Cintia Natsumi Higashi Miyake

Avaliação da sensibilidade à insulina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de: Ciências Médicas
Área de Concentração: Processos Imunes e Infecciosos

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Fabiana Braga Benatti

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2016

Cintia Natsumi Higashi Miyake

Avaliação da sensibilidade à insulina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de: Ciências Médicas
Área de Concentração: Processos Imunes e Infecciosos

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Fabiana Braga Benatti

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Miyake, Cintia Natsumi Higashi
Avaliação da sensibilidade à insulina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico / Cintia Natsumi Higashi Miyake. -- São Paulo, 2016.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências Médicas. Área de Concentração: Processos Imunes e Infecciosos.

Orientador: Fabiana Braga Benatti.

Descritores: 1.Lúpus eritematoso sistêmico 2.Resistência à insulina 3.Doenças cardiovasculares 4.Teste de tolerância a glucose 5.Insulina 6.Glucagon 7.Diabetes mellitus tipo 2

USP/FM/DBD-158/16

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, irmãs, meu namorado João Arthur e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus, pela vida.

Aos meus pais, irmãs e familiares que sempre estiveram por perto em todos os momentos.

Ao meu namorado, João Arthur, pelo amor, apoio e por não me deixar desistir.

À minha orientadora, pela confiança, paciência e ensinamentos.

Aos colegas de trabalho, pelo convívio e colaboração, principalmente Marina (mais no início), Ana Jéssica, Sheylla e Diego.

As pacientes lúpicas, que concordaram em participar.

À CAPES, pelo auxílio de bolsa.

À FAPESP e CNPQ, pelo suporte financeiro.

À universidade, seu corpo docente e funcionários, pela oportunidade de aprendizado.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

EPÍGRAFE

“O sucesso é medido não tanto pela posição que alguém alcançou na vida, mas pelos obstáculos que ela ultrapassou enquanto tentava vencer.” (Booker T. Washington)

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, siglas, símbolos
Lista de tabelas
Lista de figuras
Resumo
Abstract
1 INTRODUÇÃO.....1
2 JUSTIFICATIVA.....9
3 OBJETIVO.....10
3.1 Objetivo principal.....10
3.2 Objetivos secundários.....10
4 METODOLOGIA.....10
4.1 Protocolo experimental.....10
4.2 Seleção de voluntários.....11
4.3 Exames clínicos.....12
4.4 Teste oral de tolerância à refeição (Meal Tolerance Test - MTT).....12
4.5 Avaliações plasmáticas.....14
4.6 Nível habitual de atividade física.....14
4.7 Composição corporal.....15
4.8 Avaliação nutricional.....16
4.9 Análise estatística.....16
5 RESULTADOS.....17
5.1 Pacientes.....17
5.2 Estimativas de sensibilidade à insulina e função das células beta.....20
5.3 Parâmetros laboratoriais.....24
5.4 Correlações.....26
6 DISCUSSÃO.....29
7 CONCLUSÕES.....34
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....35

Lista de abreviatura, siglas e símbolos

AKT - *Protein kinase B*

ALT – Alanina aminitransferase

AMPK - Proteína quinase ativada por AMP

AST – Aspartato aminotransferase

AUC – Área total sob a curva

CaMKII - Proteína quinase dependente de Ca2+/calmodulina II

CAPPesq - Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

CTRL - Controles

DCV – Doença cardiovascular

DM2 – Diabetes mellitus tipo 2

DP – Desvio padrão

DXA - Absortometria de raios-x em duas energias

GLUT-4 - Transportador de glicose tipo 4

HC-FMUSP – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

HCQ – Hidroxicloroquina

HDL-colesterol - Lipoproteína de alta densidade

HOMA - *Homeostatic Model Assessment*

HOMA RI - *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*

HOMA B - *Homeostatic Model Assessment for Beta Cell function*

HOMA S - *Homeostatic Model Assessment for Insulin Sensitivity*

IMC – Índice de massa corporal

IFN-γ – Interferon gama

IL-1β- Interleucina 1 beta

IL-1ra – Receptor antagonista de Interleucina 1

IL-6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10

IQR - Intervalo interquartil

IR – *Insulin resistance*

LDL-colesterol – Lipoproteína de baixa densidade

LES – Lúpus eritematoso sistêmico

LIM – Laboratório de Investigação Médica

MTT – *Meal Tolerance Test* ou Teste oral de tolerância à refeição

MVPA - Atividade física moderada a vigorosa

PCR – Proteína C-reativa

PGC-1 – Coativador 1 do receptor ativado por proliferador de peroxissoma

PI(3)K - Fosfatidil-inositol-3-quinase

RI – Resistência à insulina

SLE - *Systemic lupus erythematosus*

SLEDAI - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity index*

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

sTNFR 1 e 2 – Receptor solúvel 1 e 2 de TNF

TG – Triglicérides

TNF - Fator de necrose tumoral

VHS – Velocidade de hemossedimentação

VLDL-colesterol - Lipoproteína de densidade muito baixa

Lista de tabelas

Tabela 1 - Dados demográficos, composição corporal e parâmetros clínicos da doença dos grupos LES e CTRL 18

Tabela 2 - Nível de atividade física do grupo LES e CTRL 19

Tabela 3 – Consumo alimentar dos grupos LES e CTRL 19

Tabela 4 - Estimativas da sensibilidade à insulina e função das células beta dos grupos LES e CTRL 21

Tabela 5 - Parâmetros laboratoriais dos grupos LES e CTRL 25

Lista de figuras

Figura 1 - Mecanismos de ação do exercício na resistência à insulina 9

Figura 2 - Estimativas de sensibilidade à insulina dos grupos LES e CTRL 22

Figura 3 - Glucagonemia de jejum e em resposta ao MTT dos grupos LES e CTRL 23

Figura 4 – Estimativas da função das células beta dos grupos LES e CTRL 24

Figura 5 - Correlação entre estimativas de sensibilidade à insulina, adipocinas e citocinas inflamatórias e parâmetros da doença 28

Resumo

Miyake CNH. Avaliação da sensibilidade à insulina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade; 2016.

Introdução: A doença cardiovascular prematura é uma das maiores causas de morbi-mortalidade no lúpus eritematoso sistêmico (LES) e parece estar relacionada à maior prevalência de fatores de risco clássicos e não clássicos. A resistência à insulina (RI) é um importante fator de risco para doenças cardiovasculares (DCV), podendo ter papel no risco cardiovascular aumentado no LES. **Objetivo*:*** Avaliar a sensibilidade à insulina de pacientes com LES em resposta ao teste oral de tolerância à refeição (MTT – Meal tolerance test), controlando por potenciais variáveis intervenientes, a saber, nível de atividade física, composição corporal e consumo alimentar. **Metodologia*:*** Pacientes com LES (LES; n=33) recrutadas no ambulatório de Reumatologia do HC-FMUSP e voluntárias saudáveis (CTRL; n = 16), pareadas por idade, gênero e índice de massa corporal foram selecionadas. As participantes foram submetidas ao MTT para determinação de estimativas da sensibilidade à insulina e de função das células beta, nível de atividade física (acelerometria), composição corporal (DXA), consumo alimentar (recordatórios alimentares), concentração de adipocinas e citocinas inflamatórias, atividade da doença e uso de medicamentos. **Resultados*:*** LES e CTRL apresentaram glicemia de jejum e em resposta ao MTT similares. Em contrapartida, LES apresentou maior insulinemia de jejum, HOMA RI, razão insulina/glicose de jejum e em resposta ao MTT, glucagonemia de jejum e em resposta ao MTT ($p<0,05$) e tendência ao menor Índice de sensibilidade à inulina Matsuda ($p=0,06$) e à maior insulinemia em resposta ao MTT ($p=0,09$) quando comparado ao CTRL. Em relação às estimativas da função das células beta, a razão pró-insulina/insulina de jejum e em resposta ao MTT foram similares entre os grupos, embora o grupo LES tenha apresentado maior índice insulinogênico ($p=0,02$). **Conclusão:** O grupo LES apresentou maior RI e hiperglucagonemia apesar de tolerância normal à glicose e função preservada das células beta quando comparado ao grupo controle. Esses resultados

sugerem que os pacientes LES possuem maior risco de desenvolver DCV quando comparados a sujeitos saudáveis com composição corporal, ingestão alimentar e nível de atividade física similares, o que reforça a necessidade de estratégias para melhorar a sensibilidade à insulina, potencialmente prevenindo ou retardando o surgimento de DCV no LES.

Descritores: lúpus eritematoso sistêmico; resistência à insulina; doenças cardiovasculares; teste de tolerância a glucose; insulina; glucagon; diabetes mellitus tipo 2.

Abstract

Miyake CNH. *Evaluation of insulin sensitivity in patients with systemic lupus erythematosus* [Dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade"; 2016.

Background: Premature cardiovascular disease (CVD) is one of the leading causes of morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus (SLE) and may be associated with classic and non-classic risk factors. Insulin resistance (IR) is an independent risk factor for CVD and could play a fundamental role in the substantially increased CVD risk in SLE. **Objective:** To assess insulin sensitivity in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) fasting and in response to a meal tolerance test (MTT), controlling by potential intervening components, such as physical activity level, body composition and food intake. **Methods:** SLE patients (LES; n=33) recruited in the HC-FMUSP ambulatory of rheumatology and 16 age- and BMI-matched healthy women (CTRL) were selected. The participants underwent a mixed meal test for assess insulin sensitivity and beta-cell function. Further measurements included physical activity level (assessed by accelerometry), body composition (assessed by DXA), food intake (assessed by a 3-day food record), inflammatory cytokines and adipokines concentrations, disease activity and drug intake. **Results:** SLE and CTRL showed similar fasting glucose and glucose response to the MTT. In contrast, SLE showed higher fasting insulin levels, HOMA IR, fasting insulin-to-glucose ratio, insulin-to-glucose ratio response to the MTT, fasting glucagon levels, glucagon response to the MTT ($p<0.05$), and a tendency towards a lower Matsuda index of whole-body insulin sensitivity ($p=0.06$) and a higher insulin response to the MTT ($p=0.09$) when compared with CTRL. With respect to the beta-cell function estimates, fasting proinsulin-to-insulin ratio and proinsulin-to-insulin ratio response to the MTT were similar between groups, although SLE showed a higher insulinogenic index ($p=0.02$). **Conclusion:** SLE group showed increased IR and hyperglucagonemia despite normal glucose tolerance and preserved beta-cell function when compared with healthy controls. These results

suggest that SLE patients are at higher risk of developing CVD, when compared with healthy subjects with similar body composition, food intake and physical activity level, which reinforces the need of strategies capable of ameliorating insulin sensitivity, thus, potentially preventing or delaying the onset of CVD in SLE.

Descriptors: lupus erythematosus, systemic; insulin resistance; cardiovascular diseases; glucose tolerance test; insulin; glucagon; diabetes mellitus, type 2.

1. INTRODUÇÃO

Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica e de natureza autoimune, caracterizada pela hiperatividade e intolerância imunológica a autoantígenos e formação de autoanticorpos e complexos imunes que se depositam nos tecidos, levando à inflamação de diferentes órgãos e a manifestações sistêmicas (Petty e Laxer, 2005; Carneiro-Sampaio et al., 2008). Essa doença comumente evolui com manifestações clinicas polimórficas, com períodos de exacerbações e remissões (Borba et al., 2008).

O LES possui causa desconhecida e multifatorial, que parece envolver predisposição genética e fatores ambientais (Mastaglia et al., 2003), como infecções, uso de antibióticos, exposição aos raios ultravioleta, estresse excessivo e uso de alguns medicamentos (Sato et al., 2002; Araújo, 2004) e sugere ter maior prevalência em adultos, com uma estimativa de 16.000 a 80.000 casos no Brasil (Wong e Tsao, 2006; Back, 2007). Além disso, é mais prevalente em mulheres jovens, ou seja, na fase reprodutiva, na proporção de nove a dez mulheres para um homem. A doença pode ocorrer em todas as raças e em todas as partes do mundo (Rus et al., 2007).

A sobrevida dos pacientes portadores de LES aumentou drasticamente nas últimas décadas. Em 1950, era de 50% em dois anos de doença. Atualmente, taxas de sobrevida de 5, 10 e 15 anos são de aproximadamente, 96%, 93% e 76%, respectivamente (Abu-Shakra et al., 1995; Blanco et al., 1998; Jacobsen et al., 1999; Bellomio et al., 2000; Cervera et al., 2003; Alamanos et al., 2003; Mok et al., 2005; Kasitanon et al., 2006; Doria et al., 2006; Heller et al., 2007; Funauchi et al., 2007; Sun et al., 2008; Al-Saleh et al., 2008). Tal aumento expressivo se deve primariamente à eficácia dos protocolos atuais de tratamento, além do diagnóstico precoce (Doria et al., 2008).

Em função disso, os pacientes convivem cada vez mais com comorbidades secundárias, em especial, aterosclerose e doenças cardiovasculares (DCV) (Sato, 2004). De fato, a doença coronariana prematura tem sido considerada como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com LES (Bruce, 2005). Manzi et al. (1997), por exemplo, reportaram que mulheres com LES apresentam risco de doença coronariana de 5 a 6 vezes maior quando comparadas a mulheres saudáveis pareadas por idade. Quando os autores analisaram apenas aquelas com idade entre 35 e 44 anos, este risco subiu para 52 vezes. O mesmo parece valer para a aterosclerose, com prevalência até duas vezes maior em mulheres lúpicas quando comparadas a mulheres saudáveis pareadas pela idade (Roman et al., 2003).

Os mecanismos responsáveis pelo aumento substancial do risco de DCV no LES ainda não estão totalmente elucidados. Fatores de risco clássicos como dislipidemia, hipertensão arterial e diabetes sugerem contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose e DCV nesses pacientes (Bruce 2005; Zhang et al., 2009). De fato, a síndrome metabólica é mais prevalente em pacientes portadores de LES do que em populações saudáveis de mesma idade e gênero (Bruce et al., 2003; Sada et al., 2006; Chung et al., 2007). Além disso, estudos sugerem que fatores de risco adicionais (i.e., fatores de risco não clássicos) aos esperados para a população geral de mesma idade, gênero e raça podem estar envolvidos. Dentre estes fatores, que iincluem o uso crônico de corticosteroides, a inflamação sistêmica (Magadmi et al., 2006; Chung et al., 2007) e a inatividade física, a resistência à insulina (RI) parece ter papel bastante importante (Escárcega et al., 2006; Smrzova et al., 2014).

A RI pode ser definida como a habilidade reduzida da insulina em exercer suas funções normais nos tecidos sensíveis à sua ação, como o músculo esquelético, tecido adiposo e fígado, os quais são os principais tecidos-alvo para a ação da insulina na

regulação do metabolismo da glicose (Laakso e Kuusisto, 2014). Dessa forma, a RI pode se manifestar das seguintes formas: 1) capacidade reduzida da insulina em estimular a captação de glicose no músculo esquelético e em adipócitos, 2) capacidade reduzida da insulina em inibir a lipólise no tecido adiposo, e 3) capacidade reduzida da insulina em inibir a produção de glicose e triglicérides (TG) pelo fígado (Baron, 2002; Laakso e Kuusisto, 2014). Em decorrência disso, pode-se observar o estado de hiperglicemia, o qual ainda pode ser compensado pelo aumento da secreção de insulina em pacientes ainda não diabéticos (Jaggi et al., 2015); e aumento das concentrações de ácidos graxos livres oriundos do tecido adiposo, os quais são drenados para o fígado (DeFronzo e Tripathy, 2009) e que, adicionados à maior quantidade de ácidos graxos sintetizados pelo fígado, podem levar ao aumento da síntese e secreção de partículas de VLDL-colesterol e LDL-colesterol aterogênicas e diminuição do HDL-colesterol (Adiels et al., 2008; Borén et al., 2013).

De fato, a RI tem sido extensivamente demonstrada como um fator de risco independente para o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e suas complicações (Muntner et al., 2004; Yang et al., 2016). Estudos sugerem que a RI ocorre antes do aparecimento de abnormalidades no metabolismo da glicose em pacientes diabéticos e que a hiperinsulinemia ocorre antes da intolerância à glicose levar a abnormalidades patofisiológicas (Groop, 2000). Enquanto as células beta pancreáticas são capazes de produzir insulina suficiente para garantir sua ação biológica, a glicemia é mantida em níveis normais; no entanto, quando as células beta não produzem mais insulina suficiente para compensar a RI, a glicemia inevitavelmente se eleva. Em vista disso, a RI é considerada como um dos mecanismos centrais responsáveis por diversas desordens metabólicas (i.e., hiperglicemia, hiperinsulinemia e dislipidemias) (Alberti et al., 2009) e

pela disfunção endotelial, os quais estão altamente associados ao aumento do risco de aterosclerose e DCV (Bray, 2004; Bruce 2005).

Estudos sugerem que pacientes com LES apresentam maior prevalência de RI quando comparados a sujeitos saudáveis (Tso et al., 2004; Posadas-Romero et al., 2004; Escárcega et al., 2006; Magadmi et al., 2006; Sada et al., 2006; Tso e Huang, 2009). Estes estudos avaliaram a sensibilidade à insulina pela insulinemia de jejum e/ou pelo *Homeostasis Model Assessment Index* (HOMA) cujo método foi descrito por Matthews et al. (1985), o qual estima a resistência à insulina por meio do HOMA RI e a função das células beta por meio do HOMA B com base nos valores de glicemia e insulinemia de jejum, sendo calculados da seguinte maneira:

1) $$\text{HOMA RI} = \frac{[\text{insulinemia de jejum } (\mu U/L) \times \text{glicemia de jejum } (mmol/L)]}{22{,}5}$$

2) $$\text{HOMA B} = \frac{[20 \times \text{insulinemia de jejum } (\mu U/L)]}{[\text{glicemia de jejum } (mmol/L)]} - 3{,}5$$

(no qual 100% representaria função normal)

Magadmi et al. (2006), Tso et al. (2004) e Tso e Huang (2009), por exemplo, relataram que pacientes portadores de LES apresentaram insulinemia de jejum e resistência à insulina (medida pelo índice HOMA RI) significativamente maiores do que o grupo controle pareado para idade, apesar de apresentarem níveis normais de glicemia. Os autores sugeriram que os pacientes portadores de LES são capazes de manter seu estado euglicêmico pelo aumento da secreção de insulina pelas células ß-pancreáticas, uma vez que o índice HOMA B foi significativamente maior nesses pacientes quando comparados

aos sujeitos do grupo controle, o que pode predispor à disfunção das células beta e ao aparecimento do DM2 no longo prazo (Kahn, 2001).

É plausível supor que a maior prevalência de RI observada nestes estudos esteja relacionada à inflamação sistêmica e à medicação comumente utilizada no LES. De fato, sugere-se que as concentrações elevadas de citocinas pró-inflamatórias (Asanuma et al., 2006; Yap e Lai, 2010) e de adipocinas (Chung et al., 2009) observadas em pacientes portadores de LES possam estar diretamente associadas a maior prevalência de RI (Margetic et al., 2002, Trujillo e Scherer, 2006; Fonseca-Alaniz et al., 2007). Essa sugestão se baseia no fato de que essas citocinas poderiam diminuir a ação da insulina no organismo por diversos mecanismos tais como aumento da mobilização lipídica, redução da secreção de adiponectina (a qual estimula a sensibilidade à insulina em adipócitos) e redução da sinalização insulínica e da translocação de GLUT-4 para a membrana (Carey e Febbraio, 2004). Curiosamente, no único estudo que se propôs avaliar a potencial relação entre inflamação e RI (Chung et al., 2008) não foram observadas correlações significativas entre os valores plasmáticos de TNF-α, IL-6, proteína C-reativa (PCR) e RI.

Em relação à terapia medicamentosa, corticosteroides sabidamente induzem resistência periférica à insulina e intolerância à glicose (Rafacho et al., 2014) e, por isso, seriam candidatos para explicar o aumento da RI observada em pacientes com LES. Por outro lado, a hidroxicloroquina (HCQ), utilizada para controlar principalmente complicações dermatológicas nos pacientes com LES, parece estar associada à melhora da sensibilidade à insulina (Li et al., 1999; Ahmed, 2006). Em um estudo transversal de mulheres com LES, Penn et al. (2010) viram que o uso de HCQ estava significativamente associado a menores concentrações de glicose de jejum e também do índice HOMA RI, e Chen et al. (2015) mostraram que o uso de HCQ nos pacientes com LES reduzia o risco

de incidência de DM2. Logo, avaliar a relação entre a inflamação e a terapia medicamentosa na RI em pacientes com LES é de fundamental importância de modo a entender o papel destes fatores e da doença nesse importante parâmetro metabólico.

Um método utilizado para avaliar a sensibilidade à insulina de forma dinâmica é o *Meal tolerance test* (MTT) ou teste de tolerância oral à refeição. O MTT: (a) é capaz de mimetizar de forma dinâmica o comportamento da insulina e da glicose em condições fisiológicas; (b) permite a mensuração das concentrações de glucagon, um importante marcador da função das células-ß pancreáticas; e (c) é superior ao teste oral de tolerância à glicose (OGTT), uma vez que simula a ação da glicose na presença de outros nutrientes, o que aumenta a validade externa do teste (Muniyappa, et al, 2008; Cobelli, et al, 2007), apesar de não permitir a diferenciação completa entre RI hepática e periférica. Contudo, o MTT apresenta muitas vantagens sobre os parâmetros até hoje utilizados para avaliação da sensibilidade à insulina em pacientes com LES (i.e., insulinemia de jejum, HOMA RI e HOMA B), que representam medidas não funcionais, ou seja, de *steady state* após um período de jejum, refletindo primariamente a sensibilidade hepática à insulina. Logo, embora estes índices sejam de fácil aplicação em estudos epidemiológicos, eles não são capazes de estimar de forma precisa a função dinâmica da secreção de insulina pelas células beta em condições fisiológicas, como o MTT. Além disso, e de forma importante, a grande maioria destes estudos não controlou por fatores como composição corporal, consumo alimentar e nível de atividade física, os quais podem influenciar de forma importante a sensibilidade à insulina.

Já está muito bem estabelecido que a quantidade e a distribuição de gordura corporal estão fortemente associadas à RI. Nesse sentido, quanto maior a quantidade de gordura corporal total, maior parece ser a RI. Além disso, a distribuição de gordura corporal também pode ter papel importante (Nicklas, 1997). A distribuição de gordura

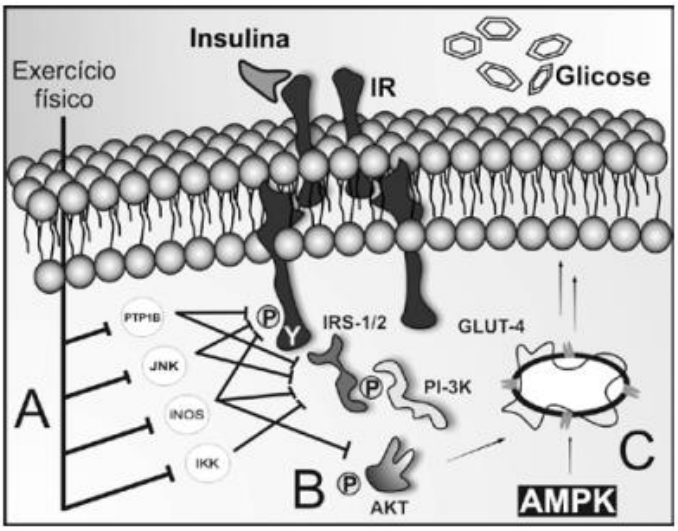
predominantemente abdominal, por exemplo, está independentemente associada à RI (Zhang et al., 2008). Isso, pois, tanto o depósito visceral quanto o depósito subcutâneo profundo de gordura abdominal estão implicados na maior liberação de ácidos graxos livres para o sistema portal, levando a uma síntese hepática excessiva de TG, possivelmente resultando em hiperinsulinemia e RI (Stolic et al., 2002; McCarthy et al., 2003). Além disso, a gordura visceral está associada à maior secreção de citocinas pró-inflamatórias, em especial de TNF e IL-1β, também associadas à piora da sensibilidade à insulina (Carey e Febbraio, 2004).

Outro fator potencialmente relacionado à RI é o consumo alimentar, embora evidências contundentes dessa relação sejam ainda controversas (McClenaghan, 2005). De qualquer maneira, estudos epidemiológicos sugerem que o maior consumo de energia e gordura dietética, particularmente de gordura saturada, parecem estar associados à piora de sensibilidade à insulina (Hu et al., 2001). Os mecanismos responsáveis por tal associação não estão totalmente esclarecidos, mas podem estar associados à alteração da composição de ácidos graxos nas membranas celulares, a qual pode influenciar a sinalização insulínica nessas células (Vessby, 2000). Os efeitos do consumo de carboidratos na sensibilidade à insulina, em contrapartida, são muito menos esclarecidos (McClenaghan, 2005).

Por fim, o nível de atividade física de pacientes com LES pode estar diretamente associado à RI. Sabe-se que o exercício físico tem papel fundamental na sensibilidade à insulina, pela melhora da captação de glicose por vias dependentes e independentes de insulina, resultando no aumento da translocação de GLUT-4 (Figura 1). A contração muscular por si só estimula a captação de glicose pelo aumento da concentração miocelular de Ca2+ que resulta na ativação da proteína quinase dependente de Ca2+/calmodulina II (CaMKII), ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK)

devido ao aumento do AMP intracelular e diminuição do ATP (Pereira e Lancha, 2004; Richter e Hargreaves, 2013), e fosforilação da proteína quinase B/ Akt e do complexo Cbl-CAP (Ribeiro et al., 2011). Além disso, os outros mecanismos mediados pela insulina para melhora da captação de glicose após o treinamento físico estariam associados com aumento da expressão gênica e proteica de GLUT-4 no músculo esquelético (Pereira e Lancha, 2004), maior sinalização insulínica pós – receptor, possivelmente na atividade da fosfatidil-inositol-3-quinase (PI3K), levando aumento da translocação de GLUT-4 (Zierath, 2002), e aumento da capacidade oxidativa do músculo esquelético pelo aumento da atividade de proteínas envolvidas na biogênese mitocondrial, como o coativador 1 do receptor ativado por proliferador de peroxisoma (PGC-1) (Hawley, 2002). Kraniou et al. (2004, 2006) e McGee e Hargreaves (2004) mostraram que em uma única sessão de exercícios, houve aumento da expressão de mRNA de GLUT-4 imediatamente após que se manteve elevada por várias horas até voltar às concentrações pré-exercícios em 24 horas. O exercício físico também pode exercer efeitos benéficos na sensibilidade à insulina através de seus efeitos moduladores sobre as adipocinas e citocinas inflamatórias, possivelmente através de um efeito anti-inflamatório crônico induzido pelas repetidas respostas anti-inflamatórias elicitadas por cada sessão de exercício (Petersen e Pedersen, 2005).

Figura 1 – Mecanismos de ação do exercício na resistência à insulina



O exercício reduz a expressão e/ou atividade de proteínas intracelulares com efeito negativo sobre a via de sinalização da insulina (A). A melhora do metabolismo da glicose em indivíduos exercitados deve-se ao efeito do aumento da translocação do GLUT-4 por vias moleculares distintas, mediado por insulina (B) e/ou via AMPK (C) para a membrana do músculo esquelético (Pauli et al., 2009).

Dessa forma, pode-se dizer que o nível de atividade física é um importante fator interveniente na mensuração da sensibilidade à insulina. Uma vez que há evidências de que pacientes com LES poderiam ter uma vida mais sedentária Bruce et al. (2003) sugeriram que, a maior inatividade física poderia estar associada à maior prevalência de RI observada nessa população.

2. JUSTIFICATIVA

A RI e a hiperinsulinemia parecem surgir muito antes do estabelecimento da intolerância à glicose ou DM2, sugerindo que intervenções durante este período possam ser capazes de prevenir ou retardar o aparecimento ou desenvolvimento de diabetes e DCV (Yang et al., 2016). Desta forma, identificar adequadamente a ocorrência da RI em pacientes com LES, os quais estão sob risco substancialmente elevado de desenvolver

DCV, levando em consideração potenciais variáveis intervenientes como nível de atividade física, composição corporal e consumo alimentar, e utilizando um método dinâmico para avaliação da sensibilidade à insulina, tal qual o MTT (Cobelli et al., 2007; Muniyappa et al., 2008), pode ser de grande relevância clínica no manejo do LES.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo principal

O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade à insulina de pacientes com LES em resposta ao MTT, controlando por potenciais variáveis intervenientes, a saber, nível de atividade física, composição corporal e consumo alimentar.

3.2 Objetivos secundários

1) Avaliar as concentrações sanguíneas de glicose, insulina, triglicérides, glucagon e pró-insulina em resposta ao MTT e HOMA em mulheres com LES e compará-las à de sujeitos controles saudáveis pareados por idade, gênero e IMC.
2) Avaliar a potencial relação da sensibilidade à insulina de pacientes com LES com as concentrações de adipocinas e citocinas inflamatórias e parâmetros clínicos, laboratoriais e terapêuticos da doença.

4. METODOLOGIA

4.1 Protocolo experimental

O estudo obedeceu às normas éticas e todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pela CAPPesq (HC-FMUSP).

Foram estudadas mulheres com diagnóstico de LES (n = 33) e voluntárias saudáveis (CTRL; n = 16), pareadas por idade, gênero e índice de massa corporal.

As participantes foram avaliadas quanto à sensibilidade à insulina por meio do MTT, composição corporal, consumo alimentar, nível de atividade física, concentração de adipocinas e citocinas inflamatórias, atividade e parâmetros clínicos da doença.

4.2 Seleção de voluntários

As participantes do estudo que tenham LES deveriam apresentar os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de Inclusão:

- Mulheres com idade entre 20 e 40 anos, que não estivessem na menopausa;
- Pacientes que preencheram os critérios para LES de acordo com o Colégio Americano de Reumatologia (revisado Hochberg, 1997);
- Diagnóstico de LES em remissão da doença, SLEDAI ≤ 4;
- Medicação estável pelo período do estudo (uso do corticosteroide com dose ≤ 10 mg/dia)

Critérios de Exclusão:

- Insuficiência renal aguda;
- Pericardite, pleurite, serosite;
- Desnutrição grave com perda de mais de 35% do seu peso corporal normal;

- Ganho de peso corporal superior a 5% nos seis meses que antecedessem o estudo;
- Diabetes mellitus;
- Uso de tabaco;
- Disfunção da tireoide não controlada;
- Presença de ovário policístico;
- Outras doenças reumatológicas;
- IMC > 35kg/m²

4.3 Exames Clínicos

Os dados clínicos específicos da doença, assim como idade de início, tempo de duração e atividade foram obtidos através de revisão de prontuários e entrevista. A avaliação da terapêutica medicamentosa incluiu tempo de utilização, dose atual em miligramas de cada um dos medicamentos empregados para controle da doença: HCQ, corticosteroides, metotrexato, azatioprina. Além disso, a dose cumulativa de corticosteroides foi calculada. Para tal, a dose de todos os corticosteroides utilizados (prednisona, prednisolona e metilprednisolona) foram transformadas em gramas de prednisona, através do cálculo de equivalência entre as drogas.

A avaliação clínica avaliou a presença ou não de outras patologias e o nível de atividade da doença por meio do *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity index* 2000 (SLEDAI-2K) (Gladman et al., 2002). Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (Hochberg, 1997).

4.4 Teste oral de tolerância à refeição (*Meal Tolerance Test* - MTT)

Após jejum de 12 horas, os participantes foram submetidos ao MTT (500 Kcal; 60% carboidrato, 20% lipídeo e 20% proteína). Foram coletados aproximadamente 3 mL de sangue venoso nos momentos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos para perfazer as curvas de glicose, insulina, pró-insulina, glucagon e TG. Cabe ressaltar que o momento zero é em jejum e precedeu a ingestão da refeição. As amostras foram mantidas em isopor com gelo e imediatamente após o procedimento, centrifugadas (4000 rpm, 5 minutos, 4º C) para posterior análise.

A glicemia foi dosada através do método de glicose-oxidase (GOD / PAP, Roche Diagnostics, Alemanha). Os TG foram medidos por um método colorimétrico enzimático (CELMA, Brasil). A insulina foi avaliada por um método quimioluminescente (Roche Diagnostics, Alemanha). A pró-insulina e o glucagon foram avaliados por radioimunoensaio de duplo anticorpo (Linco Research, EUA). Os indivíduos foram instruídos a abster-se de exercício físico, e ingestão de álcool e cafeína 24h antes do teste.

A área total sob a curva (AUC) de glicose, insulina, TG, glucagon, razão insulina/glicose e razão pró-insulina/insulina foram calculados utilizando o modelo trapezoide. O índice Matsuda (índice de sensibilidade à insulina de corpo todo) também foi calculado a partir do MTT (Matsuda e De Fronzo, 1999) e o HOMA RI, a partir de concentrações de jejum de glicose e insulina (Matthews et al., 1985). A supressão de glucagon por glicose e insulina durante o MTT foi calculado como a diferença entre as concentrações de glucagon em 0 e 180 min e depois dividido pela alteração da glicose e insulina durante este período para avaliar a diminuição das concentrações de glucagon por aumento de insulina e glicose (Ahrén e Larsson, 2001). Finalmente, a função das células beta foi estimada utilizando a razão pró-insulina/insulina, a qual avaliou a capacidade das células beta de converter pró-insulina em insulina (Kahn et al., 2008) e

pelo índice insulinogênico, calculado como a razão entre as respostas de insulina e glicose incremental em 30 minutos após estimulo do MTT (Tura et al., 2006).

4.5 Avaliações plasmáticas

Os sujeitos compareceram à enfermaria da Reumatologia em jejum noturno de 12 horas para coleta de aproximadamente 50 ml de sangue da veia ante-cubital, que foram imediatamente centrifugadas a 4º Celsius, 3000 rotações por minuto, durante 15 minutos. O plasma foi pipetado e dispensado em eppendorfs, que foram congelados à –70º C para as subsequentes análises.

Concentrações de colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol foram determinadas por um método colorimétrico enzimático (CELM, São Paulo, Brasil). As concentrações de ácidos graxos livres também foram analisadas por um ensaio colorimétrico (Wako, EUA).

As citocinas inflamatórias (IFN-γ, IL-10, IL-6, IL-1β, IL-1ra e TNF), e adipocinas (leptina, resistina e adiponectina) foram analisados através de imunoensaios utilizando kits comercialmente disponíveis em um analisador multiplex de acordo com os procedimentos do fabricante (Milliplex®, EUA).

4.6 Nível habitual de atividade física

O nível habitual de atividade física foi avaliado por meio do uso do acelerômetro triaxial Actigraph GT3x (Actigraph, Pensacola, Florida). O acelerômetro foi utilizado por sete dias, sendo necessário o mínimo de quatro dias válidos (tempo válido de registro maior do que 10 horas por dia) para que fossem feitas as análises. Antes da utilização do

acelerômetro, as pacientes assinaram um termo de responsabilidade assegurando a devolução do aparelho e receberam as instruções para o uso do mesmo. Durante os sete dias, o acelerômetro deveria ficar posicionado por meio de uma cinta elástica na altura da crista ilíaca do lado direito e só deveria ser retirado durante atividades aquáticas. Adicionalmente, as voluntárias preencheram um diário de uso do aparelho, onde constava o horário de colocação e de possíveis retiradas do mesmo.

Foi utilizado o software Actilife 6 (Actigraph, Pensacola, Florida) para o tratamento dos dados coletados e considerado como "*nonwear period*" (período em que o indivíduo não utilizou o aparelho) um período de pelo menos 60 minutos contínuos de zero counts (medida do acelerômetro) de atividade, com não mais do que dois minutos de atividade entre zero a 100 counts.

Os dados foram reintegrados a cada 60 segundos e o ponto de corte de Freedson foi utilizado para definir as intensidades das atividades físicas: tempo sedentário (<150 counts/min), atividade física de leve intensidade (≥150 a <2929 counts/min), e moderada a intensa (MVPA) (≥2930 counts/min) (Freedson et al., 1998; Evenson et al., 2008). O tempo total de MVPA e MVPA realizado em "bouts" de pelo menos 10 minutos consecutivos (Haskell, 2007) foram reportados. Os dados foram apresentados em minutos/dia e % do dia, quando apropriado, para cada domínio de intensidade.

4.7 Composição corporal

Os sujeitos foram pesados em balança digital. A altura foi determinada na posição em pé, com auxílio de estadiômetro. Essas medidas foram utilizadas na realização do índice de massa corporal (IMC), o qual foi calculado pela fórmula:

IMC = Peso (kg) /altura^2 (m^2)

Para análise da composição corporal (massa magra, total e gordura do tronco), foi utilizado o método de absortometria de feixe duplo ou absortometria de raios-x em duas energias (DXA – dual X-ray absorptiometry). Foi utilizado o densitômetro Hologic QDR 2000. Todo o procedimento foi realizado por técnico especializado.

4.8 Avaliação nutricional

Foram conduzidas avaliações nutricionais por meio de três recordatórios alimentares realizados em dias diferentes, sendo um referente a um dia do final de semana, para que a variação da ingestão que normalmente ocorre neste período constasse na avaliação. Para auxílio na quantificação das porções alimentares durante a realização do recordatório, foram utilizados desenhos de uma cartilha desenvolvida e validada por nosso grupo (Polacow, 2003). Os recordatórios foram aplicados por dois nutricionistas treinados. Os recordatórios foram tabulados com o auxílio do programa Avanutri®. Foi avaliada a ingestão de energia, macronutrientes, colesterol, ácidos graxos saturados e insaturados e fibras alimentares.

4.9 Análise estatística

Os dados foram apresentados como média ± desvio padrão (DP) ou mediana ± intervalo interquartil (IQR), quando apropriado. O teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors revelou que apenas idade, IMC e dados de composição corporal mostraram uma distribuição normal. Essas variáveis foram testadas pelo teste T não pareado para amostras independentes. Todas as outras variáveis dependentes foram analisadas por testes não paramétricos, utilizando o teste de Mann-Whitney. Análises de

correlação de Spearman também foram realizadas entre as estimativas da sensibilidade à insulina (glicemia de em jejum, insulinemia de jejum, razão insulina-glicose de jejum, glucagonemia de jejum e razão pró-insulina/insulina de jejum, HOMA RI, $AUC_{glicose}$, $AUC_{insulina}$, $AUC_{insulina/glicose}$, $AUC_{glucagon}$, $AUC_{pró\text{-}insulina/insulina}$, índice insulinogênico e índice de Matsuda), adipocinas (leptina, resistina, e adiponectina), citocinas inflamatórias (IFN-γ, IL-10, IL-6, IL-1β, IL-1ra, e TNF) e parâmetros relacionados com a doença (atividade da doença - SLEDAI, duração da doença, dose cumulativa de prednisona, dose de prednisona atual e dose de HCQ atual) apenas para o grupo LES. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$ e estas análises foram realizadas utilizando o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 19.0 para Windows. Além disso, análises *post-hoc* foram realizadas com o auxílio do software G-Power ® (versão 3.1.2), as quais demonstraram poder de 80 e 99% ao nível alpha de 5% para detectar diferenças significativas na sensibilidade à insulina (avaliada pelo HOMA RI e $AUC_{insulina/glicose}$) e glucagonemia (avaliada pelo $AUC_{glucagon}$) entre os grupos LES e CTRL com *effect sizes* de 0,8 e 1,3, respectivamente.

5. RESULTADOS

5.1 Pacientes

A Tabela 1 mostra os dados demográficos, incluindo o uso atual de medicamentos, parâmetros clínicos da doença e composição corporal. A Tabela 2 mostra os dados de nível de atividade física e a Tabela 3 os dados de consumo alimentar dos grupos LES e CTRL.

Tabela 1 - Dados demográficos, composição corporal e parâmetros clínicos da doença dos grupos LES e CTRL

	C-LES (n = 33)	C-CTRL (n = 16)	p
Idade (anos)	31,8 ± 6,4	31,0 ± 6,2	0,67
IMC (kg/m²)	25,3 ± 3,3	25,2 ± 3,3	0,88
Gordura total (%)	34,9 ± 5,0	32,8 ± 5,4	0,21
Gordura do tronco (%)	32,7 ± 7,2	29,4 ± 6,4	0,17
C3 (mg/dL)	97,0 ± 25,0	114,0 ± 21,0	0,001
C4 (mg/dL)	17,9 ± 10,3	18,9 ± 6,3	0,24
SLEDAI	0,33 ± 0,90	---	---
Duração da doença (anos)	9,4 ± 5,6	---	---
Medicamentos			
Dose atual de prednisona (mg/d)	2,65 ± 4,24	---	---
Uso cumulativo de corticosteroides (g/kg)	70,9 ± 208,6	---	---
Prednisona [nº (%)]	10 (33)	---	---
HCQ [nº (%)]	24 (73)	---	---
Dose atual de HCQ (mg/d)	243 ± 178		
Metotrexato [nº (%)]	4 (12)	---	---
Azatioprina [nº (%)]	8 (24)	---	---

Dados expressos em média ± desvio-padrão ou mediana ± IQR. IMC= índice de massa corporal; SLEDAI = Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; HCQ = hidroxicloroquina. Teste de Mann-Whitney U ou Testes-T não pareados foram usados para avaliar possíveis diferenças entre os grupos LES e CTRL.

Tabela 2 - Nível de atividade física dos grupos LES e CTRL

	C-LES (n = 33)	C-CTRL (n = 16)	p
Tempo sedentário (% do dia)	58,5 ± 11,1	64,3 ± 6,8	0,12
MVPA total (min/dia)	24,7 ± 33,4	24,7 ± 10,0	0,71
MVPA (min/dia - períodos ≥10 min)	6,8 ± 11,5	4,3 ± 5,5	0,69
Counts/dia	514595 ± 233773	431612 ± 166440	0,21

Dados expressos em mediana ± IQR. MVPA = atividade física moderada a vigorosa. Teste de Mann-Whitney U foi utilizado para avaliar possíveis diferenças entre os grupos LES e CTRL.

Tabela 3 - Consumo alimentar dos grupos LES e CTRL

	C-LES (n = 33)	C-CTRL (n = 16)	p
Energia (Kcal)	1782 ± 868	1781 ± 805	0,91
Carboidrato (g)	219,7 ± 135,4	229,3 ± 122,1	0,92
Carboidrato (%)	49,0 ± 9,9	52,1 ± 13,8	0,95
Proteína (g)	75,0 ± 33,9	71,5 ± 32,0	0,89
Proteína (%)	17,1 ± 6,3	15,3 ± 6,4	0,47
Gordura (g)	67,2 ± 48,2	64,2 ± 25,9	0,89
Gordura (%)	32,6 ± 10,2	31,4 ± 14,2	0,84
Gordura saturada (g)	21,2 ± 16,2	14,4 ± 6,4	0,23
Colesterol (mg)	181,4 ± 148,3	147,5 ± 101,1	0,78
Fibra (g)	10,5 ± 6,1	11,6 ± 4,5	0,83

Dados expressos em mediana ± IQR. Teste de Mann-Whitney U foi utilizado para avaliar possíveis diferenças entre os grupos LES e CTRL.

Não houve diferenças entre os grupos para nenhuma das variáveis avaliadas ($p>0,05$), o que demonstra que os grupos foram similares em relação ao nível de atividade física, composição corporal e consumo alimentar.

5.2 Estimativas de sensibilidade à insulina e função das células beta

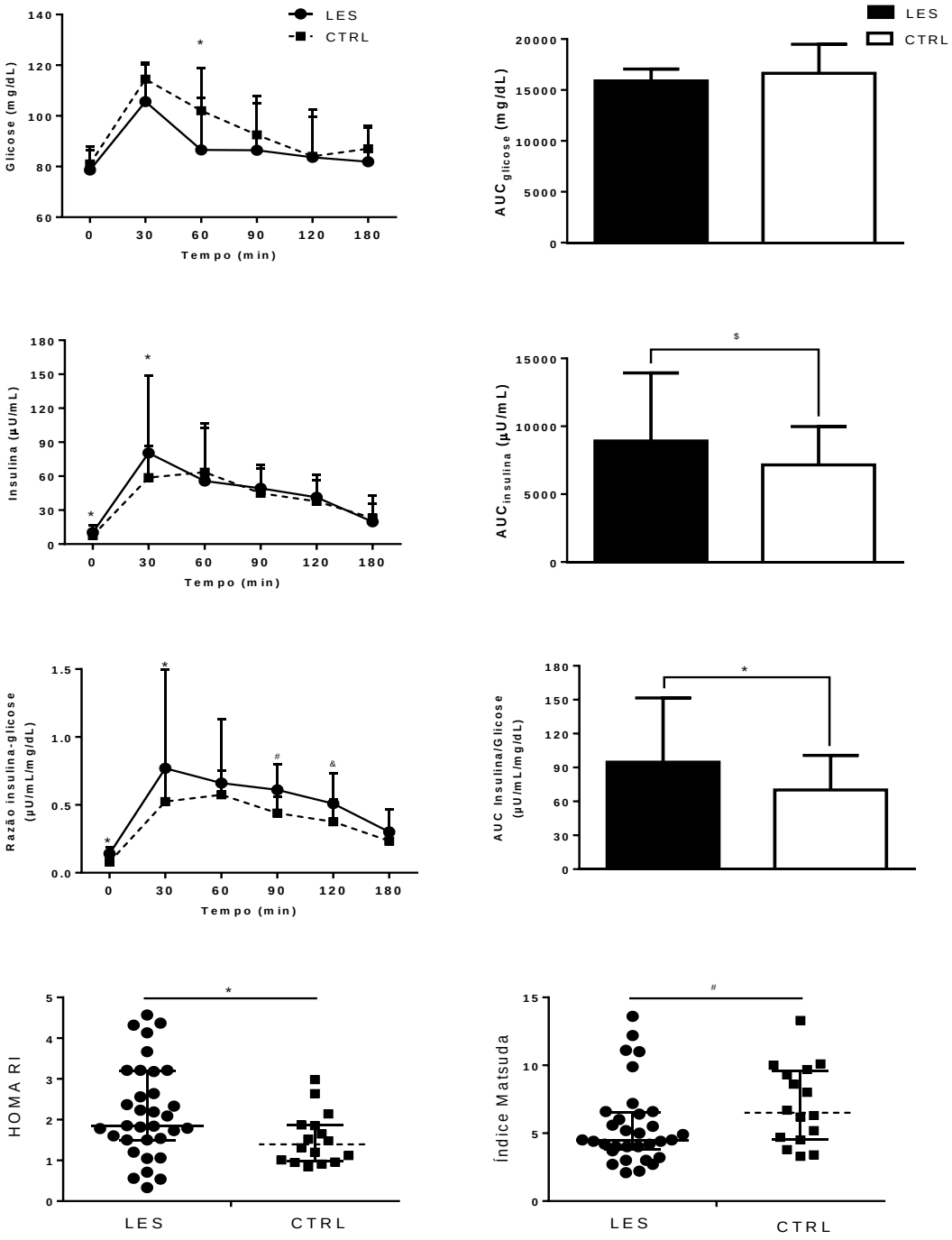
Os dados de sensibilidade à insulina e função das células beta estão retratados na Tabela 4 e nas Figuras 2, 3 e 4. Em relação à sensibilidade à insulina, LES e CTRL apresentaram glicemia de jejum, $AUC_{glicose}$ e supressão de glucagon induzida por glicose e insulina similares ($p>0,05$). Em contrapartida, LES apresentou maiores concentrações de insulina de jejum, HOMA RI, $AUC_{insulina/glucose}$ e concentrações de glucagon de jejum e $AUC_{glucagon}$, e tendência a menor índice Matsuda ($p = 0,06$) e maior $AUC_{insulina}$ ($p = 0,09$) quando comparado ao grupo CTRL. Com relação às estimativas de função das células beta, a razão pró-insulina/insulina de jejum e em resposta ao MTT ($AUC_{pró-insulina/insulina}$) foram similares entre os grupos ($p>0,05$) enquanto o grupo LES apresentou maior índice insulinogênico quando comparado ao grupo controle ($p<0,05$).

Tabela 4 - Estimativas da sensibilidade à insulina e função das células beta dos grupos LES e CTRL

	C-LES (n = 33)	C-CTRL (n = 16)	p
Estimativas de sensibilidade à insulina			
Glicemia de jejum (mg/dL)	77,0 ± 7,0	81,0 ± 11,2	0,26
$AUC_{glicose}$ (mg/dL)	15885 ± 3030	16650 ± 3862	0,11
Insulinemia de jejum (µU/mL)	10,3 ± 7,8	6,9 ± 3,1	0,01
$AUC_{insulina}$ (µU/mL)	8916 ± 6850	7151 ± 5117	0,09
Razão insulina/glucose no jejum	0,14 ± 0,08	0,08 ± 0,03	0,013
$AUC_{insulina/glicose}$	94,7 ± 73,7	70,0 ± 40,0	0,023
Glucagonemia de jejum (pg/mL)	130,0 ± 53,4	96,3 ± 23,9	0,002
$AUC_{glucagon}$ (pg/mL)	22868 ± 7097	15744 ± 3439	0,0001
Supressão de glucagon pela glicose (pg/mL/mg/dL)	-0,01 ± 3,10	-0,86 ± 2,56	0,16
Supressão de glucagon pela insulina (pg/mL/µU/mL)	-0,12 ± 0,52	-0,16 ± 0,30	0,4
HOMA RI	1,85 ± 1,68	1,40 ± 0,86	0,03
Índice Matsuda	4,53 ± 2,64	6,47 ± 4,71	0,06
Estimativas da função das células beta			
Razão pró-insulina/insulina de jejum	1,26 ± 0,74	1,11 ± 0,57	0,37
$AUC_{pró\text{-}insulina/insulin}$	185,2 ± 91,2	199,0 ± 42,0	0,47
Índice Insulinogênico	2,48 ± 2,17	1,58 ± 1,43	0,02

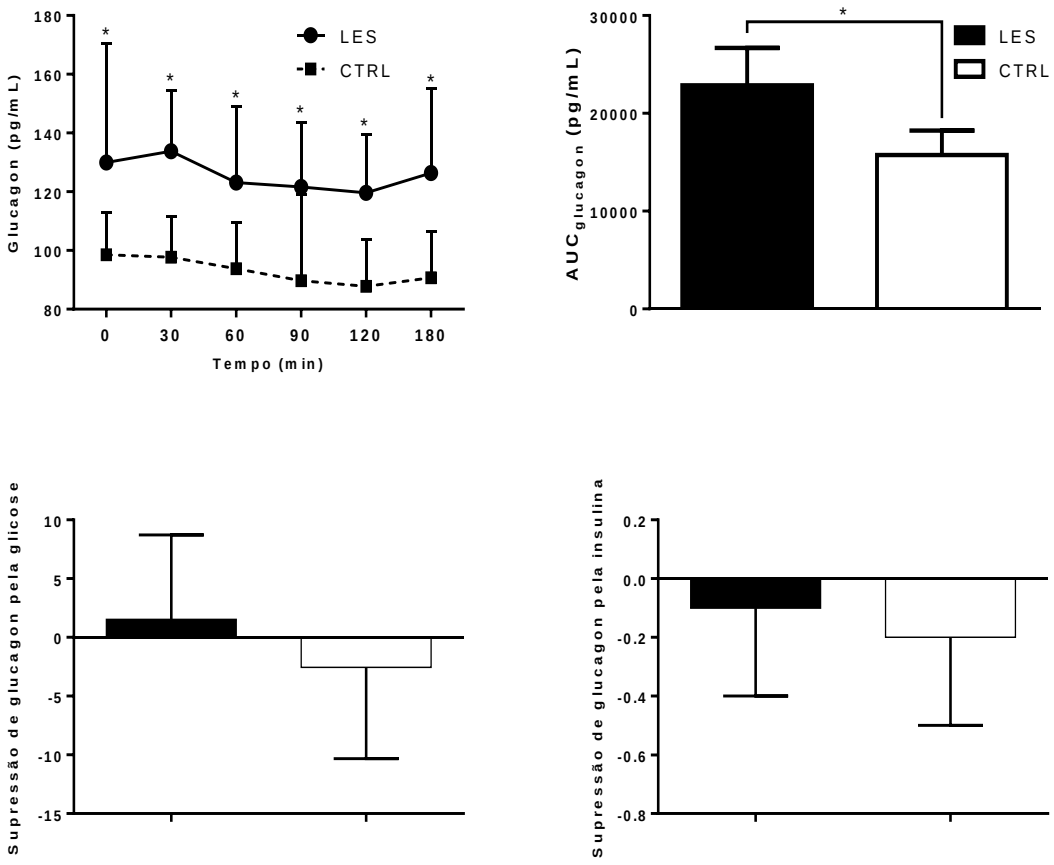
Dados expressos em mediana ± IQR. AUC = área total sob a curva calculado a partir da resposta ao MTT. Teste de Mann-Whitney U foi usado para avaliar possíveis diferenças entre LES e CTRL.

Figura 2 - Estimativas de sensibilidade à insulina dos grupos LES e CTRL



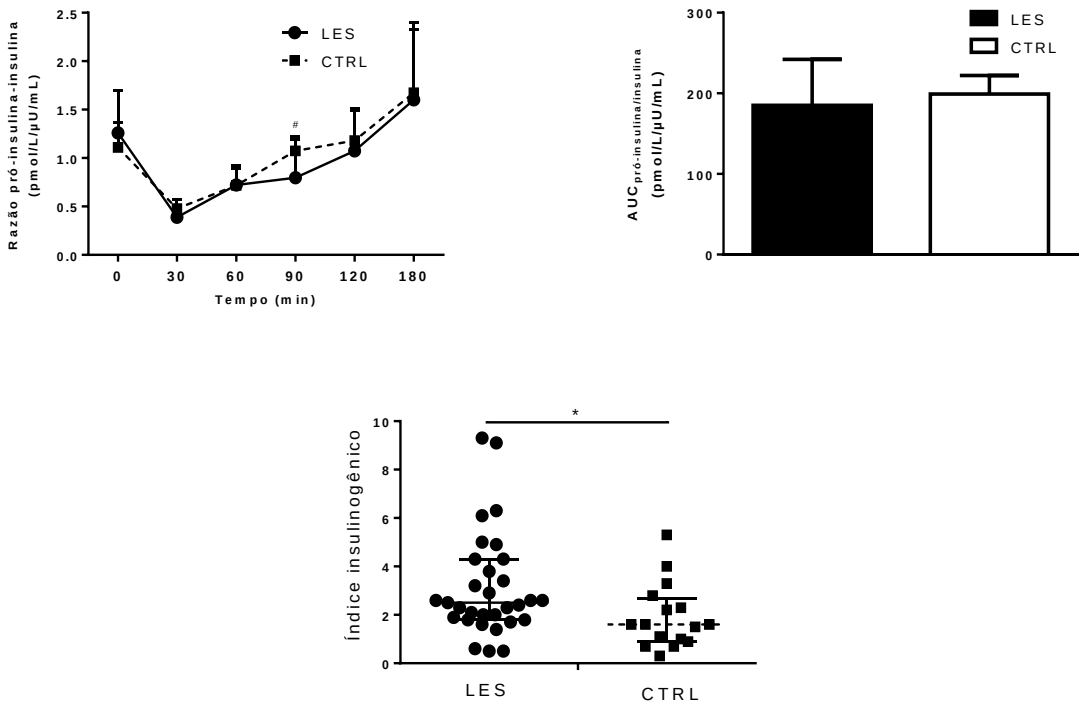
Dados expressos em mediana ± IQR. AUC = área total sob a curva calculado a partir da resposta ao MTT. Teste de Mann-Whitney U foi usado para avaliar possíveis diferenças entre LES e CTRL. * significa p<0,05, comparação entre grupos; # significa p=0,06, comparação entre grupos; $ significa p=0,09, comparação entre grupos.

Figura 3 – Glucagonemia de jejum e em resposta ao MTT dos grupos LES e CTRL



Dados expressos em medianas ± IQR. AUC = área total sob a curva calculado a partir da resposta ao MTT. Teste de Mann-Whitney U foi usado para avaliar possíveis diferenças entre LES e CTRL. * significa p<0,05, comparação entre grupos.

Figura 4 – Estimativas da função das células beta dos grupos LES e CTRL



Dados expressos em medianas ± IQR. AUC = área total sob a curva calculado a partir da resposta ao MTT. Teste de Mann-Whitney U foi usado para avaliar possíveis diferenças entre LES e CTRL. *significa p<0,05, comparação entre grupos.

5.3 Parâmetros laboratoriais

Os dados de parâmetros laboratoriais estão retratados na Tabela 5. Nenhuma diferença foi observada entre os grupos LES e CTRL para concentrações basais de ácidos graxos livres, TG e resposta ao MTT (AUC_{TG}) (p>0,05). Pacientes com LES apresentaram menores concentrações de colesterol total, LDL-colesterol e HDL-colesterol quando comparados ao CTRL (p<0,05), porém a razão colesterol total/HDL e razão LDL/HDL foram similares nos dois grupos (p>0,05). Já em relação aos parâmetros inflamatórios, o grupo LES apresentou concentrações de leptina, IL-6 e TNF elevadas (p<0,05) comparado ao grupo CTRL, enquanto não foram observadas diferenças nas

concentrações de adiponectina, resistina, IFN-γ, IL-1β, IL-1ra, e IL-10 entre os grupos (p>0,05). Finalmente, parâmetros associados à função hepática (AST e ALT) e renal (ureia e creatinina), e valores de complementos C3, C4, VHS e PCR estavam dentro dos limites normais para ambos os grupos, indicando que a doença estava em remissão.

Tabela 5 - Parâmetros laboratoriais dos grupos LES e CTRL

(continua)

	C-LES (n = 33)	**C-CTRL (n = 16)**	**p**
Colesterol total (mg/dL)	146,5 ± 52,0	177,0 ± 27,5	0,002
LDL-colesterol (mg/dL)	80,0 ± 34,0	92,0 ± 22,0	0,039
HDL-colesterol (mg/dL)	47,0 ± 17,5	60,5 ± 20,8	0,002
Razão cholesterol total/HDL	3,13 ± 1,15	2,75 ± 0,00	0,387
Razão LDL/HDL	1,81 ± 0,86	1,50 ± 0,00	0,205
TG (mg/dL)	69,0 ± 29,0	79,0 ± 31,0	0,34
AUC_{TG} (mg/dL)	12690 ± 6960	13065 ± 5258	0,9
Ácidos graxos livres (mEq/L)	0,54 ± 0,18	0,50 ± 0,27	0,664
Creatinina (mg/dL)	0,70 ± 0,15	0,81 ± 0,13	0,006
Ureia (mg/dL)	22,0 ± 9,3	27,5 ± 8,5	0,423
Aspartato aminotransferase (U/L)	20,0 ± 10,5	16,0 ± 3,3	0,014
Alanina aminotransferase (U/L)	19,5 ± 12,5	16,0 ± 5,5	0,16
Proteína C-reativa (mg/L)	1,60 ± 2,35	1,15 ± 1,28	0,358

Tabela 5 – Parâmetros laboratoriais dos grupos LES e CTRL

(conclusão)

	C-LES (n = 33)	C-CTRL (n = 16)	p
VHS (mm)	10,0 ± 11,5	5,0 ± 3,0	0,001
TNF (pg/mL)	9,22 ± 7,03	5,97 ± 4,75	0,024
IL-6 (pg/mL)	3,89 ± 4,52	2,18 ± 2,37	0,006
IFN-γ (pg/mL)	16,4 ± 23,8	10,3 ± 14,5	0,17
IL-1β (pg/mL)	1,44 ± 1,62	2,27 ± 2,84	0,646
IL-10 (pg/mL)	11,8 ± 12,9	10,6 ± 11,4	0,734
IL-1ra (pg/mL)	22,5 ± 39,6	22,9 ± 17,9	0,613
Adiponectina (µg/mL)	29,9 ± 28,2	20,2 ± 22,4	0,246
Leptina (ng/mL)	20,9 ± 23,8	14,2 ± 12,6	0,048
Resistina (ng/mL)	114,9 ± 67,3	93,5 ± 65,8	0,453

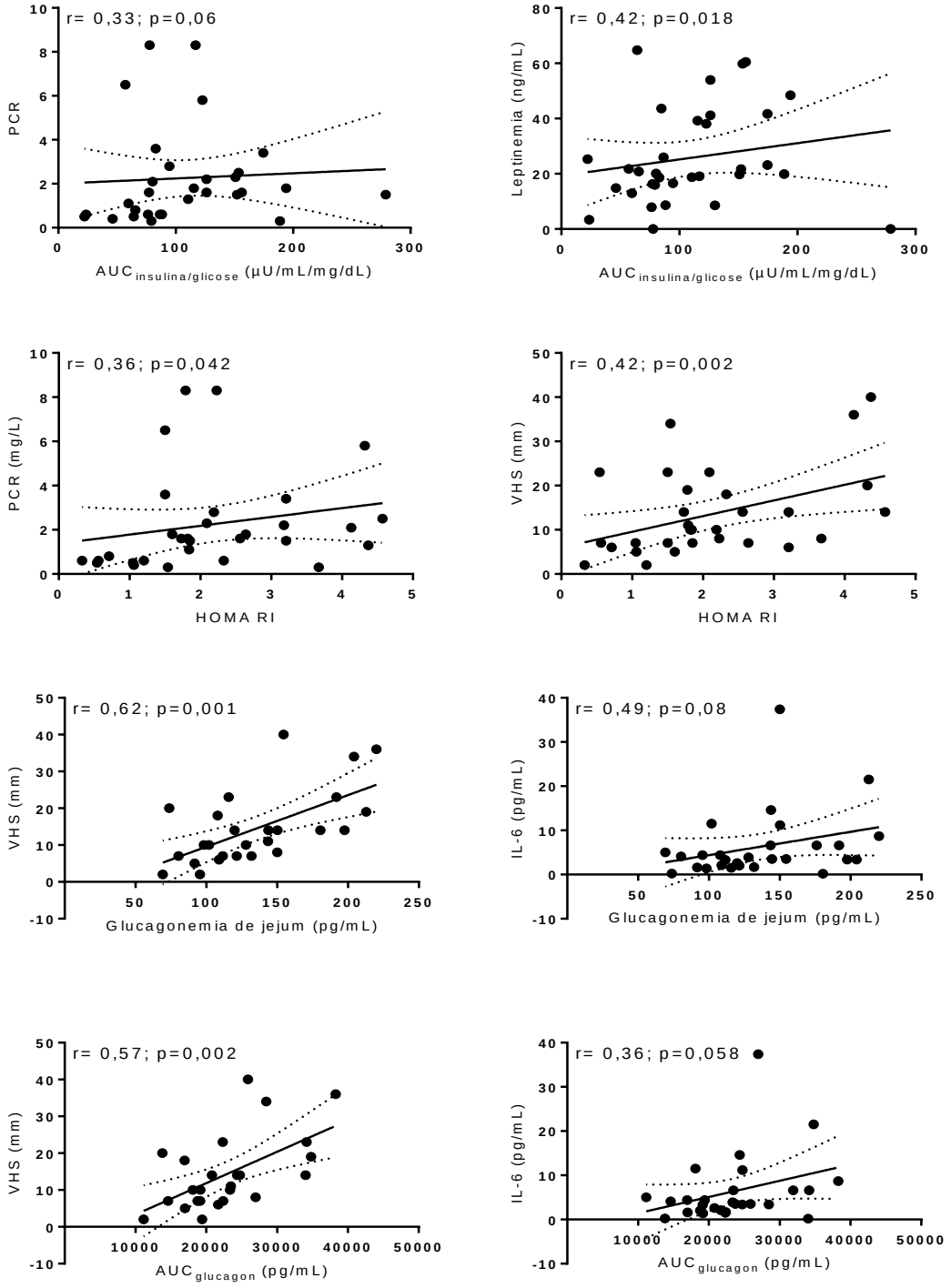
Dados expressos em mediana ± IQR. AUC = área total sob a curva calculado a partir da resposta ao MTT; VHS = velocidade de hemossedimentação. Teste de Mann-Whitney U foi usado para avaliar possíveis diferenças entre LES e CTRL.

5.4 Correlações

Análises de correlação revelaram que glicemia de jejum e $AUC_{glicose}$ não tiveram correlação significativa com nenhum dos parâmetros inflamatórios ou relacionados à doença. As estimativas de sensibilidade à insulina, insulinemia de jejum e razão insulina/glicose, e índice Matsuda tiveram moderada e significativa correlação com concentrações de PCR (r=0,43, p=0,013; r=0,46, p=0,023; r=-0,42, p=0,039, respectivamente), VHS (r=0,44, p =0,014; r=0,38, p=0,035, r=-0,44, p=0,013, respectivamente), e leptina (r=0,37, p=0,039; r=0,36, p=0,05; r=-0,46, p=0,009);

$AUC_{insulina}$ e $AUC_{insulina/glicose}$ com concentrações de PCR (r=0,40, p=0,023; r=0,33, p=0,06, respectivamente) e leptina (r=0,41, p=0,011; r=0,42, p=0,018); e HOMA RI com PCR (r=0,36, p=0,042) e VHS (r=0,42, p=0,02). Glucagonemia de jejum e $AUC_{glucagon}$ estavam posititivamente correlacionados com VHS (r=0,62, p=0,001; r=0,57, p=0,002) e houve uma tendência para correlação com a concentração de IL-6 (r=0,49, p=0,08; r=0,36, p=0,058). Finalmente, as estimativas de função das células beta, razão pró-insulina/insulina e $AUC_{pró\text{-}insulina/insulina}$ não tiveram correlação significativa com nenhum dos parâmetros de inflamação ou da doença, enquanto o índice insulinogênico foi correlacionado com a leptinemia (r=0,43, p=0,017) e dose atual de prednisona (r=0,37, p=0,039). Algumas das principais correlações estão ilustradas também na Figura 5.

Figura 5 – Correlação entre estimativas de sensibilidade à insulina, adipocinas e citocinas inflamatórias e parâmetros da doença



Dados expressos em medianas ± IQR. AUC = área total sob a curva calculado a partir da resposta ao MTT. Teste de Mann-Whitney U foi usado para avaliar possíveis diferenças entre LES e CTRL.

6. DISCUSSÃO

Pacientes com LES apresentaram maior RI e hiperglucagonemia apesar de tolerância normal à glicose e função das células beta preservada quando comparadas às controles saudáveis com nível de atividade física, composição corporal e consumo alimentar similares. Além disso, as estimativas de sensibilidade à insulina estavam associadas à parâmetros inflamatórios sistêmicos, mas não a parâmetros da doença (atividade da doença, duração e uso de medicamentos).

Ao nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a avaliar a sensibilidade à insulina em pacientes com LES usando o MTT, o qual é capaz de mimetizar de forma dinâmica o comportamento da insulina e da glicose em condições fisiológicas (Cobelli et al., 2007; Muniyappa et al., 2008), e controlando pelos fatores intervenientes como nível de atividade física, consumo alimentar e composição corporal.

Em oposição ao HOMA RI, o qual é calculado utilizando somente os valores de jejum e reflete primariamente a resistência insulínica hepática (Matthews et al., 1985), o MTT é capaz de mimetizar de forma dinâmica a resposta glicêmica e insulinêmica de uma refeição em condições fisiológicas (Muniyappa et al., 2008). Além disso, índices de sensibilidade à insulina do corpo todo, como o índice de Matsuda e função das células beta, como o índice insulinogênico, também podem ser calculados a partir do MTT. Nossos resultados mostram que pacientes com LES tem, de fato, maior RI conforme demonstrado não apenas pelos parâmetros de jejum (maior HOMA RI e razão insulina/glicose de jejum), como também pelas estimativas de sensibilidade à insulina derivadas do MTT (maior $AUC_{insulina/glicose}$ e tendência a menor índice Matsuda) quando comparados ao grupo controle. Interessantemente, a maior RI foi observada apesar da tolerância normal à glicose, o que indica que esses pacientes ainda são capazes de

compensar a RI secretando maiores concentrações de insulina tanto no jejum quanto em resposta à refeição. Isso indica que a função das células beta parece estar preservada, conforme demonstrado pelo maior índice insulinogênico no LES e estimativas de função das células beta similares (razão pró-insulina/insulina de jejum e $AUC_{pró\text{-}insulina/insulina}$) similares entre os grupos LES e CTRL. Cabe salientar, contudo, que a maior secreção de insulina, necessária para compensar a RI pode predispor à disfunção das células beta e ao DM2 em longo prazo (Kahn, 2001).

A maior RI no grupo LES quando comparado ao CTRL, foi observada apesar de níveis semelhantes de atividade física, composição corporal (particularmente gordura total e do tronco) e ingestão alimentar entre os grupos. Isso indica que outros fatores relacionados com a doença podem estar associados com a maior RI observada nos pacientes com LES.

O desenvolvimento do DM2 parece passar por três estágios: hiperinsulinemia (na tentativa de compensar a RI, mantendo concentrações normais de glicose), pré-diabetes (intolerância à glicose apesar de hiperinsulinemia) e diabetes (secreção de insulina diminuída e intolerância à glicose) (Groop, 2000). Assim, sugere-se que a RI precede anormalidades na homeostase glicêmica, sendo o agente iniciador na transição do estado de tolerância normal à intolerância à glicose e DM2 (Yang et al., 2016). Portanto, a identificação da RI, particularmente em pacientes com LES que possuem risco de DCV mais elevado, pode ser de grande valor clínico no manejo da doença.

Estudos anteriores sugeriram que pacientes com LES apresentavam RI aumentada quando comparados a controles saudáveis (Tso et al., 2004; Posadas-Romero et al., 2004; Escárcega et al., 2006; Magadmi et al., 2006; Sada et al., 2006; Tso e Huang, 2009). Porém, limitações nesses estudos tais como uso de apenas estimativas não funcionais, ou seja, de *steady state* da sensibilidade à insulina (insulinemia de jejum e HOMA RI) e a

falta de controle por fatores intervenientes como nível de atividade física, composição corporal, e em menor escala, a ingestão alimentar, podem ter influenciado os resultados destes estudos.

Sabe-se que o exercício físico tem grande impacto benéfico na tolerância à glicose e sensibilidade à insulina, sendo considerado fundamental no tratamento de pacientes DM2 (Roberts et al., 2013). O excesso de gordura corporal, particularmente de gordura abdominal, tem sido consistentemente associado à RI e ao aumento do risco de DM2 (Zhang et al., 2008). Finalmente, o excesso de ingestão de calorias e de gordura saturada também tem sido associado com RI, apesar de haver controvérsias sobre esse assunto (McClenaghan, 2005). Estudos sugerem que pacientes com doenças reumatológicas inflamatórias parecem ser mais fisicamente inativos (Prioreschi et al., 2013) e apresentar mais gordura corporal (Lilleby et al., 2007) quando comparados à sujeitos saudáveis, o que poderia explicar, pelo menos em parte, a maior RI observada nesses pacientes em estudos anteriores.

A inflamação crônica sistêmica tem sido apontada como uma das principais causas de resistência à insulina e DM2 (Wang et al., 2013) e poderia explicar, pelo menos parcialmente, os nossos resultados. Como esperado, o grupo LES mostrou concentrações elevadas em 40 a 50% dos marcadores de inflamação TNF e VHS (embora este último esteja dentro da faixa normal), e da adipocina leptina, o que corrobora achados anteriores (Chung et al., 2009; Perandini et al., 2014). Estudos de infusão mostram que o TNF induz a resistência à insulina no músculo esquelético de forma direta (efeitos inibitórios diretos sobre a sinalização de insulina) e indireta (através do aumento da liberação de ácidos graxos livres do tecido adiposo) (Plomgaard et al., 2005). Além disso, as concentrações de PCR e VHS têm sido associadas com a RI (Marques-Vidal et al., 2013; Alemzadeh e Kichler, 2014). A interação entre a leptina e RI, por outro lado, é mais complexa. A

infusão de leptina poderia melhorar a sensibilidade à insulina no músculo esquelético (Petersen et al., 2002), enquanto a infusão de insulina aumenta as concentrações de leptina (Boden et al., 1997), mesmo em quantidades fisiológicas (Saad et al., 1998). Portanto, é possível que a RI leve ao aumento na secreção de leptina como uma resposta compensatória (Askari et al., 2010), o que poderia explicar nosso achados. De fato, observamos que as estimativas de sensibilidade à insulina (insulinemia de jejum, razão insulina/glicose, índice Matsuda, $AUC_{insulina}$, $AUC_{insulina/glicose}$ e HOMA RI), estavam correlacionadas, mesmo que moderadamente, aos marcadores de inflamação PCR e VHS e leptina, o que corrobora o papel da inflamação na RI no LES.

O uso de medicamentos, particularmente a prednisona e HCQ, também poderia ter influenciado nossos resultados. Os corticosteroides parecem diminuir a tolerância à glicose ao aumentarem a produção de glicose hepática e diminuir a captação de glicose periférica via menor sensibilidade à insulina no músculo esquelético e tecido adiposo (McDonough et al., 2008; Poetker e Reh, 2010). Uma vez que 30% dos nossos pacientes com LES estavam em uso de prednisona, isso poderia ter contribuído para a RI mais elevada nesse grupo. No entanto, não observamos nenhuma correlação entre a dose atual de prednisona e marcadores de sensibilidade à insulina. Isto está de acordo com estudos anteriores que falharam em demonstrar associação entre o uso de corticosteroides e HOMA RI (Magadmi et al., 2006; Chung et al., 2008; Chung et al., 2009). É provável que a falta de associação em nosso e outros estudos se deva à baixa dose de prednisona utilizada pelos pacientes (<10 mg / dia). Sabio et al. (2010) apenas observaram associação entre a ingestão de corticosteroides e RI em pacientes com LES em uso de doses > 7,5 mg / dia de prednisona. Nós observamos, no entanto, uma correlação positiva entre a dose de prednisona atual e o índice insulinogênico, o que sugere que a prednisona pode exacerbar a resposta inicial da insulina à ingestão de nutrientes, e portanto, potencializar

a predisposição à disfunção das células beta em longo prazo. Embora não tenhamos observado nenhuma correlação entre a dose atual de HCQ e estimativas da sensibilidade à insulina, existe a possibilidade de seu uso ter atenuado potenciais efeitos deletérios do uso de prednisona na sensibilidade à insulina já que 70% da nossa amostra estava em uso desta medicação. A utilização de HCQ tem sido associada com concentrações mais baixas de glicemia em jejum e HOMA RI e redução do risco de DM2 em pacientes com LES (Penn et al., 2010; Chen et al., 2015).

Finalmente, foi observada uma hiperglucagonemia nos pacientes com LES quando comparados aos controles saudáveis. Embora a secreção de glucagon tenha sido efetivamente suprimida por glicose e insulina durante o MTT, as concentrações de glucagon permaneceram superiores durante todo o MTT no grupo LES quando comparado ao CTRL. A hiperglucagonemia é comumente observada em pacientes com DM2 (Baron et al., 1987; Reaven et al., 1987). Além disso, ela parece estar independentemente associada com a RI em indivíduos não diabéticos (Ferrannini et al., 2007), o que pode indicar que as células pancreáticas alfa são menos sensíveis à ação inibitória da insulina na presença de RI, potencialmente desempenhando um papel na patogênese do DM2 (Ferrannini et al., 2011). Assim, é possível que os pacientes com LES apresentem, pelo menos algum grau de disfunção das células alfa-pancreáticas. Embora os mecanismos responsáveis por esse achado ainda não estejam claros, nós observamos uma correlação positiva entre as concentrações de glucagon e marcadores inflamatórios VHS e IL-6, o que está de acordo com estudos anteriores que mostraram que a infusão de IL-6 leva a hiperglucagonemia (Ellingsgaard et al., 2011). Deste modo, a inflamação sistêmica parece estar não apenas associada com RI, mas também com hiperglucagonemia, mostrando mais uma evidência do aumento do risco de DM2 nesses pacientes.

Estudos mais amplos que incluam também pacientes com doença ativa seriam interessantes a fim de explorar ainda mais o papel da inflamação e do uso de medicamentos (sozinhos ou combinados) na sensibilidade à insulina e concentrações de glucagon e seu impacto no risco de DCV a longo prazo no LES.

7. CONCLUSÕES

As principais conclusões do estudo são:

1) Utilizando uma abordagem dinâmica para avaliar a sensibilidade à insulina (MTT), mostramos que pacientes com LES apresentaram maior RI quando comparados ao grupo controle com níveis similares de nível de atividade física, composição corporal e consumo alimentar.
2) Pacientes com LES parecem ainda ter função das células beta preservada, conseguindo compensar a RI com maiores concentrações de insulina, o que em longo prazo, pode levar à sua disfunção das células beta e DM2.
3) As estimativas de sensibilidade à insulina foram associadas com parâmetros de inflamação PCR e VHS e leptina, demonstrando haver papel da inflamação na RI.
4) Pela primeira vez, demonstramos que pacientes com LES apresentaram hiperglucagonemia quando comparados aos controles saudáveis, a qual também poderia estar relacionada a parâmetros inflamatórios sistêmicos.
5) Esses resultados reforçam a necessidade de se desenvolver e colocar em prática estratégias capazes de melhorar a sensibilidade à insulina, podendo assim, prevenir ou retardar o aparecimento de DM2 e DCV no LES.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single centre. I. Causes of death. J Rheumatol 1995; 22: 1259-64.

Adiels M, Olofsson SO, Taskinen M-R, Borén J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 28, 1225–1236 (2008).

Ahmed MH. Chloroquine-induced nitric oxide improves insulin sensitivity in rheumatoid arthritis. Med Hypotheses. 2006; 66(1): 2.

Ahrén B, Larsson H. Impaired glucose tolerance (IGT) is associated with reduced insulin-induced suppression of glucagon concentrations. Diabetologia (2001) 44: 1998-2003.

Al-Saleh J, Jassim V, El-Sayed M, Saleh N, Harb D. Clinical and immunological manifestations in 151 SLE patients living in Dubai. Lupus 2008; 17: 62-6.

Alamanos Y, Voulgari PV, Parassava M, Tsamandouraki K, Drosos AA. Survival and mortality rates of systemic lupus erythematosus patients in northwest Greece. Study of a 21 years incidence cohort. Rheumatology 2003; 42: 1122-3.

Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James PT, Loria CM, Smith Jr SC. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Foundation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation 120, 1640–1645 (2009).

Alemzadeh R, Kichler J. Gender differences in the association of insulin resistance and high-sensitivity C-reactive protein in obese adolescents. J Diabetes Metabol Disord. 2014 Feb 20; 13(1): 35.

Araújo AD. A doença como ponto de mutação: os processos de significação em mulheres portadoras de lúpus eritematoso sistêmico. Dissertação (Mestrado em Psicologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.

Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, Shintani A, Stanley E, Raggi P, Stein CM. Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. J Rheumatol, v. 33, n.3, p. 539-45, Mar 2006.

Askari H, Tykodi G, Liu J, Dagogo-Jack S. Fasting plasma leptina level is a surrogate measure of insulin sensitivity. J Clin Endocrinol Metab, August 2010, 95(8): 3836-3843.

Back LKC. Lúpus Eritematoso Sistêmico: pesquisa de marcadores moleculares de susceptibilidade e prognóstico. 2007. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

Baron AD, Schaeffer L, Shragg P, Kolterman OG. Role of hyperglucagonemia in maintenance of increased rates of hepatic glucose output in type II diabetics. Diabetes. 1987 Mar; 36(3): 274-83.

Baron AD. Insulin resistance and vascular function. J Diabetes Complications. 2002;16:92-102.

Bellomio V, Spindler A, Lucero E, Berman A, Santana M, Moreno C, Hidalgo RP, Paira S, Graf C, Maldonado Cocco JA, Citera G, Arriola MS, Gómez G, Barreira JC, Messina O, Asnal C, Carrillo D, Gervilla A, García L, Máscolo M, De La Sota MD, Rosso G, Somma LF, Sosa RF, Rillo O, Caracciolo JA, Lancioni G, Gómez A. Systemic lupus

erythematosus: mortality and survival in Argentina. A multicenter study. Lupus 2000; 9: 377-81.

Blanco FJ, Gomez-Reino JJ, De La Mata J, Corrales A, Rodríguez-Valverde V, Rosas JC, Gómez de La Camara A, Pascual E. Survival analysis of 306 European Spanish patients with systemic lupus erythematosus. Lupus 1998; 7: 159-63.

Boden G, Chen X, Kolaczynski JW, Polansky M. Effects of prolonged hyperinsulinemia on serum leptina in normal human subjects. J Clin Invest. 1997 Sep 1; 100(5): 1107-13.

Borba EF, Latorre LC, Brenol JCT, Kayser C, Silva NA, Zimmermann AF, Pádua PM, Costallat LTL, Bonfá E, Sato EI. Consenso de lúpus eritematoso sistêmico. Rev Bras Reumatol, v.48, n.4, p. 196-207, jul/ago, 2008.

Borén J, Taskinen M-R, Olofsson SO, Levin M. Ectopic lipid storage and insulin resistance: a harmful relationship. J. Int. Med. 274, 25–40 (2013).

Bray GA. Medical consequences of obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:2583–9.

Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Ibanez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus: the Toronto Risk Factor Study. Arthritis Rheum. 2003;48:3159-67.

Bruce IN. ‘Not only...but also’: factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. Rheumatology 2005; 44:1492-1502.

Carey AL, Febbraio MA. Interleukin-6 and insulin sensitivity: friend or foe? Diabetologia. 2004; 47:1135–42.

Carneiro-Sampaio M, Liphaus BL, Jesus AA, Silva CA, Oliveira JB, Kiss MH. Understanding systemic lupus erythematosus physiopathology in the light of primary immunodeficiencies. J Clin Immunol, 28 (2008), pp. 34-41.

Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Mejía JC, Aydintug AO, Chwalinska-Sadowska H, de Rámon E, Fernández-Nebro A, Galeazzi M, Valen M, Mathieu A, Houssiau F, Caro N, Alba P, Ramos-Casals M, Ingelmo M, Hughes GR, European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestation in a cohort of 1000 patients. Medicine 2003; 82: 299-308.

Chen YM, Lin CH, Lan TH, Chen HH, Chang SN, Chen YH, Wang JS, Hung WT, Lan JL, Chen Y. Hydroxychloroquine reduces risk of incident diabetes mellitus in lupus patients in a dose-dependent manner: a population-based cohort study. Rheumatology (Oxford). 2015 Jan 12.

Chung CP, Avalos I, Oeser A, Gebretsadik T, Shintani A, Raggi P, Stein CM. High prevalence of the metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with disease characteristics and cardiovascular risk factors. Ann Rheum Dis. 2007; 66: 208-214.

Chung CP, Oeser A, Solus JF, Gebretsadik T, Shintani A, Avalos I, Sokka T, Raggi P, Pincus T, Stein CM. Inflammation-associated insulin resistance: differential effects in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus define potential mechanisms. Arthritis Rheum. 2008 Jul; 58(7): 2105-12.

Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, Raggi P, Stein CM. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. Lupus 2009; 18(9):799-806.

Cobelli C, Toffolo GM, Dalla Man C, Campioni M, Denti P, Caumo A, Butler P, Rizza R. Assessment of beta-cell function in humans, simultaneously with insulin sensitivity and hepatic extraction, from intravenous and oral glucose tests. Am J Physiol Endocrinol Metab 293: E1–E15, 2007.

DeFronzo, RA & Tripathy, D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. Diabetes Care 32 (Suppl. 2), S157–S163 (2009).

Doria A, Iaccarino L, Ghirardello A, Zampieri S, Arienti S, Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Piccoli A, Todesco S. Long-term prognosis and causes of death in systemic lupus erythematosus. Am J Med 2006; 119: 700-6. 2006; 119: 700-6.

Doria A, Arienti S, Rampudda M, Canova M, Tonon M, Sarzi-Puttini P. Preventive strategies in systemic lupus erythematosus. Autoimm Rev. 2008; 7:192-197.

Ellinsgaard H, Hauselmann I, Schuler B, Habib AM, Baggio LL, Meier DT, Eppler E, Bouzakri K, Wueest S, Muller YD, Hansen AM, Reinecke M, Konrad D, Gassmann M, Reimann F, Halban PA, Gromada J, Drucker DJ, Gribble FM, Ehses JA, Donath MY. Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. Nat Med. 2011 Oct 30; 17(11): 1481-9.

Escárcega RO, García-Carrasco M, Fuentes-Alexandro S, Jara LJ, Rojas-Rodriguez J, Escobar-Linares LE, Cervera R. Insulin resistance, chronic inflammatory state and the link with systemic lupus erythematosus-related coronary disease. Autoim Rev. 2006; 6: 48-53.

Evenson KR, Catellier DJ, Gill K, Ondrak KS, McMurray RG. Calibration of two objective measures of physical activity for children. Journal of sports sciences. 2008;26(14):1557-65.

Ferrannini E, Muscelli E, Natali A, Gabriel R, Mitrakou A, Flyvbjerg A, Golay A, Hojlund K, Relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk (RISC) project investigators. Association of fasting glucagon and proinsulin concentrations with insulin resistance. Diabetologia. 2007 Nov; 50(11): 2342-7.

Ferrannini E, Natali A, Muscelli E, Nilsson PM, Golay A, Laakso M, Beck-Nielsen H, Mari A, RISC investigators. Natural history and physiological determinants of changes

in glucose tolerance in a non-diabetic population: the RISC Study. Diabetologia. 2011 Jun; 54(6): 1507-16.

Freedson PS, Melanson E, Sirard J. Calibration of the computer science and applications, Inc. accelerometer. Medicine and science in sports and exercise. 1998;30(5):777-81.

Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MI, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. J Pediatr (Rio J). 2007 Nov; 83 (5 Suppl): S192-203. Epub 2007 Nov 8.

Funauchi M, Shimadzu H, Tamaki C, Yamagata T, Nozaki Y, Sugiyama M, Ikoma S, Kinoshita K. Survival study by organ disorders in 306 Japanese patients with systemic lupus erythematosus: results from a single center. Rheumatol Int, 2007; 27: 243-9.

Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. J Rheumatol. 2002; 29: 288-91.

Groop L. “Pathogenesis of type 2 diabetes: the relative contribution of insulin resistance and impaired insulin secretion”. International Journal of Clinical Practice. Supplement, n. 113, pp. 3–13, 2000.

Haskell WL, I-Min L, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical activity and public health - Updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. Circulation. 2007; 116:1081-1093.

Hawley JA. Adaptations of skeletal muscle to prolonged, intense endurance training. Clin Exp Pharmacol Physiol 2002; 29: 218–222.

Heller T, Ahmed M, Siddiqqi A, Wallrauch C, Bahlas S: Systemic lupus erythematosus in Saudi Arabia: morbidity and mortality in a multiethnic population. Lupus 2007; 16: 908-14.

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1997; 40:1725.

Hu FB, Van Dam RM, Liu S. Diet and risk of type II diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. Diabetologia (2001), 44, 805-811.

Jacobsen S, Petersen J, Ullman S, Junker P, Voss A, Rasmussen JM, Tarp U, Poulsen LH, van Overeem Hansen G, Skaarup B, Hansen TM, Pødenphant J, Halberg P. Mortality and causes of death in 513 Danish patients with systemic lupus erythematosus. Scand J Rheumatol J Rheumatol 1999; 28: 75-80.

Jaggi S, Sehra S, Sehra D. Pathophysiology of insulin resistance. JCD, vol.2, n.1.2015.

Kahn SE. The importance of B-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab, vol.86, Issue 9, 2001.

Kahn SE, Carr DB, Faulenbach MV, Utzschneider KM. An examination of beta-cell function measures and their potential use for estimating beta-cell mass. Diabetes Obes Metab. 2008 Nov; 10 Suppl 4:63-76.

Kasitanon N, Magder LS, Petri M. Predictors of survival in systemic lupus erythematosus. Medicine (Baltimore). 2006; 85: 147-56.

Kraniou GN, Cameron-Smith D, Hargreaves M. Effect of short-term training on GLUT-4 mRNA and protein expression in human skeletal muscle. Exp Physiol 89:559-563, 2004.

Kraniou GN, Cameron-Smith D, Hargreaves M. Acute exercise and GLUT-4 expression in human skeletal muscle: influence of exercise intensity. J Appl Physiol 101:934-937, 2006.

Laakso M, Kuusisto J. Insulin resistance and hyperglycaemia in cardiovascular disease development. J. Nat. Rev. Endocrinol. 10, 293-302 (2014).

Lilleby V, Haugen M, Morkrid L, Froslie FK, Holven KB, Forre O. Body composition, lipid and lipoprotein levels in childhood-onset systemic lupus eryhtematosus. Scandinavian Journal of Rheumatology, vol.36, Issue 1, 2007.

Magadmi ME, Ahmad Y, Turkie W, Yates AP, Sheikh N, Bernstein RM, Durrington PN, Laing I, Bruce IN. Hyperinsulinemia, insulin resistance, and circulating oxidized low density lipoprotein in women with systemic lupus erythematosus. J Reumat. 2006; 33: 50-56.

Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger Jr TA, Jansen-McWilliams L, D'Agostino RB, Kuller LH. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham study. Am J Epidemiol. 1997; 145:408–15.

Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. Int J Obes Relat Metab Disord. 2002 Nov; 26(11): 1407-33.

Marques-Vidal P, Bastardot F, von Känel R, Paccaud F, Preisig M, Waeber G, Vollenweider P. Association between circulating cytokines levels, diabetes and insulin resistance in a population-based sample (CoLaus study). Clin Endocrinol (Oxf.). 2013 Feb; 78(2): 232-41.

Mastaglia FL, Garlepp MJ, Phillips BA, Zilko PJ. Inflamatory myopathies: clinical, diagnostic and theurapeutic aspects. Muscle Nerve. 2003; 27: 407-425.

Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. Diabetes Care, vol. 22, n.9, Sep 1999.

Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia. 1985 Jul; 28(7): 412-9.

McCarthy HD, Ellis SM, Cole TJ. Central overweight and obesity in British youth aged 11–16 years: cross sectional surveys of waist circumference. BMJ 2003; 326.

McClenaghan NH. Determining the relationship between dietary carbohydrate intake and insulin resistance. Nutrition Research Reviews (2005), 18, 222-240.

McDonough AK, Curtis JR, Saag KG. The epidemiology of glucocorticoid-associated adverse events. Curr Opin Rheumatol. 2008 Mar; 20(2): 131-7.

McGee SL, Hargreaves M. Exercise and myocyte enhancer factor 2 regulation in human skeletal muscle. Diabetes 53: 1208-1214, 2004.

Mok CC, Mak A, Chu WP, To CH, Wong SN. Long term survival of southern Chinese patients with systemic lupus erythematosus. A prospective study of all age-groups. Medicine 2005; 84: 218-24.

Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. Am J Physiol Endocrinol Metab 294: E15–E26, 2008.

Muntner P, He J, Chen J, Fonseca V, Whelton PK. Prevalence of non-traditional cardiovascular disease risk factors among persons with impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, diabetes, and the metabolic syndrome: analysis of the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). Ann Epidemiol. 2004 Oct; 14(9): 686-95.

Nicklas BJ. Effects of endurance exercise on adipose tissue metabolism. Exerc Sport Sci Rev 1997; 25: 77-103.

Pauli JR, Cintra DE, Souza CT, Ropelle ER. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistencia à insulina no músculo esquelético. Arq BrasEndocrinol Metab. 2009; 53-4.

Penn SK, Kao AH, Schott LL, Elliott JR, Toledo FGS, Kuller L, Manzi S, Wasko MCM. Hydroxychloroquine and glycemia in women with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 2010; 37(6): 1136-1142.

Perandini LA, Sales-de-Oliveira D, Mello SBV, Camara NO, Benatti FB, Lima FR, Borba E, Bonfa E, Sá-Pinto AL, Roschel H, Gualano B. Exercise training can attenuate the inflammatory milieu in women with systemic lupus erythematosus. Journal of Applied Physiology. Sep 2014, vol.117, n.6, 639-647.

Pereira LO, Lancha AH Jr. Effect of insulin and contraction up on glucose transport in skeletal muscle. Prog Biophys Mol Biol. 2004 Jan; 84(1):1-27.

Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW, DePaoli AM, Taylor SI, Gorden P, Shulman GI. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. J Clin Invest. 2002 May; 109(10): 1345-50.

Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. J Appl Physiol. 2005; 98(4): 1154-1162.

Petty RE, Laxer RM. Systemic lupus erythematosus. In: Cassidy JT, Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, editors. Textbook of Pediatric Rheumatology, 5th edn. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, pp. 342-91.

Plomgaard P, Penkowa M, Pedersen BK. Fiber type specific expression of TNF-alpha, IL-6 and IL-18 in human skeletal muscles. Exerc Immunol Rev. 2005, 11: 53-63.

Poetker DM, Reh DD. A comprehensive review of the adverse effects of systemic corticosteroids. Otolaryngol Clin North Am. 2010 Aug; 43(4): 753-68.

Polacow VO, Scagliusi FB, Lancha Jr. AH. Validation of a portion-size measurement aid in a brazilian sample. 2003. Apresentado ao The Fifth International Conference on

Dietary Assessment Methods, em janeiro de 2003, em Chiang Rai (Tailândia) e publicado no Program & Abstracts.

Posadas-Romero C, Torres-Tamayo M, Zamora-Gonzalez J, Aquilar-Herrera BE, Posadas-Sánchez R, Cardoso-Saldaña G, Ladrón de Guevara G, Solis-Vallejo E, El Hafidi M. High insulin levels and increased low-density lipoprotein oxidizability in pediatric patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2004; 50: 160–165.

Prioreschi A, Hodkinson B, Avidon I, Tikly M, McVeigh JA. The clinical utility of accelerometry in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology, 2013.

Rafacho A, Ortsäter H, Nadal A, Quesada I. Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function: implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes. J Endocrinol. 2014 Dec;223(3):R49-62.

Reaven GM, Chen YD, Golay A, Swislocki AL, Jaspan JB. 1987 Documentation of hyperglucagonemia throughout the day in nonobese and obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 64:106–110.

Ribeiro HQT, Camargo RG, Lima WP, Zanuto R, Carnevali LC Jr. Adaptações agudas promovidas por exercícios no aumento da expressão gênica, conteúdo e translocação da proteína GLUT-4 no músculo esquelético e melhora na responsividade à insulina. Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício – Volume 10, Número 2 – abril/junho 2011.

Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT-4, and skeletal muscle glucose uptake. Physiol Rev 93: 993-1017, 2013.

Roberts CK, Little JP, Thyfault JP. Modification of insulin sensitivity and glycemic control by activity and exercise. Medicine & Science in Sports & Exercise, 2013.

Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 2003;349:2399–406.

Rus V, Maury EE, Hochberg MC. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH, editors. Dubois lupus erythematosus. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007, p.34-44.

Saad MF, Khan A, Sharma A, Michael R, Riad-Gabriel MG, Boyadjian R, Jinagouda SD, Steil GM, Kamdar V. Physiological insulinemia acutely modulates plasma leptin. Diabetes. 1998 Apr; 47(4): 544-9.

Sabio JM, Vargas-Hitos JA, Navarrete N, Hidalgo-Tenorio C, Jiménez-Alonso J, Grupo Lupus Virgen de las Nieves. Effects of low or medium-dose of prednisone on insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol. 2010 Jul-Aug; 28(4): 483-9.

Sada KE, Yamasaki Y, Maruyama M, Sugiyama H, Yamamura M, Maeshima Y, Makino H. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 2006; 33: 1545-1552.

Sato EI, Bonfá ED, Costallat LTL, Silva NA, Brenol JCT, Santiago MB, Szajubok JCM, Filho AR, Barros RT, Vasconcelos M. Consenso brasileiro para o tratamento do lúpus eritematoso sistêmico (LES). Rev Bras Reumatol, v. 42, n.6, p. 362-370, nov/dez. 2002.

Sato EI. Reumatologia. Lúpus Eritematoso Sitêmico (LES). In: Guia de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP/ Escola Paulista de Medicina. São Paulo: Editora Manole Ltda; 2004: 139-154.

Smrzova A, Horak P, Skacelova M, Hermanova Z, LAngova K, Zadrazil J, Novotny D. Intima media thickness measurement as a marker of subclinical atherosclerosis in SLE

patient. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2014, 158(3):404-411.

Stolic M, Russell A, Hutley L, Fielding G, Hay J, MacDonald G, Whitehead J, Prins J. Glucose uptake and insulin action in human adipose tissue influence of BMI, anatomical depot and body fat distribution. Int J Obes Relat Metab Disord. 2002 Jan; 26(1):17-23.

Sun HO, Hu WX, Xie HL, Zhang HT, Chen HP, Zeng CH, Liu ZH, Li LS. Long-term outcome of chinese patients with membranous lupus nephropathy. Lupus 2008; 17: 56-61.

Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. Endocr Rev. 2006 Dec; 27(7): 762-78. Epub 2006 Oct 20.

Tso TK, Huang HY, Chang CK, Liao YJ, Huang WN. Clinical evaluation of insulin resistance and b-cell function by the homeostasis model assessment in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Rheum. 2004; 23: 416- 420.

Tso TK, Huang WN. Elevation of fasting insulin and its association with cardiovascular disease risk in women with systemic lupus erythematosus. Rheumatol Int. 2009; 29: 735-742.

Tura A, Kautzky-Willer A, Pacini G. Insulinogenic indices from insulin and C-peptide: comparison of beta-cell function from OGTT and IVGTT. Diabetes Res Clin Pract. 2006 Jun; 72(3): 298-301.

Vessby B. Dietary fat and insulin action in humans. British Journal of Nutrition (2000), 83, Suppl.1, S91-S96.

Yang G, Li C, Gong Y, Fang F, Tian H, Li J, Cheng X. Assessment of insulin resistance in subjects with normal glucose tolerance, hyperinsulinemia with normal blood glucose

tolerance, impaired glucose tolerance and newly diagnosed type 2 diabetes (prediabetes insulin resistance research). Journal of Diabetes Research, 2016.

Yap DY, Lai KN. Cytokines and their roles in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus: from basics to recent advances. J Biomed Biotechnol, 2010.

Wang X, Bao W, Liu J, Ouyang YY, Wang D, Rong S, Xiao X, Shan ZL, Zhang Y, Yao P, Liu LG. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. Diabetes Care. 2013 Jan; 36(1): 166-75.

Wong M, Tsao BP. Current topics in human SLE genetics. Seminars in Immunology, v. 28, p.97-107, 2006.

Zhang C, Rexrode KM, Van Dam RM, Li TY, Hu FB. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality. Circulation. 2008; 117: 1658-1667.

Zhang CY, Lu LJ, Li FH, Li HL, Gu YY, Chen SL, Bao CD. Evaluation of risk factors that contribute to high prevalence of premature atherosclerosis in chinese premenopausal systemic lupus erythematosus patients. J Clin Rheumatol. 2009 Apr;15(3):111-6.

Zierath JR. Invited review: exercise training-induced changes in insulin signaling in skeletal muscle. J Appl Physiol. 2002; 93: 773–781.