

Marcadores de Inflamação em Pacientes Com Diabetes Mellitus Tipo 1

artigo original

RESUMO

Para avaliar a resposta inflamatória, representada pelas proteínas de fase aguda, estudamos 48 pacientes com diabetes tipo 1 (DM1) sem complicações [23F:25M; 19,9±9,8 anos e 5 (1-21) anos de duração da doença] e 66 indivíduos sem DM, pareados quanto ao sexo, idade e estadiamento puberal (critérios de Tanner). Foram dosadas proteína C reativa (PCR), α 1-glicoproteína ácida (α -1GPA) e fibrinogênio, por imunoturbidimetria. A taxa de excreção de albumina (EUA) foi determinada por RIE, em amostra de urina de 10h, definindo-se normoalbuminúria como duas taxas de EUA <20 μ g/min. Pacientes com DM1 foram avaliados quanto à presença de retinopatia por oftalmoscopia indireta. No DM1 os níveis de PCR [0,23 (0,01-2,90) vs. 0,14 (0,01-2,41) mg/dl, p= 0,0172] e de α 1-GPA [53,5 (37-115) vs. 40 (19-78) mg/dl, p< 0,0001] foram maiores quando comparados aos sem DM. Não houve diferença em relação ao fibrinogênio. Na regressão linear múltipla em *stepwise*, tendo a α 1-GPA como variável dependente, as variáveis independentes associadas e preditoras foram a HbA1c ($r^2= 0,26$; p< 0,05) e a glicemia ($r^2= 0,26$; p< 0,05); tendo a PCR e o fibrinogênio como variáveis dependentes, nenhuma variável independente foi significativa. Na correlação de Pearson, a PCR correlacionou-se com HbA1c ($r= 0,18$; p= 0,05). Concluímos que a PCR e α 1-GPA estão aumentadas no DM1, independente da presença da microalbuminúria, retinopatia e doença macrovascular clínica. Estudo prospectivo será necessário para estabelecermos o valor preditivo destes marcadores na evolução para complicações crônicas micro e macrovasculares. (Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/2:253-260)

Descritores: Resposta inflamatória; Proteínas de fase aguda; Proteína C reativa; Fibrinogênio; Alfa-1 glicoproteína ácida; Diabetes tipo 1

ABSTRACT

Markers of Inflammation in Type 1 Diabetic Patients.

To evaluate markers of inflammation, we studied 48 patients with type 1 diabetes [DM1, 23F:25M, 19.9±9.8 years and duration of DM of 5 (1-21) years] and 66 non-DM subjects, matched for sex, age, and stages of puberty according to Tanner. C-reactive protein (CRP), α 1-acid glycoprotein (AGP) and fibrinogen were measured by turbidimetric immunoassay and urinary albumin excretion rate (AER) was determined in timed overnight urine samples by RIA. Microalbuminuria was defined when two out of three urine samples had AER ranging 20-200 μ g/min. Retinopathy was evaluated by indirect ophthalmoscopic in DM patients. The CRP and AGP levels were higher in DM1 patients as compared to controls, respectively [0.23 (0.01-2.90) vs. 0.14 (0.01-2.41) mg/dl, p= 0.0172] and [53.5 (37-115) vs. 40 (19-78) mg/dl, p< 0.0001]. Fibrinogen levels were not different between both groups. Stepwise multiple regression analysis showed that HbA1c and plasma glucose were the independents predictive variables of AGP, respectively ($r^2= 0.26$; p< 0.05 and $r^2= 0.29$; p< 0,05); CRP and fibrinogen did not correlate significantly with the independents variables. PCR correlate with HbA1c ($r= 0.18$; p= 0.05) by Pearson's correlation. In conclusion, CRP and AGP were higher in DM1 patients, without microal-

Laura J. Piccirillo
Maria de F.R. Gonçalves
Eliete L.S. Clemente
Marília de B. Gomes

Disciplina de Diabetes e Metabologia, Departamento de Medicina Interna da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ.

Recebido em 12/02/03
Revisado em 23/09/03
Aceito em 29/09/03

buminuria, retinopathy and clinical macrovascular disease. Prospective studies must be addressed to determine the influence of AGP and CRP in the development of chronic complications. (Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/2:253-260)

Keywords: Inflammation; Acute-phase response; C-reactive protein; Fibrinogen; α -1 acid glycoprotein; Type 1 diabetes

O DIABETES MELLITUS CONSTITUI um fator de risco independente para o desenvolvimento da aterosclerose (1). Os mecanismos responsáveis pelo risco aumentado da aterosclerose ainda são pouco compreendidos, mas numerosas observações suportam a teoria de que a inflamação crônica esteja envolvida no processo de progressão das alterações vasculares (2,3). Estudos recentes têm demonstrado que a aterosclerose não é simplesmente uma doença de depósito de lipídeos e que a inflamação tem papel fundamental na iniciação, progressão e desestabilização do ateroma (4).

Um marcador da atividade inflamatória é o aumento na circulação das proteínas de fase aguda produzidas pelo fígado, como a proteína C reativa (PCR), a alfa 1 glicoproteína ácida e o fibrinogênio. A PCR é uma das proteínas de fase aguda mais sensíveis, cuja concentração aumenta significativamente durante uma inflamação aguda (5). O interesse no estudo desta proteína tem crescido nos últimos anos, uma vez que pequenos aumentos em sua produção estão associados a um aumento no risco de doença cardiovascular em pacientes com angina pectoris (6) e também em indivíduos saudáveis (7). A alfa 1 glicoproteína ácida (α 1-GPA) é uma proteína de fase aguda do tipo 1, cuja secreção é regulada pela interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral- α (TNF- α), importantes mediadores da resposta inflamatória e imune (8).

Também tem sido proposto que o estado de hipercoagulabilidade encontrado no diabetes contribua, pelo menos em parte, para o processo de aterosclerose. Dentre os vários fatores hemorreológicos, o fibrinogênio elevado como fator de risco no diabetes tem merecido especial atenção (9). O fibrinogênio é uma glicoproteína, componente fundamental da cascata de coagulação. Elevações em sua concentração plasmática podem ocorrer em resposta a inflamações, infecções, traumas e estresse emocional. O tabagismo, o IMC e a idade também influenciam suas concentrações (10). Vários estudos têm demonstrado que o fibrinogênio é um importante e independente fator de risco para doença cardiovascular (10). O aumento de seus níveis representaria um estado de

hipercoagulabilidade sanguínea (11), que contribuiria, possivelmente, para a aterosclerose acelerada nestes pacientes (12,13).

A concentração do fibrinogênio está frequentemente elevada no diabetes, particularmente no tipo 2 e nos pacientes com complicações vasculares. Entretanto, mesmo nos diabéticos tipo 1 e naqueles sem complicações vasculares, os níveis do fibrinogênio têm se mostrado elevados (9). Os diabéticos com complicações microvasculares também têm maiores níveis de fibrinogênio (10) e o controle glicêmico também parece estar relacionado às suas concentrações (14). Os diabéticos podem apresentar níveis elevados da PCR e da α 1-GPA, além do fibrinogênio. A alta incidência de aterosclerose nos pacientes diabéticos faz com que a identificação dos pacientes com maior risco seja de relevante importância. Embora o aumento das proteínas de fase aguda circulantes tenha sido reportado no diabetes mellitus (2,15,16), as concentrações destas proteínas, especificamente no diabetes do tipo 1, ainda não foram estudadas sistematicamente.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta inflamatória, através de determinações sanguíneas da PCR, α 1-GPA e fibrinogênio, nos diabéticos tipo 1 sem complicações micro e macrovasculares, acompanhados no ambulatório de diabetes do Hospital Universitário Pedro Ernesto, comparando-os a um grupo de indivíduos não diabéticos.

PACIENTES E MÉTODOS

Foram estudados 48 pacientes com DM1, sendo 6 crianças, 15 adolescentes e 27 adultos, 23 (48%) do sexo feminino e 25 (52%) do sexo masculino, classificados de acordo com os critérios da Associação Americana de Diabetes (ADA) (17) e regularmente acompanhados no ambulatório de Diabetes do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade Estadual do Rio de Janeiro; com idade de $19,9 \pm 9,8$ anos, idade ao diagnóstico de $13,7 \pm 9,3$ anos, com tempo de duração do diabetes de 5 (1-21) anos, em uso de $0,8 \pm 0,4$ unidades de insulina por quilograma de peso por dia (U/Kg/dia) e ausência de retinopatia, microalbuminúria e doença macrovascular clínica. A população não diabética constituiu-se de 66 indivíduos não diabéticos, pareados quanto ao sexo, idade e estadiamento puberal pelos critérios de Tanner (18); sendo 8 crianças, 18 adolescentes e 40 adultos, 40 (61%) do sexo feminino e 26 (39%) do sexo masculino, com idade de $23,1 \pm 10,9$ anos. Os dados demográficos das populações estudadas estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Dados clínicos e demográficos dos grupos não diabéticos e diabéticos.

Variáveis	Não Diabéticos n = 66	Diabéticos n = 48
Sexo (M/F)	26/40	25/23
Idade (anos)	23,1 ± 10,9	19,9 ± 9,8
Idade diagnóstico (anos)	-	13,7 ± 9,3
Estadiamento Puberal (1/2/5)	8/18/40	6/15/27
Dose insulina (U/Kg)	-	0,8 ± 0,4
Duração diabetes (anos)	-	5,0 (1,0 – 21,0)

M: masculino; F: feminino; 1: crianças; 2: adolescentes; 5: adultos.

Todos os indivíduos foram submetidos a uma avaliação clínico-laboratorial, sendo apurados dados relativos à história de infecção recente, com aferição da pressão arterial e da temperatura axilar e a uma avaliação metabólica e bioquímica, determinando-se a glicemia, HbA1c, fibrinogênio, PCR e α 1-GPA.

A pressão arterial foi determinada com o paciente em posição deitada após repouso de cinco minutos, em intervalos de cinco e dez minutos e sentada após cinco minutos nesta posição. Utilizou-se um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio padronizado e calibrado e manguitos de tamanho recomendado para cada faixa etária. A pressão diastólica foi determinada pelo desaparecimento dos sons de Korotkoff – fase 5 para os indivíduos com idade superior a 12 anos e pela fase 4 para aqueles menores de 12 anos (19). Foram calculadas, a partir destes dados, as médias aritméticas das três aferições realizadas, respectivamente, nas três visitas ao Hospital, obtendo-se as médias da pressão arterial sistólica e diastólica.

O indivíduo foi considerado hipertenso quando a média das três aferições de pressão arterial sistólica (PAS) em posição supina aos cinco minutos foi superior ou igual a 140mmHg e/ou a de pressão arterial diastólica (PAD) foi superior ou igual a 90mmHg para os adultos ou pelo uso de medicação anti-hipertensiva (20). Nas crianças e adolescentes, foi considerada hipertensão arterial quando a média das três aferições de PAS e/ou PAD esteve acima dos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica para os percentis 90° e 95° de pressão sanguínea para idade e sexo por percentis de altura (19) ou pelo uso de medicação anti-hipertensiva (20).

Todos os pacientes colheram urina noturna da seguinte forma: às 20 horas do dia anterior à ida ao Hospital, os pacientes foram orientados a urinar e desprezar esta amostra. Iniciou-se, então, a coleta da urina noturna, onde todas as amostras foram recolhidas em recipiente limpo, sem preservativos e guardadas na geladeira, até as 6h da manhã. Os pacientes foram ori-

entados a não praticar exercícios físicos dois dias antes de iniciar a coleta de urina, não ter relação sexual no dia da coleta, não comer carne em excesso nos dias que antecederam a coleta e as mulheres foram orientadas a não fazer a coleta no período menstrual. Este procedimento foi repetido três vezes com intervalo mínimo de uma semana entre cada coleta em um período máximo (entre a primeira e a última coleta) de seis meses. Os pacientes colheram, no hospital, amostras de urina para a realização de Multistix® (Bayer, Diagnostics), urinálise e urinocultura para se excluírem outras doenças renais, cetonúria e infecção urinária. As dosagens da concentração urinária de albumina foram realizadas por radioimunoensaio (*Diagnostic Product Corporation* – Los Angeles, com sensibilidade de 0,3µg/ml e coeficientes de variação intraensaio e interensaio respectivamente de 2,7% e 3,5%).

Os pacientes diabéticos e os não diabéticos foram classificados conforme critérios considerados consenso de literatura (21), como normoalbuminúricos quando a taxa de excreção urinária de albumina (EUA) em duas amostras consecutivas era <20µg/min.

O exame de fundo de olho foi realizado pelo Serviço de Oftalmologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto nos pacientes diabéticos, por oftalmoscopia indireta com o oftalmoscópio “Welch Allyn” sob efeito de medicação midriática tópica. O fundo de olho foi classificado em normal quando ambos os olhos não apresentavam qualquer lesão retiniana.

A doença macrovascular clínica foi excluída pelo questionário da Organização Mundial de Saúde (22) e por eletrocardiograma de repouso de acordo com os critérios estabelecidos por Minnesota (23).

Consideramos como tabagismo o hábito diário de fumar.

Foram obtidas amostras de sangue de toda a população estudada após jejum mínimo de 12 horas na visita ao hospital para determinação dos seguintes exames: glicemia de jejum pelo método glicose oxidase; hemo-

globina glicosilada (HbA1c) por HPLC pelo aparelho Merk Hitachi 2.91.00 (VR: 4,0–6,2%); fibrinogênio, α 1-GPA foram determinados por turbidimetria e PCR por método ultra-sensível de nefelometria. Os valores de referência (VR) e os coeficientes de variação (CV) intraensaio e interensaio são respectivamente: Fibrinogênio (*Behring Turbitimer* – Marburg, Alemanha; sensibilidade de 35,0mg/dl) VR= 180–350mg/dl; CV intraensaio = 5,2% e interensaio = 2,5%; α 1-GPA Glicoproteína ácida (*Behring Turbitimer* – Marburg, Alemanha; sensibilidade de 40,0mg/dl) VR = 40–130mg/dl; CV intraensaio = 4,1% e interensaio = 3,2%; PCR (APTEC – Selectra Merck – Darmstadt, Alemanha; sensibilidade de 0,01mg/dl) VR= 0,0–1,0mg/dl; CV intraensaio= 2,9% e interensaio= 2,2%.

O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto.

Os dados foram analisados no programa EPI-INFO versão 6.0, sendo complementado pelo SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) para Windows versão 8.0, 1992. Todas as variáveis foram testadas quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio-padrão para as variáveis com distribuição normal e como mediana (mínimo e máximo) para as variáveis sem distribuição normal. Os seguintes testes estatísticos foram utilizados: Teste t para comparação de duas médias quando a variável em análise apresentava distribuição normal e teste não paramétrico de Mann-Whitney (Z)

quando a distribuição não era normal. Foram realizadas correlações de Pearson e Spearman para avaliar o grau de correlação entre as variáveis contínuas. A regressão múltipla em *stepwise* foi realizada após ajuste para idade, sexo, tabagismo e IMC para análise de correlações entre três ou mais variáveis contínuas selecionadas quando apresentavam $p < 0,10$ na correlação de Pearson. Nesta análise, as variáveis dependentes sem distribuição normal entraram no modelo após transformação logarítmica. Quando indicado, apresentamos o limite de confiança de 95% (95%CL). Consideramos como significativo um valor de p bi-caudal $< 0,05$.

RESULTADOS

Na comparação entre os grupos de diabéticos e não diabéticos, observamos que, das proteínas de fase aguda estudadas, a proteína C reativa [0,23 (0,01–2,90) vs. 0,14 (0,01–2,41) mg/dl; $p = 0,0172$] e a alfa 1 glicoproteína ácida [53,5 (37,0–115,0) vs. 40,0 (19,0–8,0) mg/dl; $p < 0,0001$] mostraram-se com níveis superiores nos pacientes diabéticos. Não houve diferença em relação aos níveis de fibrinogênio. Os indivíduos não diabéticos apresentaram maior IMC que os diabéticos, respectivamente (22,1 \pm 3,7 vs. 20,4 \pm 2,9kg/m²; $p = 0,01$). Não houve diferença em relação aos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica e na frequência de tabagismo. Estes dados estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Comparação dos grupos não diabéticos e diabéticos.

Variáveis	Não Diabéticos n = 66	Diabéticos n = 48	Teste Estatístico	Valor de p
PAS (mmHg)	106,3 (90,0 – 130,7)	107,6 (96,0 – 133,0)	Z = 1,093	0,2958
PAD (mmHg)	68,3 (52,6 – 82,6)	70,3 (56,0 – 91,3)	Z = 1,346	0,2458
IMC (Kg/m ²)	22,1 \pm 3,7	20,4 \pm 2,9	t = 2,4887	0,0142
Glicemia (mg/dl)	78,7 (64,0 – 97,0)	176,0 (59,0 – 489,0)		
HbA1c (%)	4,28 \pm 0,45	8,25 \pm 2,14		
Tabagismo(S/N)	3/63	4/44		0,45
Fibrinogênio (mg/dl)	210,0 (173,0 – 319,0)	210,0 (173,0 – 299,0)	Z = 0,003	0,9587
PCR (mg/dl)	0,14 (0,01 – 2,41)	0,23 (0,01 – 2,90)	Z = 5,667	0,0172*
Alfa 1 (mg/dl)	40,0 (19,0 – 78,0)	53,5 (37,0 – 115,0)	Z = 51,408	< 0,0001*

*: p com significado estatístico

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PCR: proteína C reativa; Alfa 1: alfa glicoproteína ácida.

Considerando-se as proteínas de fase aguda, observamos, na população geral estudada, correlação entre α 1-GPA e PCR ($r = 0,28$; $p = 0,004$).

Na população geral estudada, observamos correlação entre a α 1-GPA e HbA1c ($r = 0,53$; $p = 0,000$) e glicemia ($r = 0,57$; $p = 0,002$); não havendo correlação com as demais variáveis analisadas. Na análise de regressão múltipla em *stepwise* com a α 1-GPA como variável dependente, após ajuste por sexo, idade, IMC e tabagismo, as variáveis independentes significativas foram de acordo com a ordem de entrada no modelo: a HbA1c $r = 0,53$; $r^2 = 0,26$ [95% CL (0,002–0,02); B = 0,01; $p = 0,000$] e a glicemia $r = 0,57$; $r^2 = 0,29$ [95% CL (4,6 E-05 a 7,1 E-04); B = 3,7 E-04; $p = 0,000$]. Observamos correlação entre PCR e HbA1c ($r = 0,18$; $p = 0,05$) e tendência com a glicemia ($r = 0,16$; $p = 0,07$), não havendo correlação com as demais variáveis analisadas. Na análise de regressão múltipla em *stepwise* com a PCR como variável dependente, nenhuma variável independente foi significativa. Observamos tendência à correlação entre fibrinogênio e IMC ($r = 0,17$; $p = 0,07$), não havendo correlação com as demais variáveis analisadas.

Na análise intra-grupo das proteínas de fase aguda estudadas não observamos correlação entre α 1-GPA e glicemia e HbA1c no grupo de diabéticos; no grupo controle observamos correlação entre fibrinogênio e IMC ($r = 0,25$; $p = 0,041$) e HbA1c ($r = 0,25$; $p = 0,044$).

DISCUSSÃO

Os diabéticos podem apresentar níveis elevados das proteínas de fase aguda, como a proteína C reativa, a alfa 1 glicoproteína ácida e o fibrinogênio, cujo significado difere dependendo do estágio da doença. No início da doença, a reação inflamatória resulta em um aumento de citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral α (TNF- α), a interleucina 1 β (IL1 β) e a interleucina 6 (IL 6), que apresentam uma inter-relação com as proteínas de fase aguda (24). Com a evolução da doença, a persistência destas proteínas em níveis acima do normal representaria um estado de inflamação crônica leve, que poderia ser um dos fatores responsáveis pela aterosclerose acelerada desta população (2,25). Recentemente, foi demonstrado aumento da PCR em pacientes diabéticos tipo 1, associado a uma maior espessura da camada íntima endotelial, que é considerado um indicador da aterosclerose pré clínica (24).

A proteína C reativa aumenta em resposta a vários estímulos e seu papel como um marcador de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular

tem sido investigado em pacientes diabéticos e em indivíduos saudáveis (26).

A alfa 1 glicoproteína ácida também pode estar aumentada nos pacientes diabéticos como um marcador da inflamação, seu papel ainda não está bem definido, mas sabe-se que envolve regulação da resposta imune (8). R. Guillot e cols. (27) descreveram, recentemente, que a α 1-GPA seria necessária para a manutenção da permeabilidade capilar normal no mesentério e nos glomérulos renais. É relatado que os níveis da α 1-GPA têm relação com a idade, o sexo, com a dor crônica, estado nutricional e doença (28). Um estudo realizado com 44 diabéticos do tipo 2 demonstrou um aumento da α 1-GPA nestes pacientes, principalmente quando apresentavam síndrome metabólica, comparados ao controle (29). Outros estudos também demonstraram aumento da α 1-GPA em pacientes diabéticos tipo 2 (3,16), sendo que em um deles este aumento foi preditor da mortalidade cardiovascular (16). Recentemente, foi demonstrado que altos níveis de α 1-GPA foram preditores de evolução para o diabetes tipo 2 (30).

É descrito na literatura, por diversos estudos epidemiológicos, o papel do fibrinogênio plasmático como um fator de risco independente para o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral na população em geral (31,32).

Em nosso estudo, não houve diferença nos níveis plasmáticos de fibrinogênio entre os diabéticos e os não diabéticos. El Khawand e cols. (33) também não observaram níveis de fibrinogênio aumentados em pacientes diabéticos quando comparados aos indivíduos não diabéticos. No estudo desenvolvido por Gnada e Arkin (9), os níveis de fibrinogênio estavam levemente aumentados nos diabéticos tipo 1 em comparação ao controle, mas o principal fator responsável por este aumento foi a presença concomitante de complicações vasculares. O diabetes, como fator independente, é minimamente responsável pelos níveis de fibrinogênio aumentados que podem ocorrer nos pacientes acometidos por esta patologia (34). Vários fatores como a doença vascular, a idade, o fumo e a obesidade (35), e ainda a hiperglicemia e o hiperinsulinismo (36-38) talvez tenham um papel importante nos níveis do fibrinogênio e devem também ser analisados. Como a maioria dos fatores associados aos níveis elevados de fibrinogênio descritos em outros estudos (obesidade, idade mais avançada, complicações vasculares) não estava presente nos pacientes diabéticos por nós estudados e, como o fumo era pareado com o grupo de indivíduos não diabéticos, isso poderia justificar a ausência das alterações nas

concentrações do fibrinogênio em nosso estudo. Jensen e cols. (39) reportaram um aumento progressivo nos níveis de fibrinogênio com o aumento da severidade da proteinúria. Greaves e cols. (40) não encontraram diferença entre os diabéticos tipo 1 normoalbuminúricos e microalbuminúricos em relação aos níveis do fibrinogênio, mas observaram que os pacientes com EUA $>200\mu\text{g}/\text{min}$ apresentavam maiores concentrações.

Em relação às outras duas proteínas de fase aguda dosadas em nosso estudo, houve uma diferença significativa entre os grupos de diabéticos e não diabéticos, sendo evidenciado que os diabéticos apresentaram níveis maiores tanto da PCR, quanto da $\alpha 1$ -GPA.

As concentrações plasmáticas da PCR são determinadas apenas por sua taxa de produção (41), sugerindo que seu aumento nos diabéticos tipo 1 não tenha relação com alterações na função renal que estes pacientes possam apresentar.

Um estudo de caso-controle com 40 pacientes portadores de diabetes tipo 1, não fumantes e sem complicações macrovasculares (2), demonstrou um aumento da PCR nos diabéticos em relação ao controle, mesmo após a exclusão dos 10 pacientes com microalbuminúria. Este estudo ainda mostrou uma associação entre concentrações elevadas da PCR e ativação endotelial, avaliada pelo fator de von Willebrand, sugerindo que o aumento da PCR nos diabéticos tipo 1 não seja causado pelo desenvolvimento ou pela presença de complicações microvasculares, mas talvez preceda o aparecimento desta complicação.

Uma série de estudos demonstram uma associação (5,26,42) e uma correlação (6,43) positiva entre a PCR e o IMC, evidenciando que os obesos têm concentrações mais elevadas desta proteína, o que suporta a idéia de que um estado de inflamação sistêmica leve e crônica esteja presente na obesidade (44). Em nosso estudo, não observamos tal correlação, possivelmente devido ao fato dos pacientes diabéticos terem apresentado uma média de IMC menor que 25.

Relativamente, poucos estudos sobre a associação da PCR e diabetes tipo 1 têm sido publicados. A PCR tem-se mostrado com maiores concentrações em pacientes diabéticos tipo 2 ou com intolerância à glicose que em indivíduos controle (15). Devido ao fato dos pacientes diabéticos apresentarem um risco aumentado de doença cardiovascular, o aumento nos níveis da PCR poderia refletir, em parte, o componente inflamatório do processo aterosclerótico, tão prevalente entre os indivíduos acometidos pelo diabetes. E ainda, uma resposta inflamatória talvez possa ser desencadeada dentro dos mecanismos fisiopatológicos do diabetes.

Vários mecanismos possíveis poderiam induzir um estado inflamatório crônico e moderado no diabetes, representado pelo aumento das proteínas de fase aguda, um dos principais seria a baixa insulinemia no sistema porta, o que propiciaria um aumento da produção destas proteínas pelo fígado, que normalmente é inibida pela insulina (45). Outros mecanismos incluem o aumento do *stress* oxidativo induzido pela hiperglicemia, ativação de macrófagos e a indução de citocinas (2). Uma das conseqüências fisiopatológicas da hiperglicemia é o fenômeno de glicação não enzimática e a formação de produtos finais da glicação avançada (46), estes produtos podem ativar os macrófagos, aumentar o *stress* oxidativo (2) e induzir nos macrófagos a síntese de interleucina-1 e do fator de necrose tumoral- α , que estão relacionados ao aumento de algumas proteínas de fase aguda (47). Uma outra possibilidade seria que o aumento nos níveis da PCR estaria relacionado às citocinas derivadas do tecido adiposo visceral e subcutâneo abdominal (48), como a interleucina-6, que estimularia a produção desta proteína pelo fígado (49), reforçando o que já foi discutido a respeito da associação entre obesidade e PCR, mas que, provavelmente, não ocorre em diabéticos tipo 1, predominantemente magros, conforme nossa amostra. No nosso estudo, os indivíduos não diabéticos tiveram maior peso e menores níveis de PCR e $\alpha 1$ -GPA, ratificando que possivelmente o principal mecanismo seja o *stress* oxidativo induzido pela hiperglicemia.

Na análise multivariada na população geral, as variáveis independentes preditivas e associadas à $\alpha 1$ -GPA foram a HbA1c e a glicemia, que explicaram 29% da variabilidade desta proteína de fase aguda.

Uma das limitações do nosso estudo foi o pequeno número de pacientes e o uso do questionário da OMS e do código de Minnesota de 12 derivações no ECG de repouso para diagnóstico de doença cardiovascular clínica. Embora todos os pacientes com possível doença cardiovascular tenham sido excluídos do estudo, há possibilidade de que pacientes com processo aterosclerótico pré-clínico tenham sido incluídos. Recentemente, diferentes estudos em pacientes jovens com diabetes mellitus tipo 1 demonstraram que altos níveis de PCR estiveram correlacionados com espessamento da camada íntima-média da carótida, um índice sub-clínico da aterosclerose inicial desta artéria (25), e associado com calcificação das artérias coronárias, um índice de aterosclerose coronariana (50). Ambos os estudos mostraram que altos níveis de PCR foi um fator de risco independente da presença do Diabetes tipo 1.

Além disso, devido ao desenho do nosso estudo e de nossa amostra ser constituída de pacientes sem complicações crônicas, nós não podemos estabelecer se há uma relação causal e temporal entre proteínas de fase aguda e microalbuminúria e/ou retinopatia. Entretanto, um estudo prospectivo recente com pacientes com diabetes tipo 2 demonstrou que a microalbuminúria foi, entre outros fatores, preditora de altos níveis de PCR, fibrinogênio e marcadores da função endotelial, sugerindo uma inter-relação entre função endotelial, inflamação crônica e microalbuminúria (51).

Concluimos que o aumento das proteínas de fase aguda, em nosso trabalho representadas pela alfa 1 glicoproteína ácida e pela proteína C reativa, ocorreu nos diabéticos tipo 1 normoalbuminúricos, sem retinopatia e sem doença macrovascular clínica. Estudos prospectivos poderão determinar se este estado de inflamação crônica, que provavelmente existe nestes pacientes, estaria relacionado ao processo de aterosclerose acelerado e ao desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio da FAPERJ, processo número E26/171605199.

REFERÊNCIAS

1. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 1979;241:2035-8.
2. Schalkwijk CG, Poland DCW, VanDijk W, Kok A, Emeis JJ, Dräger AM, et al. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in type 1 diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation. *Diabetologia* 1999;42:351-7.
3. Ebeling P, Teppo AM, Koistinen HA, Vikari J, Rönnemaa T, Nissen M, et al. Troglitazone reduces hyperglycaemia and selectively acute-phase serum proteins in patients with type II diabetes. *Diabetologia* 1999;42:1433-8.
4. Yu H, Rifai N. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: from theory to therapy. *Clin Biochem* 2000;33:601-10.
5. Cook GD, Mendall MA, Whincup PH, Carey IM, Ballam L, Morris JE, et al. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000;149:139-50.
6. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SDM, Gallimore JR, Pepys MM. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. *Lancet* 1997;349:462-6.
7. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.
8. Kamori T, Nonaka A, Maruyama T, Otagiri M. Effect of clarithromycin on α 1-acid glycoprotein levels in normal and diabetic rats. *Res Comm Mol Path Pharm* 1998;101:233-40.
9. Ganda OP, Aarkin CF. Hyperfibrinogenemia. An important risk factor for vascular complications in diabetes. *Diabetes Care* 1992;15:1245-50.
10. Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a Cardiovascular Risk Factor: A Meta-Analysis and Review of the Literature. *Ann Intern Med* 1993;118:956-63.
11. Ceriello A, Pirisi M, Giacomello R, Stel G, Falletti E, Motz E, et al. Fibrinogen plasma levels as a marker of thrombin activation: new insights on the role of fibrinogen as a cardiovascular risk factor. *Thromb Haem* 1994;71(5):593-5.
12. Ceriello A, Taboga C, Giacomello R, Falletti, Stasio GE, Motz E, et al. Fibrinogen plasma levels as a marker of thrombin activator in diabetes. *Diabetes* 1994;43:430-2.
13. Ceriello A. Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia* 1993;36:1119-25.
14. Ceriello A, Mercuri F, Fabro D, Giacomello R, Stel G, Taboga C, et al. Effect of intensive glycaemic control on fibrinogen plasma concentrations in patients with type II diabetes mellitus. Relation with b-fibrinogen genotype. *Diabetologia* 1998;41:1270-3.
15. McMillan DE. Increased levels of acute-phase proteins in diabetes. *Metabolism* 1989;38(11):1042-6.
16. Christiansen MS, Hommel E, Magid E, Rasmussen BF. Orosomucoid in urine predicts cardiovascular and over-all mortality in patients with Type II diabetes. *Diabetologia* 2002;45:115-20.
17. The Expert Committee on The Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
18. Tanner JM. **Growth at adolescence**. 2nd ed. Oxford: Blackwell, 1962.
19. National High Blood Pressure Education Program Working Group on Hypertension Control in Children and Adolescents Update on the 1987 task force report on high blood pressure in children and adolescents: a working group report from the national high blood pressure education program. *Pediatrics* 1996;88(4):649-58.
20. The Sixth Report of The Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Intern Med* 1997;157:2413-45.
21. Garber AJ. (Chair) Consensus development conference on the diagnosis and management of nephropathy in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1994;17:1357-61.
22. Rose GA, Blackburn H, Gillum RF, Phineas RJ. Cardiovascular Survey Methods. *WHO Monograph Series* 1982;(56):162-5.
23. Blackburn H, Keys A, Simonson E, Rautaharju P, Punsar S. The electrocardiogram in population studies: a classification system. *Circulation* 1960;(21):217-33.

24. Romano M, Pomilio M, Vigneri S, Falco A, Chiesa PL, Chiarelli F, et al. Endothelial Perturbation in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. **Diabetes Care** 2001;24(9):1674-8.
25. Hayaishi-Okano R, Yamasaki Y, Katakami N, Ohtoshi K, Gorogawa SS, Kuroda A, et al. Elevated C-Reactive Protein Associates with Early-Stage Carotid Atherosclerosis in Young Subjects with Type 1 Diabetes. **Diabetes Care** 2002;25(8):1432-8.
26. Ford ES. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among US adults. **Diabetes Care** 1999;22(12):1971-7.
27. Guillot R, Kassab JP, Ogneva V, André J, Durussel JJ, Hadjinsky P, et al. Relation between pancreatic islet cellular infiltration and plasma fibrinogen or α 1-acid glycoprotein levels in spontaneously and streptozotocin-diabetic rats: an increase in these protein levels is not necessary for inducing microcirculatory erythrocyte velocity alteration. **Pancreas** 1994;9(3):336-43.
28. Valle M, Esteban M, Rodriguez-Sasiain JM, Calvo R, Aguirre C. Characteristics of serum protein binding of felodipine. **Res Comm Mol Path Pharm** 1996;94:73-87.
29. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. **Diabetologia** 1997;40:1286-92.
30. Schmidt MI, Tracy RP, Heiss G for the ARIC investigators. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis risk in communities study): a cohort study. **Lancet** 1999;353:1649-52.
31. Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. **N Engl J Med** 1984;311:501-5.
32. Ernst E. Plasma fibrinogen – an independent cardiovascular risk factor. **J Intern Med** 1990;227:365-72.
33. El Khawand C, Lavenne E, Jamart J. Hemostasis variables in type I diabetic patients without demonstrable vascular complications. **Diabetes Care** 1993;16:1137-45.
34. Vague P, Juhan-Vague I. Fibrinogen, fibrinolysis and diabetes mellitus: a comment. **Diabetologia** 1997;40:738-40.
35. Lowe GDO. The impact of fibrinogen on arterial disease. Topics in Preventive Cardiology. **Excerpta Medica** 1993;3-11.
36. Meigs JB, Mittleman MA, Nathan DM, Tofler GH, Singer DE, Murphy-Sheehy PM, et al. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis. The Framingham offspring study. **JAMA** 2000;283(2):221-8.
37. Eliasson M, Evrin PE, Roder ME, Lindahl B, Dinesen B. Proinsulin, intact insulin, and fibrinolytic variables and fibrinogen in healthy subjects. **Diabetes Care** 1997;20:1252-4.
38. Emanuele N, Azad N, Abaira C, Henderson W, Colwell J, Levin S, et al. Effect of intensive glycemic control on fibrinogen, lipids, and lipoproteins. **Arch Intern Med** 1998;158:2485-90.
39. Jensen T, Stender S, Deckert T. Abnormalities in plasma concentration of lipoproteins and fibrinogen in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with increase urinary albumin **Diabetologia** 1988;31:142-5.
40. Greaves M, Malia RG, Goodfellow K, Mattock M, Stevens LK, Stephenson JM, et al, and The Eurodiab IDDM Complications Study Group. Fibrinogen and von Willebrand factor in IDDM: Relationships to lipid vascular risk factors, blood pressure, glycaemic control and urinary albumin excretion rate: the EURODIAB IDDM complication study. **Diabetologia** 1997;40:698-705.
41. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radiiodinated human C-reactive protein in health and disease. **J Clin Invest** 1993;91:1351-57.
42. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. Results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. **Circulation** 1999;99:237-42.
43. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factor: a population based cross sectional study. **BMJ** 1996;312:1061-5.
44. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. **JAMA** 1999;282(22):2131-5.
45. Chen JW, Jensen JS, Gall MA, Deckert M, Yokoyama H, Parving HH. Raised serum sialic acid concentration in NIDDM patients with and without diabetic nephropathy. **Diabetes Care** 1996;19:130-4.
46. Vlassara H, Bucala R, Striker L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biological, and clinical implications for diabetes and aging. **Lab Invest** 1994;70:138-51.
47. Vlassara H, Brownlee M, Manogue HR, Dinarello C, Pasagian A. Cachetin/TNF and IL-1 induced by glucose modified proteins: role in normal tissue remodeling. **Science** 1988;240:1546-8.
48. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. **J Clin Invest** 1995;95:2409-15.
49. Banks RE, Forbes MA, Storr M. The acute phase response in patients receiving subcutaneous IL-6. **Clin Exp Immunol** 1995;102:217-23.
50. Colhoun HM, Schalkwijk C, Rubens MB, Stehouwer CDA. C-reactive protein in type 1 diabetes and its relationship to coronary artery calcification. **Diabetes Care** 2002;25:1813-7.
51. Stehouwer CDA, Gall MA, Twisk JWR, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes. **Diabetes** 2002;51:1157-65.

Endereço para correspondência:

Laura Jabur Piccirillo
Av Sete de Setembro 2306, apto. 302B
40080-001 Salvador, BA