

ADA LETICIA BARBOSA MURRO

**EFEITOS DA ROSIGLITAZONA SOBRE MARCADORES
DE RISCO CARDIOVASCULAR E FUNÇÃO DA CÉLULA
BETA EM DIABÉTICOS TIPO 2 VIRGENS
DE TRATAMENTO**

CAMPINAS

2007

ADA LETICIA BARBOSA MURRO

**EFEITOS DA ROSIGLITAZONA SOBRE MARCADORES
DE RISCO CARDIOVASCULAR E FUNÇÃO DA CÉLULA
BETA EM DIABÉTICOS TIPO 2 VIRGENS
DE TRATAMENTO**

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

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCOS A. TAMBASCIA

CAMPINAS

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

M967e Murro, Ada Letícia Barbosa
Efeitos da rosiglitazona sobre marcadores de risco cardiovascular e função da célula beta em diabéticos tipo 2 virgens de tratamento/ Ada Letícia Barbosa Murro. Campinas, SP : [s.n.], 2007.

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

1. Resistência à insulina . 2. Tiazolidinedionas. 3. Diabetes Mellitus tipo 2. 4. Síndrome X Metabólica. I. Tambascia, Marcos Antonio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : Rosiglitazone effects on cardiovascular risk markers and beta cell function in drug naïve type 2 diabetic patients

Keywords: • Insulin Resistance
• Thiazolidinediones
• Diabetes Mellitus ,Type 2
• Metabolic Syndrome X

Titulação: Mestrado em Clínica Médica
Área de concentração: Clínica Médica

Banca examinadora: Prof Dr Marcos Antonio Tambascia
Prof Dr Otávio Rizzi Coelho
Prof Dr Antonio Carlos Lenário

Data da defesa: 27-02-2007

Banca examinadora da tese de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Marcos Antonio Tambascia

Professor Doutor Antonio Carlos Lerácio

Professor Doutor Otávio Rizzi Coelho

Professor Doutor Marcos Antonio Tambascia

The image shows three handwritten signatures in black ink, each written over a horizontal line. The first signature is for Professor Antonio Carlos Lerácio, the second for Professor Otávio Rizzi Coelho, and the third for Professor Marcos Antonio Tambascia. The signatures are stylized and cursive.

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 27/02/2007

2007 37467

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Antônio e Leonor, que foram o começo de tudo e têm sido o apoio de sempre.

Às minhas avós, Maria e Francisca, exemplos de força e perseverança que nos fazem acreditar que nada poderá ser tão difícil.

Aos meus irmãos, Paulo, Sérgio e Adma cuja existência me tranquiliza em relação ao futuro.

Ao **Prof. Dr. Marcos Tambascia** pela orientação, acadêmica e profissional, pela confiança e pela tranquilidade com que dá espaço a todos.

À **Profa. Dra. Maria Tereza M. Baptista** pelo exemplo profissional e pela grande colaboração à minha formação.

Ao **Prof. Dr. Juan Carlos Yugar Toledo** pela sempre presente disposição e imensa colaboração nas avaliações das carótidas.

Ao estatístico **Helymar da Costa Machado** pela precisão e profissionalismo nas análises estatísticas.

Aos biólogos **Brenno Astiarraga** e **Aglécio Luís de Souza** pela rapidez e competência na realização das dosagens.

À **Lucimara Caetano** pela simpatia e atenção aos pacientes na realização das coletas.

Às **Takedas, Dra. Olímpia Araújo, Dra. Daniela Franco e Dra. Mariana Ermetice** e à nutricionista **Carla Coghi** pelo apoio e amizade e por tornarem tão agradável o local de trabalho.

Ao **Dr. José Roberto Matos de Souza** pela colaboração na avaliação das carótidas

À **Sra. Rosemeire Oliveira** pela solução dos problemas burocráticos.

À **Sra. Ismair Aparecida Genésio** pelo apoio logístico durante todo o tempo.

A **todos os pacientes** pela confiança depositada, sem a qual seria impossível realizar esse trabalho.

Aos **professores e médicos da Disciplina de Endocrinologia** e a todos os professores que em algum momento colaboraram com a minha formação.

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais
voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

	<i>PÁG.</i>
RESUMO	<i>xxvii</i>
ABSTRACT	<i>xxxi</i>
1- INTRODUÇÃO	35
1.1- Diabetes Mellitus e doença cardiovascular	37
1.2- O papel da resistina na homeostase glicêmica	38
1.3- Adiponectina e aterosclerose	41
1.4- Proteína C reativa como marcador de aterosclerose	44
1.5- Papel do PPAR γ na sensibilidade à insulina	46
1.6- PPAR γ na aterosclerose	50
1.7- O papel dos ácidos graxos livres na resistência à insulina	51
1.8- PAI-1, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 e aterosclerose	52
1.9- Espessura da íntima carotídea como marcador de aterosclerose	53
1.10- Hiperuricemia e síndrome metabólica	55
2- OBJETIVOS	57
3- MATERIAIS E MÉTODOS	61
4- CASUÍSTICA	65
5- METODOLOGIA ESTATÍSTICA	69
6- RESULTADOS	73
7- DISCUSSÃO	81
8- CONCLUSÕES	91
9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

10- APÊNDICES.....	109
11- ANEXO.....	119
12- ARTIGO.....	123

15- JPGJ2	15-Deoxi-12-14-prostaglandina J2
ALT	Alanina Aminotransferase
AP	Ativador do plasminogênio
aP-2	Proteína ligadora dos ácidos graxos no adipócito.
AST	Aspartato Aminotransferase
C1q	Componente da cascata do complemento
CD 36	<i>cluster differentiation 36</i>
DP	Desvio padrão
FATP 1	proteína transportadora de ácido graxo -1
GLUT – 4	Transportador de glicose
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA	Homeostasis Model Assessment (modelo de avaliação na homeostase)
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IGF-1	Insulin-like Growth factor –1 (fator 1 de crescimento semelhante à insulina)
IMC	Índice de Massa Corpórea
IMT	Espessura da íntima média
IRS – 1	Substrato 1 do receptor de insulina
ISI_{0,120}	Índice de sensibilidade à insulina
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LOX –1	Lectin like LDL receptor – 1 (receptor 1 do LDL semelhante à lectina)

MCP-1	Molécula quimioatática de monócitos
M-CSF	Fator estimulante de colônia de macrófagos
MMP	Matriz metaloproteinase
NCEP	National Cholesterol Education Program (Programa de Educação Nacional do Colesterol)
PAI-1	Inibidor do Ativador do Plasminogênio tipo 1
PCR	Proteína C reativa
PI 3 quinase	Fosfatidil-inositol quinase tipo 3
PPAR	Receptor ativado do proliferador do peroxissoma
RNA	Ácido Ribonucléico
RXR	Receptor retinóide X
SCD -1	Estearoil coenzima A desaturase-1
SREPB - 1	Proteína ligadora do elemento regulador do esterol-1.
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VCAM	Molécula de adesão de célula vascular

LISTA DE TABELAS

	<i>PÁG.</i>
Tabela 1- Características dos pacientes que completaram o tratamento.....	111
Tabela 2- Análise descritiva e evolutiva das variáveis numéricas para amostra total – Parte 1.....	112
Tabela 3- Análise descritiva e evolutiva das variáveis numéricas para amostra total – Parte 2.....	113
Tabela 4- Análise descritiva e evolutiva das variáveis numéricas para amostra total – Parte 3.....	114
Tabela 5- Descrição dos resultados – amostra total – Parte 1.....	115
Tabela 6- Descrição dos resultados – amostra total - Parte 2.....	116
Tabela 7- Descrição dos resultados – amostra total – Parte 3.....	117
Tabela 8- Descrição dos resultados – amostra total – Parte 4.....	118
Tabela 9- Valores de íntima-média carotídea, percentis 50 e 95, de acordo com idade e sexo.....	121

LISTA DE FIGURAS

	<i>PÁG.</i>
Figura 1- Critérios diagnósticos de síndrome metabólica NCEP/ATP3.....	38
Figura 2- Ultrassom de carótida de paciente saudável.....	54
Figura 3- Ultrassom de carótica de paciente diabética tipo 2.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

	<i>PÁG.</i>
Gráfico 1- Evolução do perfil lipídico pré e pós tratamento.....	75
Gráfico 2- Evolução da PCR pré e pós tratamento.....	76
Gráfico 3- Evolução do PAI –1 pré e pós tratamento.....	76
Gráfico 4- Evolução de adiponectina pré e pós tratamento.....	77
Gráfico 5- Evolução de resistina pré e pós tratamento.....	77
Gráfico 6- Evolução do HOMA-IR pré e pós tratamento.....	78
Gráfico 7- Evolução do HOMA β pré e pós tratamento.....	79
Gráfico 8- Relação ente delta HOMA β e delta ácidos graxos livres.....	80
Gráfico 9- Relação entre delta HOMA IR e delta PAI-1.....	80

RESUMO

A principal causa de mortalidade entre os portadores de Diabetes tipo 2 é a doença cardiovascular. Estudos têm cada vez mais procurado alterações inerentes ao diabetes tipo 2 que justifiquem a maior incidência de doença cardiovascular nesse grupo.

A presença de resistência à insulina, redução de adiponectina, aumento de PCR, disfunção endotelial e aumento de PAI-1 são candidatos possivelmente relacionados a esse aumento.

A redução da resistência à insulina com uso de tiazolidinedionas, entre elas a rosiglitazona, tem potencial de reduzir o risco cardiovascular em diabéticos tipo 2, uma vez que altera citocinas relacionadas a risco cardiovascular de forma positiva.

O objetivo desse estudo é avaliar o efeito clínico e laboratorial (sensibilidade à insulina, função de célula β , lípidos, PCR, adiponectina, resistina e PAI-1) e o efeito sobre a espessura da íntima-média carotídea da administração, por 12 semanas, de 8mg de rosiglitazona ao dia, em pacientes diabéticos tipo 2 virgens de tratamento anti-diabético, atendidos no Ambulatório de Diabetes Mellitus tipo 2, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Os pacientes foram submetidos a uma avaliação inicial com dosagem de glicemia, hemoglobina glicada, insulinemia, colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, ácidos graxos livres, AST, ALT, adiponectina, resistina, PAI-1, PCR, ácido úrico e fibrinogênio, após jejum de 12 horas.

A sensibilidade à insulina e a função de célula β foram avaliadas pela fórmula matemática do HOMA e a espessura da íntima média carotídea foi avaliada pelo ultrassom doppler. Os pacientes iniciavam o uso de Rosiglitazona na dose de 8 mg/dia dividida em duas tomadas diárias. Após 12 semanas de tratamento todas as avaliações foram novamente realizadas.

Para a análise estatística foi realizado o teste de Wilcoxon para estudar as variações pré e pós Rosiglitazona e o coeficiente de correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5 % ($p < 0,05$).

Dos 15 pacientes inicialmente incluídos, 13 completaram o tratamento. Houve redução estatisticamente significativa dos níveis de PCR, ácido úrico e aumento de adiponectina. Houve redução de HOMA IR e resistina, não estatisticamente significativa e aumento do HOMA β . A análise das correlações possíveis mostrou relação inversa entre HOMA β e ácidos graxos livres. Não houve alteração significativa da espessura da íntima-média carotídea.

O tratamento do Diabetes Mellitus com rosiglitazona tem potencial de reduzir o risco cardiovascular à medida que reduz marcadores de risco, como a PCR, e aumenta a adiponectina. Apesar de não ter sido estatisticamente significativa, possivelmente devido ao tamanho da amostra, houve redução de 25% do valor médio da resistina, sugerindo uma relação entre resistina e resistência à insulina, controversa na literatura.

Além da melhora da sensibilidade à insulina houve notável aumento do HOMA β mostrando melhora da função da célula β . Esse dado sugere que o tratamento com rosiglitazona desacelera a progressão da doença. A relação entre o aumento do HOMA β e a redução dos ácidos graxos livres fala a favor da melhora da lipotoxicidade como um dos fatores de melhora da função da célula β .

Mais estudos populacionais de longa duração são necessários para comprovar o efeito da rosiglitazona sobre eventos cardiovasculares.

ABSTRACT

Cardiovascular disease is the major mortality cause among diabetic patients. Most studies are trying to find disturbances typical of diabetes that could explain the greater incidence of cardiovascular disease in this group.

Insulin resistance, adiponectin reduction, CRP elevation, endothelial dysfunction and PAI-1 elevation are candidates possibly related to this prevalence.

Reducing insulin resistance with thiazolidinediones, including rosiglitazone, probably reduces cardiovascular risk among type 2 diabetic patients once it alters cytokines related to cardiovascular risk in a positive manner.

The aim of this study is to evaluate clinical and laboratorial effects (insulin sensitivity, lipids profile, β -cell function, CRP, adiponectin, resistin and PAI-1) and the effects on carotid intima media thickness of 12 weeks use of rosiglitazone 4 mg BID for type 2 diabetic drug naïve patients currently assisted at Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP Type 2 diabetes out-clinics.

At the first visit we evaluated glycemia, glicated hemoglobin, insulin, total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides, AST, ALT, free fatty acids, uric acid, PAI-1, fibrinogen, CRP, adiponectin and resistin after a twelve hours fasting.

Insulin sensitivity and β cell function were estimated using the HOMA model and intima media thickness was evaluated by a Doppler ultrasound. Patients started using Rosiglitazone 4 mg BID and after 12 weeks the same parameters were evaluated again.

The statistical analyses used Wilcoxon test to study variations before and after rosiglitazone treatment and Spearman correlation coefficient. We considered $p < 0,05$ as statistical significant.

From the 15 patients included, 13 completed treatment. We observed a statistically significant reduction on CRP and acid uric levels and an adiponectin levels elevation. Non statistical significant HOMA IR and resistin reductions and HOMA β improvement occurred. Correlations analyses showed negative correlation between HOMA β and free fatty acids. It was observed no change in intima media thickness.

Treating type 2 diabetes mellitus with rosiglitazone has a potential to reduce cardiovascular risk once it reduces cardiovascular risk markers as CRP and increases adiponectin. Although it was not statistically significant, possibly due to sample size, there was a 25% reduction in medium resistin levels, suggesting a relation between resistin and insulin resistance, still unproved in the literature.

Besides the improvement in insulin sensitivity there was a notable increase in HOMA β showing improvement in β cell function. This data suggests that rosiglitazone treatment slows disease progression. Correlation between HOMA β improvement and free fatty acid agrees with improvement in lipotoxicity as one factor that leads to improvement in β cell function.

We need more long term epidemiological studies to attest rosiglitazone effect in cardiovascular events.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Diabetes Mellitus e doença cardiovascular

Diabetes Mellitus é reconhecidamente um sério problema de saúde pública. Paralelamente ao aumento da prevalência de obesidade, a prevalência de Diabetes Mellitus tem aumentado mundialmente.

Estima-se que em 2010 haverá 221 milhões de indivíduos portadores desta doença em todo o mundo (AMOS et al., 1997). No Brasil a população estimada de portadores de Diabetes em 1995 era de 4,9 milhões de indivíduos e a projeção para 2025 é de 11,6 milhões (KING et al., 1998). Dentre os doentes, mais de 90% são portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 (KENNY et al., 1995).

Indivíduos portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 apresentam risco absoluto de doença cardiovascular 2 a 4 vezes maior do que indivíduos não diabéticos. Nos últimos 50 anos a mortalidade na doença cardiovascular tem diminuído na população não diabética.

Embora uma avaliação publicada por FOX et al. (2004) da população do Framingham Heart Study tenha mostrado que entre os pacientes diabéticos com doença cardiovascular também houve redução da mortalidade, os pacientes diabéticos mantiveram o mesmo risco de doença cardiovascular num intervalo de 45 anos, sendo esse risco absoluto maior que 2 vezes o da população não diabética.

A presença de Síndrome Metabólica segundo os critérios do NCEP implica em maior risco cardiovascular em indivíduos não diabéticos, como demonstrado numa coorte acompanhada por longo período no Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study (LAKKA et al., 2002). As avaliações publicadas do Framingham Offspring Study demonstraram que tanto a resistência à insulina avaliada pelo $ISI_{0,120}$ quanto a presença de Síndrome Metabólica diagnosticada pelos critérios da NCEP ATPIII associam-se, independente do aumento de risco de doença cardiovascular (RUTTER et al, 2005).

Essa distinção é necessária uma vez que ao menos 2 estudos já observaram que os critérios diagnósticos de Síndrome Metabólica da NCEP (GRUNDY et al.,2005) apresentam alta especificidade, mas baixa sensibilidade na detecção de indivíduos portadores de resistência à insulina (CHEAL et al., 2004; LIAO et al., 2004). Esse dado é

concordante com a hipótese de que a redução da sensibilidade à insulina está associada a alterações moleculares que podem levar tanto ao Diabetes Mellitus tipo 2 quanto ao desenvolvimento de aterosclerose e que esse aumento de risco independe dos fatores de risco tradicionais.

Critérios do NCEP para diagnóstico de Síndrome Metabólica:	
Aumento da circunferência da cintura	Maior ou igual 102 cm para homem e 88 cm para mulheres
Elevação de triglicérides	Maior ou igual 150 mg/dL
Hipertensão arterial	Igual ou acima de 130/85 mmHg ou em tratamento farmacológico.
Glicemia de jejum alterada	Igual ou acima de 100 mg/dL ou em tratamento farmacológico.
O diagnóstico de Síndrome Metabólica é dado pela presença de três ou mais dos fatores acima.	

Figura 1- Critérios diagnósticos de síndrome metabólica NCEP/ATP III (GRUNDY et al, 2005).

Em relação aos indivíduos diabéticos, podemos teorizar que as alterações relacionadas à ação da insulina, presentes na maior parte dessa população, somam-se à hiperglicemia, potencializando o risco de desenvolvimento de aterosclerose.

1.2- O papel da resistina na homeostase glicêmica

A resistina é um hormônio descrito inicialmente por STEPPAN et al (2001a) como proteína específica do tecido adiposo, descoberta durante rastreamento de genes contra-regulados nesse tecido pelo tratamento com tiazolidinedionas.

Esses autores demonstraram que camundongos tratados com resistina desenvolviam resistência insulínica e intolerância à glicose e que camundongos com obesidade induzida por dieta tiveram a resistência à insulina revertida com administração de anticorpo anti-resistina. (STEPPAN et al., 2001a). Trabalhos posteriormente publicados

foram conflitantes com esse achado, uma vez que não encontraram relação entre a resistência insulínica e a expressão do gene da resistina em humanos (NAGAEV et al., 2001; JANKE et al., 2002).

A incubação da musculatura esquelética de ratos com resistina diminui a captação de glicose e a síntese de glicogênio, assim como a oxidação de glicose (MOON et al., 2003; PRAVENEK et al., 2003). Em indivíduos portadores de Diabetes tipo 2 os níveis de resistina encontram-se significativamente elevados em relação à população não diabética e mesmo intolerantes a carboidratos (ZHANG et al., 2003; FUJINAMI et al., 2004; YOUN et al., 2004).

Ao contrário da observação inicial que a resistina era uma proteína específica do tecido adiposo, foi demonstrado que esse hormônio é expresso principalmente em macrófagos (PATEL et al., 2003). Esse dado sugere papel inflamatório da resistina. MC TERNAN et al. (2003) mostraram relação da resistina com PCR em diabéticos tipo 2, corroborando essa hipótese. O mesmo estudo observou que em obesos e magros não diabéticos, os níveis de resistina correlacionam-se com resistência à insulina e tecido adiposo, mas essa associação não está presente entre os diabéticos (MC TERNAN et al., 2003).

Outro achado que favorece o papel inflamatório da resistina foi a demonstração de que o lipossacarídeo componente da parede de bactérias gram negativas desencadeia uma reação inflamatória que, precocemente (1-8h), aumenta a expressão de resistina (LU et al., 2002). Esse achado não foi comprovado por RAJALA et al. (2002), mas a avaliação realizada nesse segundo estudo foi mais tardia.

JUNG et al. (2005) demonstraram também não haver relação entre HOMA IR e resistina em diabéticos. Esse estudo observou redução dos níveis de resistina após seis meses de tratamento de diabéticos (com falência de tratamento com sulfoniluréia) com rosiglitazona, enquanto houve elevação dos níveis de resistina após o mesmo tempo de tratamento com metformina. Considerando que ambos os grupos apresentaram redução do HOMA IR e redução dos níveis de glicemia de jejum e de hemoglobina glicada, sugere-se outro mecanismo regulando os níveis de resistina que não a resistência à insulina (JUNG et al., 2005).

Em estudo publicado por LEE et al. (2003) não foi observada associação entre resistina e marcadores de obesidade, adiposidade central, resistência à insulina, hiperlipemia ou leptina. Também não foi observada diferença nos níveis de resistina entre adolescentes magros, obesos insulino-resistentes e diabéticos tipo 2.

A ablação do gene da resistina em ratos reduz a glicemia de jejum ao inibir a gliconeogênese (BANERJEE et al., 2004), ao passo que o tratamento dos mesmos ratos com resistina aumenta a glicemia através do aumento da produção hepática de glicose. Os níveis séricos e RNA mensageiro da resistina são reduzidos com privação alimentar e aumentam após a realimentação como demonstrado por RAJALA et al. (2004) e KIM et al. (2001).

A expressão do gene da resistina assim como sua concentração sérica são aumentadas pela insulina e potencialmente pela glicose (RAJALA et al., 2002; RAJALA et al., 2004). Esses dados sugerem que a regulação nutricional da resistina seja em parte mediada por insulina e glicose.

Entretanto, estudo publicado por LEE et al. (2005) contradiz esses achados. Também foi demonstrado que camundongos obesos apresentam altos níveis séricos de resistina, a despeito da expressão reduzida do RNA mensageiro no tecido adiposo nesses animais (RAJALA et al., 2002; WAY et al., 2001; RAJALA et al., 2004).

Essa discrepância pode ser explicada pelo aumento da meia-vida da proteína devido a sua ligação a fatores séricos ou clearance reduzido. Especula-se também a existência de um mecanismo de feed-back no qual altos níveis circulantes de resistina reduzam a expressão do gene.

Foi demonstrado que a infusão de leptina reduz os níveis séricos e o RNA mensageiro da resistina (RAJALA et al., 2004). O mesmo não foi observado entre camundongos que perderam peso através da privação alimentar (ASENSIO et al., 2004). Isso sugere que o mecanismo através do qual a leptina reduz a glicose envolve a supressão da resistina.

A resistina dos camundongos é apenas 59% homóloga à humana (STEPPAN et al., 2001b) e uma das três isoformas murinas não é encontrada em humanos. Por esse motivo é possível que o papel fisiológico da resistina em humanos seja diferente dos camundongos, o que reforça a necessidade de estudos em humanos para melhor entendimento da real importância da proteína na resistência à insulina.

1.3- Adiponectina e aterosclerose

Desde a descoberta da leptina – o primeiro hormônio identificado derivado do tecido adiposo (ZHANG et al., 1994) – foi desencadeada uma busca de novos hormônios produzidos pelo tecido adiposo. Possivelmente a adiponectina é um dos mais relevantes hormônios secretados pelo tecido adiposo já identificados.

A adiponectina foi identificada em 1995 (SCHERER et al., 1995) e posteriormente isolada por HU et al. (1996b). Essa proteína tem sido, até hoje, a principal candidata a estabelecer a ligação entre obesidade e resistência à insulina e doença aterosclerótica.

O gene da adiponectina encontra-se no cromossomo 3q27, que codifica um polipeptídeo de 244 aminoácidos (TSAO et al., 2002). O domínio globular possui uma sequência homóloga à proteína C1q e curiosamente existe uma sequência homóloga à de citocinas da família do TNF α (SHAPIRO & SCHERER, 1998)

No soro de camundongos e humanos, a adiponectina circula predominantemente na forma de polímeros que podem ser trímeros até polímeros de 18 moléculas, configurando alto peso molecular. Uma pequena parte, conforme demonstrado, circula na forma globular (SHAPIRO & SCHERER, 1998, FRUEBIS et al., 2001).

A observação de que mutações do gene da adiponectina, que impedem a formação de polímeros maiores que trímeros, estejam relacionadas ao desenvolvimento de diabetes e de “hipoadiponectinemia” sugere que não apenas o nível sérico da proteína, mas,

também, sua capacidade de formação de multímeros de alto peso molecular, seja um fator importante na sua ação anti-diabetogênica. (WAKI et al., 2003).

Vários estudos já foram realizados *in vitro* mostrando a influência de diversos fatores ambientais e farmacológicos na regulação da expressão do gene da adiponectina. Já foi demonstrado que a exposição ao frio, perda de peso, adrenalectomia e IGF-1 aumentam a expressão do gene da adiponectina, enquanto corticoesteróides, obesidade, agonistas β -adrenérgicos e o $\text{TNF}\alpha$ reduzem a sua expressão (FASSHEUER et al., 2002; MAKIMURA et al., 2002; ZHANG et al., 2002).

Os achados com relação aos efeitos da insulina sobre a expressão do gene da adiponectina são conflitantes. SCHERER et al. (2002) demonstraram que a exposição à insulina aumenta a expressão do gene, enquanto FASSHAUER et al. (2002) demonstraram redução da expressão após exposição à insulina por tempo mais prolongado.

A literatura a respeito dos níveis de adiponectina em humanos também é bastante ampla. Em humanos, a adiponectina corresponde a 0,01% do total de proteínas plasmáticas e é a mais abundante proteína derivada do tecido adiposo.

Apesar de ser um hormônio de produção exclusiva do tecido adiposo, paradoxalmente foi demonstrada redução da adiponectina sérica nos indivíduos obesos em relação aos magros (ARITA et al., 1999). Esse dado sugere regulação negativa da própria adiponectina sobre a expressão gênica, ou de outras citocinas, como já foi demonstrado, por exemplo, o $\text{TNF}\alpha$.

Em mulheres, os níveis de adiponectina encontram-se mais elevados que em homens. Em 2000, foi demonstrado que entre indivíduos diabéticos os níveis de adiponectina são mais baixos que entre os não diabéticos, e que em diabéticos portadores de aterosclerose os níveis séricos de adiponectina são ainda mais baixos (HOTTA et al., 2000). Esse trabalho sugere fortemente uma ligação entre baixos níveis de adiponectina e desenvolvimento de Diabetes Mellitus tipo 2 e aterosclerose. WEYER et al. (2004) relacionaram a concentração sérica de adiponectina positivamente com a captação corporal de glicose e negativamente com os níveis de insulina. Também foi observada

relação inversa entre adiponectina, triglicérides, glicemia de jejum e glicemia pós prandial. (HOTTA et al., 2000).

Estudos realizados com agonistas PPAR α /tiazolidinedionas, demonstraram que o tratamento de pacientes com essa classe de drogas leva a elevação dos níveis séricos de adiponectina (COMBS et al., 2002; YU et al., 2002; YANG et al., 2002; OSEI et al., 2004; MIYAZAKI et al., 2004). O tratamento com metformina, que também melhora a sensibilidade à insulina, não leva ao aumento da adiponectina (JUNG et al., 2005). Esse dado sugere que a melhora da sensibilidade à insulina induzida pelas tiazolidinedionas ocorre através do aumento da adiponectina.

Os achados descritos situam a adiponectina como potencial droga para o tratamento da resistência à insulina e do diabetes tipo 2. Estudos em animais já comprovaram a capacidade da adiponectina em reduzir glicemia, triglicérides e ácidos graxos livres, além de aumentar a capacidade da insulina em bloquear a produção hepática de glicose (FRUEBIS et al., 2001; BERG et al., 2001)

No estágio inicial da aterosclerose os monócitos circulantes aderem às células endoteliais lesadas e infiltram o espaço subendotelial, diferenciando-se para macrófagos. Esses, por sua vez, captam LDL modificado e se transformam em células espumosas pelo acúmulo de colesterol intracelular. Esse processo é fundamental na formação da lesão aterosclerótica.

As proteínas da família dos receptores “scavenger” desempenham um papel central no acúmulo de lípidos e na formação de células espumosas através da captação de LDL modificado (MATSUMOTO et al. 1990; ENDEMAN et al., 1993). O tratamento de macrófagos com adiponectina reduz a expressão de proteínas da família dos receptores “scavenger” e o conteúdo de lípidos intracelular (OUCHI et al., 2001). Esse fato sugere que a adiponectina seja um regulador da formação da célula espumosa permitindo a ligação entre obesidade, diabetes mellitus e aterosclerose.

1.4- Proteína-C reativa como marcador de aterosclerose

A proteína C reativa (PCR) foi descoberta em 1930 como uma proteína de fase aguda de inflamação. Nos últimos anos vários estudos epidemiológicos correlacionaram a proteína C reativa com risco e mortalidade cardiovascular. O nível de PCR é preditor de infarto do miocárdio, morte por doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, doença arterial periférica e morte súbita em indivíduos aparentemente saudáveis, independente de riscos previamente estabelecidos (VENUGOPAL et al., 2005).

Os resultados desses estudos levaram o American Heart Association Scientific Statement on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease a recomendar que a dosagem desse marcador seja adotada em pacientes assintomáticos com risco cardiovascular moderado, inclusive estabelecendo valores limite de baixo (PCR <1 mg/L), moderado (PCR entre 1 e 3 mg/L) e alto riscos (PCR >3 mg/L) (PEARSON et al., 2003).

Uma meta-análise de 22 estudos com PCR apontou um risco relativo de 1,5 entre os tercis mais baixo e mais alto na avaliação inicial, considerando um total de 7068 pacientes acompanhados em média por 12 anos. Nesse estudo a PCR foi comparada à hipertensão arterial como marcador de risco cardiovascular (DANESH et al., 2004).

O uso da PCR como marcador de risco cardiovascular atrai maior interesse considerando-se que os ensaios atuais são de relativo baixo custo, de alta sensibilidade, reprodutíveis e largamente disponíveis. Além disso, a PCR não apresenta variação circadiana tampouco variação com jejum (SCIRICA & MORROW, 2006).

Por outro lado, como proteína de fase aguda, a PCR apresenta-se aumentada numa série de doenças inflamatórias e infecciosas, sendo, portanto, menos específica que outros marcadores inflamatórios com participação direta na aterogênese.

Existem poucos questionamentos quanto ao valor da PCR como marcador de risco cardiovascular quando excluídas outras doenças que possam causar elevação de PCR. Mais recentemente, e em frente aos vários estudos epidemiológicos, modelos têm sido estudados para elucidar se a PCR é apenas um “marcador” de aterosclerose, ou se constitui um participante ativo do processo aterosclerótico. A segunda hipótese tornou-se mais forte na medida em que a inflamação foi ocupando papel central na aterogênese.

Várias agressões como hipertensão, diabetes, tabagismo, dislipidemia e hiperhomocisteinemia podem levar à disfunção endotelial que se manifesta primariamente como deficiência de óxido nítrico e prostaciclina e aumento de endotelina-1, angiotensina II, PAI-1 e moléculas de adesão (VENUGOPAL et al., 2005), ou seja, desequilíbrio entre fatores vasodilatadores e vasoconstritores e entre fatores pró-trombóticos e fibrinolíticos.

Em seguida à disfunção endotelial, células mononucleares aderem ao endotélio e, após, atingem o espaço sub-endotelial. Nesse processo estão envolvidas várias moléculas de adesão, como E-selectinas, molécula intercelular de adesão-1 (ICAM-1) e molécula de adesão da célula vascular-1 (VCAM-1), e integrinas.

A entrada do monócito no espaço subendotelial é promovida pela proteína quimioatática de monócitos-1 (MCP-1). O fator estimulante de colônia de macrófagos (M-CSF) promove a diferenciação de monócitos em macrófagos.

Os macrófagos incorporam lípidos do LDL oxidado através dos receptores “scavenger”, formando as células espumosas, o embrião da estria gordurosa. Após a formação da estria gordurosa, células da musculatura lisa migram para a camada íntima, proliferam e formam um tampão fibroso.

Macrófagos cheios de gordura liberam, no processo de necrose e apoptose, matriz metaloproteinase (MMP) que, por sua vez, causa ruptura no endotélio. O fator tissular liberado pelos macrófagos entra em contato com as plaquetas circulantes causando uma síndrome coronária aguda (VENUGOPAL et al., 2005).

A proteína C reativa foi observada nas células semelhantes à musculatura lisa e nos macrófagos da camada íntima espessada da placa de ateroma. Esse achado sugere que em determinados locais da camada íntima, o nível de PCR atinja concentrações até dez vezes mais altas que os níveis circulantes. A PCR reduz a liberação de prostaciclina pelas células endoteliais de aorta humana. A prostaciclina, além da ação vasodilatadora, atua inibindo a agregação plaquetária e a proliferação da musculatura lisa. Dessa forma, a PCR leva à disfunção endotelial através da redução do óxido nítrico e da prostaciclina, ambos importantes vasodilatadores.

A PCR também tem ação promotora da quimiotaxia de monócitos, através da pró-regulação de receptores quimiotáticos de monócitos que mediam o movimento dessas células, em resposta à proteína quimiotática de monócitos (SCIRICA & MORROW, 2006).

Além dessas ações, a PCR atua aumentando a expressão de matriz metaloproteinase -1, que, como já reportado, tem ação na vulnerabilidade da placa aterosclerótica. Acredita-se que a MMP-1 tenha papel na clivagem do colágeno fibrilar I e III, principais componentes da placa aterosclerótica (VENUGOPAL et al., 2005).

Outro efeito já publicado da PCR é o aumento da expressão do LOX-1 (lectin-like LDL receptor-1). O LOX-1 é receptor endotelial para o LDL oxidado com papel central na disfunção endotelial induzida pelo LDL oxidado.

A PCR também age inibindo a trombólise ou inibindo a fibrinólise, através do aumento da expressão de PAI-1 em células endoteliais de aorta humana e da redução do ativador do plasminogênio tecidual nas mesmas células.

O papel da PCR como indutora da aterosclerose, e não meramente um marcador, não é um consenso.

Vários questionamentos são levantados principalmente quanto à pureza das preparações usadas nos estudos e quanto aos modelos animais utilizados em alguns trabalhos.

Maiores estudos são aguardados nessa área, pois a definição de que a PCR seja participante ativa no processo aterosclerótico abrirá a possibilidade do desenvolvimento de substâncias que bloqueiem a ação dessa proteína, além de reforçar a ação inibidora do processo aterosclerótico de drogas que sabidamente diminuem os níveis de PCR.

1.5- Papel do PPAR γ na sensibilidade à insulina

Os receptores ativados do proliferador do peroxissoma (PPAR) são fatores de transcrição nucleares específicos. Até o momento foram identificadas 3 isoformas de PPAR. A primeira isoforma identificada foi o PPAR α . Recebeu essa denominação por seu

papel na proliferação do peroxissoma em resposta a carcinógenos no fígado de camundongos (ISSEMANN & GREEN, 1990).

O PPAR α é expresso no fígado, coração, córtex adrenal e músculo esquelético. Esses tecidos têm como característica a alta capacidade de oxidação de ácidos graxos (AUBOEUF et al., 1997). Em humanos o PPAR α regula a expressão de genes que controlam a utilização de lípidos pela musculatura esquelética e sua ativação favorece o catabolismo lipídico em detrimento do acúmulo de lípidos intra-muscular (MUOIO et al., 2002).

Os principais ligantes exógenos do PPAR α são os fibratos, largamente usados por sua ação hipolipemiante. Os ácidos graxos são os principais ligantes naturais do PPAR α e dietas ricas em gordura, particularmente as ricas em ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa induzem a oxidação de ácidos graxos através de regulação gênica dependente de PPAR α (FRANCIS et al., 2003).

Os PPARs agem na forma de heterodímeros através da ligação com outro receptor nuclear, o receptor retinóide X (RXR). Tanto os ligantes do RXR quanto do PPAR podem ligar-se ao heterodímero e aumentar as respostas do PPAR (KLIEWER et al., 1992; MUKHERJEE et al., 1997). No estado inativo o PPAR apresenta-se em complexo com co-repressores que impedem o início da transcrição. Ao ser ativado por um ligante o co-repressor dissocia-se do complexo com o receptor e co-ativadores são recrutados para o PPAR. Os co-ativadores regulam a transcrição pela remodelação da cromatina.

A ação do PPAR também é regulada pela fosforilação. Por exemplo, a fosforilação do PPAR γ em serina 112 o torna inativo (HU et al., 1996a).

Ainda pouco se conhece sobre o papel fisiopatológico do PPAR δ . Estudos têm mostrado que o PPAR δ em função na adaptação do metabolismo de diversos tecidos às mudanças ambientais. O tratamento de animais obesos com agonistas PPAR δ leva à normalização de parâmetros metabólicos e redução da adiposidade. O receptor parece ter relação com a regulação da capacidade de queima de ácidos graxos pelos tecidos muscular esquelético e adiposo (LUQUET et al., 2005).

O PPAR γ é, das três isoformas, a mais estudada e, ao lado do PPAR α tem sido importante sua ativação na prática clínica. Sua relação com a sensibilidade à insulina foi descoberta a partir da observação de que as tiazolidinedionas, sensibilizadores da ação da insulina são potentes agonistas do PPAR γ (LEHMANN et al.,1995).

O PPAR γ pode ser definido primariamente como um regulador da formação e da função da célula adiposa. É expresso de forma abundante no corpo humano predominantemente no tecido adiposo e em menor intensidade no fígado, musculatura esquelética, monócitos, macrófagos, cólon e placenta além de ser a forma mais altamente expressa no tecido nervoso (EVANS et al., 2004).

Derivados do ácido aracdônico, especialmente a 15-deoxi-12-14-prostaglandina J2 (15-JPGJ2) são ligantes naturais do PPAR γ assim como lipoxigenases derivadas do ácido linoleico e do ácido aracdônico (FORMANN et al., 1995).

A presença do PPAR γ é essencial e suficiente para a adipogênese, sendo sua expressão induzida nos estágios iniciais da diferenciação do adipócito. A principal evidência a esse respeito é o fato bem determinado de que camundongos portadores de deleção do gene do PPAR γ não desenvolvem tecido adiposo, enquanto aqueles heterozigotos para essa mesma deleção apresentam volume reduzido de tecido adiposo (ROSEN et al., 1999).

In vitro os ativadores do PPAR γ induzem diferenciação de pré-adipócitos. Isso ocorre de forma heterogênea entre os pré-adipócitos extraídos do tecido adiposo visceral e do tecido adiposo subcutâneo do mesmo indivíduo, sendo a diferenciação do tecido subcutâneo mais rápida que a do tecido visceral. Essa evidência é concordante com o fato já largamente observado na prática clínica de que os indivíduos portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 tratados com agonistas do PPAR γ evoluem com acúmulo de gordura subcutânea sem alteração, ou mesmo com redução, da gordura visceral (EVANS et al.,2004).

Em nível molecular, há duas hipóteses para justificar o fato de um receptor expresso principalmente no tecido adiposo melhorar globalmente a sensibilidade à insulina.

Inicialmente a ativação do PPAR γ no tecido adiposo aumenta sua capacidade de estocar lípidos, diminuindo a quantidade de lípidos circulante e conseqüentemente a lipotoxicidade. Essa hipótese envolve a ativação de genes que codificam moléculas que promovem a lipólise e o acúmulo de gordura como a proteína ligadora de ácido graxo aP2, o receptor de lipoproteína CD36, lipoproteína lipase, transportador de ácido graxo FATP1, glicerol quinase e os reguladores da síntese de ácido graxo e esterol respectivamente SCD-1 e SREPB-1.

A ativação dessa cascata metabólica leva a redistribuição de gordura corpórea com diminuição de ácidos graxos e triglicérides circulantes, muscular e hepático e aumento do conteúdo de triglicérides do tecido adiposo (YAMAUCHI et al., 2001). Por outro lado a ativação do PPAR γ altera a secreção de citocinas sinalizadoras pelo tecido adiposo como adiponectina e TNF α sendo que a melhora da sensibilidade à insulina pode ocorrer pela ação dessas moléculas nos tecidos (EVANS et al., 2004). Além disso, a ativação do PPAR γ regula a expressão de genes que codificam os transportadores de glicose GLUT 1 e GLUT 4 (LEBOVITZ, 2004).

As tiazolidinedionas são os ativadores do PPAR γ sintéticos conhecidos até o momento. A primeira droga dessa classe desenvolvida foi a ciglitazona, que mostrou efeito hipoglicemiante em modelos animais de diabetes e resistência à insulina mas cujos estudos em humanos não evoluíram devido a efeitos tóxicos.

Em 1997 foi aprovado o uso da troglitazona, entretanto essa droga também foi retirada do mercado em março de 2000 devido a casos fatais de hepatite tóxica. A partir de 1999 foram disponibilizadas no mercado duas novas drogas, rosiglitazona e pioglitazona que, até o momento, mostraram-se seguras do ponto de vista hepático (LEBOVITZ, 2004). Ambas as drogas apresentam eficácia no controle glicêmico e são indicadas no tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2 tanto em monoterapia quanto associadas a outras classes de drogas.

Como efeitos colaterais do uso dessa classe de drogas notam-se o ganho de peso e retenção hídrica com redução média de 1g/dL na hemoglobina e de 3,3 % do hematócrito. Em monoterapia observa-se edema leve a moderado em 4-5 % dos pacientes.

Esse percentual aumenta na associação com sulfoniluréias e com insulina (LEBOVITZ, 2004). Também é descrita a piora de insuficiência cardíaca, o que contra-indica o uso dessa classe em portadores de insuficiência cardíaca classes III e IV. Devido ao histórico de hepatotoxicidade com troglitazona ainda é contra-indicado o uso de tiazolidinedionas em portadores de insuficiência hepática.

1.6- PPAR γ e aterosclerose

O fato de o PPAR γ ser expresso em células do endotélio, células da musculatura lisa vascular, linfócitos T e macrófagos sugere que esses receptores tenham um papel na função do endotélio (CARIOU et al., 2005). Estudos com células endoteliais demonstram que a ativação do PPAR γ diminui a liberação pelas células endoteliais de fatores quimiotáticos de linfócitos T, conseqüentemente diminuindo o recrutamento dessas células (WALCHER & MARX, 2004).

Atribui-se também uma possível ação vasodilatadora através da diminuição da expressão de endotelina e do aumento da produção de óxido nítrico.

In vitro foi demonstrado que a ativação do PPAR γ inibe a expressão do receptor do fator de crescimento endotelial vascular 1 e 2 e reduz a formação do tubo endotelial (WALCHER & MARX et al., 2004).

A neovascularização pode contribuir para a progressão da placa aterosclerótica, assim como para a formação de aneurisma e hemorragia no interior da placa. Por esse motivo a ativação do PPAR γ pode ser protetora. Por outro lado a inibição da angiogênese pode ter papel desfavorável na formação de circulação colateral mas a importância desse potencial ainda não está definida.

Em modelos animais a ativação do PPAR γ levou a redução de moléculas de adesão VCAM e ICAM que tem papel decisivo no recrutamento de linfócitos e monócitos para a lesão aterosclerótica (CARIOU et al., 2005), assim como diminuiu a produção de citocinas inflamatórias como o TNF α pelos linfócitos que infiltram o processo inflamatório (MARX et al., 2002).

Também relevante é o papel do PPAR γ sobre as células da musculatura lisa vascular. A ativação do PPAR γ inibe a migração dessas células, a liberação de enzimas que degradam a matriz e a expressão de receptores de angiotensina II tipo 1. Esse feito tem potencial para atenuar a resposta arterial à agressão que ocorre após intervenção coronária.

1.7- O papel dos ácidos graxos livres na resistência à insulina

A suposição de que os ácidos graxos livres estivessem relacionados à resistência à insulina no músculo aparece na literatura pela primeira vez com RANDLE et al (1963). Na ocasião ele demonstrou que ácidos graxos livres competiam com glicose como substrato para produção de energia no músculo e tecido adiposo. Esses mesmos resultados foram obtidos por outros pesquisadores posteriormente na década de 1990 (BODEN & SCHULMAN, 2002).

De outra maneira outros estudiosos demonstraram que o uso de drogas anti-lipolíticas como ácido nicotínico exercem potente efeito hipoglicemiante em camundongos através da retirada dos ácidos graxos e da melhora da sensibilidade à insulina. Em humanos resultado semelhante foi obtido com o uso de acipimox (SANTOMAURO et al., 1999).

Vários estudos foram realizados a fim de explicar de que forma o aumento dos ácidos graxos livres induz resistência à insulina. Já foi demonstrado que altas concentrações de ácidos graxos livres interferem na sinalização de insulina agindo sobre o IRS-1 e a proteína C quinase. Ao estimular a proteína C quinase os ácidos graxos livres levam a fosforilação do IRS-1 em serina e não em tirosina, passo fundamental para ativação da PI3 quinase e translocação do GLUT-4 para a membrana celular (YU et al, 2002).

Além do papel indutor de resistência à insulina os ácidos graxos livres atuam reduzindo a secreção de insulina. Agudamente, a incubação de ilhotas pancreáticas com ácidos graxos livres leva a aumento de secreção de insulina. Entretanto, cronicamente esse efeito é revertido e o ácido graxo leva à redução de secreção pancreática de insulina (SAKO & GRILL, 1990). Esse efeito posiciona os ácidos graxos livres como fatores atuantes nas duas principais alterações patológicas que levam ao diabetes mellitus tipo 2- a resistência à insulina e a deficiência de insulina.

1.8- PAI-1, Obesidade, Diabetes Mellitus TIPO 2 e aterosclerose

O inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) pode ser considerado um dos principais inibidores da fibrinólise na cascata de coagulação.

Existem evidências de que o PAI-1 pode contribuir para o desenvolvimento de doença cardiovascular aterosclerótica. Além das evidências epidemiológicas, dados experimentais como o fato de que camundongos transgênicos com expressão aumentada de uma forma estável de PAI-1 desenvolvem espontaneamente trombose coronária macrovascular mesmo na ausência de hipertensão e dislipidemia (EREN et al, 2002) reforçam a tese de que a associação de PAI-1 com doença cardiovascular aterosclerótica não seja apenas casual.

O PAI-1 plasmático é derivado do endotélio vascular, tecido adiposo e fígado. Sabe-se que as plaquetas são capazes de sintetizar e estocar grandes quantidades de PAI-1, secretando-o após agregação plaquetária (TAEYE et al, 2005). O PAI-1 liga-se ao ativador do plasminogênio tecidual (AP) formando um complexo inativo que sofre clearance hepático.

Existe variação circadiana do PAI-1 plasmático, com maiores níveis pela manhã e níveis mais baixos à tarde. Esse ritmo é coincidente com o pico de incidência de infarto do miocárdio pela manhã (ANGLETON et al.,1989). Existe uma correlação direta entre os níveis de PAI-1 e o índice de massa corporal, embora ainda não seja bem estabelecido o mecanismo pelo qual a obesidade leva a aumento do PAI-1 (TAEYE et al.,2005).

As principais hipóteses são de que fatores metabólicos atuem no gene promotor regulando positivamente sua expressão. Um mecanismo potencial de aumento do PAI-1 é o estado pró-inflamatório encontrado na obesidade e na resistência à insulina. Esse estado pró-inflamatório caracteriza-se por leucocitose e aumento de citocinas como interleucina -1, interleucina -6 e TNF- α proteínas de fase aguda e aumento de marcadores de disfunção endotelial (LYON et al.,2003). Essas citocinas podem regular a produção de PAI-1 no tecido adiposo de forma autócrina ou parácrina.

Em camundongos *ob/ob* a inibição do TNF α leva a redução da produção de PAI-1 no tecido adiposo. Fatores de crescimento como TGF- β , EGF e insulina também podem contribuir para elevação de PAI-1 em obesos (BASTELICA et al., 2002). Já foi demonstrado que no tecido vascular a angiotensina II leva a aumento do PAI-1 de forma dose dependente (VAUGHAN et al, 2005). Inibidores da enzima conversora da angiotensina reduzem os níveis de PAI-1 em indivíduos obesos (TAEYE et al., 2005).

1.9- Espessura da íntima média carotídea como marcador de aterosclerose

A aterosclerose é um processo dinâmico de remodelamento da parede vascular. Esse remodelamento tanto pode permanecer não detectado durante toda a vida quanto pode manifestar-se clinicamente num episódio agudo de doença vascular.

Esse processo desenvolve-se no decorrer de décadas. Por essa razão estudos epidemiológicos que visam acessar desfechos cardiovasculares necessitam longo tempo de seguimento em grandes populações. Na tentativa de reduzir o custo e o tempo desse processo, marcadores ideais de doença cardiovascular devem possibilitar a investigação da aterosclerose num estágio inicial e devem refletir a progressão ou regressão do processo aterosclerótico em resposta a determinada intervenção (DE GROOT et al., 2004).

A parede vascular é constituída por três camadas: íntima, média e adventícia. A camada íntima corresponde a uma única camada de células endoteliais sustentada por células da musculatura lisa. A camada íntima é separada da média por uma lâmina de fibras elásticas. A camada média é a responsável pelas propriedades mecânicas das artérias periféricas. A camada adventícia é constituída por fibroblastos e colágeno (BOTS et al., 2002).

A distância entre a interfaces do lúmen arterial com a camada íntima e entre as camadas média e adventícia da parede vascular pode ser medida através de ultrassom. Alguns estudos demonstraram que essa distância, quando avaliada pelo ultrassom é representativa da espessura do complexo íntima-média avaliado histologicamente (DE GROOT et al., 2004; BOTS et al., 2002).

O estudo de Rotterdam (DE GROOT et al, 2004) e o estudo ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) (TILLING et al. 2006) trouxeram evidências de que a medida da espessura da íntima-média através do ultrassom pode ser usada como indicador de aterosclerose generalizada. O estudo de Rotterdam mostrou uma associação entre a espessura da íntima-média e acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio, angina do peito, claudicação intermitente e hipertensão arterial sistêmica essencial (DE GROOT et al, 2004).

Determinadas condições clínicas como hipertensão, tabagismo, diabetes mellitus, doença coronariana prévia ou claudicação intermitente levam a um aumento de 5 a 12 % da espessura da íntima-média (BOTS et al., 2002). O aumento da espessura da íntima-média mostrou-se relacionado à aterosclerose nas artérias coronárias, aorta abdominal e nas artérias das extremidades inferiores. Os riscos de infarto agudo do miocárdio e de acidente vascular cerebral aumentam gradualmente com o aumento da espessura da íntima média (BOTS et al.,2002).

A medida da espessura da íntima-média tem sido largamente usada para avaliar a eficácia de medicações como anti-hipertensivos e redutores de colesterol. Estima-se que a redução da espessura da íntima média esteja relacionada a redução de risco cardiovascular.

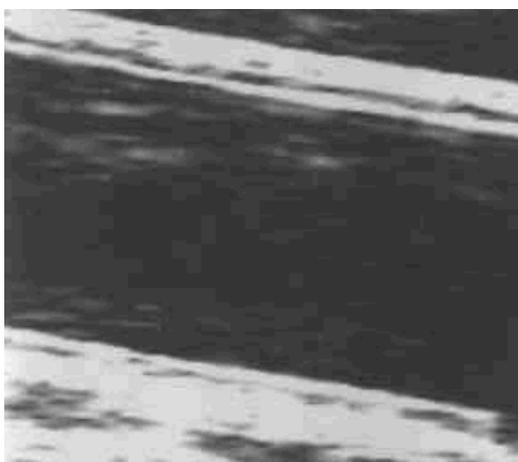


Figura 2- Ultrassom de carótida de paciente saudável

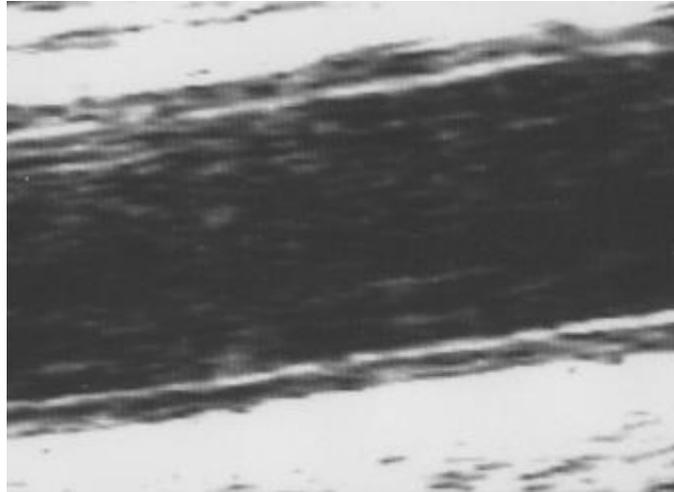


Figura 3- Ultrassom de carótida de paciente diabética tipo 2

1.10- Hiperuricemia e síndrome metabólica

Diversos estudos epidemiológicos apontam relação entre os níveis de ácido úrico e os componentes da síndrome metabólica. Alguns autores consideram a hiperuricemia como um componente da Síndrome Metabólica, apesar de nenhum dos critérios de diagnóstico da síndrome metabólica terem incluído oficialmente o nível de ácido úrico para diagnóstico da síndrome.

YOO et al. (2005), avaliando uma extensa coorte asiática de mais de 50000 indivíduos demonstraram que o ácido úrico correlaciona-se positivamente com HOMA IR e proteína C reativa. Em indivíduos com glicemia de jejum abaixo de 110 mg/dL o ácido úrico também correlacionou-se com o aumento da glicemia de jejum e em todos os grupos houve correlação positiva com hipertensão e os outros componente da Síndrome Metabólica. Mesmo entre indivíduos com níveis de ácido úrico considerados normais, o risco de síndrome metabólica mostrou-se aumentado quanto maiores os níveis de ácido úrico. (YOO et al., 2005).

Esses dados e outros estudos com resultados semelhantes, entretanto, não estabelecem nenhuma relação causal entre o ácido úrico e a resistência insulínica ou vice-versa, apenas sugerem que exista alguma relação. Algumas hipóteses têm sido

propostas para justificar essas correlações. Uma delas sugere que os mecanismos de resistência à insulina aumentem os metabólitos intermediários da via glicolítica como a ribose-5-fosfato, um dos substratos para a produção de ácido úrico (TSOULI et al., 2006).

Outra hipótese sustenta que a hiperinsulinemia leve à redução da excreção renal de ácido úrico, com diminuição do clearance e consequente aumento dos níveis séricos de ácido úrico.

Um outro dado relevante é a observação de que o uso de alopurinol previne o desenvolvimento de componentes da síndrome metabólica induzidos pela frutose como hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia, sugerindo assim uma ação do ácido úrico no desencadeamento da síndrome metabólica (NAKAGAWA et al., 2006). Em relação à aterosclerose já foi demonstrado que o ácido úrico atua reduzindo a biodisponibilidade do óxido nítrico, o que pode contribuir para a disfunção endotelial.

Por outro lado, é importante lembrar que o consumo excessivo de proteína animal e gordura saturada pode levar tanto ao desenvolvimento de síndrome metabólica quanto à hiperuricemia, atuando como um confundidor na análise dos dados.

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Avaliar o efeito clínico e laboratorial da administração por 12 semanas de 8mg de rosiglitazona ao dia em pacientes diabéticos tipo 2 virgens de tratamento anti-diabético atendidos no Ambulatório de Diabetes Mellitus tipo 2 do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

2.2- Objetivos específicos

A. Avaliar os efeitos da rosiglitazona sobre:

1. parâmetros metabólicos de controle glicêmico (glicemia de jejum e hemoglobina glicada), sensibilidade à insulina e função da célula beta (HOMA IR e beta), perfil lipídico (LDL, HDL, triglicérides, ácidos graxos livres e colesterol total) e ácido úrico;
2. marcadores de inflamação e disfunção endotelial PCR, PAI-1 e fibrinogênio;
3. citocinas relacionadas à resistência à insulina adiponectina e resistina;
4. espessura da íntima média carotídea.

B. Analisar correlações entre as variáveis estudadas.

***3- MATERIAIS E
MÉTODOS***

Para inclusão nesse estudo avaliamos os pacientes com diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 segundo os critérios da Sociedade Brasileira de Diabetes sem tratamento medicamentoso prévio para o Diabetes, ou seja, antecedente de uso de hipoglicemiantes orais ou insulina.

Como critérios de inclusão consideramos, além do diagnóstico de diabetes, idade entre 18 e 75 anos, hemoglobina glicada acima do valor de normalidade do método utilizado (6,1%) e Índice de Massa Corpórea acima de 25.

Como critérios de exclusão consideramos elevação de enzimas hepáticas acima do dobro do valor de normalidade para o método, insuficiência renal, insuficiência cardíaca, presença de sinais e sintomas de descompensação glicêmica como perda de peso, polidipsia e poliúria e sinais de infecção aguda ou presença de qualquer outra condição clínica que pudesse comprometer a avaliação dos resultados.

Antes da realização dos procedimentos do estudo foi aplicado e assinado por cada paciente um termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Os pacientes foram submetidos a dosagem de glicemia de jejum, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL e triglicerídeos por método enzimático colorimétrico. Também foram dosadas hemoglobina glicada por cromatografia líquida de alta pressão, AST, ALT, fosfatase alcalina e gama glutamil transferase por método cinético colorimétrico, uréia e ácido úrico pelo método da uricase e creatinina método colorimétrico. Proteína C reativa foi dosada por nefelometria e fibrinogênio por Klaus automação.

Insulinemia de jejum, adiponectina, resistina e PAI-1 foram dosados pelo método Linkoplex kit KAT-HADK1-61K-A, Linko Research-St. Charles, Missouri, USA.

Ácidos Graxos Livres foram dosados por análise enzimática calorimétrica (WAKO Diagnostics, Richmond, VA).

As avaliações da sensibilidade à insulina e da produção de insulina pela célula β foram realizadas através das fórmulas do HOMA beta e HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment) conforme descrito por MATTHEWS et al (1985), através

dos valores de glicemia e insulinemia de jejum. Entre os pacientes atendidos em nosso ambulatório sem fatores de risco para resistência à insulina o valor de HOMA IR encontrado é menor de 2,71 (média + 2 DP) (GELONEZE et al., 2006)

Todas as coletas de sangue foram realizadas com o paciente em jejum de no mínimo oito horas. Após a coleta o sangue era encaminhado ao laboratório central. Uma alíquota era, após retração do coágulo, centrifugada, separado o soro e estocado à temperatura de -20° Centígrados para dosagem posterior.

A avaliação da íntima carotídea foi realizada através de ultrassom com aparelho Toshiba Power Vision 6800 com transdutor linear Toshiba de 7,5 mHz. Foram avaliadas carótidas comum esquerda e direita, bulbo carotídeo e carótida interna. A avaliação da carótida comum foi realizada a um centímetro da bifurcação da carótida. Após a tomada da imagem foi realizada medida de interface proximal e distal das carótidas comum esquerda e direita através de programa computadorizado para avaliação de carótidas. Consideramos na análise a média entre os quatro valores encontrados: proximal e distal direita e esquerda.

Após as coletas de sangue, realização da avaliação da espessura da íntima carotídea e análise dos resultados os pacientes foram orientados a iniciar o uso de Rosiglitazona 4 mg duas vezes ao dia. Também eram orientados a manter dieta balanceada, isocalórica, com restrição de carboidratos de absorção rápida.

Após doze semanas de uso da medicação os pacientes eram submetidos a nova coleta de sangue para realização das dosagens acima descritas e de nova avaliação da espessura da camada íntima-média carotídea.

4- CASUÍSTICA

Durante o período de inclusão no estudo selecionados 24 pacientes que compareceram ao ambulatório de Diabetes Mellitus tipo 2 ou ao Ambulatório de Síndrome Plurimetabólica do Hospital das Clínicas da UNICAMP, com o diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2, segundo os critérios da Sociedade Brasileira de Diabetes e virgens de tratamento medicamentoso para o Diabetes Mellitus.

Desses pacientes, 15 cumpriam os critérios de inclusão e exclusão do protocolo aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e iniciaram o tratamento após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Os motivos para não inclusão dos pacientes selecionados foram: idade, elevação de enzimas hepáticas (ALT e AST) e hemoglobina glicada dentro dos valores de normalidade.

Dos 15 pacientes que iniciaram o tratamento, 13 completaram o estudo. Um dos pacientes retirou o termo de consentimento poucos dias após iniciar o uso da medicação e outro paciente optou pela interrupção do tratamento por apresentar edema, não identificado no exame clínico.

***5- METODOLOGIA
ESTATÍSTICA***

Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis em estudo foram calculadas as estatísticas descritivas (com medidas de posição e dispersão-média, desvio padrão, valores mínimo, máximo e mediana) das variáveis contínuas.

Para avaliar a evolução das medidas entre os tempos pré e pós rosigitazona foi utilizado o teste de Wilcoxon para amostras relacionadas, devido ao tamanho da amostra e devido às medidas serem pareadas, isto é, feitas antes e depois no mesmo sujeito.

Para avaliar a relação entre as variáveis contínuas (deltas entre tempos pré e pós tratamento) foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$).

Para análise estatística foi utilizado o programa SAS (Statistical Analysis System) para Windows versão 8.02.

6- RESULTADOS

As variáveis antropométricas principais avaliadas, peso e circunferência da cintura, não apresentaram diferença estatística pré e pós tratamento.

Houve aumento estatisticamente significativo dos níveis de colesterol total pré e pós tratamento, com média pré tratamento de 210,83 mg/dL e média pós tratamento de 232,31 mg/dL ($p=0,034$). Em relação a HDL, LDL, triglicérides e ácidos graxos livres as médias pré e pós tratamento não foram estatisticamente diferentes (Gráfico 1).

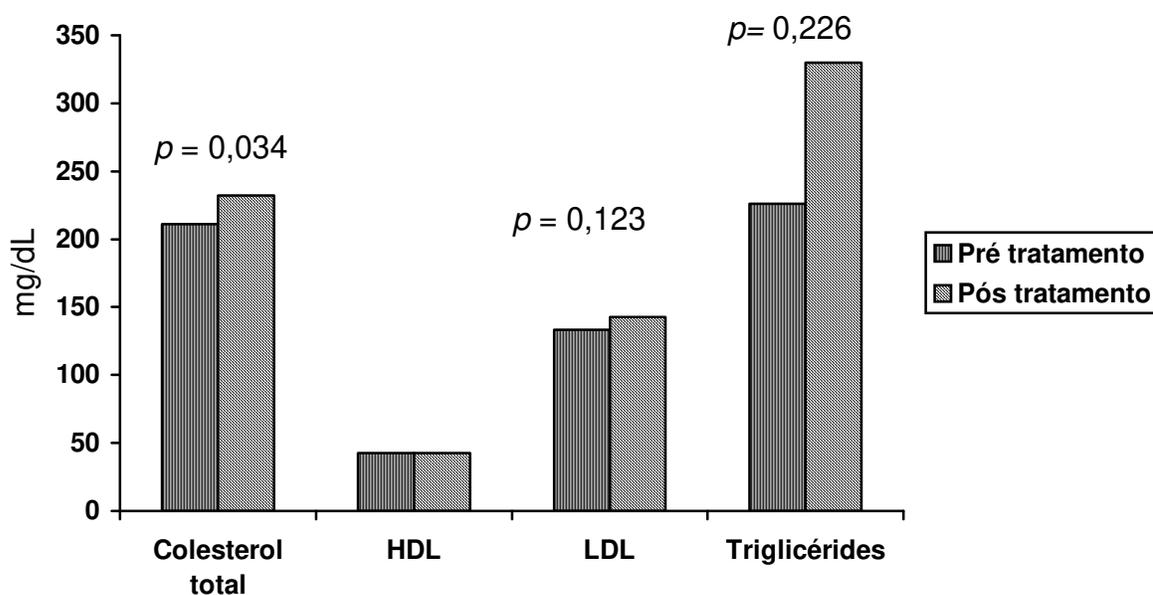


Gráfico 1- Evolução do perfil lipídico pré e pós tratamento

Como esperado pela ação primária da droga estudada houve redução estatisticamente significativa da glicemia de jejum com média pré tratamento de 187,46 mg/dL e pós tratamento de 139,08 mg/dL ($p=0,012$) e da hemoglobina glicada com médias pré e pós tratamento de 8,95 % e 7,16% respectivamente ($p=0,014$).

Foi observada redução estatisticamente significativa do ácido úrico, com média pré tratamento de 5,66 mg/dL e de 5,03 mg/dL pós tratamento ($p=0,041$). Para GGT não houve diferença estatística.

Em relação aos marcadores inflamatórios não houve diferença estatística entre PAI-1 (Gráfico 3) e fibrinogênio enquanto para PCR as médias pré e pós tratamento foram respectivamente de 0,54 mg/dL e 0,31mg/dL ($p=0,004$) (Gráfico 2).

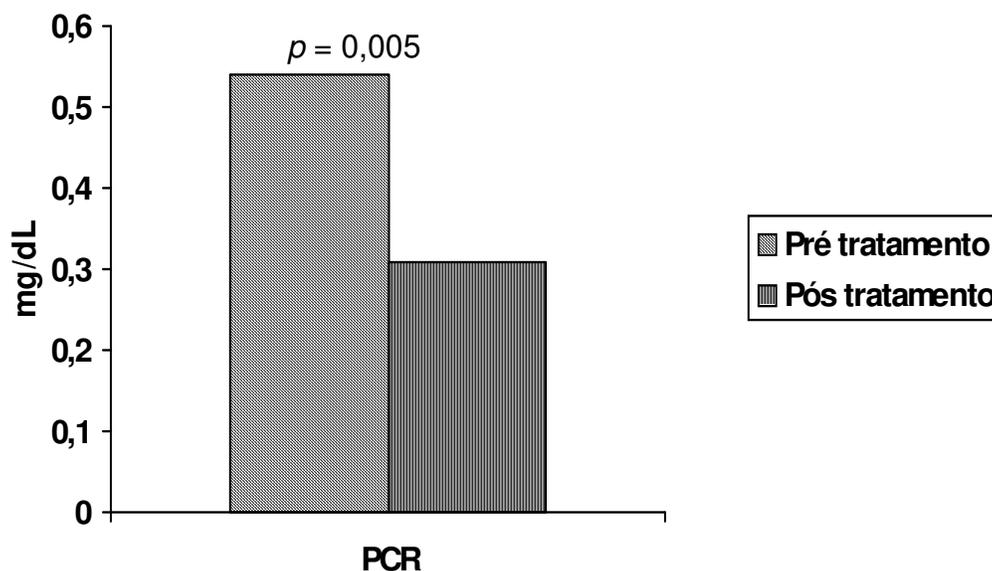


Gráfico 2- Evolução da PCR pré e pós tratamento

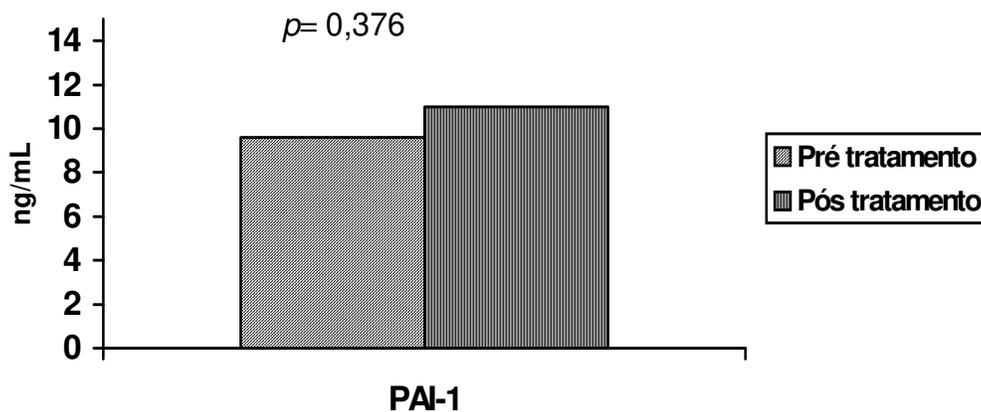


Gráfico 3- Evolução do PAI-1 pré e pós tratamento

A avaliação da adiponectina mostrou aumento significativo pós tratamento, com valores de média de 15,27 $\mu\text{g/mL}$ no estado inicial e 42,56 $\mu\text{g/mL}$ ($p=0,01$) após tratamento (Gráfico 4), enquanto houve redução de 25% na média de resistina pós tratamento (Gráfico 5), sem, no entanto, apresentar significância estatística.

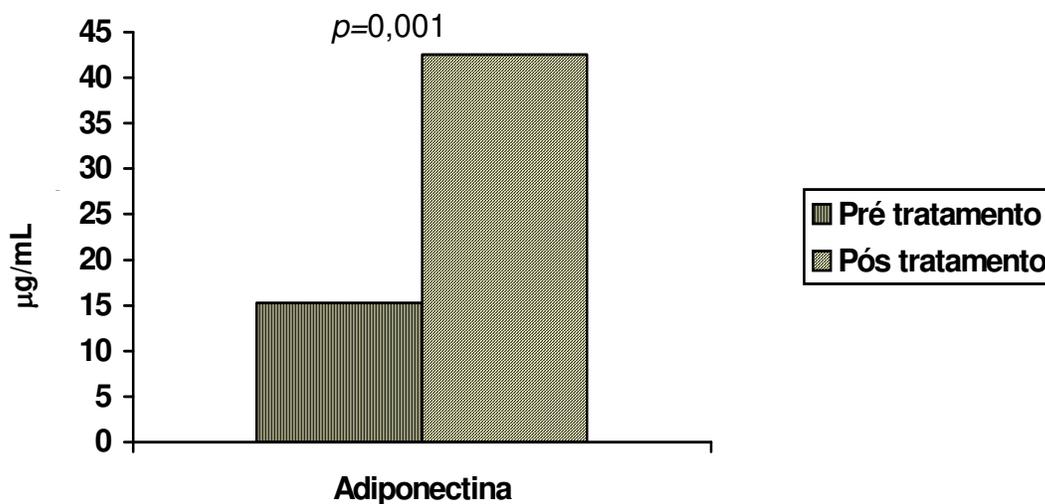


Gráfico 4- Evolução de adiponectina pré e pós tratamento

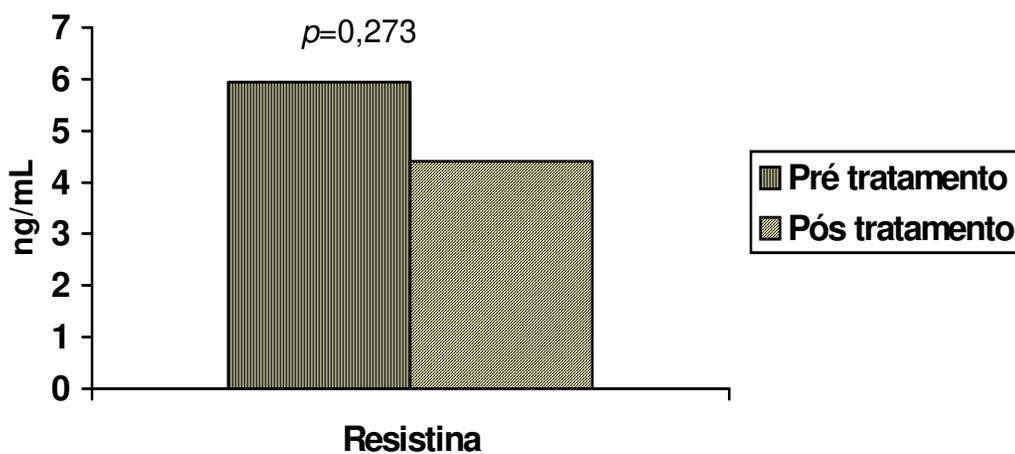


Gráfico 5- Evolução de resistina pré e pós tratamento

A média dos valores de HOMA IR pós tratamento foi menor que pré tratamento, 14,04 e 10,51 respectivamente, mas a diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,08$) (Gráfico 6). Houve aumento da média dos valores de HOMA β pré e pós tratamento, respectivamente de 146,65 e 224,01, também sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,110$) (Gráfico 7).

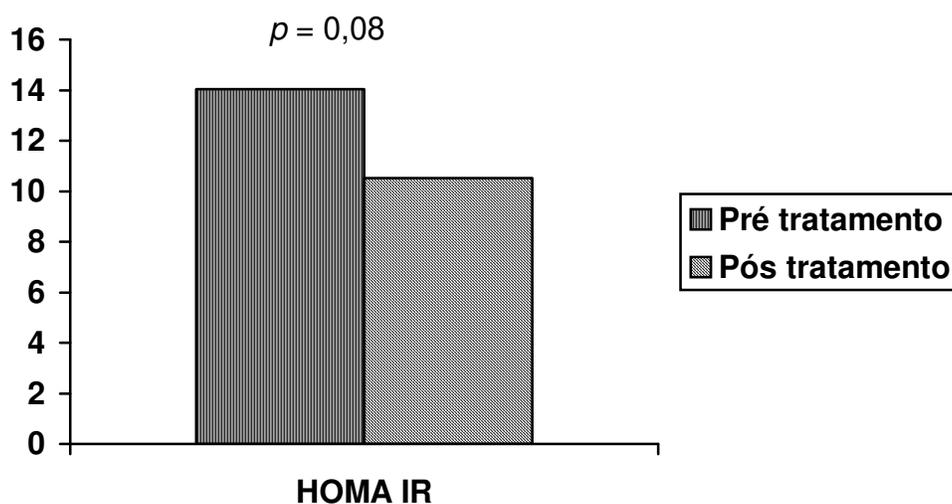


Gráfico 6- Evolução do HOMA IR pré e pós tratamento

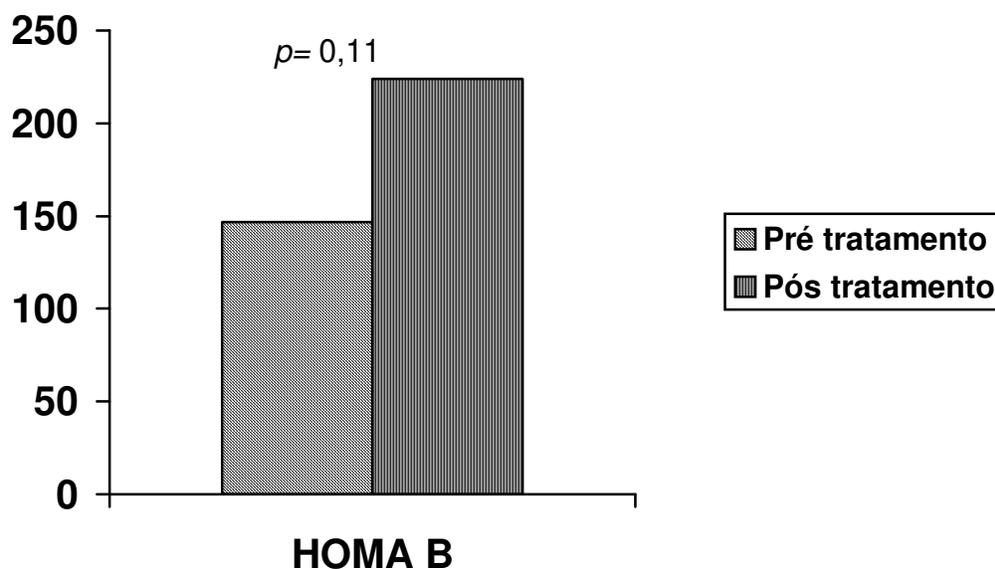


Gráfico 7- Evolução do Homa Beta pré e pós tratamento

Para verificar a influência do tratamento entre mais de uma variável ao mesmo tempo foram avaliadas as correlações entre os deltas das variáveis e os deltas do HOMA . Foi encontrada correlação significativa entre o delta de HOMA β e os deltas de LDL ($p=0,0388$), glicemia ($p=0,0073$) e ácidos graxos livres ($p=0,0065$) (Gráfico 8) além de uma leve tendência ($p<0,10$) de correlação entre o delta de HOMA IR e o delta de PAI-1 ($p=0,0985$) (Gráfico 9).

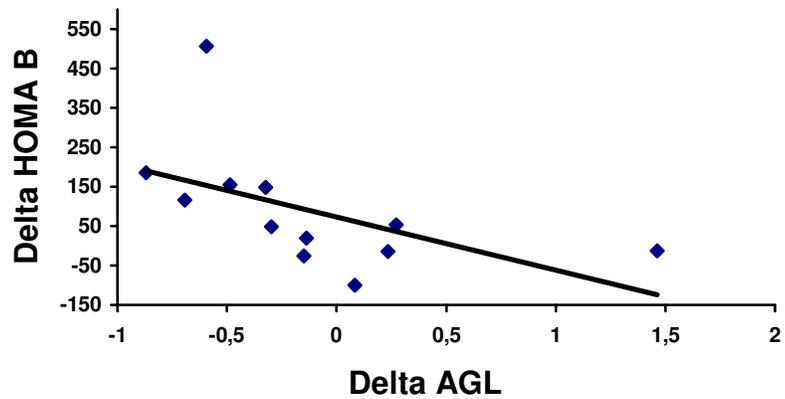


Gráfico 8- Relação entre Delta Homa Beta e Delta Ácidos Graxos Livres

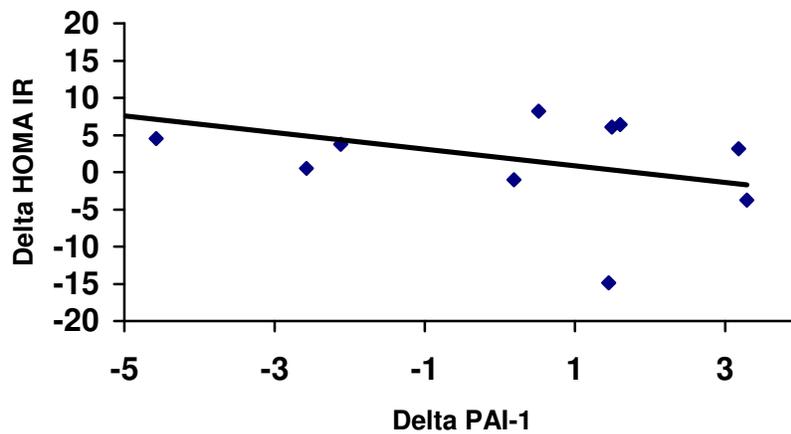


Gráfico 9- Relação ente Delta HOMA IR e Delta PAI-1

7- DISCUSSÃO

Os pacientes incluídos nesse estudo apresentavam Diabetes Mellitus tipo 2 com pouco tempo de diagnóstico. Nessa fase da doença a resistência à insulina é um componente importante da fisiopatologia, o que justifica a prescrição de monoterapia com droga sensibilizadora de insulina como tratamento inicial. Além da prescrição de dose plena de rosiglitazona os pacientes foram orientados quanto à dieta balanceada com redução de carboidratos simples e gorduras com vistas à manutenção do peso. Apenas um dos pacientes incluídos no estudo relatou evento adverso, no caso, edema.

Apesar de não ter sido identificado no exame físico do paciente, considerando que a ocorrência de edema é descrita com uso de glitazonas e que o evento foi relatado de forma significativa pelo paciente optamos pela descontinuação da medicação.

Em relação ao controle glicêmico, 2 pacientes não apresentaram redução do nível inicial de hemoglobina glicada. Dentre os 13 pacientes 9 atingiram níveis de hemoglobina glicada abaixo de 7%, sendo 6,1 o limite de normalidade do método utilizado, comprovando a eficácia terapêutica da rosiglitazona em monoterapia.

Avaliando os valores de HOMA β de ambos os pacientes que não apresentaram melhora da hemoglobina glicada, observamos que apresentavam considerável componente de deficiência de produção de insulina, o que pode explicar a não melhora de controle glicêmico com uso apenas de droga sensibilizadora.

Entre os pacientes avaliados não houve melhora do perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL e triglicérides) assim como dos ácidos graxos livres. Na literatura, o efeito da rosiglitazona sobre os triglicérides é controverso, com estudos demonstrando redução e estudos demonstrando não haver efeito dessa droga sobre triglicérides. É descrita redução do HDL com rosiglitazona e aumento do LDL com todas as tiazolidinedionas. Entretanto, o efeito dessa classe de medicação sobre o tamanho das partículas de LDL torna-os menos suscetíveis à oxidação e conseqüentemente menos aterogênicos (FLORKOWSKI, 2002; OLANSKY et al., 2003).

No tocante aos ácidos graxos livres, a literatura a respeito do efeito da rosiglitazona sobre eles é pobre. LUPPI et al. (2004) demonstraram que a rosiglitazona previne a redução da secreção de insulina pela célula β induzida pelos ácidos graxos livres.

Isso sugere uma ação benéfica da rosiglitazona sobre os efeitos dos ácidos graxos livres na ilhota pancreática, independente da redução dos seus níveis séricos.

Apesar de ser amplamente descrito na literatura ganho de peso com rosiglitazona, esse efeito não foi observado entre os pacientes estudados. Esse resultado possivelmente deveu-se à adesão à dieta recomendada além do curto tempo de uso da medicação (12 semanas).

Todos os pacientes avaliados apresentaram valores de HOMA IR significativamente elevados quando comparados à população não diabética e sem risco de resistência à insulina do mesmo serviço (GELONEZE et al., 2006). Considerando a melhora da sensibilidade à insulina como a principal ação da rosiglitazona, a melhora do HOMA IR era esperada.

Entretanto, em 3 pacientes o valor absoluto do HOMA IR aumentou. Esse aumento foi acompanhado, em todos esses pacientes, por aumento proporcionalmente maior do HOMA β , o que não seria esperado pela ação primária da droga. Apesar de, na média, o HOMA IR ter apresentado redução, essa diferença não foi estatisticamente significativa. Essa falta de significância estatística pode ser explicada pelo tamanho reduzido da amostra. Cabe lembrar que, apesar de não apresentar significância matemática a redução do HOMA IR certamente foi clinicamente significante, uma vez que houve melhora do controle glicêmico.

Em relação ao HOMA β , apesar da mudança não ter apresentado significância estatística, houve aumento de 50% da média desse parâmetro. O efeito da rosiglitazona na melhora da função da célula β pancreática já fora observado em outros estudos anteriormente publicados. Alguns estudos em modelos animais e *in vitro* mostraram que as tiazolidinedionas previnem a morte e a redução da massa de células β . Em ratos *db/db*, resistentes à leptina, a pioglitazona mostrou-se eficaz em reduzir o conteúdo de triglicérides e aumentar a massa das ilhota pancreáticas (KAWASAKI et al., 2005). Esse dado corrobora a hipótese de que um dos mecanismos de preservação e melhora da função da célula β seja a melhora da lipotoxicidade.

Em células β pancreáticas humanas a expressão do PPAR γ é reduzida pela exposição a concentrações progressivamente mais altas de ácidos graxos livres. Essa redução ocorre de forma tempo dependente. Os ácidos graxos livres também levam a redução da secreção de insulina induzida por glicose, redução do conteúdo de insulina da ilhota e redução da expressão do RNAm da insulina.

A incubação das ilhotas com rosiglitazona previne a contra-regulação da expressão do RNAm da insulina e do PPAR γ assim como a inibição da secreção de insulina induzida por glicose (LUPU et al., 2004)

Também em ilhotas humanas altas concentrações de ácidos graxos livres levam a aumento da morte celular, além do aumento dos mediadores de apoptose caspase 3 e caspase 9. A incubação com rosiglitazona diminui a morte celular e normaliza a atividade das caspases. (MARSELLI et al.,2002).

A deposição de amilóide nas ilhotas também é apontada como responsável pela perda progressiva da função de célula β . A aplicação de polipeptídeo amilóide de ilhota forma oligômeros tóxicos que induzem apoptose das ilhotas. LIN et al.(2005) demonstraram que a rosiglitazona inibe a apoptose de ilhotas induzida pelo polipeptídeo amilóide. Essa ação pode ser mais um fator contribuinte para a melhora da função de célula β com uso de rosiglitazona.

O método usado no presente estudo para avaliação da função de célula beta, HOMA, é uma função dos níveis de insulina e glicemia, ou seja, reflete a produção de insulina em resposta ao nível de glicose em jejum. Concordante com nossos resultados, JUHL et al. (2003) demonstraram através do estudo do teste de tolerância à glicose endovenosa em portadores de diabetes tipo 2 que o tratamento com rosiglitazona por 3 meses não altera a capacidade de secreção de insulina mas melhora a capacidade da célula beta de responder às mudanças na concentração de glicose, também sugerindo uma ação protetora da rosiglitazona sobre a célula β .

A análise do efeito do uso de rosiglitazona durante 12 semanas sobre a Proteína C reativa mostrou redução estatisticamente significativa desse marcador de inflamação.

Esse efeito já fora demonstrado em outras publicações, tanto em sujeitos portadores de diabetes tipo 2 quanto em portadores de resistência à insulina e não diabéticos portadores de doença cardiovascular.

ISA et al (2006) demonstraram que a redução da PCR é independente do controle glicêmico e ocorreu apenas em pacientes diabéticos tratados com rosiglitazona, não tendo sido observada nos grupos tratados com sulfoniluréia associada à metformina ou insulina. SARAFIDIS et al. (2005) também observaram significativa redução da PCR com rosiglitazona, ao contrário do observado com uso de glibenclamida apenas, que não mostrou benefício em relação à PCR.

A capacidade das tiazolidinedionas de reduzir a PCR sustenta a hipótese de que essas drogas, além de propiciar controle glicêmico, apresentam potencial de reduzir risco cardiovascular em pacientes diabéticos através da melhora do estado inflamatório que acompanha a aterosclerose.

Outro dado que reforça o potencial da rosiglitazona em reduzir o risco cardiovascular é o aumento significativo dos níveis de adiponectina. Dentre todas as adipocitocinas em estudo, talvez a adiponectina seja a que mais se relacione com risco cardiovascular. Os baixos níveis de adiponectina observados em diversos grupos de pacientes de risco cardiovascular elevado foi a primeira observação de que esse hormônio, mais que um simples marcador de risco cardiovascular, tenha um papel na evolução da aterosclerose. Posteriormente, tanto *in vitro* quanto em animais, foi demonstrada interferência positiva da adiponectina em citocinas e moléculas participantes do processo aterosclerótico.

Esses dados sustentam a idéia de que o aumento da adiponectina constitui um benefício além do controle glicêmico e que esse aumento pode colaborar com a redução esperada do risco cardiovascular.

Por outro lado, além do simples aumento do nível sérico a forma em que a adiponectina apresenta-se no plasma também está relacionada ao risco cardiovascular. O melhor efeito antiinflamatório da adiponectina ocorre na forma de polímeros. A simples

dosagem da adiponectina não responde qual a forma predominante, portanto não nos é possível inferir que a elevação do nível sérico observada terá repercussão clínica na mesma dimensão. Essa resposta poderá ser obtida através de estudos populacionais de longo tempo de seguimento com vistas a demonstrar a relevância clínica dessas alterações.

Embora ainda exista controvérsia em relação à redução do risco cardiovascular as tiazolidinedionas são, das drogas estudadas até o momento, a classe terapêutica com maior efeito de elevação da adiponectina. Observamos um aumento de 178% em média no nível de adiponectina. Esse achado é concordante com outros autores, entre eles OSEI et al (2004) que observou um aumento de adiponectina de 2 vezes entre intolerantes a carboidratos e de 2,5 vezes entre portadores de diabéticos tipo 2 com uso de rosiglitazona.

YANG et al (2002) também descreveram elevação de adiponectina maior de 2 vezes em população semelhante. Avaliando uma população não diabética portadora de síndrome metabólica, BAHIA et al. (2006) observaram aumento de mais de 5 vezes após 24 semanas de tratamento com rosiglitazona.

Por outro lado o rimonabanto, droga da classe dos bloqueadores de receptores endocanabinóides, potencial medicação para melhora dos componentes da Síndrome Metabólica, leva a aumento médio de cerca de 46% dos níveis de adiponectina (DESPRES et al., 2005) enquanto o uso de ramipril leva a aumento de 11% e as estatinas têm efeito neutro nos níveis de adiponectina (KOH et al., 2005).

Até o momento dois estudos populacionais foram concluídos com tiazolidinedionas cujos desfechos secundários incluíam eventos cardiovasculares. O estudo DREAM falhou em demonstrar redução de eventos cardiovasculares com uso de rosiglitazona, resultado talvez explicado pelo baixo risco cardiovascular da população estudada e pelo tempo reduzido de seguimento (The DREAM Trial Investigators, 2006).

Já o estudo PROACTIVE, conduzido com pioglitazona, mostrou redução significativa do número de infarto, acidente vascular cerebral, revascularização miocárdica e de membro inferior, síndrome coronariana aguda e amputação de membro inferior numa população de alto risco cardiovascular (DORMANDY et al, 2005).

Apesar de não ter sido encontrada significância estatística, houve redução de 25% nos valores médios de resistina pré e pós tratamento com rosiglitazona. Possivelmente esse fato deveu-se ao reduzido tamanho da amostra. O papel da resistina como marcador ou causador de resistência à insulina ainda não está esclarecido. Há estudos mostrando redução de resistina com rosiglitazona e aumento dessa proteína com metformina (JUNG et al, 2005). Considerando que ambas as drogas melhoram a sensibilidade à insulina sugere-se que a redução da resistina não seja um passo necessário para a melhora do controle glicêmico ou da ação insulínica.

Nosso estudo mostrou redução, ainda que não estatisticamente significativa, do nível de resistina com uso de agonista PPAR γ . Poucos estudos demonstraram esse efeito em humanos e devido à baixa homologia entre a proteína encontrada em camundongos e em humanos, é pouco adequado extrapolar os resultados nesses animais para a nossa espécie. É possível que a resistina esteja envolvida em outros processos, metabólicos ou inflamatórios, e que o efeito da tiazolidinediona sobre ela seja um passo de outras ações atribuídas a essa classe de drogas, como talvez seu efeito na parede vascular, ou mesmo em outro órgão ainda não evidenciado, mas esse dado ainda não pode ser comprovado.

Em relação ao PAI-1 e ao fibrinogênio, componentes com ação trombogênica, não foi encontrada diferença entre os níveis pré e pós tratamento. Esse dado é discordante de outros estudos já publicados que demonstraram redução de PAI-1 com uso de rosiglitazona e apontam esse fato como mais um benefício anti-aterogênico da droga. Entretanto esse dado não foi reproduzido com nossos resultados. BAHIA et al (2006) também não encontraram diferença entre os níveis de PAI -1, mas numa amostra de 18 pacientes portadores de síndrome metabólica houve diferença nos níveis de fibrinogênio.

A relação entre níveis elevados de ácido úrico e resistência à insulina já tem sido observada há longo tempo. Portadores de Síndrome Metabólica apresentam níveis séricos aumentados de ácido úrico. O questionamento que ainda persiste é quanto ao papel do ácido úrico no desenvolvimento da síndrome metabólica e, principalmente, no desenvolvimento de doença vascular. A explicação inicial e mais simples envolve a ação da insulina na redução do clearance renal de ácido úrico. Comprovadamente a insulina atua

aumentando a reabsorção tubular de sódio. Sempre que ocorre aumento da reabsorção tubular de sódio há também redução da excreção renal de ácido úrico.

A hipótese lançada, portanto, envolve a hiperinsulinemia como causadora da hiperuricemia em portadores de síndrome metabólica através do aumento da reabsorção de ácido úrico. Espera-se, com o uso de drogas que melhoram a sensibilidade à insulina como as tiazolidinedionas, que a ação da insulina no túbulo renal melhore. Esse fato levaria a aumento da reabsorção tubular de sódio, uma das possíveis explicações para a ocorrência de edema observada com o uso dessas medicações. Da mesma forma seria esperado que a melhora da sensibilidade à insulina também levasse a redução da excreção de ácido úrico, mas ocorre o oposto com o tratamento da resistência à insulina. Esse dado nos faz supor que ou a redução do ácido úrico observada no tratamento da resistência à insulina se dá por outros mecanismos que não o aumento do clearance renal, ou a ocorrência de edema associada a essas medicações é devida a outras causas que não o aumento da reabsorção tubular de sódio.

Outra hipótese a esse respeito é a observação de que uma dieta rica em carne, carboidratos complexos e gordura saturada pode levar tanto à síndrome metabólica quanto à hiperuricemia. Essa hipótese parece demasiadamente simplista frente aos resultados demonstrando que o tratamento da resistência à insulina sem interferência na dieta reduz os níveis de ácido úrico.

Por outro lado, alguns achados sustentam a teoria de que o ácido úrico piore a resistência à insulina. Estudos em camundongos concluíram que o alopurinol previne o desenvolvimento de hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, características da Síndrome Metabólica, induzidas pela frutose. Essa hipótese também não encontra sustentação na melhora do ácido úrico com a redução da resistência à insulina.

Vários estudos demonstraram associação positiva entre ácido úrico e risco cardiovascular e em certas coortes o ácido úrico mostrou-se um fator de risco independente de doença cardiovascular. As xantina-oxidases são produtores de radicais livres no endotélio, o que pode levar a disfunção endotelial e estabelece uma possível relação entre hiperuricemia e doença cardiovascular. Além disso, o ácido úrico reduz a

biodisponibilidade de óxido nítrico, colaborando para a disfunção endotelial. Nesse contexto, é possível que a melhora dos níveis de ácido úrico com o tratamento da resistência à insulina seja mais um fator contribuinte para a redução do risco cardiovascular nesses pacientes.

Foram avaliadas possíveis correlações entre os deltas – valores finais menos valores iniciais de todas as variáveis estudadas. Foi encontrada correlação inversa entre aumento de HOMA- β e redução de ácidos graxos livres. Apesar de não ter havido redução estatisticamente significativa dos níveis de ácidos graxos livres é possível que a rosiglitazona reduza o conteúdo de ácidos graxos das ilhotas pancreáticas, efeito que não pôde ser acessado.

Essa é uma das possíveis explicações para a melhora da secreção de insulina nesses pacientes, ou seja, a redução da lipotoxicidade. Ácidos graxos livres são considerados agudamente como secretagogos de insulina, porém a exposição crônica de ácidos graxos livres na ilhota, tanto em modelos animais como in vitro, estão associados com redução da secreção de insulina. Recentemente foi demonstrado que a piora da tolerância à glicose em indivíduos em uso de anti-retrovirais correlacionou-se com piora do HOMA β e aumento dos níveis de ácidos graxos livres (HAUGAARD et al, 2005). Esse dado é concordante com nosso resultado.

Concordante com nossos resultados também foi o estudo ADOPT, em que rosiglitazona foi comparada à sulfoniluréia e metformina em monoterapia. Esse estudo demonstrou melhora de HOMA β no grupo rosiglitazona não observada no grupo metformina (KAHN et al, 2006). Essa melhora, ao contrário do que foi observado com sulfoniluréia, foi mantida ao longo do tempo, o que é compatível com o fato de ter havido menos falha terapêutica no grupo rosiglitazona que nos outros dois grupos.

Com a diminuição da resistência à insulina, a redução da PCR e o aumento da adiponectina esperávamos observar redução da espessura da íntima-média carotídea avaliada pelo ultrassom. Entretanto esse não foi o resultado encontrado. Interpretamos que o reduzido tamanho da amostra e o curto intervalo de intervenção terapêutica tenham sido responsáveis por esse achado.

8- CONCLUSÕES

A. O uso de rosiglitazona na dose de 8 mg ao dia durante 12 semanas:

1. propiciou melhora do controle glicêmico, melhora da sensibilidade à insulina e da função da célula beta, reduziu os níveis de ácido úrico e não alterou significativamente os parâmetros lipídicos;
2. reduziu as concentrações de PCR, sem efeito sobre o PAI-1 e o fibrinogênio;
3. aumentou marcadamente os níveis séricos de adiponectina e reduziu discretamente os níveis séricos de resistina;
4. não alterou a espessura da íntima média carotídea.

B. A melhora da função de célula beta correlacionou-se positivamente com a redução dos ácidos graxos livres.

***9- REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 14: Suppl 5:S1-85, 1997.

Angleton P, Chandler WL, Schmer G. Diurnal variation of tissue-type plasminogen activator and its rapid inhibitor(PAI-1). *Circulation* 79(1) 101-6, 1989

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 257(1):79-83, 1999

Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab* 14(3):137-45,2003.

Asensio C, Cettour-Rose P, Theander-Carrillo C, Rohner-Jeanrenaud F, Muzzin P. Changes in glycemia by leptin administration or high-fat feeding in rodent models of obesity/type 2 diabetes suggest a link between resistin expression and control of glucose homeostasis. *Endocrinology* 145:2206-13, 2004.

Auboeuf D, Rieusset J, Fajas L, Vallier P, Frering V, Riou JP et al. Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor-alpha in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes* 46(8): 1319-27, 1997.

Bahia L, Aguiar LGK, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos A, Geloneze B, et al. Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 2006; online 03 Nov 2006.

Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y et al Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 20;303(5661):1195-8, 2004.

Bastelica D, Mavri A, Verdierl M, Berthet B, Juhan-Vague I, Alessi MC. Relationships between fibrinolytic and inflammatory parameters in human adipose tissue: strong contribution of TNFalpha receptors to PAI-1 levels. *Thromb Haemost* 88(3):481-7, 2002

Berg AH , Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 7: 947-953, 2001.

Boden G, Schulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta cell dysfunction. *Eur J Clin Invest* 32 (Suppl 3):14-23, 2002.

Bots ML, Dijk JM, Oren A, Grobbee DE. Carotid intima-media thickness, arterial stiffness and risk of cardiovascular disease: current evidence. *J Hypertens* 20:2317-2325, 2002.

Cariou B, Fruchart J-C, Staels B. Vascular Protective Effects of Peroxisome Proliferator-Activated receptor agonists. *Br J Diabetes Vasc Dis* 5(3):126-132, 2005.

Cheal KL, Abbasi F, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Ford ES. Relationship to insulin resistance of the Adult Treatment Panel III diagnostic criteria for identification of the metabolic syndrome. *Diabetes* 53:1195-1200, 2004.

Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 350:1387-1397, 2004.

de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 109 [suppl III]:III-33-III38], 2004.

Despres JP, Golay A, Sjostrom L, Rimonabant in Obesity-Lipidis Study Group. Effects of Rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* 353: 2121-34, 2005.

Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJA, Erdmann E, Benedetti MM, Moules IK, et al. Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (prospective pioglitazone clinical trial in macrovascular events): a randomised controlled trial. *The Lancet* 366: 1279-89, 2005.

Endemann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant CM, White RT, Protter AA. CD 36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 268: 11811-6, 1993.

Eren M, Painter CA, Atkinson JB, Declerck PJ, Vaughan DE. Age-dependent spontaneous coronary arterial thrombosis in transgenic mice that express a stable form of human plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation* 106(4):491-6, 2002.

Evans RM, Barish GD, Wang YX. PPARs and the complex journey to obesity. *Nature Med* 10(4) :1-7, 2004.

Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 290(3):1084-9, 2002.

Florkowski CM. Management of co-existing diabetes mellitus and dyslipidemia: defining the role of thiazolidinediones. *Am J Cardiovasc Drugs* 2 (1):15-21, 2002.

Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-Deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell* 83(5):803-812,1995.

Fox CS, Coady S, Sorlie PD, Levy D, Meigs JB, D'Agostino RB, et al. Trends in cardiovascular complications of diabetes. *JAMA* 292: 2495-2499, 2004.

Francis GA, Annicotte JS, Auwerx J. PPAR gamma effects on the heart and others vascular tissues. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285(1)H 1-9, 2003.

Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MRS, Yen FT, et al. Proteolytic cleavage product of 30-Kda adipocyte complement related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(4): 2005-2010, 2001.

Fujinami A, Obayashi H, Ohta K, Ichimura T, Nishimura M, Matsui H et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta* 339(1-2):57-63, 2004.

Geloneze B, Repetto EM, Gelozene SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA IR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract* 72: 219-20, 2006.

Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112: 2735-52, 2005

Haugaard SB, Andersen O, Dela F, Holst JJ, Sotrgaard H, Fenger M et al. Defective glucose and lipid metabolism in human immunodeficiency virus-infected patients with lipodystrophy involve liver, muscle tissue and pancreatic beta-cells. *Eur J Endocrinol* 152:103-12, 2005.

Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20(6):1595-9, 2000.

Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by b-mode ultrasound. *Stroke* 24: 1297-1304, 1993.

Hu E, Kim JB, Sarraf P, Spiegelman BM. Inhibition of adipogenesis through MAP kinase – mediated phosphorylation of PPAR gamma. *Science* 274:2100-2103, 1996.

Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 271(18):10697-703, 1996.

Isa SH, Najihah I, Nazaimoon WM, Kamarudin NA, Umar NA, Mat NH, et al. Improvement in C-Reactive Protein and advanced glycosylation end-products in poorly controlled diabetics is independent of glucose control. *Diabetes Res Clin Pract* 72(1):48-52, 2006.

Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347(6294): 645-50, 1990.

Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 10: 1-5, 2002.

Juhl CB, Hollingdal M, Pørksen N, Prange A, Lönnqvist F, Schmitz O. Influence of Rosiglitazone Treatment on β -Cell Function in Type 2 Diabetes: Evidence of an Increased Ability of Glucose to Entrain High-Frequency Insulin Pulsatility . *J Clin Endocr Metab* 88(8):3794-3800, 2003.

Jung HS, Youn BS, Cho YM, Yu KY, Park HJ, Shin CS et al. The effects of rosiglitazone and metformin on the plasma concentrations of resistin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 54(3):314-20; 2005.

Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med* 355: 2427-43, 2006.

Kawasaki F, Matsuda M, Kanda Y, Inoue H, Kaku K. Structural and functional analysis of pancreatic islets preserved by pioglitazone in db/db mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288(3):E510-8, 2005.

Kenny SJ, Aubert RE, Geiss LS. Prevalence and incidence of non insulin dependent diabetes in Harris M, ed *Diabetes in America 2nd edição*: National Diabetes Data Group, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 47-67, 1995.

Kim KH, Lee K, Moon YS, Sul HS. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 276(14):11252-6, 2001.

King H, Aubert RE, Herman WH. Global Burden of Diabetes 1995-2025 Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 21:1414-31, 1998.

Kliwer SA, Umesono K, Noonan DJ, Heyman RA, Evans RM. Convergence of 9 cis retinoic acid and PPAR signaling pathways. *Nature* 358: 771-774, 1992.

Koh KK, Quon MJ, Han SH, Ahn JY, Jin DK, Kim HS, et al. Vascular and metabolic effects of combined therapy with ramipril and simvastatin in patients with type 2 patients. *Hypertension* 45 (6):1088-93, 2005.

Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 288: 2709-16, 2002.

Lebovitz HE. Thiazolidinediones. In Lebovitz HE. *Therapy for Diabetes Mellitus and related disorders*. 4^a edição, American Diabetes Association, 2004, 198-206.

Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R et al. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 4848-4856, 2003.

Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J Biol Chem* 270: 12953-12956, 1995.

Liao Y, Hutto A, Kwon S, Jenkins AJ, Shaughnessy S, Klein RL et al. Critical evaluation of Adult Treatment Panel III criteria in identifying insulin resistance with dyslipidemia. *Diabetes Care* 27: 978-983, 2004.

Lu SC, Shieh WY, Chen CY, Hsu SC; Chen HL. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression in vivo and in vitro. *FEBS Lett* 23;530(1-3):158-62, 2002.

Lupi R, del Guerra S, Marselli L, Bugliani M, Boggi U, Mosca F, et al. Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPAR α 2 in the modulation of insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286 (4): E560-7, 2004.

Luquet S, Gaudel C, Holst D, Lopez-Soriano J, Jehl-Pietri C, Fredenrich A et al. Roles of PPAR delta in lipid absorption and metabolism: a new target for the treatment of type 2 diabetes. *Biochim Biophys Acta* 1740(2):313-7, 2005.

Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology* 144(6): 2195-200, 2003

Makimura H, Mizuno TM, Bergen H, Mobbs CV. Adiponectin is stimulated by adrenalectomy in *ob/ob* mice and is highly correlated with resistin mRNA. *Am J Physiol* 283: E1266-E1271, 2002.

Marselli L, Bambini MC, Lupi R, Del Guerra S, Boggi U, Mosca F, et al. Rosiglitazone partially prevents free fatty acid-induced cytotoxicity of human pancreatic islet cells. *Diabetologia* 45 Suppl.2:A161, 2002.

Marx N, Kehrle B, Kohlhammer K, Grub M, Koenig W, Hombach V, et al. PPAR activators as antiinflammatory mediators in human T lymphocytes: implications for atherosclerosis and transplantation-associated arteriosclerosis. *Circ Res* 90 : 703-10, 2002.

Matsumoto A, Naito M, Itakura H, Ikemoto S, Asaoka H, HayaKawa I et al. Human macrophage scavenger receptors: primary structure, expression and localization in atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad USA* 87: 9133-9137, 1990.

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 concentration in man. *Diabetologia* 28(7):412-9,1985.

McTernan FG, Fisher FM, Valsamakis G, Chetty R, Harte A, McTernan CL et al. Resistin and type 2 Diabetes: regulation of resistin expression by insulin and rosiglitazone and the effects of recombinant resistin on lipid and glucose metabolism in human differentiated adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 88(12):6098-6106, 2003.

Moon B, Kwan JJM, Duddy N, Sweeney G, Begum N. Resistin inhibits glucose uptake in L6 cells independently of changes in insulin signaling and GLUT4 translocation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E106-E115, 2003.

Mukherjee R, Davies PJ, Crombie DL, Bischoff ED, Cesario RM, Jow L et al. Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid X receptor agonists. *Nature* 386(6613):407-410, 1997.

Muoio DM, Way JM, Tanner CJ, Winegar DA, Kliewer SA, Houmard JA et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma Regulates Fatty Acid Utilization in Primary Human Skeletal Muscle Cells. *Diabetes* 51: 901-9, 2002.

Myiazaki Y, Mahankali A, Wajcberg E, Bajaj M, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *J Clin endocrinol Metab* 89: 4312-4319, 2004.

Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 285(2): 561-4, 2001.

Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Johnson RJ, et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 209(3):F625-F631, 2006.

Olansky L, Marchetti A, Lau H. Multicenter retrospective assessment of thiazolidinedione monotherapy and combination therapy in patients with type 2 diabetes: comparative subgroup analyses of glycemic control and blood lipid levels. *Clin Ther* 25 Suppl B: B64-80, 2003.

Osei K, Gaillard T, Kaplow J, Bullock M, Schuster D. Effects of rosiglitazone on plasma adiponectin, insulin sensitivity, and insulin secretion in high risk African Americans with impaired glucose tolerance test and type 2 diabetes. *Metabolism* 53 (12): 1552-1557, 2004.

Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 103: 1057-1063, 2001.

Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 300(2):472-6, 2003.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 107:499-511, 2003.

Pravenec M, Kazdová L, Landa V, Zidek V, Mlejnek P, Jansa P et al. Transgenic and recombinant resistin impair skeletal muscle glucose metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *J Biol Chem* 278: 45209-15, 2003.

Rajala MW, Lin Y, Ranalletta M, Yang XM, Qian H, Gingerich R et al Cell type-specific expression and coregulation of murine resistin and resistin-like molecule-alpha in adipose tissue. *Mol Endocrinol* 16(8):1920-30, 2002.

Rajala MW, Qi Y, Patel HR, Takahashi N, Banerjee R, Pajvani UB et al. Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes* 53(7):1671-9, 2004.

Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* I: 785-9, 1963.

Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS et al. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell* 4(4):611-7, 1999.

Rutter MK, Meigs JB, Sullivan LM, D'Agostino RB, Wilson PW. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and incident cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 54:3252-3257, 2005.

Sako Y & Grill V. A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B cell oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation. *Endocrinology* 127: 1580-9., 1990.

Santomauro AT, Boden G, Silva ME, Rocha DM, Santos RF, Ursich MJ et al. Overnight lowering of free fatty acids with Acipimox improves insulin resistance and glucose tolerance in obese diabetic and non diabetic subjects. *Diabetes* 48:1836-41, 1999.

Sarafidis PA, Lasaridis NA, Nilsson PM, Mouslech TF, Hitoglou-Makedou AD, Stafylas PC, et al. The effect of rosiglitazone on novel atherosclerotic risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension. An open-label observational study. *Metabolism* 54 (9): 1236-42, 2005.

Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 270(45):26746-9, 1995.

Scherthaner G. Cardiovascular mortality and morbidity in type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 31:Suppl:S3-13, 1996.

Scirica BM, Morrow DA. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? *Circulation* 113: 2128-2151, 2006.

Shapiro L, Scherer PE. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Current Biology* 8: 335-338, 1998.

Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409:307-312, 2001.

Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, Enders GH, Silberg DG, Wen X, Wu GD, Lazar MA. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(2):502-6, 2001.

Taeye B, Smith LH, Vaughan DE. Plasminogen activator inhibitor -1: a common denominator in obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Curr Opin Pharmacol* 5(2):149-54, 2005

The DREAM Trial Investigators. Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomised controlled trial. *The Lancet* 368: 1096-1105, 2006

Tilling K, Lawlor DA, Davey Smith G, Chambless L, Szklo M. The relation between components of adult height and intimal-medial thickness in middle age: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am j Epidemiol* 164: 136-42, 2006.

Tsao TS, Lodish HF, Fruesbi J. ACRP30 a new hormone controlling fat and glucose metabolism. *Eur J Pharmacol* 440: 213-221, 2002.

Tsouli SG, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Athyros VG, Elisaf MS. Elevated serum uric acid levels in metabolic syndrome: an active component or an innocent bystander? *Metabolism* 55:1293-1301, 2006.

Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest* 95(10) 995-1001, 1995.

Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. Effect of C-reactive protein on vascular cells: evidence for a proinflammatory, proatherogenic role. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 14:33-37, 2005.

Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Impaired Multimerization of human Adiponectin mutants associated with diabetes. *J Biol Chem* 278(41): 40352-363, 2003.

Walcher D, Marx N. Insulin resistance and cardiovascular disease: the role of PPAR γ activators beyond their anti-diabetic action. *Diabetes Vasc Dis Res* 1: 76-81, 2004.

Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, Uysal KT, Brown KK, Harrington WW et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem* 276(28):25651-3, 2001.

Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1930-5, 2001.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Murakami K, Motojima K, Komeda K et al. The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator activated receptor deficiency and PPAR γ agonist improve insulin resistance. *J Biol Chem* 276 (44): 41245-41254, 2001.

Yang WS, Jeng CY, Wu Tj, Tanaka S, Funahashi T, Matsuzawa Y et al. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor- α agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in Type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 25: 376-380, 2002.

Yoo TW, Sung KC, Shin HS, Kim BJ, Kim BS, Kang JH, et al. Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. *Cir J* 69: 928-933, 2005.

Youn BS, Yu KY, Park HJ, Lee NS, Min SS, Youn MY et al. Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 89(1):150-6, 2004.

Yu JG, Javorschi S, Hevener AL, Kruszynska YT, Norman R, Sinha M et al. The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 51: 2968-2974, 2002.

Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y et al. Mechanisms by which fatty acids inhibit activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 277:50230-6, 2002.

Zhang JL, Qin YW, Zheng X, Qiu JL, Zou DJ. Serum resistin level in essential hypertension patients with different glucose tolerance. *Diabet Med* 20(10): 828-31, 2003.

Zhang Y, Matheny M, Zolotukhin S, Tumer N, Scarpace PJ. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochim Biophys Acta* 1584(2-3):115-22, 2002.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372(6505):425-32, 1994.

10- APÊNDICES

APÊNDICE 1

TABELAS

Tabela 1 - Características dos pacientes que completaram o tratamento

Iniciais	Gênero	Idade (anos)	HAS	Peso (kg)	Alt (m)	IMC (kg/m²)	Cintura (cm)
JRM	M	49	Ausente	82,1	1,70	27,7	102,5
MRT	F	68	Presente	95,5	1,59	37,7	112,5
ETN	F	55	Presente	95,1	1,63	35,8	112,5
DRDP	F	51	Presente	59,5	1,50	26,3	91,5
JGN	M	51	Presente	78,5	1,62	29,7	99,0
MANM	F	41	Presente	74,2	1,60	28,8	101,0
LDG	F	50	Presente	70	1,49	31,53	106
GCS	M	31	Ausente	106,4	1,82	32,1	116,0
APS	F	53	Ausente	68	1,55	28,3	91,5
NAMR	F	53	Ausente	67,9	1,51	29,8	90,0
SS	F	37	Ausente	81,5	1,57	33,1	102,8
IV	M	52	Presente	97,3	1,76	31,2	118,0
EN	M	53	Presente	62,9	1,56	25,84	95,5

Tabela 2 – Análise descritiva e evolutiva das variáveis numéricas para amostra total – Parte 1

VARIÁVEL	N	MÉDIA	D.P	MEDIANA	<i>p</i>
Col tot pré	12	210,83	59,7	192,5	
Col tot pós	13	232,31	79,82	211,00	
Δ Col tot	12	53,43	53,43	23,00	<u>0,034</u>
HDL pré	12	42,42	7,65	43,5	
HDL pós	13	42,62	10,60	40,0	
Δ HDL	12	-1,08	9,02	-1,0	0,834
LDL pré	11	133,55	36,43	119,0	
LDL pós	12	142,58	41,44	139,0	
Δ LDL	11	7,18	44,94	11,0	0,123
Trigli pré	12	225,92	187,65	177,0	
Trigli pós	13	330,0	374,34	205,0	
Δ Trigli	12	119,25	312,8	7,5	0,226
Gli pré	13	187,46	106,0	179,00	
Gli pós	13	139,08	41,94	118,0	
ΔGli	13	48,38	79,07	-26,0	<u>0,012</u>
A1c pré	11	8,95	2,06	8,2	
A1c pós	13	7,16	5,7	6,5	
Δ A1c	11	-1,55	1,77	-1,2	<u>0,014</u>

Tabela 3 – Análise descritiva e evolutiva das variáveis numéricas para amostra total – Parte 2

VARIÁVEL	N	MÉDIA	D.P	MEDIANA	P
Fibrino pré	10	291,40	60,89	280,50	
Fibrino pós	9	283,44	73,85	283,00	
Δ Fibrino	7	-12,14	40,69	-18,00	0,234
AGL pré	13	1,73	0,51	1,70	
AGL pós	12	1,53	0,48	1,55	
Δ AGL	12	-0,12	0,61	-0,22	0,204
HOMAIR pré	13	14,04	6,59	13,74	
HOMAIR pós	13	10,51	6,21	8,96	
Δ HOMAIR	13	-3,54	7,53	-4,50	0,080
HOMA B pré	13	146,65	122,11	125,25	
HOMA B pós	13	224,01	201,19	140,40	
Δ HOMA B	13	77,36	156,51	48,93	0,110
Ac. Úrico pré	12	5,66	1,83	5,35	
Ac. Úrico pós	12	5,03	1,74	4,90	
Δ Ac. Úrico	11	-0,48	0,69	-0,50	0,041
GGT pré	13	37,38	18,87	30,0	
GGT pós	13	27,92	16,29	21,0	
Δ GGT	13	-9,46	15,89	-14,0	0,056

Tabela 4 – Análise descritiva e evolutiva das variáveis numéricas para amostra total – Parte 3

VARIÁVEL	N	MÉDIA	D.P	MEDIANA	P
Adiponectina pré	13	15,27	11,95	12,10	
Adiponectina pós	13	42,56	39,78	27,89	
Δ Adiponectina	13	27,29	-2,08	16,47	0,001
Resistina pré	13	5,94	4,47	6,0	
Resistina pós	13	4,40	1,56	4,7	
Δ Resistina	13	-1,54	4,64	-0,43	0,273
PAI-1 pré	13	9,59	1,88	9,67	
PAI-1 pós	13	10,99	2,35	10,47	
Δ PAI-1	13	1,39	3,84	-0,19	0,376
PCR pré	13	0,54	0,84	0,26	
PCR pós	13	0,31	0,48	0,14	
Δ PCR	13	-0,23	0,40	-0,10	0,005
IMT pré	11	0,68	0,06	0,69	
IMT pós	9	0,68	0,09	0,72	
Δ IMT	9	-0,01	0,05	-0,01	0,977

Tabela 5 – Descrição dos Resultados – Amostra Total – Parte 1

	Coolesterol Total (mg/dL)		HDL (mg/dL)		LDL (mg/dL)		Triglicérides (mg/dL)	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
1	172	198	39	41	111	131	112	128
2	157	166	56	39	97	104	72	71
3	252	260	51	57	166	198	177	125
4		229		58		163		148
5	358	459	44	59			786	883
6	194	200	43	39	133	144	177	119
7	175	207	45	51	119	129	149	283
8	191	211	28	27	108	158	277	269
9	195	212	45	40	140	134	124	267
10	257	135	48	32	197	83	232	205
11	163	204	36	35	112	164	133	131
12	159	230	34	32	94	84	283	1370
13	257	309	40	44	192	219	189	291

Tabela 6 – Descrição dos Resultados – Amostra Total – Parte 2

	Glicemia (mg/dL)		A1C (%)		AGL (mEq/L)		Fibrinogênio (mg/dL)	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
1	153	118	6,3	6,5	1,577	0,984		
2	213	110	11	6,9	1,703	0,834	377	350
3	117	110	6,4	5,8	1,601	1,303	208	191
4	114	89		6	1,841	1,518	246	178
5	518	232	10,1	11,1	2,632	2,494	296	
6	182	167	6,9	6,5	2,031	1,881	372	354
7	138	112	8	6,4	0,645	2,109		280
8	179	115	8	6,8	1,789	1,303	287	283
9	206	194	10,1	9,2	1,343	1,577	258	
10	106	106		5,7	1,518	1,601	274	342
11	183	124	8,2	6,4	1,778	1,085		361
12	127	164	11,2	8,5	2,55		365	
13	201	167	12,2	7,3	1,432	1,703	231	212

Tabela 7 – Descrição dos Resultados – Amostra Total (3)

	Adiponectina (µg/mL)		Resistina (ng/mL)		PAI-1(ng/mL)		PCR (mg/dL)	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
1	19,52	92,25	6	7,18	9,82	8,37	0,26	0,36
2	5,5	27,89	4,38	4,06	9,67	11,79	0,76	0,12
3	37,29	138,5	2,23	5,07	10,6	10,41	0,2	0,03
4	41,07	79,72	5,45	5,02	8,92	8,4	0,31	0,14
5	7,14	23,61	19,09	3,64	8,49	15,38	0,26	0,16
6	15,84	30,79	6,73	4,11	10,54	9,05	0,33	0,33
7	12,1	51,31	6,12	3,13	8,14	14,41	0,09	0,06
8	15,2	13,12	6,14	6,56	5,7	13,1	0,85	0,67
9	2,69	8,57	1,95	5,02	8,18	12,76	0,15	0,07
10	20,1	54,02	2,33	2,23	12,16	8,98	0,35	0,15
11	8,5	14,37	6,34	4,7	12,07	10,47	3,22	1,78
12	7,18	13,38	2,14	1,57	8,46	11,04	0,15	0,08
13	6,38	5,81	8,33	4,86	11,97	8,68	0,04	0,02

Tabela 8 – Descrição dos Resultados – Amostra Total – Parte 4

	HOMA IR		HOMA β		GGT (mg/dL)		Ácido Úrico (mg/dL)	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
1	14,42	29,33	152,68	658,93	5,3	4,9	21	15
2	12,35	8,57	56,38	241,74	9,1	8,6	43	23
3	3,96	4,98	91,47	140,4	5,9	6	25	11
4	17,59	9,36	441,18	589,85		3,3	28	39
5	23,74	8,96	14,68	33,32	8,1	6,4	79	57
6	15	8,95	100,95	75,12	4	4,2	21	15
7	10,45	5,07	147,22	134,6	4,1	4,9	14	15
8	27,09	14,13	190,24	344,42	5,4	4,5	30	16
9	13,74	9,24	68,02	53,01	5,1	4,9	56	47
10	10,89	7,76	348,45	248,23	3	2,1	39	20
11	18,86	12,48	125,25	240,61	4,5	3,7	29	56
12	7,41	6,92	132,86	60,88	5,5		37	21
13	7,05	10,84	37,07	91	7,9	6,9	64	28

11- ANEXO

ANEXO 1

Tabela 9 - Valores de íntima-média carotídea, percentis 50 e 95 de acordo com idade e sexo.

	Percentil	Mulheres negras			Homens negros			Mulheres brancas			Homens brancos		
		45 a	55 a	65 a	45 a	55 a	65 a	45a	55a	65a	45a	55a	65a
Carótida comum	50	0,56	0,65	0,72	0,62	0,71	0,82	0,54	0,62	0,71	0,60	0,68	0,77
esquerda	95	0,81	0,96	1,12	0,90	1,07	1,43	0,72	0,91	1,04	0,89	1,00	1,3
Carótida comum	50	0,58	0,68	0,74	0,61	0,72	0,85	0,53	0,62	0,69	0,57	0,66	0,76
direita	95	0,77	1,03	1,06	0,89	1,05	1,3	0,73	0,88	1,03	0,83	0,96	1,25

Adaptado de HOWARD et al, 1993.

12- ARTIGO

Official Journal of the International Society of Diabetes and Vascular Diseases

**Diabetes &
Vascular Disease
Research**

Improvement in insulin sensitivity with rosiglitazone affects insulin secretion and correlates with FFA reduction in type 2 Diabetes Mellitus.

Journal:	<i>Diabetes and Vascular Disease Research</i>
Manuscript ID:	draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Murro, Ada Leticia; UNICAMP Franco, Daniela; UNICAMP, Internal Medicine Yugar-Toledo, Juan; UNICAMP, Farmacology Tambascia, Marcos; UNICAMP, Internal Medicine
Keywords:	insulin resistance, β cell function, PPAR agonist, free fatty acids



Review

Improvement in insulin sensitivity with rosiglitazone affects insulin secretion and correlates with FFA reduction in type 2 Diabetes Mellitus.

Ada LB Murro, Daniela M Franco, Juan C Yugar-Toledo & Marcos A Tambascia

Service of Endocrinology, Internal Medicine Department, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Brazil

Abstract

Rosiglitazone is a well known PPAR γ agonist used for the treatment of insulin resistant diabetic patients. Pro-inflammatory cytokines are usually increased and adiponectin are at low levels in these patients. This is a non-randomized, one-arm, open-label study conducted in newly diagnosed overweight or obese diabetic patients. The study consisted in a 12 week treatment phase using rosiglitazone 8 mg/day. We analyzed insulin resistance, beta cell function, adiponectin, resistin, CRP, PAI-1, FFA, lipids and glucose control (fasting glucose and A1c). We also evaluated intima-media thickness by ultrasonographic scanning of the carotid arteries. After treatment, A1c and fasting plasma glucose reduced showing an improvement in glucose control. It was observed a reduction on CRP and a marked increase in adiponectin. A direct effect of increasing in β -cell function was associated with a decreasing of free fatty acids levels. Carotida intima-media thickness was unchanged. Although rosiglitazone has anti-inflammatory property it is necessary more long term studies to confirm the reduction of cardiovascular events.

Introduction

Association between abdominal obesity and type 2 diabetes has been extensively studied in the recent years. Elevated free fatty acids and alterations in adipokines are thought to be involved (1). Adiponectin seems to be exclusively secreted by adipocytes but in contrast to leptin, TNF α and interleukin-6 that are elevated in obese subjects, adiponectin is reduced (2,3,4). Some prospective studies suggest that low adiponectin levels are predictive of insulin resistance and diabetes in several populations. Adiponectin has insulin-sensitizing action and also can reverse insulin resistance in animal models. This action can be explained by increasing insulin action in reducing hepatic glucose production and by increasing peripheral fat oxidation and then a lowering effect on free fatty acids. There is also a link between low levels of adiponectin and chronic subclinical inflammation, which is characteristic of obesity, type 2 diabetes, and cardiovascular disease (5). In vitro, adiponectin inhibits adhesion molecule expression on endothelial cells, suppresses nuclear factor- κ B-mediated signaling, impairs macrophage functions, and downregulates cytokine secretion from adipocytes. The relationship between the cardiovascular events risk in type 2 diabetic patients and a marker of subclinical

atherosclerosis, as the increased thickness of carotid arteries, has been established (6). The mechanisms by which diabetes accelerates atherosclerosis and promotes clinical events are unclear but a putative effect of insulin resistance as abnormalities of glucose control, normal blood pressure maintenance, and lipoproteins is under investigation. Thiazolidinedione (TZD) drugs activate nuclear peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) reducing insulin resistance and lowering insulin levels in both diabetic and nondiabetic individuals (7). PPAR γ play key roles in the regulation of energy homeostasis and inflammation. TZDs influence free fatty acid flux and thus reduce insulin resistance and blood glucose levels and constitute a useful therapeutic tool for type 2 diabetes (8). TZDs also have beneficial effects on lipid levels and have reduced carotid artery intima-media thickness (IMT) in short-term studies (9).

The objective of the present study was to investigate the association between the increase in adiponectin with the reduction of insulin resistance and the sub-clinical inflammation and to correlate these facts with FFA levels and carotid intima media thickness in drug naive type 2 diabetic patients after treatment with rosiglitazone.

Material and methods

We studied 13 Brazilian type 2 diabetic patients newly diagnosed according to ADA classification. All patients had stable body weight for at least 3 months before study, and were not participating in a heavy exercise program before or during the study. All patients were asked to consume a weight-maintaining diet containing 50% carbohydrate, 30% fat, and 20% protein during all the study. Study were carried out at the Endocrine Service of University of Campinas (UNICAMP), the study protocol was approved by the institutional review board of the University, and informed written consent was obtained from each patient before participation.

Clinical chemistry, hematology, liver enzymes, and urinalysis were performed at basal condition and after 12 weeks of treatment with 8 mg of rosiglitazone. Plasma glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, and triglycerides were measured by enzyme-calorimetric GOD-PAP automated method (Modular Analytics PP, Roche), insulin, adiponectin, resistin and PAI-1 by human serum adipokine (panel A, Lincoplex kit CAT-HADK1-61K-A, Linco Research-St Charles, Missouri, USA), free fatty acids by enzymatic/colorimetric analysis (Wako Diagnostic, Richmond, VA), CRP was measured by an ultra-sensitive assay (automated chemiluminiscence). Estimates of insulin resistance and β -cell function were derived from fasting plasma glucose and immunoreactive insulin using the homeostasis model assessment (HOMA). HOMA has been validated by comparison with glucose clamps (10) with normal range determinate in our normal population (11).

Ultrasonographic scanning of the carotid arteries was performed using an ultrasound B mode imaging (Toshiba Power Vision 6800) with a linear transducer (7.5 MH frequency). Scanning were done of both left and right common carotid

arteries, carotid bulb and internal carotid artery. All images were photographed and compared to normal range.

Results

This was a non-randomized, one-arm, open-label study conducted in 13 newly diagnosed diabetic patients. Patients were middle-aged, predominantly white, and over-weight or obese. The study consisted of a screening phase of up to 4 weeks and a 12 week treatment phase. Sequential recently diagnosed diabetic patients were invited to participate in this study. Of the 24 subjects initially screened 15 were included and 13, who completed the study were analyzed. History, physical examination, and laboratory testing confirmed absence of comorbid conditions. Exclusion criteria included smoking, alanine aminotransferase levels >1.5 times the upper limit of normal, evidence of acute liver disease, proteinuria (urine protein >200 mg/dl) or creatinine ≥ 2 mg/dl, evidence of ischemic heart disease by history, electrocardiogram abnormalities, angina or other cardiac or pulmonary symptoms. During the treatment period patients were instructed to follow an isocaloric diet and received a treatment of 4 mg of rosiglitazone twice daily. One patient complained generalized edema and withdrew the consent. Another patient who initiated the treatment also withdrew consent a few days after starting using medication for personal reasons.

Basal characteristics of all patients are displayed in table 1. All metabolic parameters were analyzed in fasting state of 12 hours. After 12 weeks all patient was re-analyzed and compared with basal situation. As expected, fasting plasma glucose, insulin and A1c levels were elevated. Lipid profile showed an elevation of total cholesterol and triglycerides and a reduction of HDL-cholesterol. FFA measurement revealed an elevated level of this parameter. Carotid IMT could show results compatible with atherosclerosis. Using HOMA analysis it was possible to demonstrate insulin resistance in this population. Adiponectin was consistently low as compared with our normal population. Resistin and PAI-1 were within normal range.

At study end, A1c and fasting plasma glucose reduced from baseline (1,55 % and 48,38 mg/dL), showing an improvement in glucose control as expected. We did not observe improvement on lipid parameters and also it has been observed in several studies a tendency of worsening in these levels in the beginning of rosiglitazone treatment.

Discussion

In this study, the type 2 diabetic patients were newly diagnosed and naïve in pharmacological treatment and can support a role of PPAR γ in the modulation of insulin secretion analyzed by HOMA beta (12). In particular our results could demonstrate the reduction in insulin resistance and the improvement in insulin secretion after 12 weeks of rosiglitazone 8mg/day. Rosiglitazone treatment induced

a glucose control analyzed by decreasing fasting glucose levels and A1c reduction. Resistin, a recent discovered adipocytokine was initially suggested to be elevated in obese mice, and that these are reduced by rosiglitazone (13). Studies in humans have failed to provide a clear link between resistin expression in adipose tissue or circulating levels and adiposity or insulin resistance. Although it has been reported a reduction of resistin after rosiglitazone in type 2 diabetic patients and Reilly et al (14) suggested that resistin may represent a novel link between metabolic signals, inflammation, and atherosclerosis we did not find this result. Our data can confirm a tendency of reduction of resistin after 12 weeks of treatment with rosiglitazone (25%), but not statistically significant. Several studies have considering CRP as a marker of cardiovascular disease as well as an identification of chronic subclinical inflammation (15). We observed in our study a marked reduction on CRP after rosiglitazone treatment. This finding suggests that reducing insulin resistance with thiazolidinedione is accompanied by improvement of inflammatory state and an eventual decrease in cardiovascular risk at long term. PAI1 was not affected by treatment. As other studies (16) it was also possible to demonstrate that rosiglitazone treatment markedly increased circulating adiponectin levels, by 178% ($p < 0,001$). Unlike reports in T2DM in which adiponectin increased was correlated to weight gain (17) we showed no evidence of weight gain, probably by dietetic adherence. Considering the anti-atherogenic effect of adiponectin we can speculate that this robust improvement using rosiglitazone would have beneficial effect on intima media stiffness. However, we were unable to demonstrate the reduction of intima media stiffness but we consider that this fact could be due to the short time of the study. After rosiglitazone treatment insulin sensitivity (as determined by HOMA) increased and levels of β -cell function (as determined by HOMA) increased also. This fact was analyzed in other studies and recently the ADOPT study has also confirmed it (18). We found a direct effect of increasing of β -cell function with the decrease of free fatty acids levels. Free fatty acid are involved in energy balance because in post prandial state the flux of FFA, derivated from insulin resistance and increased lipolysis are conducted to liver and muscle cells worsening insulin resistance. An improvement of endothelial function has been shown in diabetic and in metabolic syndrome patients with rosiglitazone treatment (19). After rosiglitazone treatment and improving insulin action, FFA levels will decrease and so allow a better β -cell function. Although given that rosiglitazone show anti-inflammatory property, increase levels of adiponectin, induces glucose control it is necessary more long term studies to confirm the reduction of cardiovascular events in this population.

Acknowledgements

The authors thank GlaxoSmithKline Brazil for providing rosiglitazone. The authors also thank all personal from Unicamp Endocrine Laboratory for excellent technical assistance.

Conflict of interest

The authors do not have any conflicts of interest with respect to the study

For Peer Review

Table 1 - Baseline characteristics of subjects included in the study

Patient	Gender	Age (y)	HAS	Weight (kg)	Height (m)	BMI (kg/m ²)	Waist (cm)
1	M	49	No	82,1	1,72	27,7	102,5
2	F	68	Yes	95,5	1,59	37,7	112,5
3	F	55	Yes	95,1	1,63	35,8	112,5
4	F	51	Yes	59,5	1,50	26,3	91,5
5	M	51	Yes	78,5	1,62	29,7	99,0
6	F	41	Yes	74,2	1,60	28,8	101,0
7	F	50	Yes	70,0	1,49	31,5	106,0
8	M	31	No	106,4	1,82	32,1	116,0
9	F	53	No	68	1,55	28,3	91,5
10	F	53	No	67,9	1,51	29,8	90,0
11	F	37	No	81,5	1,57	33,1	102,8
12	M	52	Yes	97,3	1,76	31,2	118,0
13	M	53	Yes	62,9	1,56	25,8	95,5

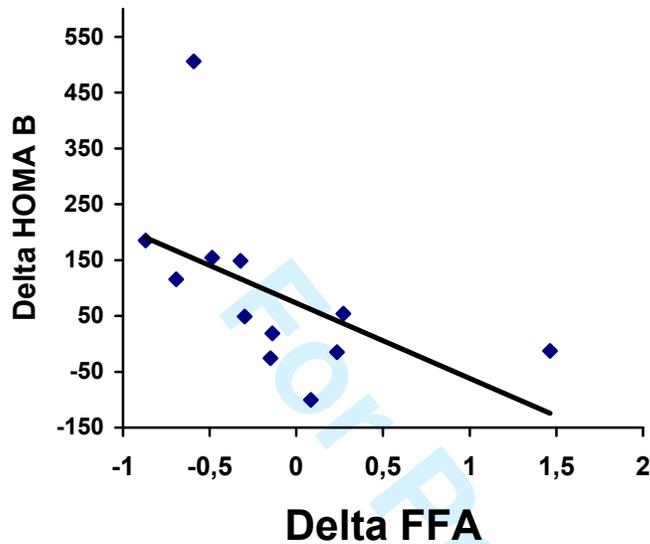
Table 2 – Metabolic control with rosiglitazone treatment

Patient	Fasting glucose (mg/dL)		A1c		Triglycerides (mg/dL)		HDL-cholesterol (m/dL)	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
1	153,0	118,0	6,3	6,5	112,0	128,0	39,0	41,0
2	213,0	110,0	11,0	6,9	72,0	71,0	56,0	39,0
3	117,0	110,0	6,4	5,8	177,0	125,0	51,0	57,0
4	114,0	89,0	7,9	6,0		148,0		58,0
5	518,0	232,0	10,1	11,1	786,0	883,0	44,0	59,0
6	182,0	167,0	6,9	6,5	177,0	119,0	43,0	39,0
7	138,0	112,0	8,0	6,4	149,0	283,0	45,0	51,0
8	179,0	115,0	8,0	6,8	277,0	269,0	28,0	27,0
9	206,0	194,0	10,1	9,2	124,0	267,0	45,0	40,0
10	106,0	106,0	6,7	5,7	232,0	205,0	48,0	32,0
11	183,0	124,0	8,2	6,4	133,0	131,0	36,0	35,0
12	127,0	164,0	11,2	8,5	283,0	1370,0	34,0	32,0
13	201,0	167,0	12,2	7,3	189,0	291,0	40,0	44,0
Mean	187,46	139,08*	8,95	7,16*	225,92	330,00*	0,54	0,31

Patient	Homa IR		Homa beta		FFA (mmol/L)		CRP (mg/dL)	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
1	14,42	29,33	152,68	658,93	1,577	0,984	0,26	0,36
2	12,35	8,57	56,38	241,74	1,703	0,834	0,76	0,12
3	3,96	4,98	91,47	140,4	1,601	1,303	0,20	0,03
4	17,59	9,36	441,18	589,85	1,841	1,518	0,31	0,14
5	23,74	8,96	14,68	33,32	2,632	2,494	0,26	0,16
6	15,00	8,95	100,95	75,12	2,031	1,881	0,33	0,33
7	10,45	5,07	147,22	134,6	0,645	2,109	0,09	0,06
8	27,09	14,13	190,24	344,42	1,789	1,303	0,85	0,67
9	13,74	9,24	68,02	53,01	1,343	1,577	0,15	0,07
10	10,89	7,76	348,45	248,23	1,518	1,601	0,35	0,15
11	18,86	12,48	125,25	240,61	1,778	1,085	3,22	1,78
12	7,41	6,92	132,86	60,88	2,55	1,530	0,15	0,08
13	7,05	10,84	37,07	91,00	1,432	1,703	0,04	0,02
Mean	14,04	10,51	146,65	224,01	1,730	1,530	0,54	0,31*

Patient	IMT (mm)		Adiponectin (µg/mL)		Resistin (ng/mL)		PAI-1 (ng/mL)	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
1			19,52	92,25	6,00	7,18	9,82	8,37
2	0,759	0,815	5,50	27,89	4,38	4,06	9,67	11,79
3			37,29	138,50	2,23	5,07	10,6	10,41
4	0,691	0,718	41,07	79,72	5,45	5,02	8,92	8,40
5	0,640	0,634	7,14	23,61	19,09	3,64	8,49	15,38
6	0,733		15,84	30,79	6,73	4,11	10,54	9,05
7	0,742	0,728	12,10	51,31	6,12	3,13	8,14	14,41
8	0,707	0,726	15,20	13,12	6,14	6,56	5,70	13,10
9	0,550		2,69	8,57	1,95	5,02	8,18	12,76
10	0,701	0,729	20,10	54,02	2,33	2,23	12,16	8,98
11	0,610	0,535	8,50	14,37	6,34	4,70	12,07	10,47
12	0,656	0,650	7,18	13,38	2,14	1,57	8,46	11,04
13	0,646	0,568	6,38	5,81	8,33	4,86	11,97	8,68
Mean	0,680	0,680	15,27	42,56*	5,94	4,40	9,59	10,99

Figure 1 – Correlation between delta homa beta and FFA levels



* $p < 0,01$

Reference bibliography

1. Lebovitz HE. Insulin resistance – a common link between type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Diabetes Obes Metab* 2006; **3**: 237-249.
2. Kershaw EE & Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 2548-2556.
3. Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; **257**: 79-83.
4. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tatarani PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 1930-1935.
5. Kopp Hp, Krzyzanowska K, Nohlig M, Spranger J, Pfeiffer AF, Schernthaner G. Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic sub-clinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. *International Journal of Obesity* 2005; **29**: 766-771.
6. Amar J, Ruidavets JB, Chamontin B, Drouet L & Ferrieres J. Arterial stiffness and cardiovascular risk factors in a population-based study. *Journal of Hypertension* 2001; **19**: 381-387.

7. Inzucchi SE. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA* 2002; **287**: 360-372.
8. Castro Cabezas M, Erkelens PW, van Dijk H. Free fatty acids: mediators of insulin resistance and atherosclerosis. *Ned Tijdschr Geneesk* 2002; **3**: 103-109.
9. Sidhu Js, Kaposzta Z, Markus HS & Kaski JC. Effect of rosiglitazone in common carotid intimamedia thickness progression in coronary artery disease patients without diabetes mellitus. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 2004; **24**: 930-934.
10. Muscelli E, Mingrone G, Camastra S, Manco M, Pereira JA, Pareja JC, Ferranini E. Differential effect of weight loss on insulin resistance in surgically treated obese patients. *A J Med* 2005; **118**: 51-57.
11. Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia M & Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (homa ir) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes. Res Clin Pract* 2006; **72**:219-220.
12. Bhatia V & Viswanathan P. Insulin resistance and PPAR insulin sensitizers. *Curr Opin Investig Drugs* 2006; **10**: 891-897.
13. Jung HS, Youn B-S, Cho YM, Yu K-Y, Park H J, Shin CS, Kim S Y, Lee H K, Park K S. The effects of rosiglitazone and metformin on the plasma concentrations of resistin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism Clinical and Experimental* 2005; **54**: 314-320.
14. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohstgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; **111**: 932-939.
15. Danesh,J.; Wheeler,J.G.; Hirschfield,G.M.; Eda,S.; Eiriksdottir,G.; Rumley,A.; Lowe,G.D.; Pepys,M.B.; Gudnason,V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004; **350**: 1387-1397.
16. Yang W-S, Jeng C-Y, Wu T-J, Tanaka S, Funahashi T, Matsukawa Y, Wang J-P, Chen C-L, Tai T-Y & Chuang L-M. Synthetic peroxisome proliferators-activated receptor γ agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2002; **25**: 376-380.
17. Crossno JT, Majka SM, Grazia T, Gill RG, Klemm DJ. Rosiglitazone promotes development of a novel adipocyte population from bone marrow-derived circulating progenitor cells. *J Clin Invest* 2006; **116**: 3220-3228.
18. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, Kravitz BG et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med* 2006; **355**: 2427-2443.
19. Bahia L, Aguiar LG, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos AF, Geloneze B, Tambascia M & Bouskela F. Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone

treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2006; on line 3 november 2006.

For Peer Review