diferença significativa entre G1 e G3. Não houve diferença significativa entre G1/G2 e G2/G3.

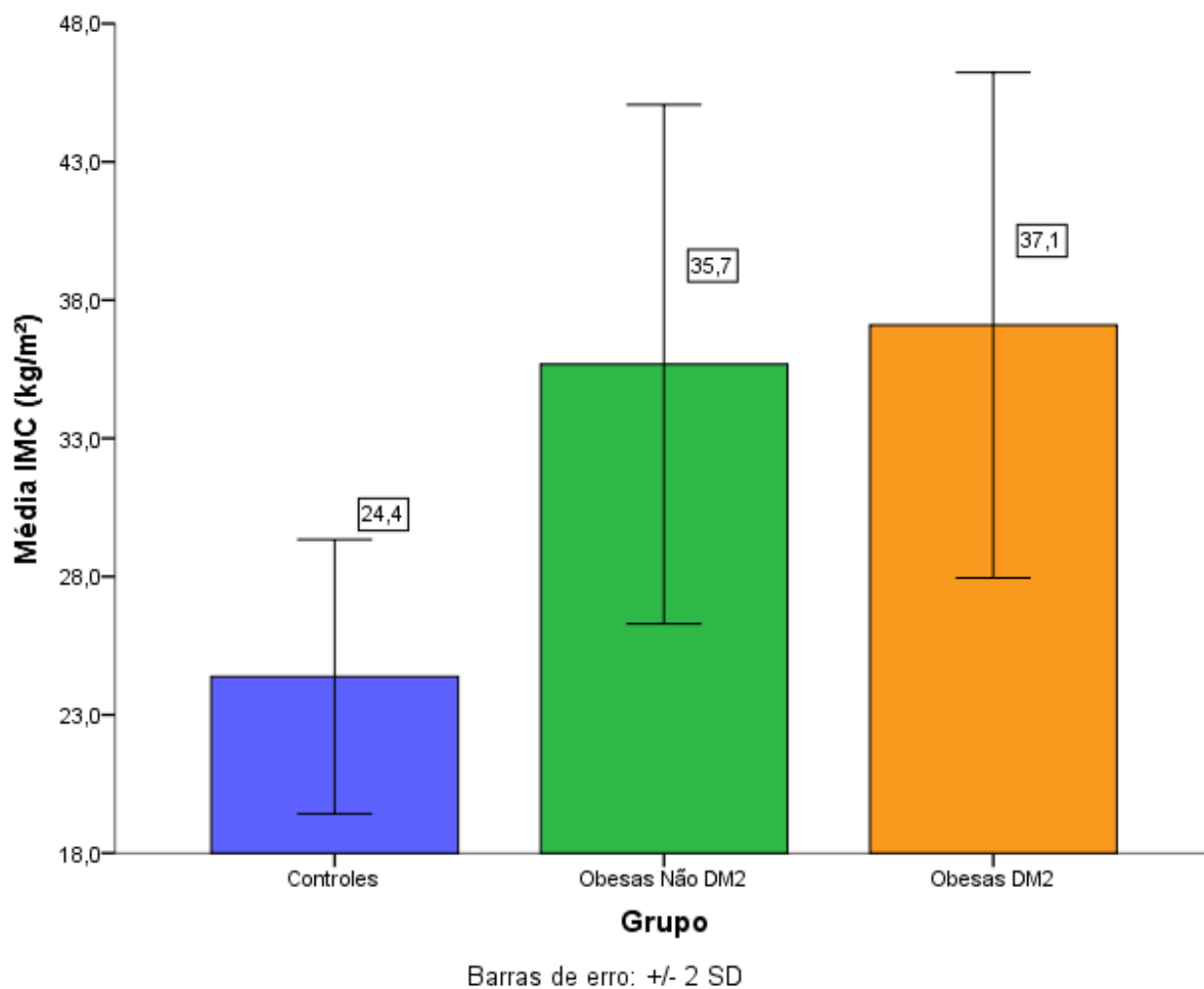


Gráfico 2. Distribuição do IMC entre G1, G2 e G3.

Houve diferença significativa entre G1 e G2. Não houve diferença significativa entre G2 e G3.

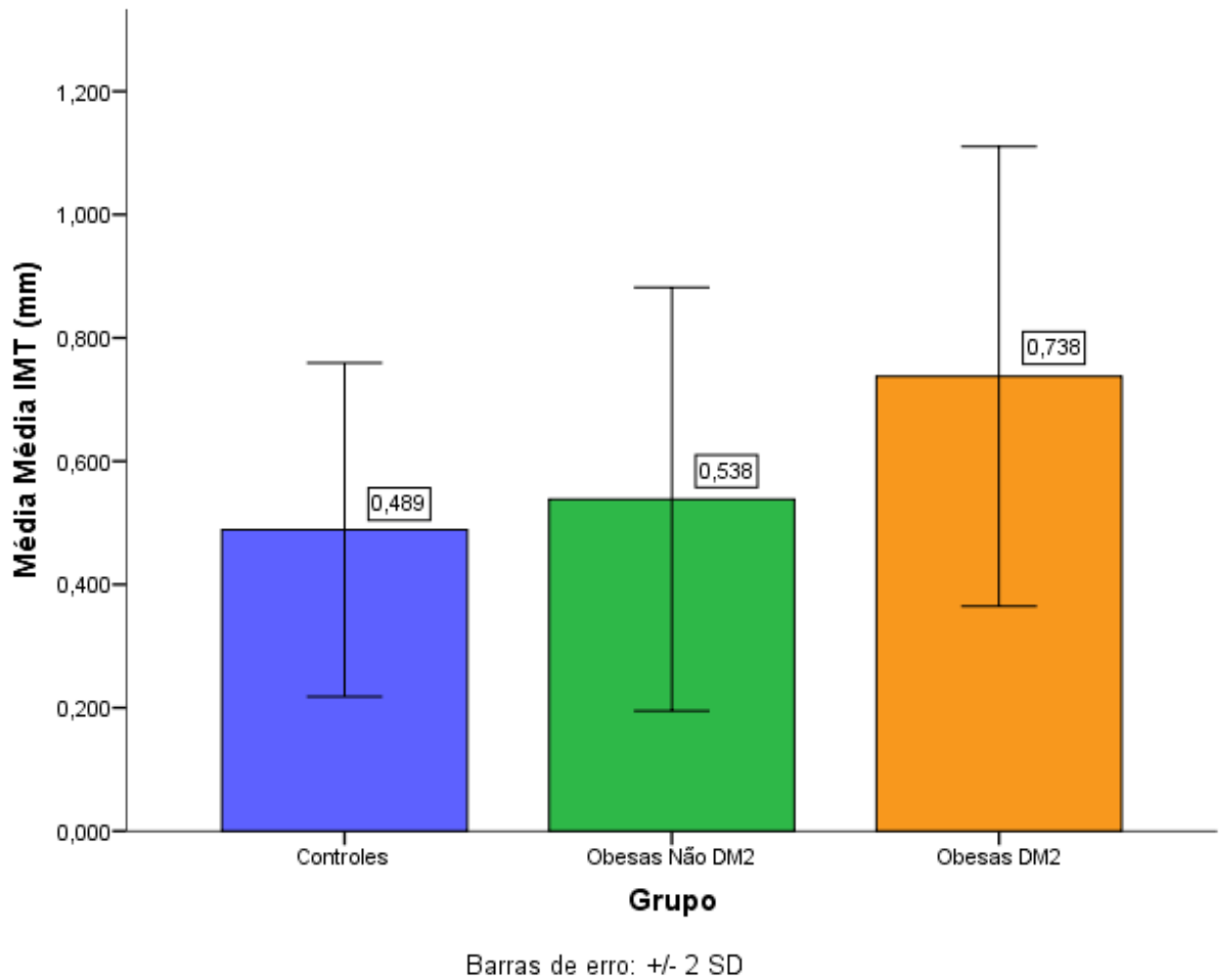


Gráfico 3. Distribuição das medidas da EIMC entre G1, G2 e G3.

G1 e G2 apresentaram médias de EIMC que não diferiram estatisticamente entre si. G3 diferiu de forma estatisticamente significativa dos dois grupos anteriores.

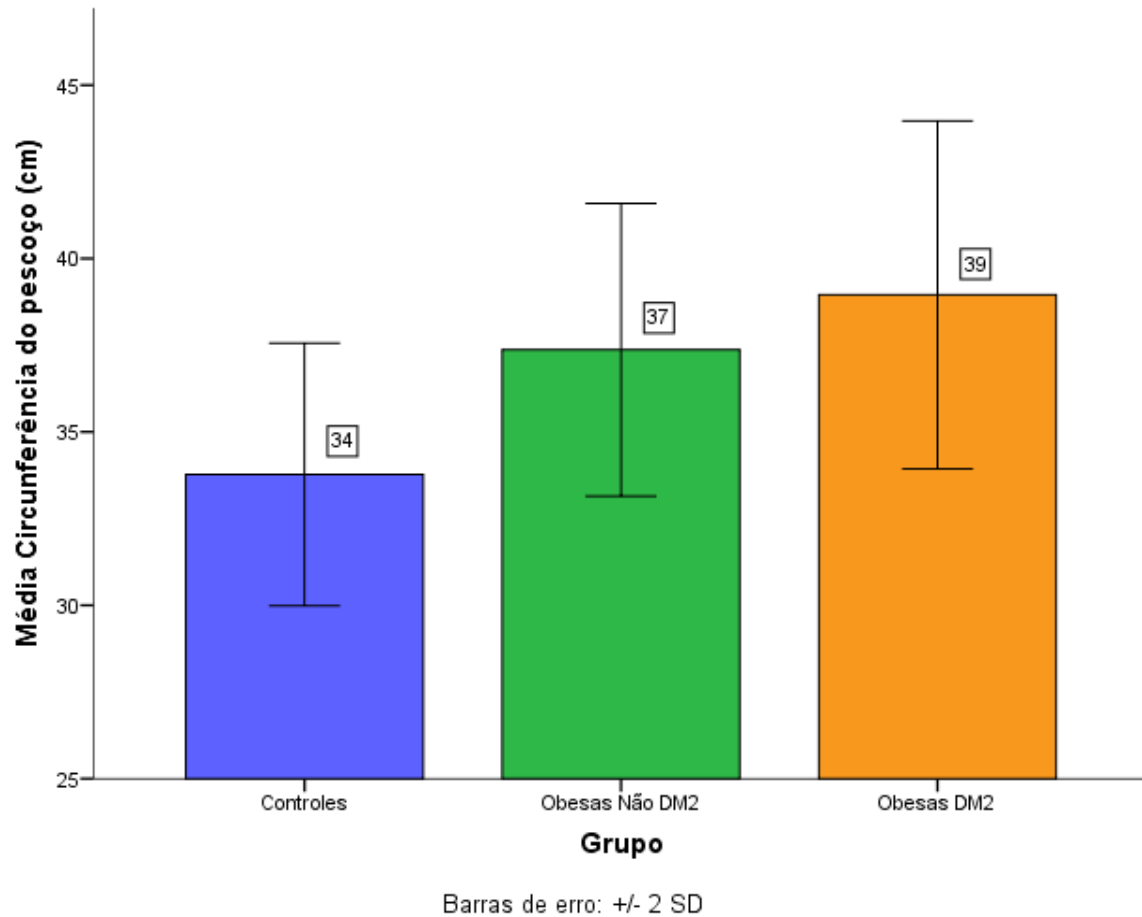


Gráfico 4. Distribuição das medidas de circunferência do pescoço entre G1, G2 e G3.

Os três grupos diferiram de forma estatisticamente significativa.

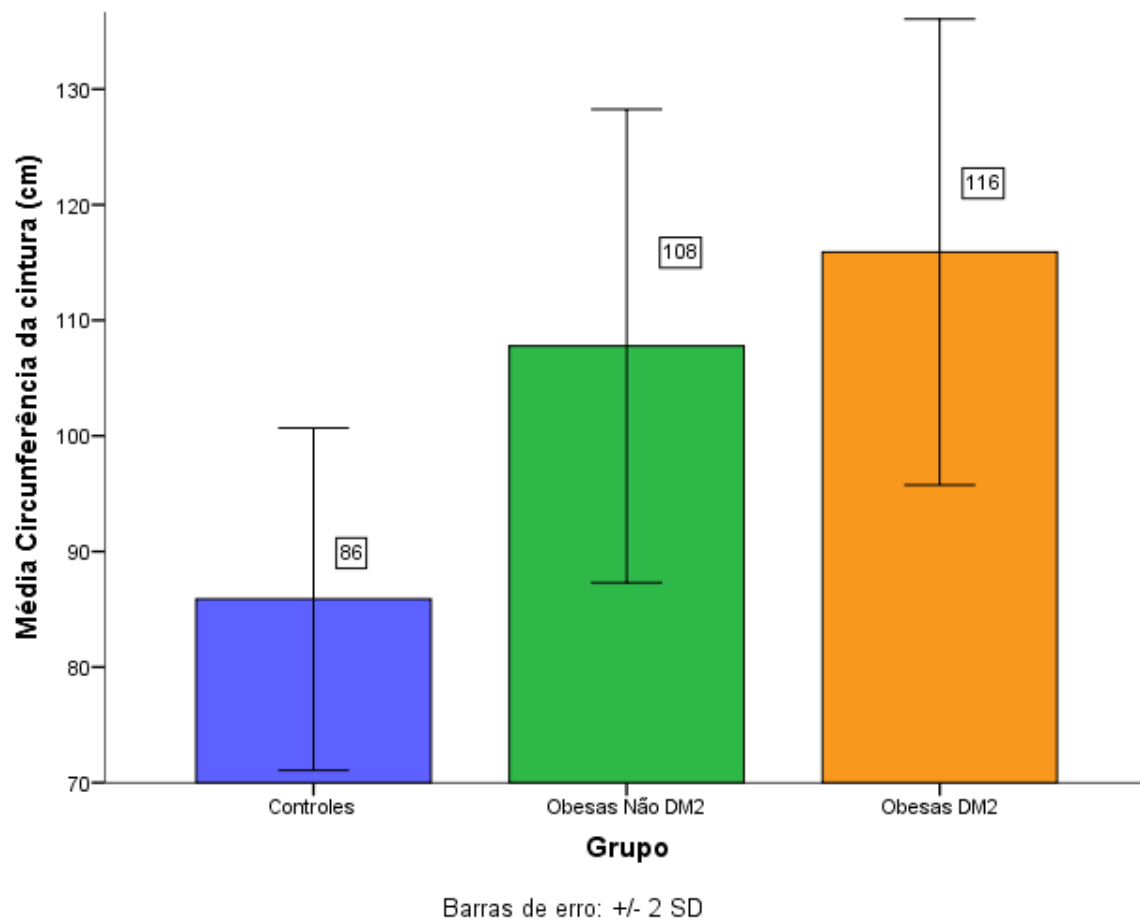


Gráfico 5. Distribuição das medidas de circunferência da cintura entre G1, G2 e G3.

Os três grupos diferiram de forma estatisticamente significativa.

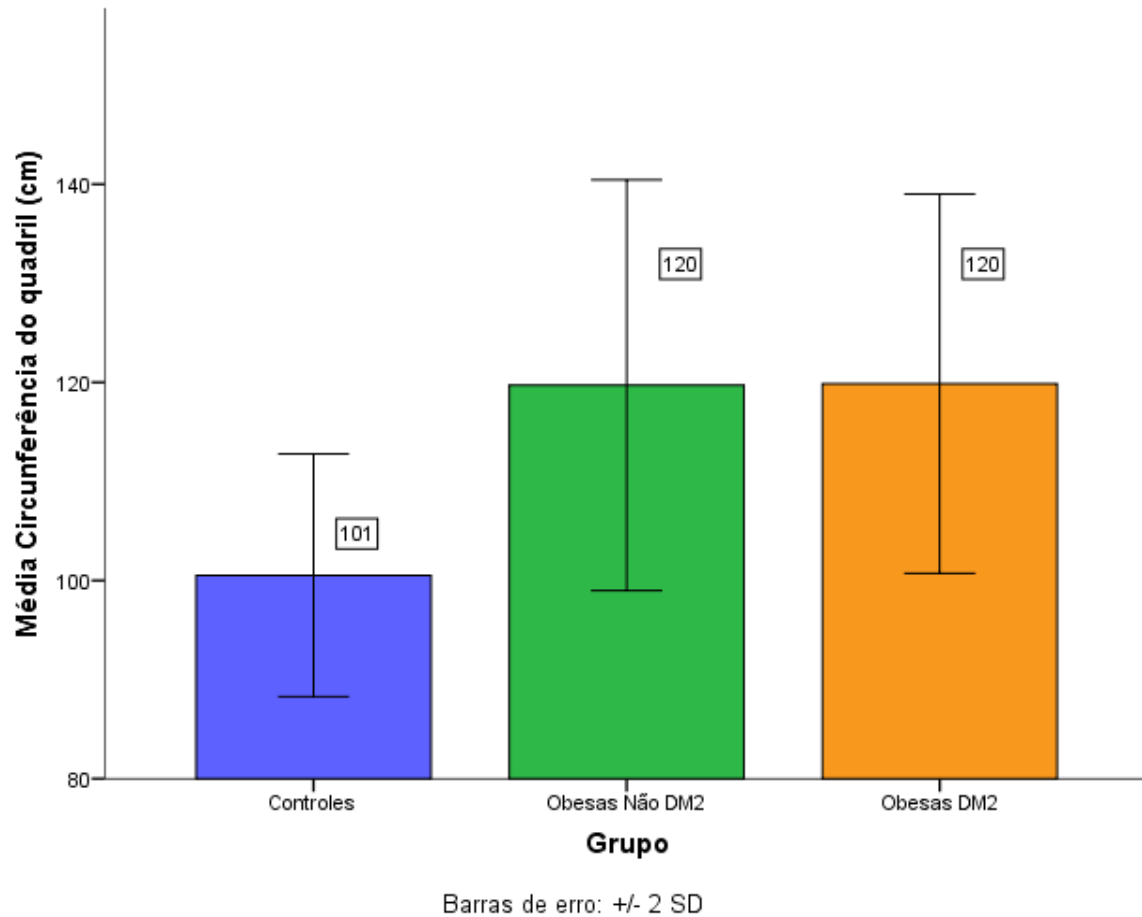


Gráfico 6. Distribuição das medidas de circunferência do quadril entre G1, G2 e G3.

G1 diferiu de G2 e G3. Os grupos G2 e G3 não diferiram de forma estatisticamente significativa entre si.

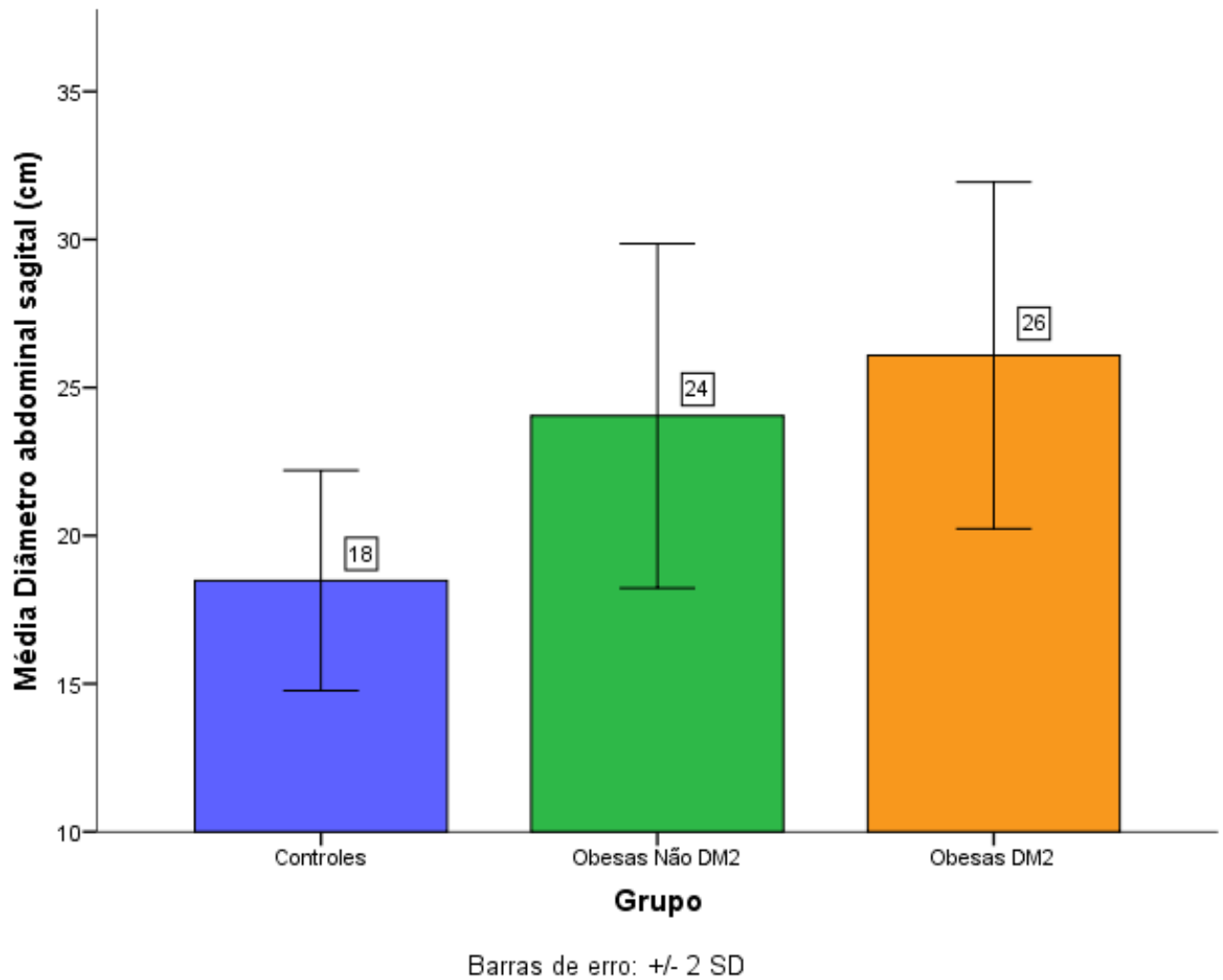


Gráfico 7. Distribuição das medidas de diâmetro abdominal sagital entre G1, G2 e G3.

Os três grupos diferiram de forma estatisticamente significativa entre si.

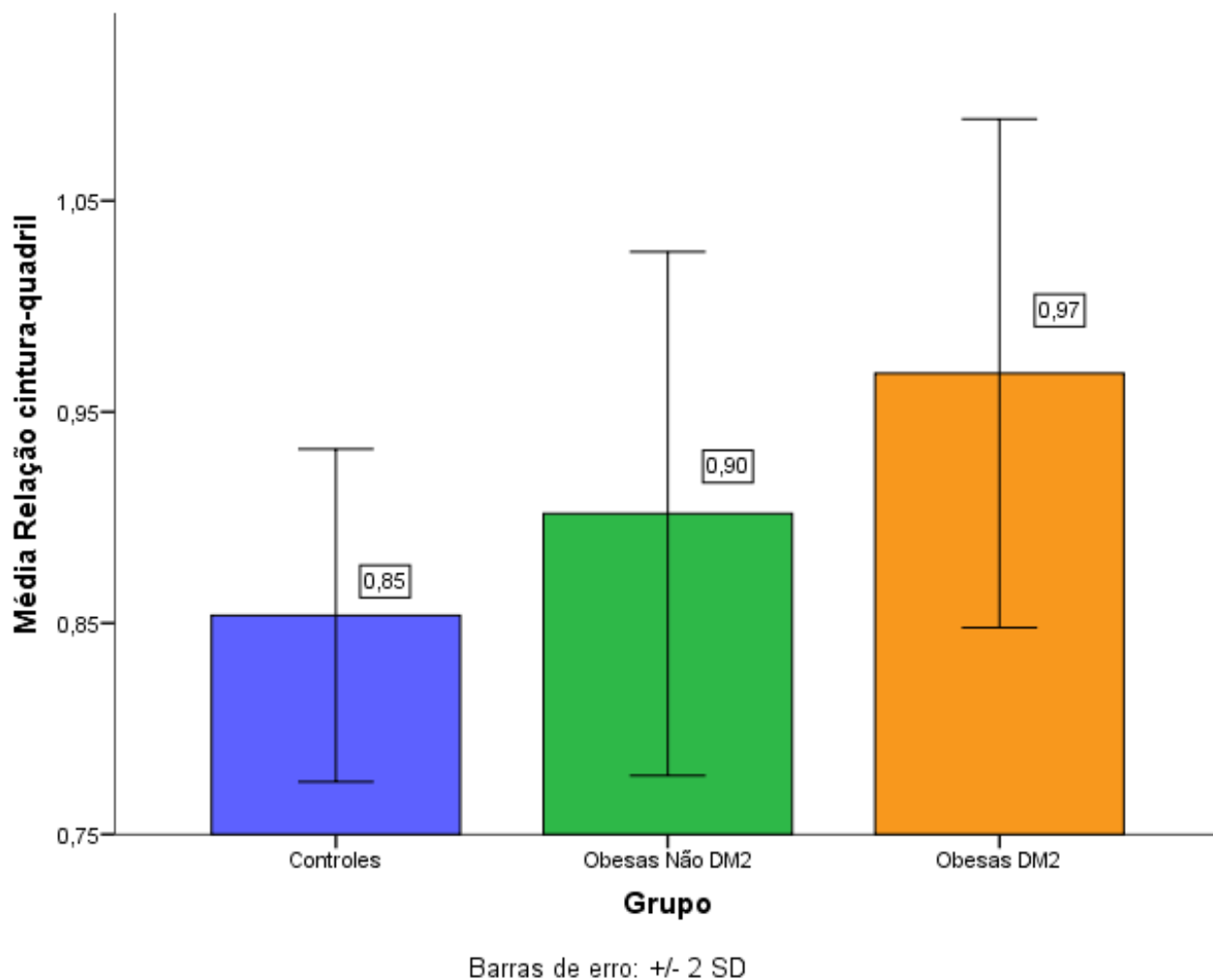


Gráfico 8. Relação cintura-quadril entre G1, G2 e G3.

Os três grupos diferiram de forma estatisticamente significativa entre si.

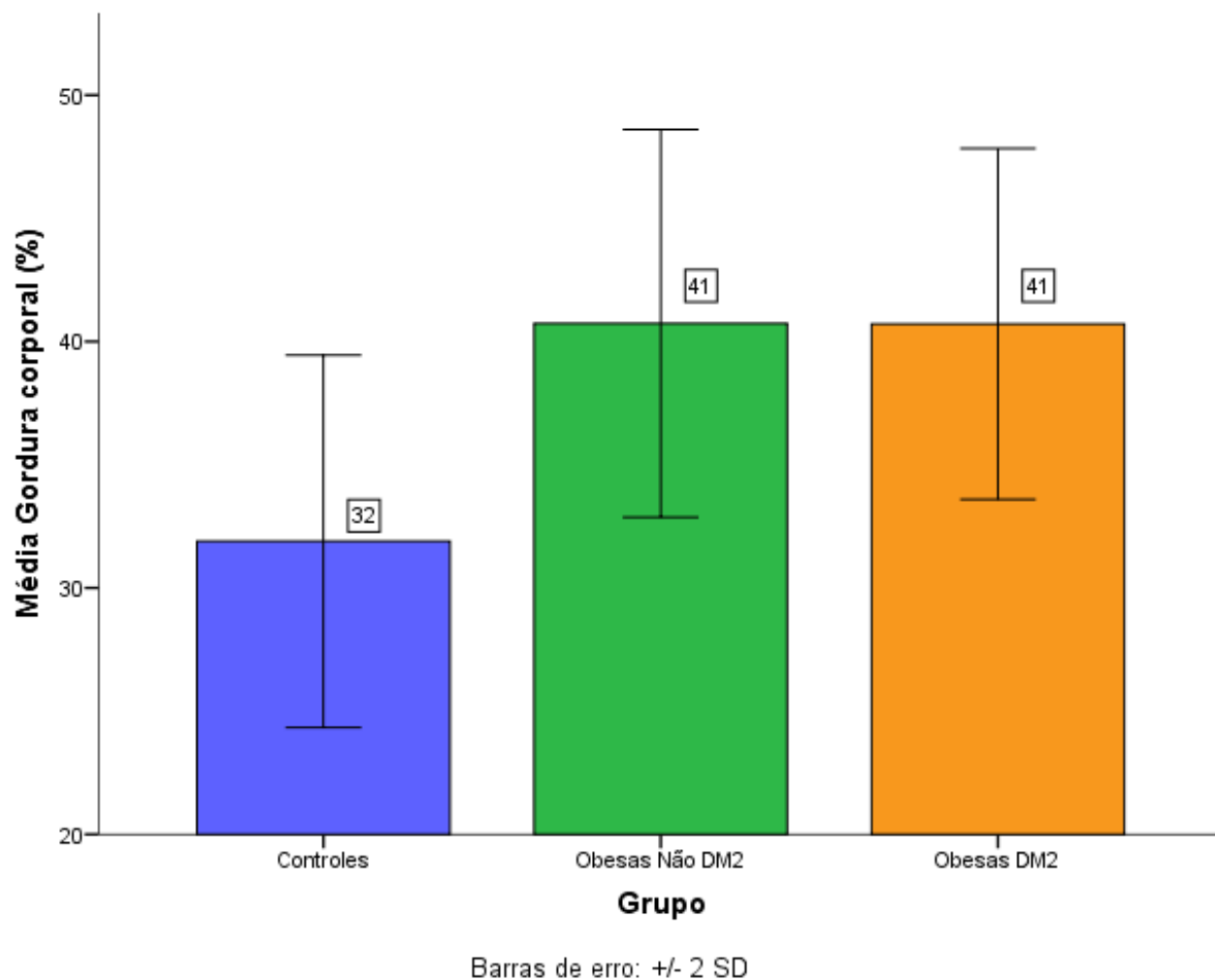


Gráfico 9. Distribuição do percentual de gordura corporal entre G1, G2 e G3.

G1 diferiu de G2 e G3. Os grupos G2 e G3 não diferiram de forma estatisticamente significativa entre si.

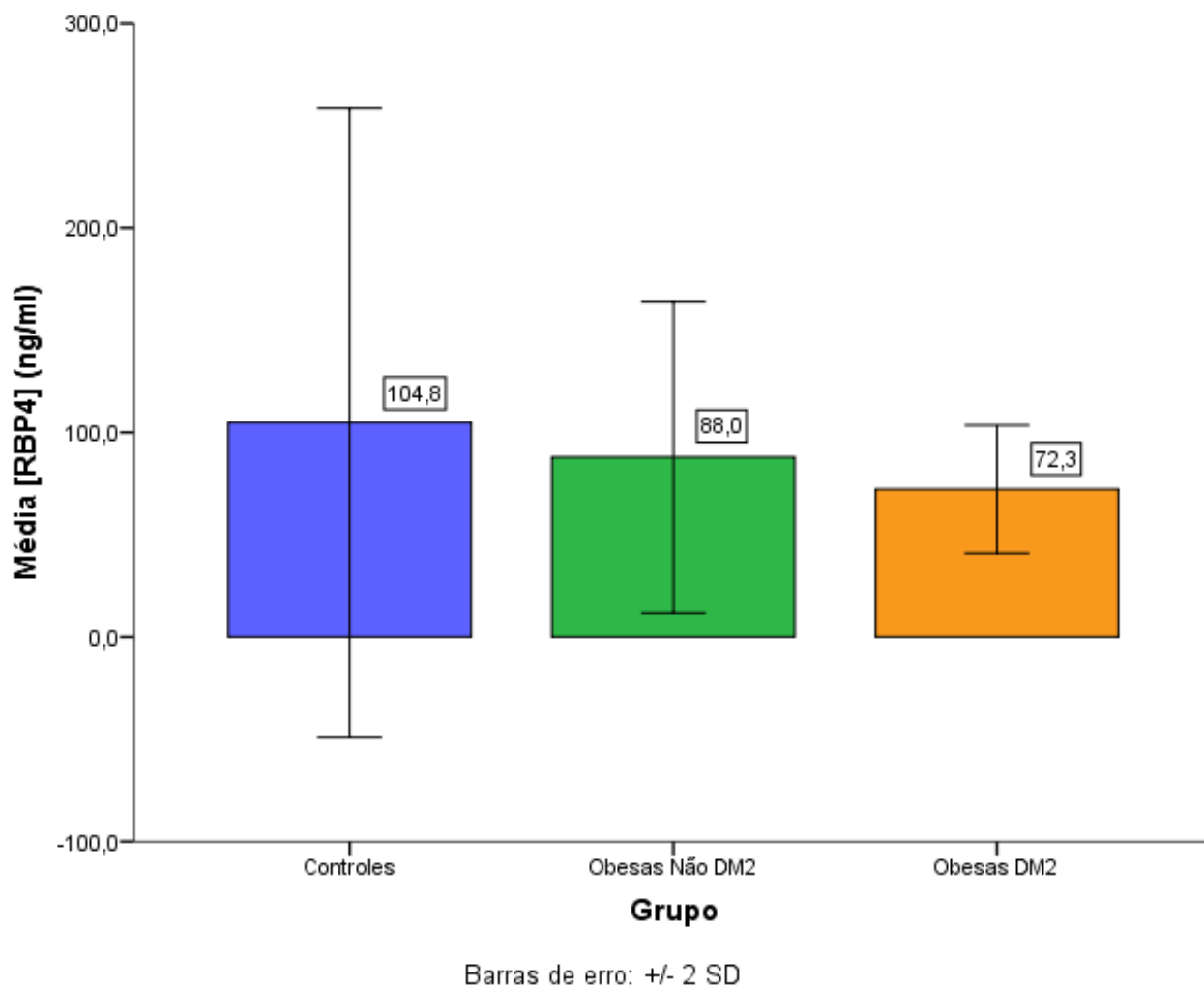


Gráfico 10. Distribuição da concentração de RBP4 entre G1, G2 e G3.

Houve diferença estatística significativa entre G1 e G3. Não houve diferença entre G1/G2 e G2/G3.

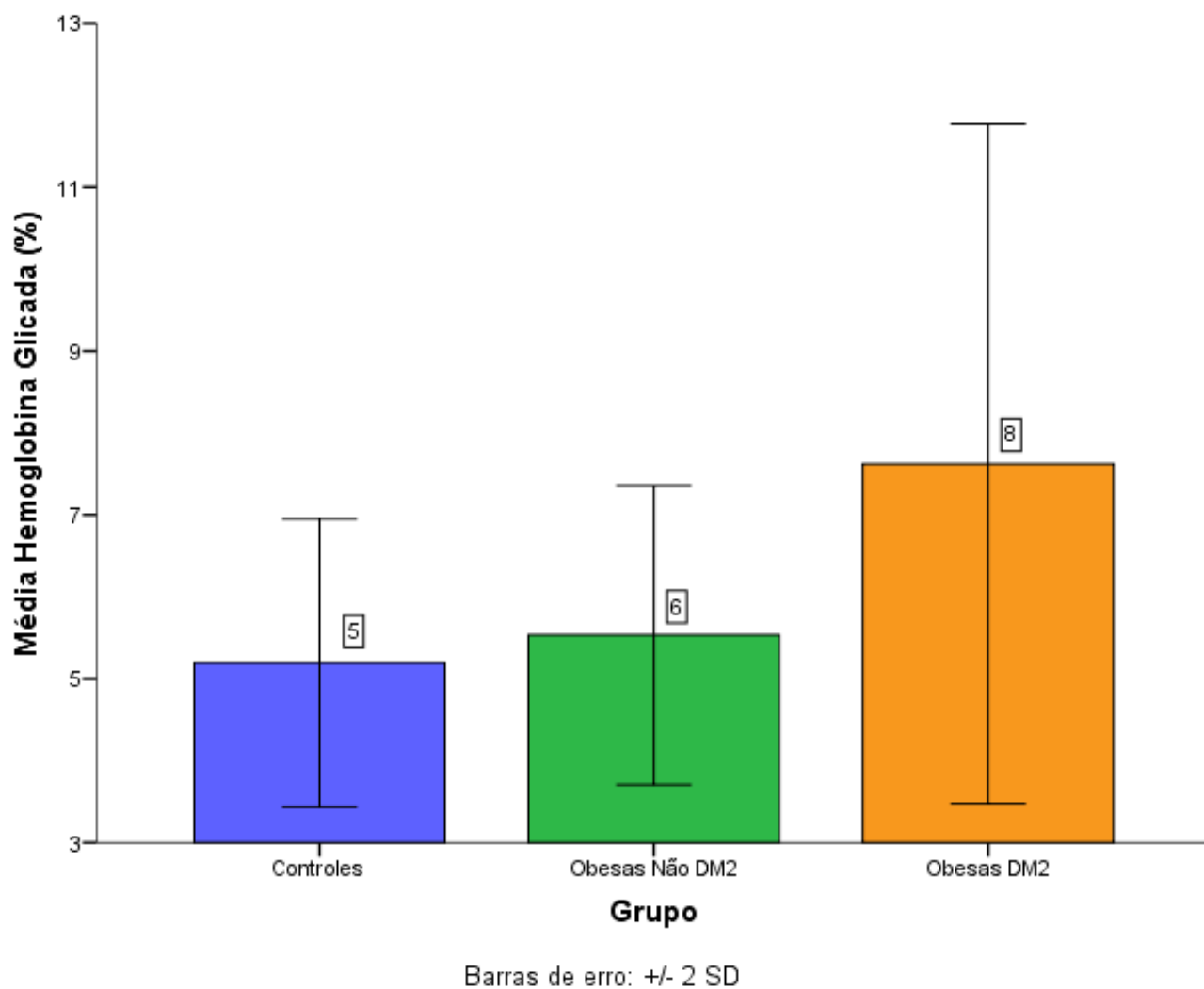


Gráfico 11. Distribuição da concentração de hemoglobina glicada entre G1, G2 e G3.

G1 e G2 apresentaram concentrações que não diferiram entre si. G3 diferiu de forma estatisticamente significativa dos dois grupos anteriores.

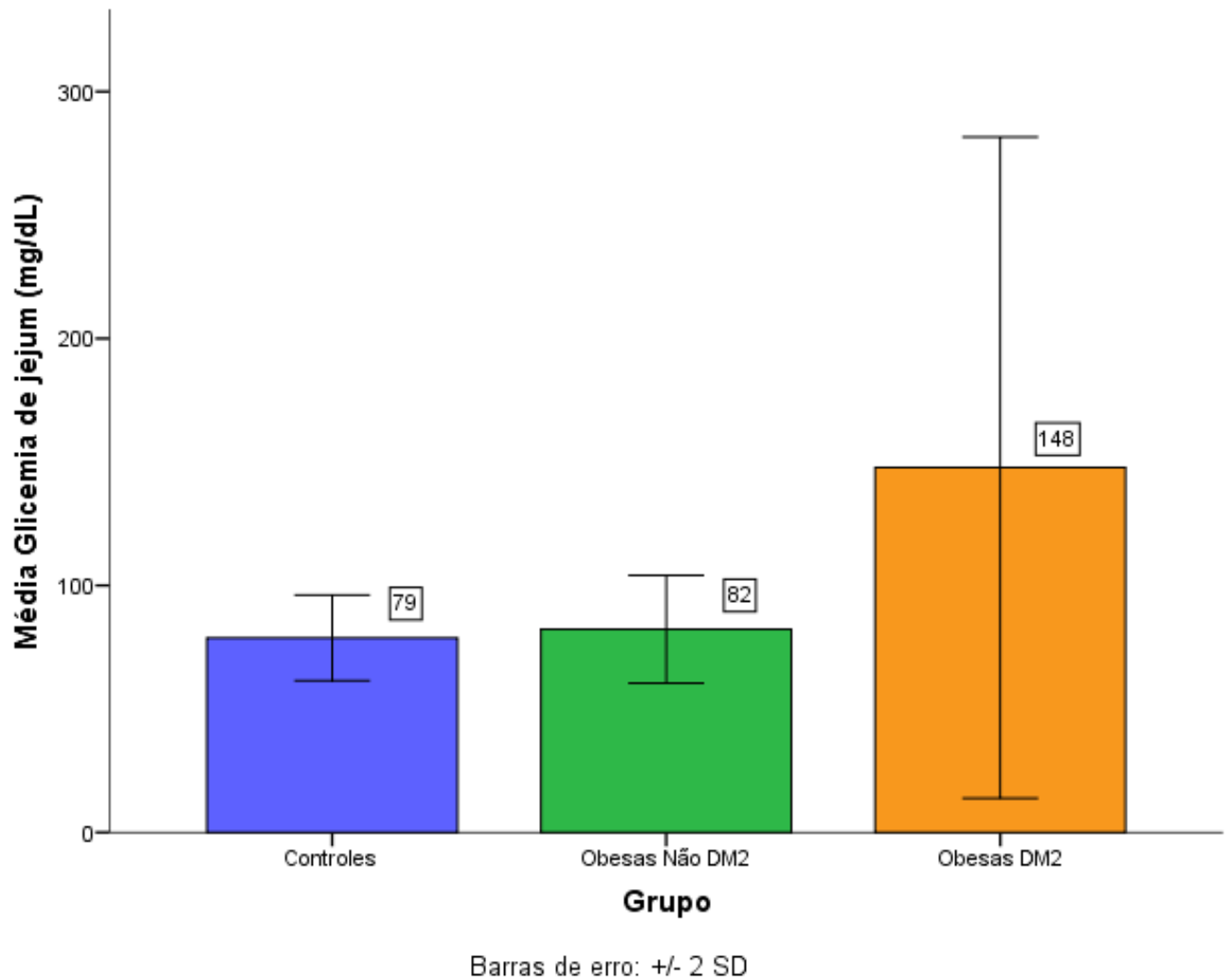


Gráfico 12. Concentração da glicemia em jejum a entre G1, G2 e G3.

G1 e G2 apresentaram níveis médios de glicemia que não diferiram estatisticamente entre si. G3 diferiu de forma estatisticamente significativa dos dois grupos anteriores.

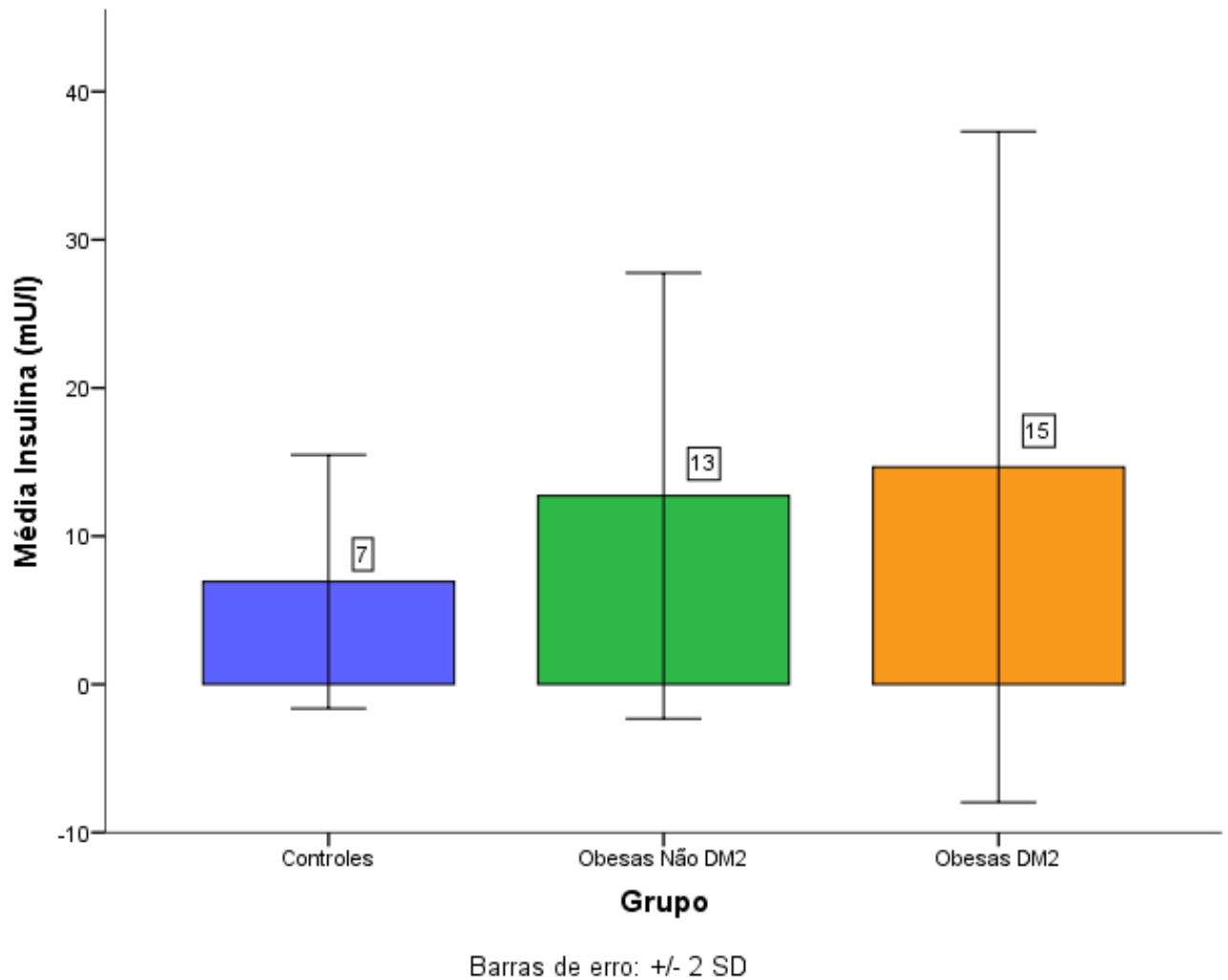


Gráfico 13. Distribuição dos níveis de insulina entre G1, G2 e G3.

G1 diferiu de G2 e G3. Os grupos G2 e G3 não apresentaram entre si diferenças estatisticamente significantes nas concentrações médias de insulina.

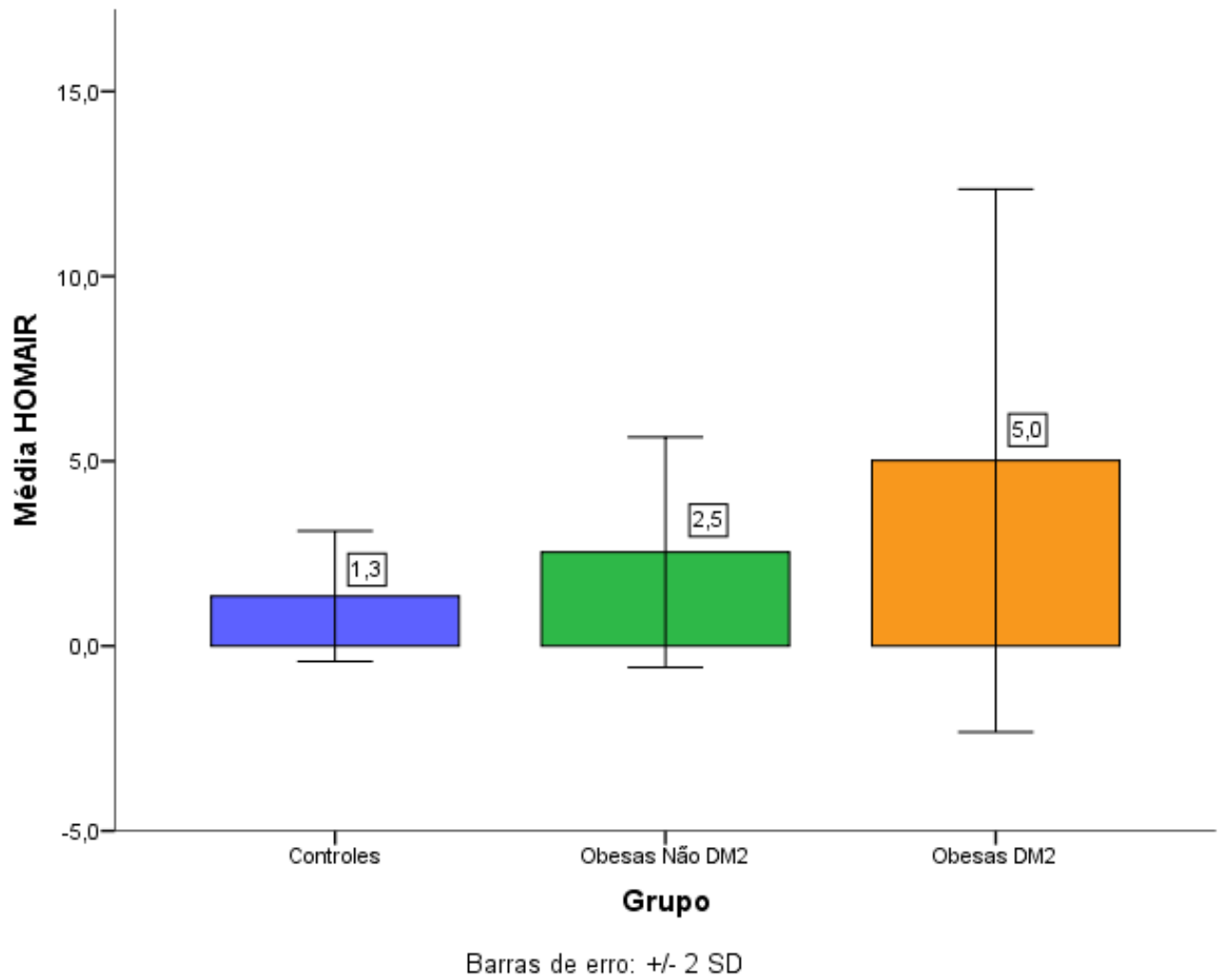


Gráfico 14. Índice HOMA-IR entre G1, G2 e G3.

G1, G2 e G3 diferiram de forma estatisticamente significativa entre si.

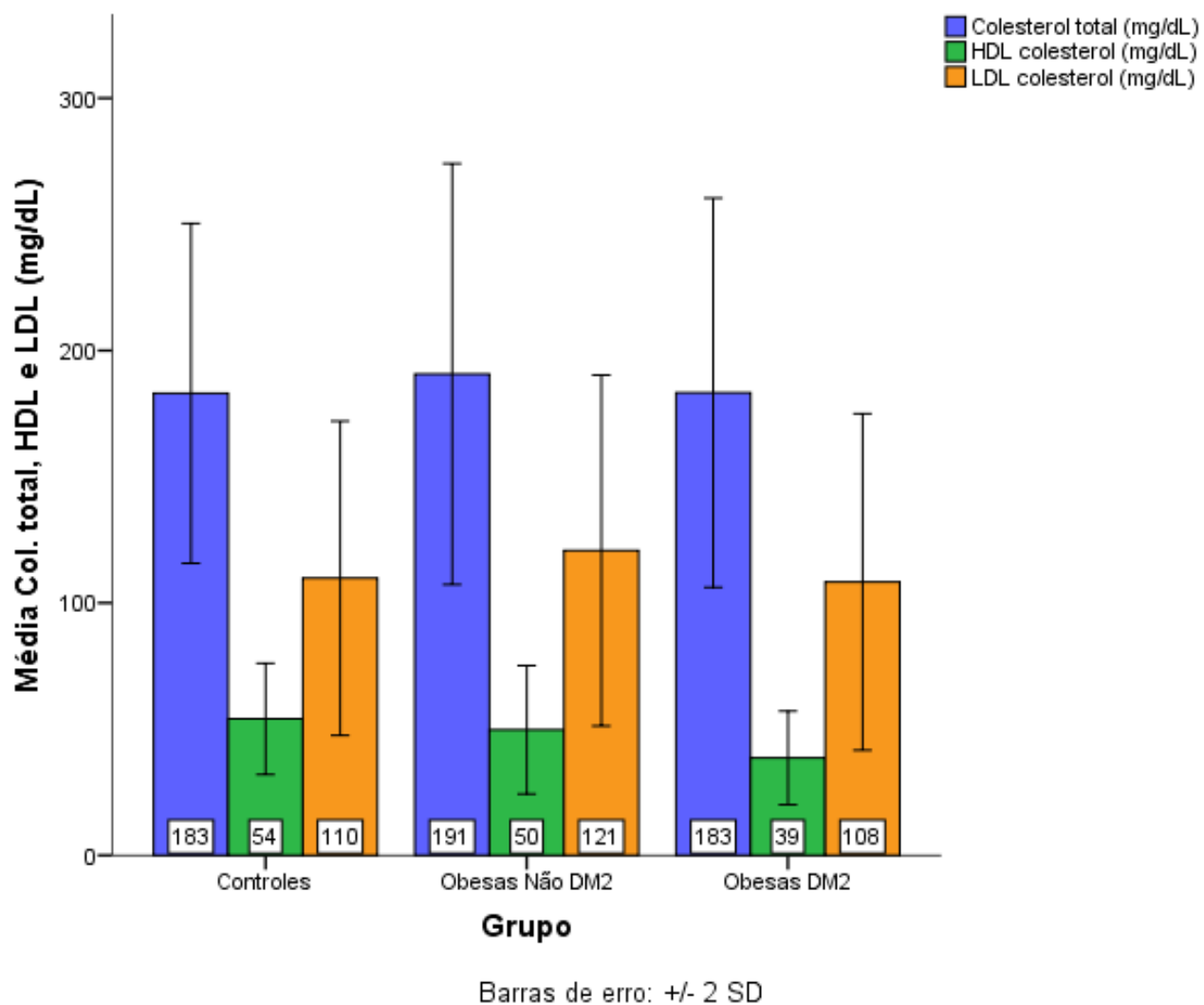


Gráfico 15. Níveis de colesterol total, HDL e LDL colesterol em G1, G2 e G3,

G1, G2 e G3 não diferiram de forma estatisticamente significativa quanto aos níveis de colesterol total e LDL colesterol. G3 diferiu de forma significativa de G1 e G2 quanto aos níveis de HDL. G1 e G2 não diferiram entre si.

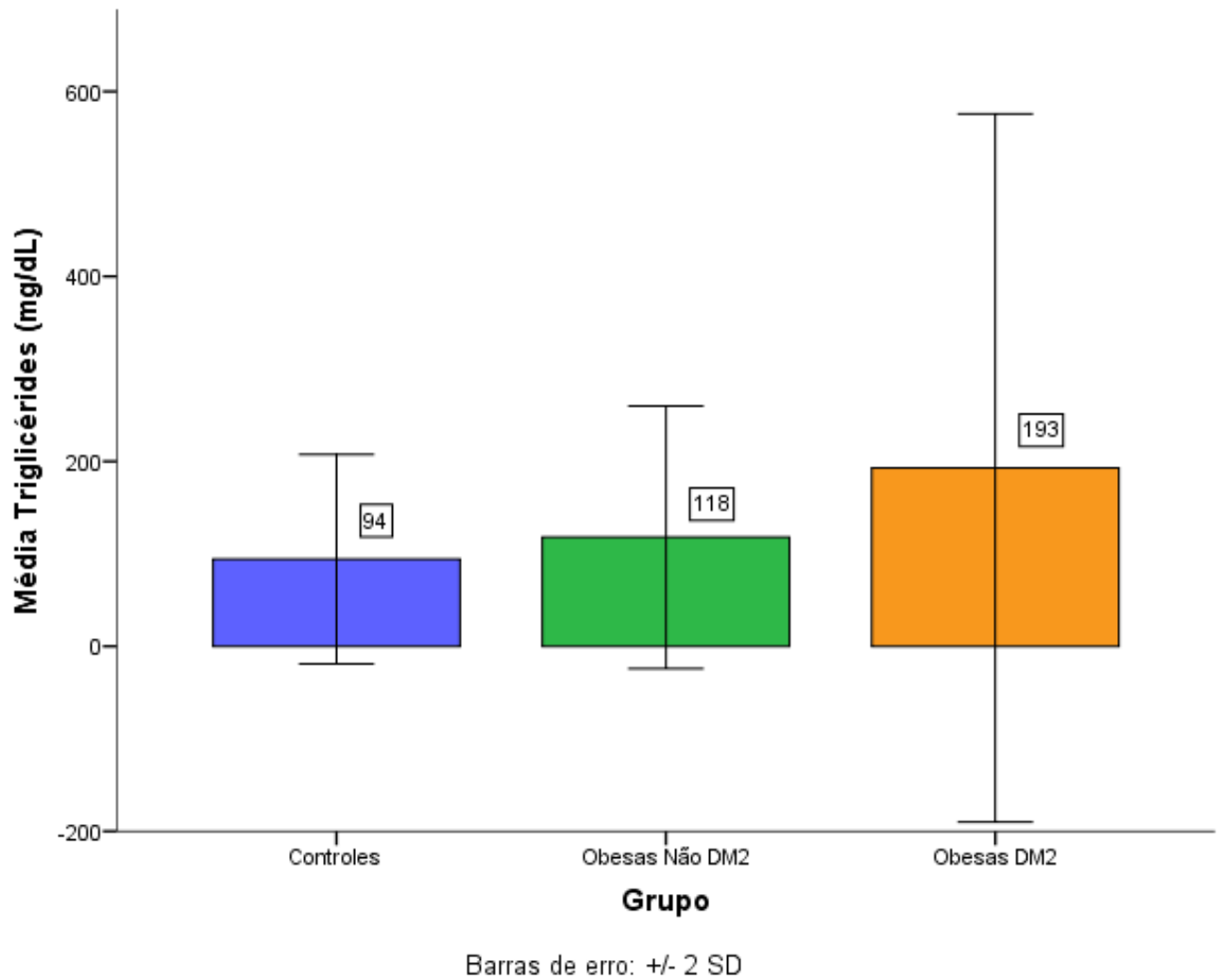


Gráfico 16. Níveis séricos de triglicérides em G1, G2 e G3.

G1 e G2 não diferiram de forma estatisticamente significativa. G3 diferiu de forma significativa de G1 e G2.

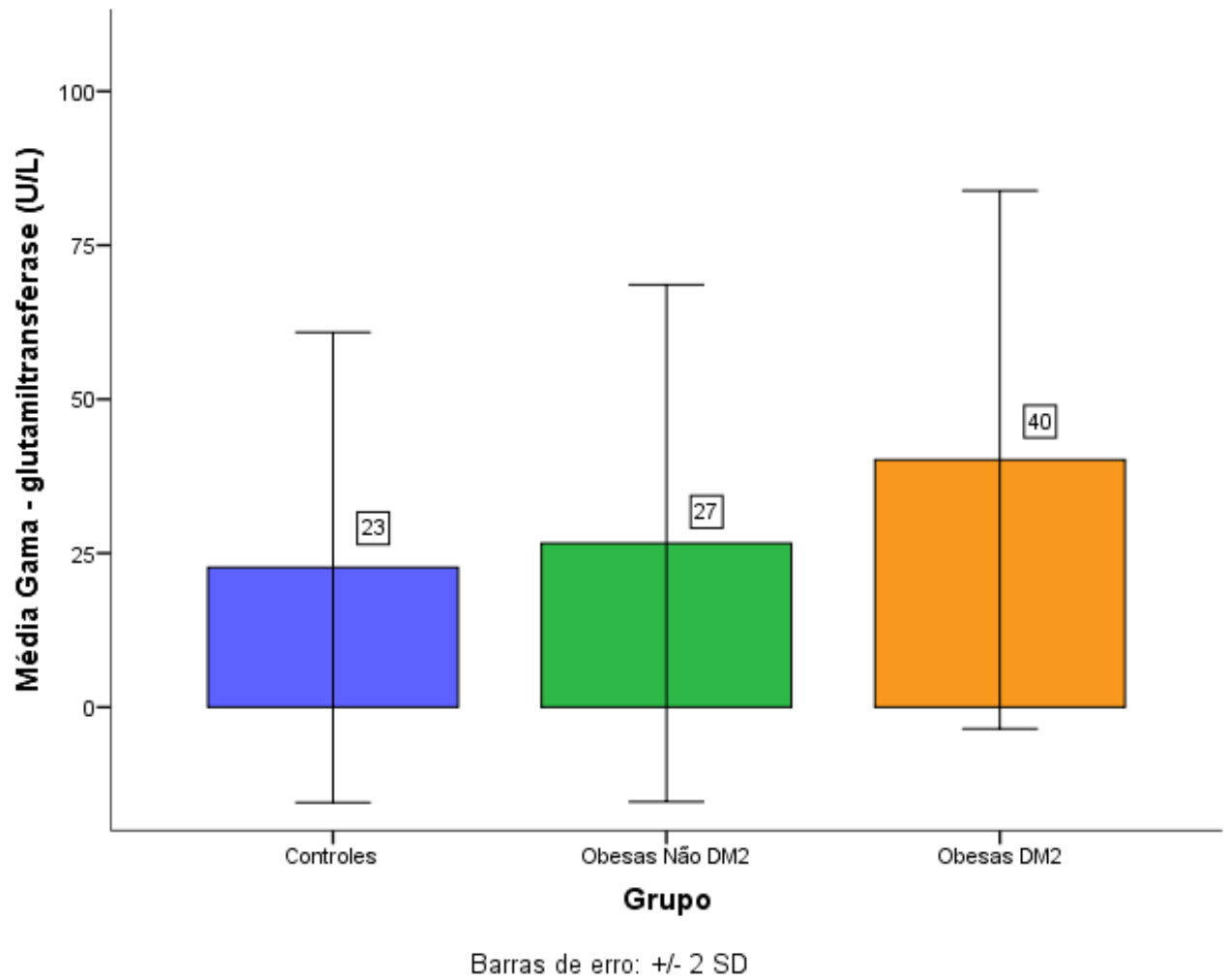


Gráfico 17. Níveis de GGT em G1, G2 e G3.

G1 e G2 não diferiram de forma estatisticamente significativa. G3 diferiu de forma significativa de G1 e G2.

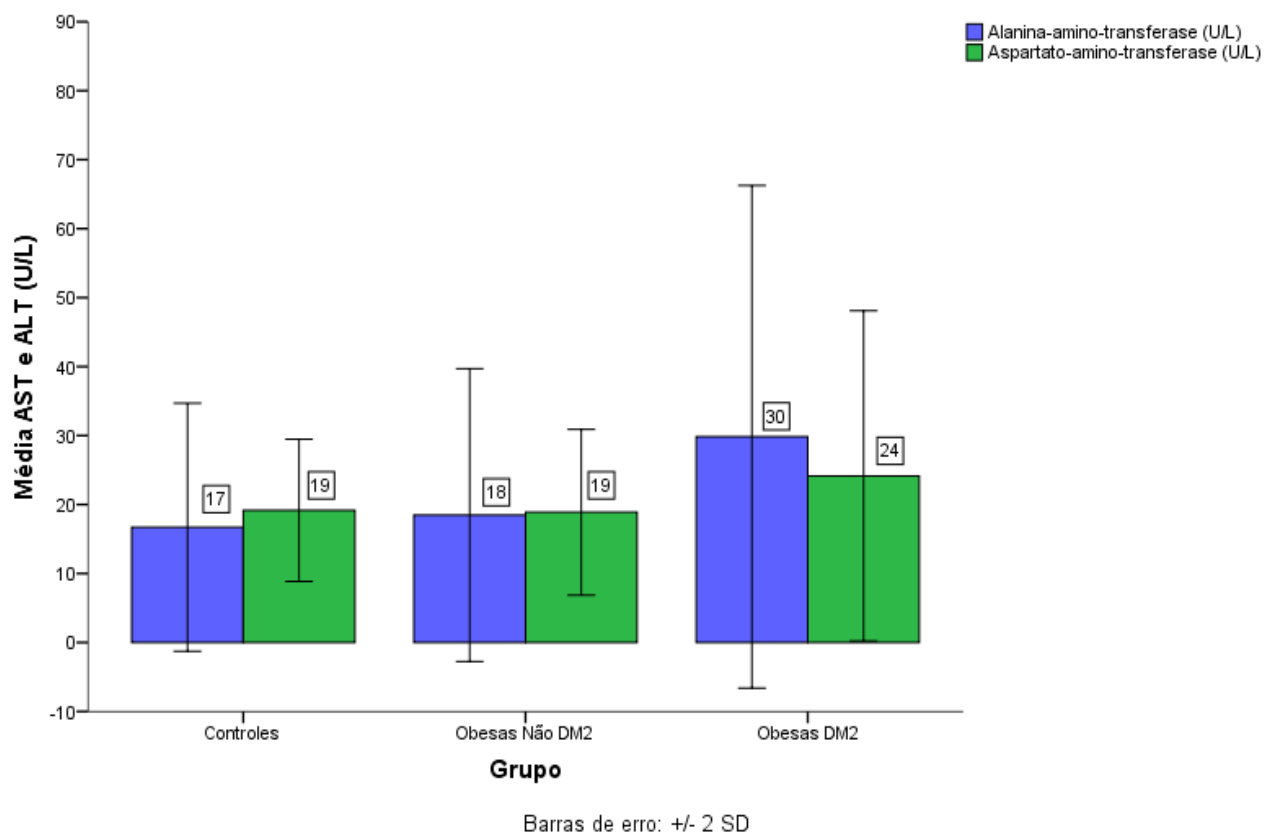


Gráfico 18. Níveis de AST e ALT em G1, G2 e G3.

G1 e G2 não diferiram de forma estatisticamente significativa. G3 diferiu de forma significativa de G1 e G2, nas duas dosagens, quanto às concentrações de AST e ALT.

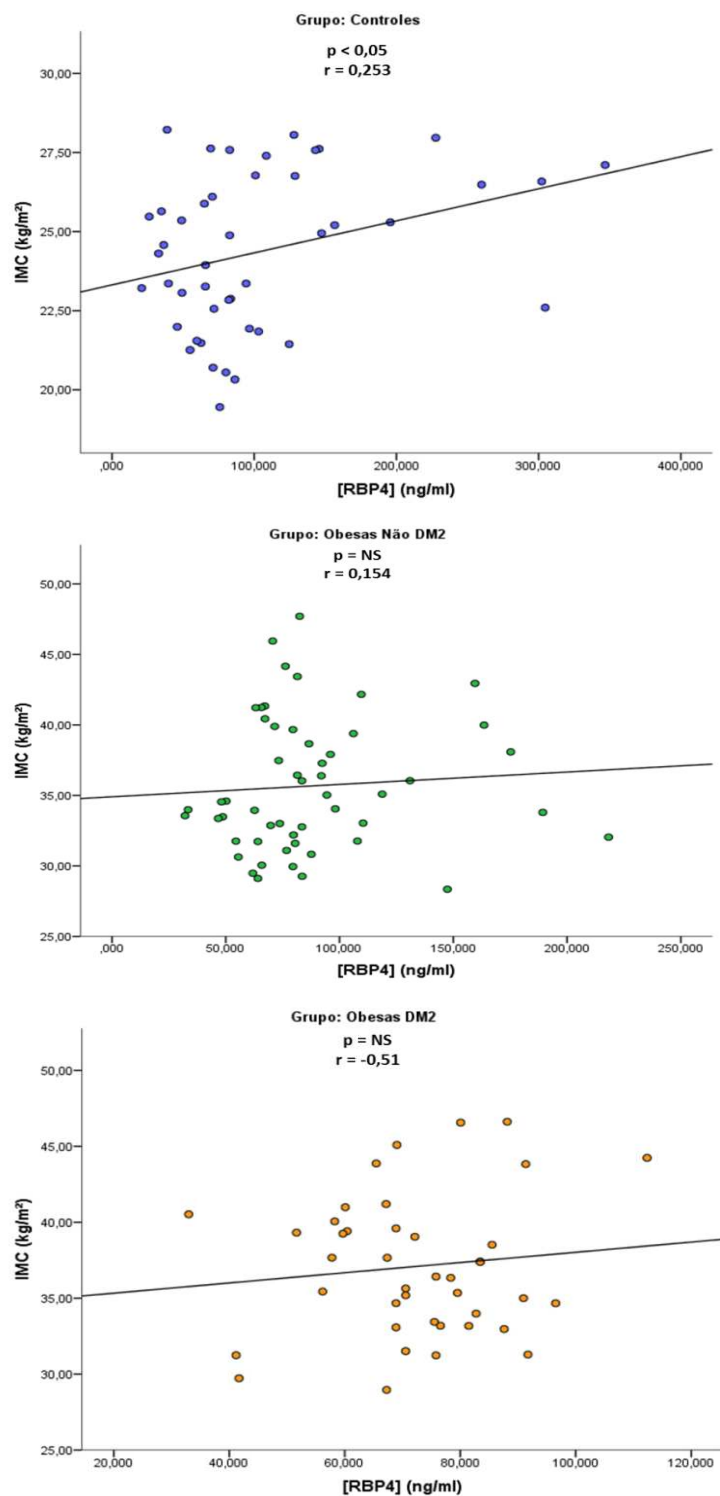


Gráfico 19. Correlação entre os níveis de RBP4 e IMC.

No G1 houve correlação significativa. Em G2 e G3 não há correlação.

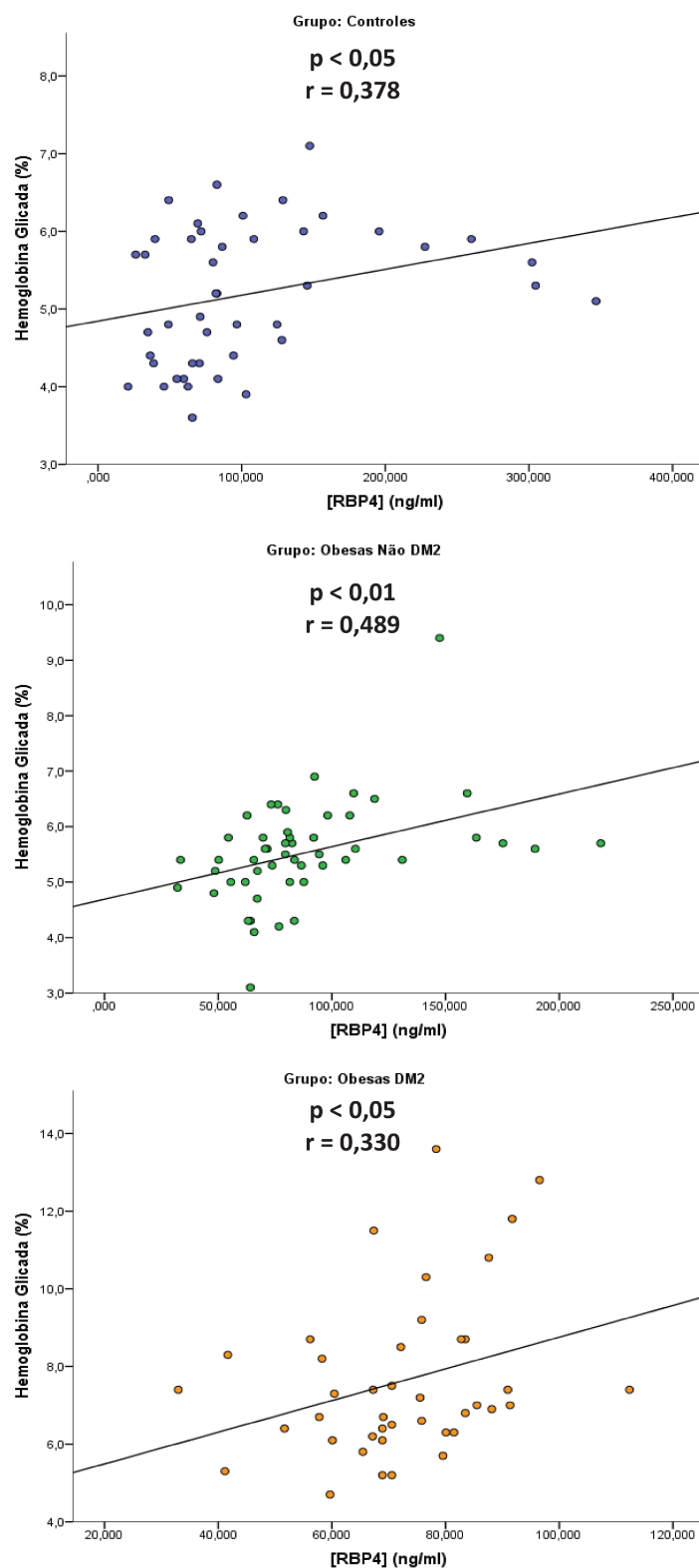


Gráfico 20. Correlação entre os níveis de RBP4 e hemoglobina glicada (%).

Houve correlação significativa nos três grupos.

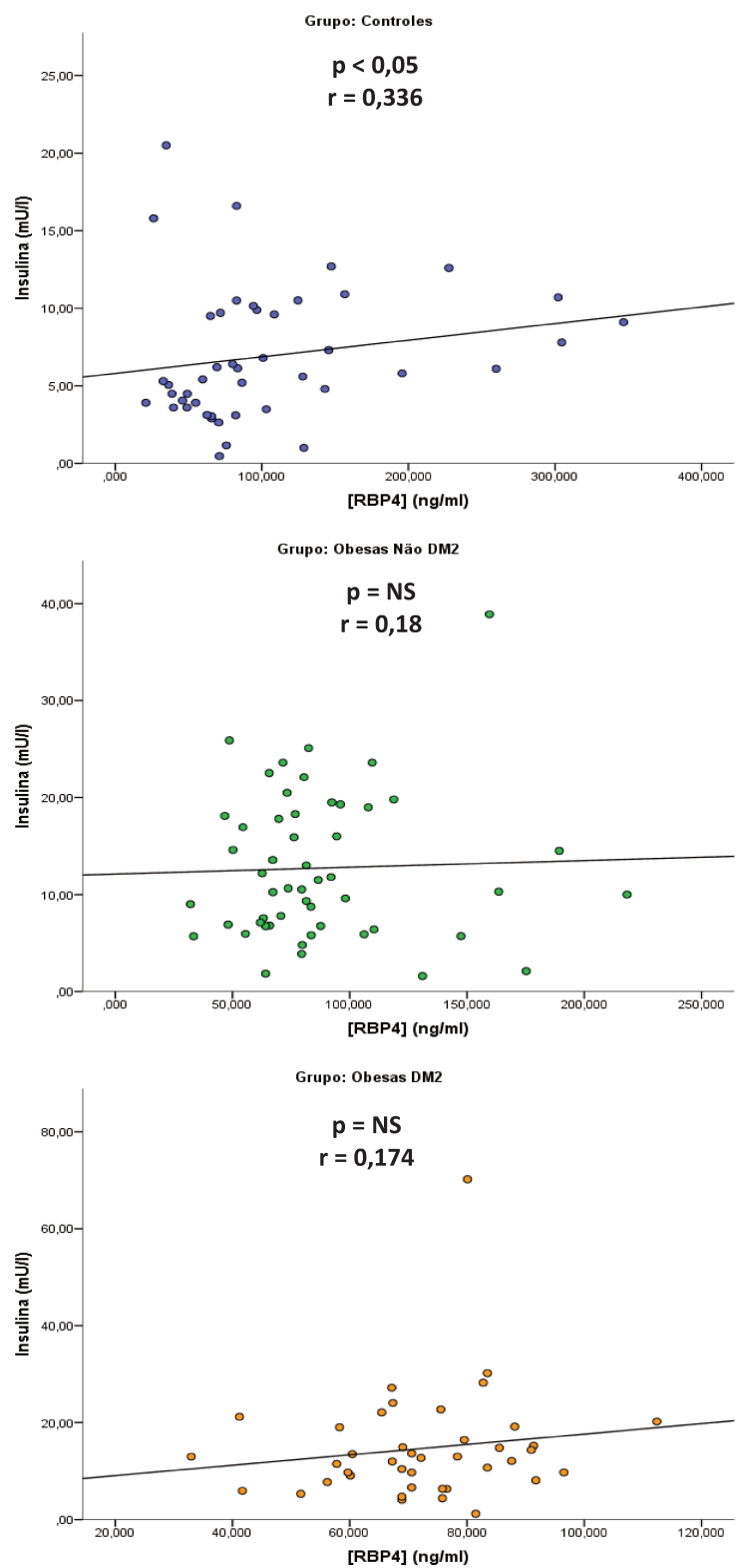


Gráfico 21. Correlação entre os níveis de RBP4 e insulina.

Houve correlação estatisticamente significativa apenas em G1.

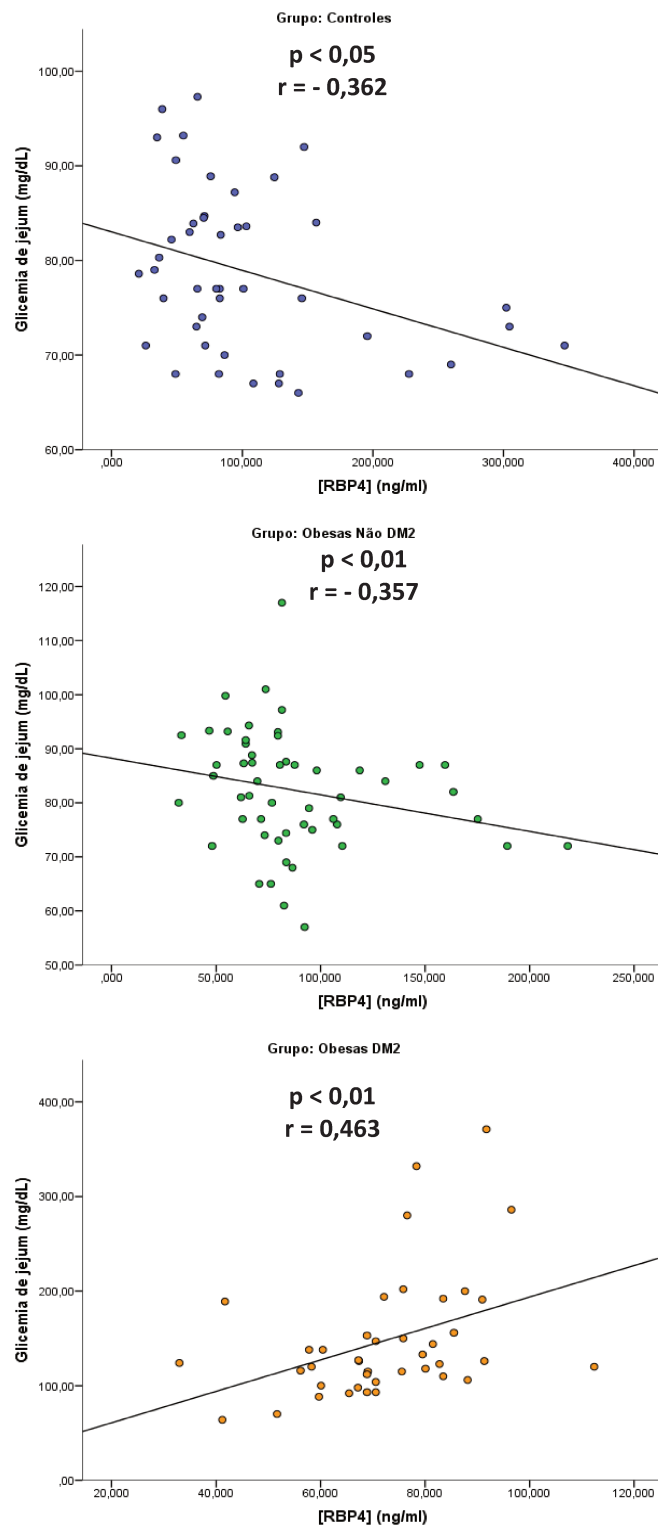


Gráfico 22. Correlação entre os níveis de RBP4 e glicemia de jejum.

Os três grupos apresentaram correlação estatisticamente significativa entre os níveis de RBP4 e glicemia de jejum porém, esta correlação foi positiva apenas em G3.

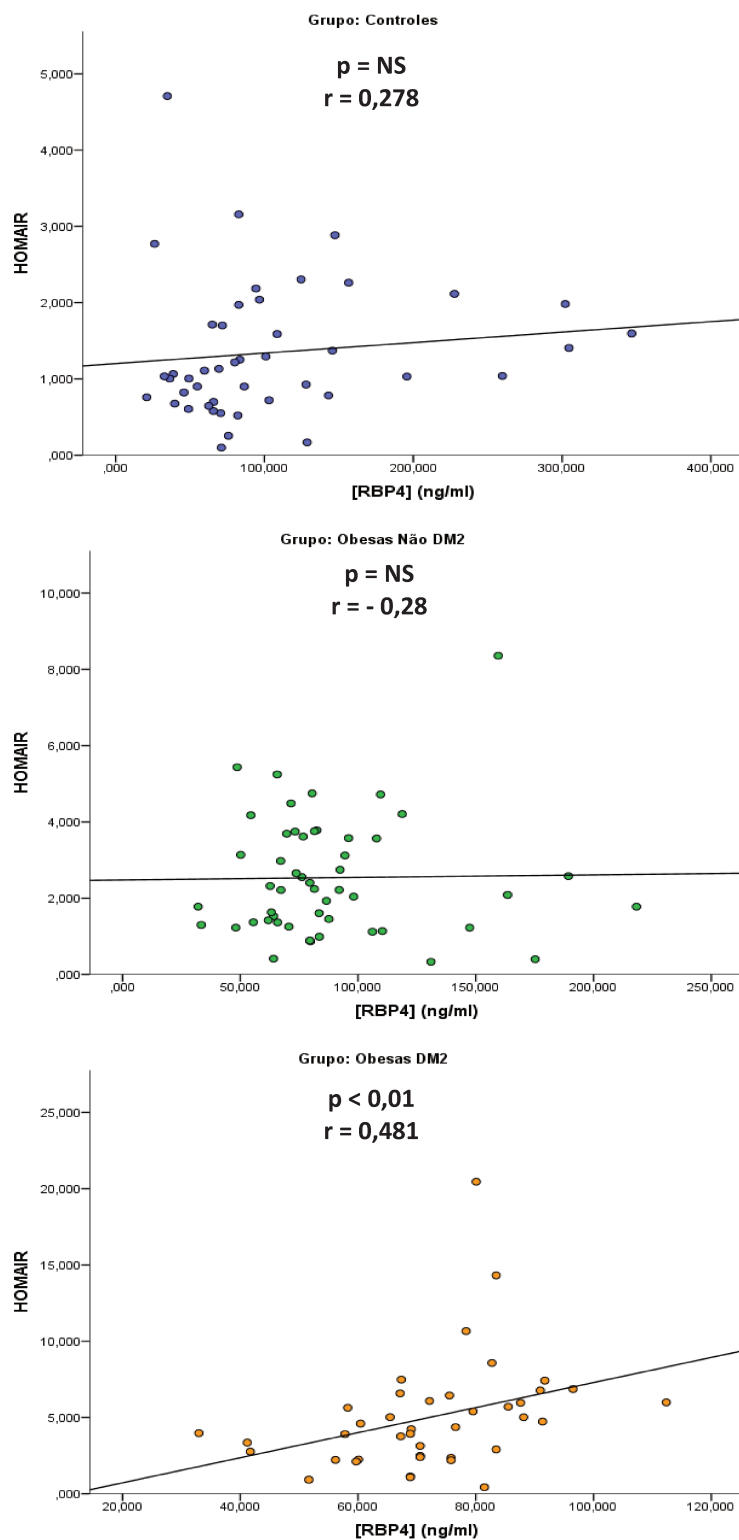


Gráfico 23. Correlação entre os níveis de RBP4 e HOMA-IR.

G1 e G2 não apresentaram correlação estatisticamente significante entre os níveis de RBP4 e HOMA-IR. Esta correlação foi significante e positiva apenas em G3.

5. DISCUSSÃO

Os grupos, dentro de suas denominações (controles, obesas e obesas diabéticas), estão bem caracterizados por seus parâmetros bioquímicos, antropométricos e metabólicos. Assim, as diferenças estatísticas foram significantes e eram esperadas.

As medidas de EIMC estão significativamente aumentadas em pacientes do G2 e G3 em comparação ao grupo controle normal. Como revisado anteriormente, a obesidade e mais ainda o DM2 são fatores que contribuem para o aumento da EIMC. As contribuições importantes devem-se à RI e estados hiperglicêmicos, ainda que precoces. Em pacientes diabéticos, o risco cardiovascular está aumentado em duas vezes quando há também espessamento da EIMC. (71,72)

Avaliações de outros parâmetros como: circunferências do pescoço e cintura, DAS, níveis de TG, GGT, AST, ALT, PAS e PAD também permitem concluir que no G3 (grupo em que há presença de DM2) há risco aumentado de ocorrência de doenças cardiovasculares.

A RBP4 é uma adipoquina associada consistentemente a RI em modelos animais (*knockout* para GLUT4 apenas no tecido adiposo) e foi também considerada uma adipoquina promissora em humanos, possivelmente estabelecendo ligação com adiposidade, RI, DM2 e certos componentes da síndrome metabólica. (17,80)

Neste estudo foi encontrada correlação positiva entre os níveis de RBP4 e:

- **No grupo controle:** IMC ($p < 0,05$), hemoglobina glicada ($p < 0,05$), insulinemia de jejum ($p < 0,05$);

- **No grupo de obesas:** hemoglobina glicada ($p < 0,01$);

- **No grupo de obesas diabéticas:** hemoglobina glicada ($p < 0,05$), glicemia de jejum ($p < 0,01$), HOMA-IR ($p < 0,01$).

Entretanto, em diversos estudos clínicos, associações e/ou causalidade de mudanças na expressão do RBP4 não foram demonstradas. (27)

Parece haver uma série de fatores interferindo nas correlações e que devem ser considerados ao interpretar os resultados. Além disso, diferenças no perfil genético das populações estudadas, relações entre gênero e idade, têm importante papel na interpretação e comparação dos dados obtidos. (27)

Os grupos G1 e G3 diferiram de forma significativa quanto à idade, o que provavelmente reflete nos níveis de RBP4. Em G2 houve correlação significativa ($p < 0,05$) positiva entre idade e níveis de RBP4.

Não foi analisada diferença entre sexos, pois o estudo contou apenas com mulheres na pré-menopausa.

A hiperglicemia crônica parece ser fator importante a ser considerado. Nossos achados permitem afirmar que os níveis de hemoglobina glicada estiveram significativamente correlacionados em todos os grupos com os níveis de RBP4. Ao passo que quando avaliou-se a glicemia de jejum não houve tal tendência em G1 e G2, grupos sem DM2.

No G3, cuja glicemia de jejum é maior que nos demais grupos, houve forte correlação positiva acompanhando inclusive os níveis de hemoglobina glicada. Este achado, em especial, corrobora com a literatura existente (12), pois quanto maior foi o nível de RBP4 em obesas diabéticas mais correlação com os níveis de glicemia de jejum e hemoglobina glicada, talvez pelo fato de que o gene que codifica a proteína carreadora do retinol 4 esteja muito próximos de genes ligados à obesidade e DM2.

Diferenças metodológicas na coleta das amostras e na determinação dos níveis de RBP4, devem ser consideradas. Estudos demonstraram que há variação na quantificação desta proteína conforme os métodos utilizados. (27)

Outros fatores de interferência como os níveis de retinol, ferro e até mesmo avaliação da função renal parecem ser importantes e devem ser investigados em estudos futuros. (24)

Neste trabalho não foram incluídas tais dosagens, porém nota-se que no G3 os níveis de AST e ALT, marcadores de dano hepático, foram

significativamente maiores do que em G1 e G2 causando efeito na correlação entre RBP4 e AST ($p < 0,05$).

Estudos mais profundos e utilizando outros métodos de investigação com adipócitos humanos são necessários para revelar como funciona a secreção e regulação da expressão do RBP4 e seu efeito auto-parácrino.

Dados os resultados da avaliação das correlações entre RBP4xIMC e RBP4x%GC nota-se que a quantidade de gordura corporal parece estar mais correlacionada com os níveis desta adipocina do que o IMC propriamente dito.

A RBP4 é uma adipocina que parece estar envolvida em fases precoces do desenvolvimento da RI e outros componentes da SM. Portanto são necessários estudos longitudinais investigando como se dará a variação nos níveis de RBP4, especialmente em crianças e adolescentes predispostos a desenvolver estas condições.

O estudo da RBP4 deve ser extenso, dadas as diversas fontes e polimorfismos nos genes que codificam esta proteína, bem como nos genes que codificam um de seus receptores.

As diferenças nos resultados deste estudo com relação à outros pode, também, dever-se às diferentes metodologias de quantificação da RBP4.

6. CONCLUSÕES

Em nosso estudo os níveis de RBP4 estiveram reduzidos nas pacientes com obesidade e DM2, embora tenha se correlacionado fortemente com RI hepática quando avaliada pelo HOMA-IR.

Essa aparente discrepância, também encontrada em outros estudos, pode ser explicada pela interferência de outros fatores ou pelo grau de controle metabólico.

Devemos esclarecer aqui que as pacientes diabéticas estavam em tratamento com sensibilizadores de insulina (metformina) e na literatura encontramos estudos que mostram diminuição dos níveis de RBP4 com o uso de sensibilizadores como as tiazolidinedionas, que também aumentam a expressão do transportador GLUT4 na membrana celular.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Sullivan PW, Morrato EH, Ghushchyan V, Wyatt HR, Hill JO. Obesity, inactivity, and the prevalence of diabetes and diabetes-related cardiovascular comorbidities in the U.S., 2000-2002. *Diabetes care* 2005 Jul;28(7):1599-603.
2. Geloneze B, Mancini MC, Coutinho W. Obesity: knowledge, care, and commitment, but not yet cure. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. [Editorial]. 2009 Mar;53(2):117-9.
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares. Rio de Janeiro: IBGE: 2008-2009.
4. Kahn SE, Prigeon RL, Schwartz RS, Fujimoto WY, Knopp RH, Brunzell JD, et al. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and Islet beta-cell function as explanations for metabolic diversity. *The Journal of nutrition*. 2001 Feb;131(2):354S-60S.
5. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):840-6.
6. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. [Review]. 2004 Jun;89(6):2548-56.
7. Despres JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. *Circulation* 2012 Sep 4;126(10):1301-13.
8. Vague J. Les Obésités: etudes biométriques. *Press Medical*. 1947; (30):339.

9. Sjostrom CD, Hakangard AC, Lissner L, Sjostrom L. Body compartment and subcutaneous adipose tissue distribution--risk factor patterns in obese subjects. *Obesity research*. 1995 Jan;3(1):9-22.
10. Abel ED, Peroni O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hadro E, et al. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature*. 2001 Feb 8;409(6821):729-33.
11. Moitra J, Mason MM, Olive M, Krylov D, Gavrilova O, Marcus-Samuels B, et al. Life without white fat: a transgenic mouse. *Genes & development* 1998 Oct 15;12(20):3168-81.
12. Ravussin E, Smith SR. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences*. [Review]. 2002 Jun;967:363-78.
13. Ruderman NB, Schneider SH, Berchtold P. The "metabolically-obese," normal-weight individual. *The American journal of clinical nutrition*. 1981 Aug;34(8):1617-21.
14. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *The British journal of nutrition*. 2004 Sep;92(3):347-55.
15. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation research*. 2005 May 13;96(9):939-49.

16. Fantuzzi G. Cytokines: pulling the body together as a whole. *TheScientificWorldJournal*. 2011;11:2506-8.
17. Colantuoni V, Romano V, Bensi G, Santoro C, Costanzo F, Raugei G, et al. Cloning and sequencing of a full length cDNA coding for human retinol-binding protein. *Nucleic acids research*. 1983 Nov 25;11(22):7769-76.
18. Oh K-J, Park J, Kim SS, Oh H, Choi CS, Koo S-H. TCF7L2 Modulates Glucose Homeostasis by Regulating CREB- and FoxO1-Dependent Transcriptional Pathway in the Liver. *PLoS genetics* 2012;8(9):e1002986.
19. Gnudi L, Shepherd PR, Kahn BB. Over-expression of GLUT4 selectively in adipose tissue in transgenic mice: implications for nutrient partitioning. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 1996 Mar;55(1B):191-9.
20. Villarroya F, Iglesias R, Giralt M. Retinoids and retinoid receptors in the control of energy balance: novel pharmacological strategies in obesity and diabetes. *Curr Med Chem* 2004;11:795–805.
21. Ziouzenkova O, Orasanu G, Sharlach M et al. Retinaldehyde represses adipogenesis and diet-induced obesity. *Nat Med* 2007;13:695–702.
22. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 2005 Jul 21;436(7049):356-62.

23. Basualdo CG, Wein EE & Basu TK. Vitamin A (retinol) status of first nation adults with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of the American College of Nutrition* 1997 16 39–45.
24. Abahusain MA, Wright J, Dickerson JW & de Vol EB. Retinol, alphotocopherol and carotenoids in diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition* 1999 53 630–635.
25. Kloting N, Fasshauer M, Dietrich A, Kovacs P, Schon MR, Kern M, Stumvoll M & Bluher M. Insulin-sensitive obesity. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 2010 299 E506–E515.
26. Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, Wason CJ, Oberbach A, Jansson PA, Smith U & Kahn BB. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *New England Journal of Medicine* 2006 354 2552–2563.
27. Kotnik P, Fischer-Posovszky P, Wabitsch M. RBP4: a controversial adipokine. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2011 Nov;165(5):703-11.
28. Munkhtulga L, Nagashima S, Nakayama K, Utsumi N, Yanagisawa Y, Gotoh T, et al. Regulatory SNP in the RBP4 gene modified the expression in adipocytes and associated with BMI. *Obesity (Silver Spring)*. 2010 May;18(5):1006-14.
29. Kovacs P, Geyer M, Berndt J, Kloting N, Graham TE, Bottcher Y, Enigk B, Tonjes A, Schleinitz D, Schon MR, Kahn BB, Bluher M & Stumvoll M. Effects of

genetic variation in the human retinol binding protein-4 gene (RBP4) on insulin resistance and fat depot-specific mRNA expression. *Diabetes* 2007 56 3095–3100.

30. Munkhtulga L, Nakayama K, Utsumi N, Yanagisawa Y, Gotoh T, Omi T, Kumada M, Erdenebulgan B, Zolzaya K, Lkhagvasuren T & Iwamoto S. Identification of a regulatory SNP in the retinol binding protein 4 gene associated with type 2 diabetes in Mongolia. *Human Genetics* 2007 120 879–888.

31. Craig RL, Chu WS & Elbein SC. Retinol binding protein 4 as a candidate gene for type 2 diabetes and prediabetic intermediate traits. *Molecular Genetics and Metabolism* 2007 90 338–344.

32. Santoro N, Perrone L, Cirillo G, Brienza C, Grandone A, Cresta N & Miraglia del GE. Variations of retinol binding protein 4 levels are not associated with changes in insulin resistance during puberty. *Journal of Endocrinological Investigation* 2009 32 411–414.

33. Ulgen F, Herder C, Kuhn MC, Willenberg HS, Schott M, Scherbaum WA & Schinner S. Association of serum levels of retinol-binding protein 4 with male sex but not with insulin resistance in obese patients. *Archives of Physiology and Biochemistry* 2010 116 57–62.

34. Henze A, Frey SK, Raila J, Tepel M, Scholze A, Pfeiffer AF, Weickert MO, Spranger J & Schweigert FJ. Evidence that kidney function but not type 2 diabetes determines retinol-binding protein 4 serum levels. *Diabetes* 2008 57 3323–3326.

35. Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Catalan V, Ramirez B, Silva C, Rotellar F, et al. Serum retinol-binding protein 4 is not increased in obesity or obesity-associated type 2 diabetes mellitus, but is reduced after relevant reductions in body fat following gastric bypass. *Clinical endocrinology*. 2008 Aug;69(2):208-15.
36. Aeberli I, Biebinger R, Lehmann R, L'allemand D, Spinas GA & Zimmermann MB. Serum retinol-binding protein 4 concentration and its ratio to serum retinol are associated with obesity and metabolic syndrome components in children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007 92 4359–4365.
37. Barcelo A, Aedo C, Rajpathak S, Robles S. The cost of diabetes in Latin America and the Caribbean. *Bulletin of the World Health Organization* 2003;81(1):19-27.
38. Trayhurn P. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta physiologica Scandinavica*. 2005 Aug;184(4):285-93.
39. Malerbi DA, Franco LJ. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. *Diabetes care*. 1992 Nov;15(11):1509-16.
40. Tuomilehto J, Lindstrom J. The major diabetes prevention trials. *Current diabetes reports*. 2003 Apr;3(2):115-22.
41. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Medical clinics of North America*. [Review]. 2004 Jul;88(4):787-835, ix.

42. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jorns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*. 2005 Dec;54 Suppl 2:S97-107.
43. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation*.
44. Sjostrom CD, Lissner L, Sjostrom L. Relationships between changes in body composition and changes in cardiovascular risk factors: the SOS Intervention Study. Swedish Obese Subjects. *Obesity research*. 1997 Nov;5(6):519-30.49.
45. de Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS letters*2008;582(1):97-105.
46. Prada PO, Zecchin HG, Gasparetti AL, Torsoni MA, Ueno M, Hirata AE, et al. Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. *Endocrinology*. 2005 Mar;146(3):1576-87.
47. Saad MJ, Folli F, Araki E, Hashimoto N, Csermely P, Kahn CR. Regulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in 3T3-F442A adipocytes. Effects of differentiation, insulin, and dexamethasone. *Mol Endocrinol*. 1994 May;8(5):545-57.
48. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *The Journal of clinical investigation*1960 Jul;39:1157-75.

49. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412-9.
50. Matsuhisa M, Yamasaki Y, Emoto M, Shimabukuro M, Ueda S, Funahashi T, et al. A novel index of insulin resistance determined from the homeostasis model assessment index and adiponectin levels in Japanese subjects. *Diabetes research and clinical practice*. [Evaluation Studies]. 2007 Jul;77(1):151-4.
51. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000 Jul;85(7):2402-10.
52. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes care*. 1999 Sep;22(9):1462-70.
53. Bergman RN, Finegood DT, Ader M. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocrine reviews*. 1985 Winter;6(1):45-86.
54. Olefsky J, Farquhar JW, Reaven G. Relationship between fasting plasma insulin level and resistance to insulin-mediated glucose uptake in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 1973 Jul;22(7):507-13.
55. Andres R, Swerdloff R, Pozefsky T, Coleman D. Manual feedback technique for the control of blood glucose concentration. In *Automation in Analytical Chemistry*. New York: Mediad, 1966;486-91.

56. Geloneze B, Vasques, AC, Tambascia MA. Resistência à Insulina: como diagnosticar na Prática Clínica. In: Amelio F. de Godoy-Matos. (Org.). Endocardiometabologia na prática clínica. 2ed. São Paulo: Guanabara Koogan Ltda, 2011 (1), p. 47-63.
57. Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. The New England journal of medicine. 1998 Jul 23;339(4):229-34.
58. Naruse K, King G. Effect os diabetes on endotelial function. In: Veves A, ed. Diabetes and cardiovascular disease. Totowa: Humana Press, 2001:45-64.
59. Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sportsman JR, Heath W, King GL. Preferential elevation of protein kinase C isoform beta II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1992 Nov 15;89(22):11059-63.
60. Ishii H, Jirousek MR, Koya D, Takagi C, Xia P, Clermont A, et al. Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. Science. 1996 May 3;272(5262):728-31.
61. Arcaro G, Zenere BM, Saggiani F, Zenti MG, Monauni T, Lechi A, et al. ACE inhibitors improve endothelial function in type 1 diabetic patients with normal arterial pressure and microalbuminuria. Diabetes care. 1999 Sep;22(9):1536-42.

62. O'Driscoll G, Green D, Maiorana A, Stanton K, Colreavy F, Taylor R. Improvement in endothelial function by angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999 May;33(6):1506-11.
63. Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, Ghini AS, Chiariello L, et al. Unstable angina and elevated c-reactive protein levels predict enhanced vasoreactivity of the culprit lesion. *Circulation*. 2001 Sep 25;104(13):1471-6.
64. Pradhan AD, Cook NR, Buring JE, Manson JE, Ridker PM. C-reactive protein is independently associated with fasting insulin in nondiabetic women. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003 Apr 1;23(4):650-5.
65. Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*. 2000 Jul 4;102(1):42-7.
66. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2000 Aug 29;102(9):1000-6.
67. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation*. 2002 Feb 19;105(7):804-9.

68. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. JAMA : the journal of the American Medical Association 1979 May 11;241(19):2035-8.
69. Burchfiel CM, Curb JD, Rodriguez BL, Abbott RD, Chiu D, Yano K. Glucose intolerance and 22-year stroke incidence. The Honolulu Heart Program. Stroke; a journal of cerebral circulation. 1994 May;25(5):951-7.
70. Almeida CAd, Teixeira PdFdS, Soares DV, Cabral MD, Costa SMd, Salles EFd, et al. Espessura íntima-média carotídea como marcador de risco cardiovascular em pacientes com hipotireoidismo subclínico. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. 2007;51:472-7.
71. Yokoyama H, Katakami N, Yamasaki Y. Recent advances of intervention to inhibit progression of carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus. Stroke 2006;37(9):2420-7.
72. Wagenknecht LE, Zaccaro D, Espeland MA, Karter AJ, O'Leary DH, Haffner SM. Diabetes and progression of carotid atherosclerosis: the insulin resistance atherosclerosis study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003;23(6):1035-41.
73. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2009;(3):332-18.
74. Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Nefrologia. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. Arq Bras Cardiol 2007;89:24-79.

75. Williamson DF, Kahn HS, Worthman CM, Burnette JC, Russell CM. Precision of recumbent anthropometry. *Am J Hum Biol* 1993;5:159-67.
76. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization, 2000.
77. Lukaski HC, Bolonchuk WW, Hall CB, Siders WA. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Appl Physiol* 1986;60:1327-32.
78. Torres FS, Moreira CM, Vianna FF, et al. Medida da espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas para avaliação do risco cardiovascular. *Rev Bras Hipertens*. 2007;14(3):167-71.
79. Conselho Nacional de Saúde - Resolução Nº 196 de 10 de outubro de 1996. Acessado em: 20/08/12. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/docs/Resolucoes/Reso196.doc>.
80. Gregoire FM. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Exp Biol Med* (Maywood). 2001 Dec;226(11):997-1002.

7. ANEXOS e APÊNDICES

ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - FCM / Unicamp



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 22/09/09.
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 852/2009 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0669.0.146.000-09

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "NÍVEIS SÉRICOS DE RBP4 E RISCO CARDIOVASCULAR NO DIABETES MELLITUS TIPO 2".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eleonora Beltrame Comucci

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 11/09/2009

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 22/09/10 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Estudar a relação dos níveis séricos de RBP4 com o risco cardiovascular em pacientes com DM2 e comparar os resultados obtidos em pacientes não diabéticos.

III - SUMÁRIO

Estudo monocêntrico, paralelo e comparativo onde 160 pacientes adultos de ambos os sexos, divididos em 4 grupos de 40 sujeitos com históricos de doenças cardio-vascular (DCV), ou de DM2, ou ambos, ou nenhum deles serão avaliados através de anamnese, sinais vitais, avaliação antropométrica (incluindo percentual gordura corporal avaliado por bioimpedância segundo o protocolo proposto por Lukaski e espessura de gordura intra-abdominal, determinado por ultra-sonografia) e exames laboratórios, incluindo RBP4. Os dados obtidos serão avaliados estatisticamente através de análises descritivas, normalidade da distribuição e testes paramétricos ou não paramétricos (conforme a distribuição) para fins de comparação dos grupos. A finalidade é verificar a aplicabilidade de RBP4 como um novo marcador para avaliação de risco de ocorrência de eventos cardiovasculares em pacientes com DM2, obesidade e SM, bem como correlacionar os níveis de RBP4 com outros marcadores bem estabelecidos. Além disso, consta como objetivo específico investigar se os níveis de HbA1c para verificar se o controle metabólico, considerando a medicação prescrita e dieta está adequada.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto constitui a dissertação de mestrado do pesquisador. O estudo esta bem estruturado. Os critérios de inclusão/exclusão e forma de recrutamento encontram-se claramente definidos, bem como as etapas, procedimentos do estudo e riscos envolvidos. Os métodos estatísticos a serem empregados estão também adequadamente descritos. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é adequado e contém todas as informações para que o sujeito de pesquisa decida sobre sua participação no estudo.





V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentadas são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII – DATA DA REUNIÃO

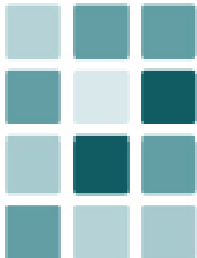
Homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 22 de setembro de 2009.


Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner

PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP



ANEXO 2: Comprovante de submissão de artigo científico



ARQUIVOS
BRASILEIROS DE
**ENDOCRINOLOGIA
& METABOLOGIA**

BRAZILIAN ARCHIVES OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM

USER
You are logged in as **eleonoraabc**
[My Journals](#)
[My Profile](#)
[Log Out](#)

HOME **ABOUT** **USER HOME**

Home > User > Author > Submissions > #104353 > Review

#ABEM-2429 Serum levels of retinol-binding protein 4 and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus

SUMMARY **REVIEW** **EDITING**

Submission
Authors Eleonora Beltrame Comucci 
Title Serum levels of retinol-binding protein 4 and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus
Section Original Articles
Editor None assigned

Peer Review
Round 1
Review Version [104353-523530-1-RV.DOC](#) 2012-10-16
Initiated —
Last modified —
Uploaded file None

Editor Decision
Decision —
Notify Editor  Editor/Author Email Record  No Comments
Editor Version None
Author Version None
Upload Author Version Nenhum arquivo selecionado

AUTHOR
Submissions
[Active \(1\)](#)
[Archive \(0\)](#)
[New Submission](#)

LANGUAGE

English

NOTIFICATIONS
[View](#)
[Manage](#)

ISSN: 1677-9487

APÊNDICE 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“Níveis séricos de RBP4 e risco cardiovascular no Diabetes Mellitus tipo 2”

A Sra. está sendo convidada a fazer parte de um estudo de pesquisa conduzido pela Nutr^a. Eleonora Beltrame Comucci. Este termo de consentimento objetiva fornecer informações específicas sobre o estudo que está sendo proposto e sobre os possíveis riscos e benefícios relacionados. Este termo também descreve quais serão as informações obtidas durante o estudo e como essas informações serão usadas. Leia este termo de consentimento atentamente e, se tiver alguma dúvida, peça explicações a alguém da equipe do estudo. Se concordar em participar do estudo e autorizar o uso e divulgação das informações obtidas durante o estudo, assine a última página deste termo de consentimento.

→ **Objetivo do estudo:** Estudar a relação dos níveis séricos de *Retinol Binding Protein 4* (RBP4) em pacientes com DM2 e comparar os resultados obtidos em pacientes não diabéticas.

→ **Benefícios:** sua participação contribuirá para elucidar a correlação da RBP4 na síndrome metabólica, bem como no DM2 e obesidade.

→ **Quem não deve participar do estudo:** pacientes diabéticas do tipo 1 ou em uso de insulina; creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dL; insuficiência hepática (aumento de AST e ALT ≥ 2 vezes o limite superior do método); mulheres gestantes; pessoas que tenham perdido ou ganhado muito peso (mais de 5% do peso) nos últimos 3 meses; em uso de corticóide por via oral, por mais de 14 dias consecutivos, ou injetável nos últimos 3 meses ou em uso de outros medicamentos com algum efeito colateral na glicemia.

→ **Procedimentos do estudo:** você deverá comparecer ao primeiro dia agendado, em jejum de 12 horas. Algumas perguntas sobre a sua saúde e tratamentos médicos realizados serão feitas. Serão verificados pressão arterial, frequência cardíaca, peso, altura e medidas da cintura, quadril, coxa, pescoço e ultra-sonografia da artéria carótida esquerda. Uma veia do antebraço será puncionada para coleta de sangue. Será coletada uma amostra de sangue.

→ **Efeitos indesejáveis:** pode haver desconforto causado pela coleta de sangue durante o teste. Os riscos possíveis relacionados à coleta de sangue são: inflamação da veia, dor, manchas roxas na pele ou sangramento no local.

→ **Confidencialidade e privacidade dos seus dados e identificação:** a equipe do estudo colherá informações suas como nome, endereço, telefone de contato, data de nascimento, dados sobre sua saúde e história médica, além das informações verificadas durante o estudo. Ao apresentar os resultados da pesquisa em congressos ou publicações, a equipe nunca fará referência ao seu nome.

→ **Posso me recusar a participar do estudo?** Sim. A sua participação neste estudo é voluntária. Se você decidir não participar, você não terá nenhum prejuízo do seu atendimento e tratamento médico aos quais tem direito.

→ **Informações sobre os exames colhidos:** quando o estudo estiver concluído você poderá solicitar acesso às informações que foram obtidas durante o estudo. Para pedir essas informações você deve entrar em contato com: Nutr^a. Eleonora Beltrame Comucci, no LIMED - Gastrocentro da UNICAMP, 3º andar ou pelo telefone (19) 3521-8589.

→ **Como poderei tirar dúvidas a respeito do estudo?** Entre em contato com a nutricionista que está conduzindo o estudo: Eleonora Beltrame Comucci, no LIMED - Gastrocentro da UNICAMP, 3º andar ou pelo telefone (19) 3521-8589. Se tiver dúvidas

sobre seus direitos como participante do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP pelo telefone (0XX19) 3788-8936.

Você receberá uma cópia assinada deste termo de consentimento livre e esclarecido.

Eu li e compreendi este termo de consentimento. Todas as minhas dúvidas foram respondidas. Sou voluntária para participar deste estudo.

Nome do Voluntário: _____

_____ / ____ / _____

Assinatura do voluntário

_____ / ____ / _____

Assinatura da testemunha (se aplicável)

_____ / ____ / _____

Assinatura do pesquisador responsável.