



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

DANIEL MINUTTI DE OLIVEIRA

*Resistência a insulina na hiperplasia adrenal congênita é compensada pela redução
do clearance hepático de insulina*

CAMPINAS
2021

DANIEL MINUTTI DE OLIVEIRA

RESISTÊNCIA A INSULINA NA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA É
COMPENSADA PELA REDUÇÃO DO CLEARANCE HEPÁTICO DE INSULINA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências na
área de Saúde da Criança e do Adolescente.

ORIENTADOR: PROF. DR. BRUNO GELONEZE NETO

CO-ORIENTADOR: PROF^A. DR^A. SOFIA HELENA VALENTE DE LEMOS-MARINI

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO
ALUNO DANIEL MINUTTI DE OLIVEIRA, E ORIENTADA PELO
PROF. DR. BRUNO GELONEZE NETO.

CAMPINAS
2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

OL4r Oliveira, Daniel Minutti de, 1979-
Resistência à insulina na hiperplasia adrenal congênita é compensada pela redução do clearance hepático de insulina / Daniel Minutti de Oliveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Bruno Geloneze Neto.
Coorientador: Sofia Helena Valente de Lemos-Marini.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Resistência à insulina. 2. Obesidade. 3. Hiperplasia suprarrenal congênita. 4. Células secretoras de insulina. 5. Corticosteróides. I. Geloneze Neto, Bruno. II. Lemos-Marini, Sofia Helena Valente de, 1952-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Insulin resistance in congenital adrenal hyperplasia is compensated for by reduced insulin clearance

Palavras-chave em inglês:

Insulin resistance

Obesity

Congenital adrenal hyperplasia

Beta cell

Corticosteroids

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Bruno Geloneze Neto [Orientador]

Cláudio Elias Kater

Marcos Antônio Tambascia

Denise Engelbrecht Zantut Wittmann

Maria Tereza Zanella

Data de defesa: 14-12-2021

Programa de Pós-Graduação: Saúde da Criança e do Adolescente

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-0802-6910>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/7939594216451814>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

DANIEL MINUTTI DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. BRUNO GELONEZE NETO

CO-ORIENTADOR: PROF^A. DR^A. SOFIA HELENA VALENTE DE LEMOS-MARINI

MEMBROS TITULARES:

1. PROF. DR. BRUNO GELONEZE NETO

2. PROF. DR. CLAUDIO ELIAS KATER

3. PROF^A. DR^A. MARIA TERESA ZANELLA

4. PROF^A. DR^A. DENISE ENGELBRECHT ZANTUT WITTMANN

5. PROF. DR. MARCOS ANTONIO TAMBASCIA

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 14/12/2021

À Jussara e Daniel Filho, minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, criador e Senhor do Universo, salvador da minha vida. A Ti toda a honra e glória,

A Jussara e Daniel Filho, minha família, que fazem do nosso lar o esboço do que será a eternidade,

Aos meus pais, Josué e Sônia, que me encucaram desde a tenra infância o verdadeiro sentido da vida e me arrastaram com seus exemplos de persistência, coragem e retidão, a me tornar o homem que hoje sou,

Ao Professor Bruno Geloneze, pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos, pela paciência em suportar minhas dificuldades e por me motivar ainda mais a continuar a trilhar os caminhos da ciência,

A Professora Ana Carolina Junqueira Vasques, pela disposição em ensinar os primeiros passos na prática dos clamps e contribuir com importantes e diferentes olhares no processo de construção da tese,

A Professora Sofia Lemos-Marini, pela rica convivência nos 3 anos e meio de ambulatório de Hiperplasia Adrenal Congênita. Obrigado pela contribuição com sua vasta experiência clínica, auxílio na concepção deste projeto, agendamento de pacientes e análise de dados,

Ao Professor Gil Guerra-Júnior, pela confiança e suporte em todas as fases do trabalho,

Ao Professor Ezequiel Gonçalves, pelo auxílio na execução dos experimentos e análises dos dados,

Ao Professor Andrea Tura, pela expertise nas complexas modelagens estatísticas realizadas com os dados do *clamp*, cujos resultados formaram o cerne e diferencial do trabalho de doutoramento,

Aos Professores Andrei Sposito e Licio Velloso com as suas preciosas contribuições realizadas no exame de qualificação,

A todos os mestres que me influenciaram e que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho,

A enfermeira Daniella Regiani e a Nutricionista Daniella Camilo, pelo apoio na execução dos experimentos,

Ao biólogo Antônio Calixto, pela convivência harmoniosa e competência na análise laboratorial das amostras,

A **FAPESP**, *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo*, pelo extensivo apoio ao nosso grupo por meio de financiamento para a pesquisa. Processos 2011/23460-1 e 2012/16778-8,

O presente trabalho foi realizado também com apoio do *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)*, processo 302870/2013-0

“Jesus, filho de Davi, tem misericórdia de mim!”

Lucas 18, 38

RESUMO

Contexto: Pacientes com a forma clássica da hiperplasia adrenal congênita (HAC) têm longevidade semelhante a população geral. No entanto, há evidência de um maior risco de doença cardiovascular. A necessidade de tratamento durante toda a vida com doses suprafisiológicas de corticosteroides para manutenção da vida e controle metabólico, resistência à insulina e hiperinsulinemia foram descritas em pacientes com HAC, enquanto a prevalência de diabetes tipo 2 não é maior na HAC do que na população normal. **Objetivo:** Examinar as contribuições da secreção de insulina e da depuração hepática da insulina para a hiperinsulinemia compensatória em adultos jovens resistentes à insulina com HAC clássica devido à deficiência de 21-hidroxilase (21-OHD). **Métodos:** Cinquenta e um participantes, sendo 21 controles e 30 HAC (15 com fenótipo virilizante simples e 15 perdedores de sal), feminino / masculino (33/18), idade média + desvio padrão de: $24,0 \pm 3,6$ anos, índice de massa corporal: $24,6 \pm 4,9$ kg / m² com tolerância normal à glicose, foram submetidos a um estudo de clamp hiperglicêmico. Principais medições realizadas: sensibilidade à insulina, função das células beta e depuração hepática de insulina usando modelagem apropriada. **Resultados:** Evidenciou-se um aumento da resistência à insulina nos indivíduos HAC 21-OHD. A hiperinsulinemia sistêmica foi evidenciada em pacientes com HAC. Não foram observados aumentos na taxa de secreção de insulina (função das células beta) na primeira fase ou durante o clamp hiperglicêmico. O aumento nas concentrações de insulina foi devido a uma redução de ~ 33% na depuração da insulina. **Conclusão:** indivíduos não obesos com HAC 21-OHD têm sensibilidade à insulina reduzida e resposta das células beta incapazes de compensar a resistência à insulina, provavelmente devido à exposição aos glicocorticoides. A hiperinsulinemia compensatória está relacionada à redução da depuração hepática de insulina. A adaptação exclusiva do fígado atua como um mecanismo para regular o acesso da insulina aos tecidos sensíveis à sua ação para manter a homeostase glicêmica.

Palavras-chave: resistência à insulina, obesidade, hiperplasia suprarrenal congênita, células secretoras de insulina, corticosteroides.

Abstract

Context: Congenital adrenal hyperplasia (CAH) patients have potential normal longevity. However, a greater risk for cardiovascular disease has been reported. Insulin resistance and hyperinsulinemia have been described in CAH patients, whereas the prevalence of overt type 2 diabetes is not higher in CAH than in normal population. **Objective:** To examine the contributions of insulin secretion and of hepatic insulin clearance to compensatory hyperinsulinemia in young insulin-resistant adults with classic CAH due to 21-hydroxylase deficiency (21-OHD). **Design:** Cross-sectional. **Setting:** University outpatient clinics. **Methods:** Fifty-one participants: 21 controls, and 30 CAH (15 virilizing and 15 salt-wasting phenotypes), female/male (33/18), age (mean [SD]): 24.0 (3.6) years, body mass index: 24.6 (4.9) kg/m² with normal glucose tolerance, were submitted to a hyperglycemic clamp study. **Main Outcome Measures:** Insulin sensitivity, beta cell function, and hepatic insulin clearance using appropriate modeling. **Results:** We found an increased insulin resistance in 21-OHD. The systemic insulinemia (post hepatic insulin delivery) was elevated in CAH patients. No increases were observed in insulin secretory rate (beta cell function) in the first phase or during the hyperglycemic clamp. The increase in insulin concentrations was totally due to a ~33% reduction in insulin clearance. **Conclusion:** 21-OHD non-obese subjects have reduced insulin sensitivity and beta cell response unable to compensate for the insulin resistance, probably due to overexposure to glucocorticoids. Compensatory hyperinsulinemia is most related with reduced hepatic insulin clearance. The exclusive adaptation of the liver acts as a gating mechanism to regulate the access of insulin to insulin-sensitive tissues to maintain glucose homeostasis.

Key Words: insulin resistance, obesity, congenital adrenal hyperplasia, beta cell, corticosteroids.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da esteroidogênese.....pág:21

Figura 2: Comparação entre a cortisolemia de indivíduos normais em 24 horas e em portadores da forma clássica de HAC em uso de hidrocortisona em 3 doses diárias.....pág 25

Figura 3: Ação do cortisol nos diferentes tecidos-alvo.....pág 30

Figura 4: Fatores associados que predispõem a síndrome metabólica em portadores de HAC.....pág 32

Tabela 1: Idade, Gênero, Fenótipo, Altura, Índice de Massa Corporal (IMC), e Medicações nos 30 Pacientes com Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC).....pág 39

Tabela 2: Principais dados clínicos e bioquímicos básicos entre os grupos e subgrupos de voluntários.....pág 48

Figura 5: Glicemia, Insulinemia, e Peptídeo C sérico durante o clamp hiperglicêmico de 180 minutos nos grupos HAC e Controles.....pág 50

Tabela 3: Sensibilidade à Insulina, Secreção de Insulina, Função das células beta e Clearance Hepático de Insulina. Comparação entre os grupos HAC e controle.....pág 52

Tabela 4: Correlações de Spearman entre clearance hepático de insulina e antropometria, e parâmetros metabólicos.....pág 53

Figura 6: Relações hiperbólicas entre insulinemia e índice de sensibilidade à insulina para o grupo controle e grupo CAH: figura (a): insulinemia pós hepática e índice de sensibilidade à insulina: figura (b): e clearance hepático vs Disposition Index: figura (c).....pág 54-55

Tabela 5: Dosagens hormonais no grupo CAH e controle.....pág 58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17-OHP: 17 hidroxiprogesterona

17-OHPreg: 17 hidroxipregnenolona

21-OH: 21 alfa hidroxilase

3 β HSD: 3 beta hidroxистерóide desidrogenase

ACTH: hormônio adrenocorticotrófico

AUC_{glu}: área sobre a curva para glicose

AUC_{insulina}: área sobre a curva para insulina

AUC_{peptídeo}: área sobre a curva para peptídeo C

CEACAM-1: carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1

cIMT: espessura da íntima média da artéria carótida

CT: colesterol total

DHEA: dehidroepiandrotestosterona

DI: *Disposition Index*

DI_{1stISR}: *Disposition Index* da primeira fase considerando insulinemia pré hepática (ISR)

DI_{totalISR}: *Disposition Index* de todo o clamp considerando a insulinemia pré hepática

DXM: dexametasona

FSH: hormônio folículo estimulante

GC: glicocorticoide

GIR: *glucose infusion rate*

GH: hormônio do crescimento

GLP-1: *glucagon-like peptide 1*

GLUT-4: *Glucose transporter - 4*

HAC: Hiperplasia Adrenal Congênita

HAC D21-OH: Hiperplasia Adrenal Congênita por deficiência de 21 hidroxilase

HC: hidrocortisona

HDL-C: colesterol HDL

HOMA: *homeostasis model assessment*

IDE: *insulin degrading enzyme*

IGF-1: *insulin growth factor – 1*

IMC: índice de massa corporal

IRS-1: substrato do receptor de insulina tipo 1

ISI: índice de sensibilidade à insulina

ISR: *insulin secretion rate*

IVGTT: *intravenous glucose tolerance test*

LDL-C: LDL-colesterol

LH: hormônio luteinizante

NC: não clássica

NIH: *National Institute of Health*

P450_{aro}: aromatase

P450_{c11 β} : 11 β hidroxilase

P450_{c17}: 17 alfa hidroxilase

P450_{c21}: 21 alfa hidroxilase

P450_{scc}: enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol

PI-3K: fosfaditilinositol 3-quinase

POR: P₄₅₀ oxirredutase

PKB: proteína quinase B

Pred: prednisona

RU 38486 – mifepristona (antiglicocorticóide)

StAR: *Steroidogenic acute regulatory protein*

TG: triglicérides

SV: forma virilizante simples

SW: forma perdedora de sal

SUMÁRIO

Introdução.....	pág 20
Objetivos.....	pág 29
Métodos.....	pág 37
Resultados.....	pág 38
Discussão.....	pág 59
Conclusão.....	pág 62
Referências.....	pág 63
Anexos.....	pág 71

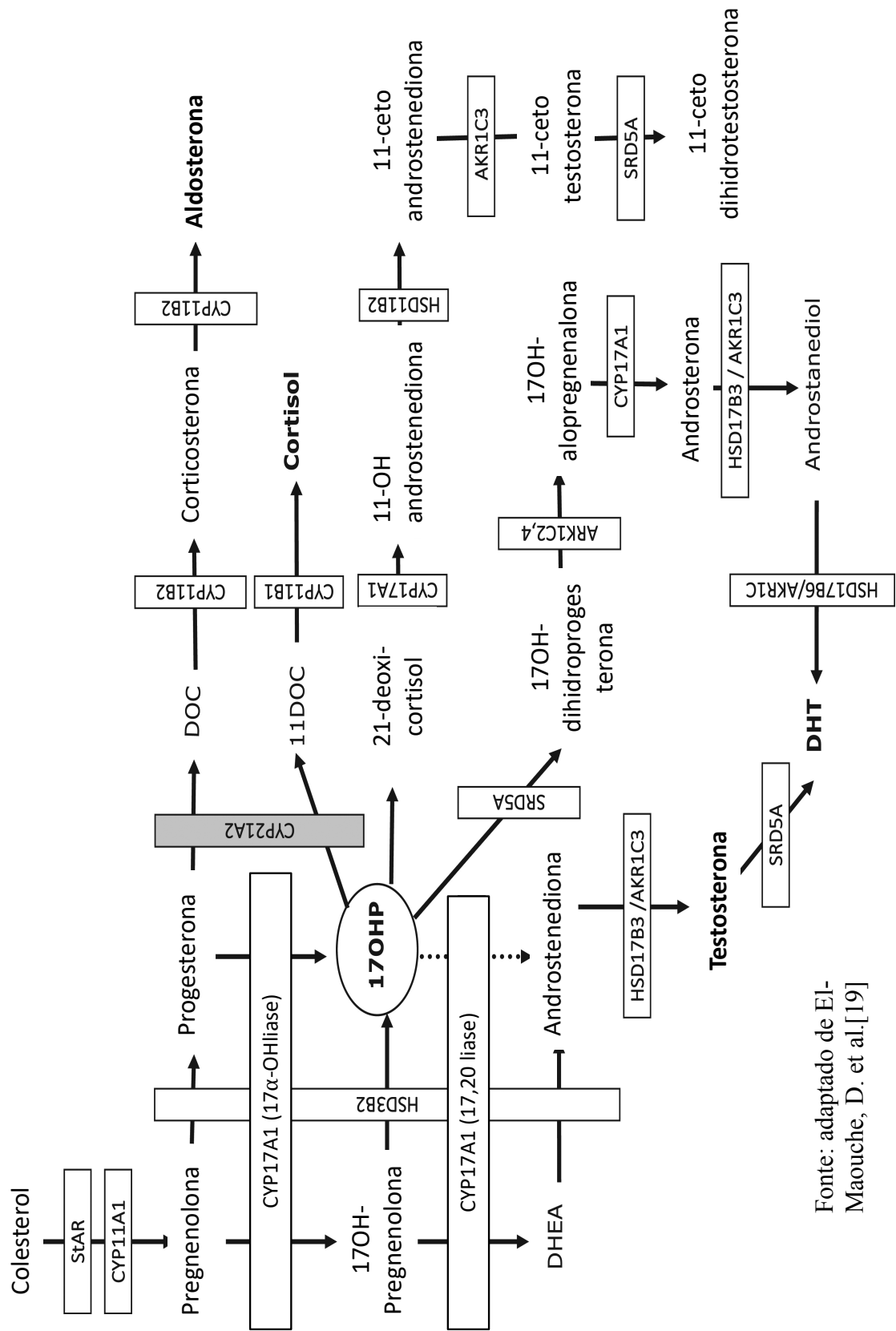
INTRODUÇÃO

Embriogênese e esteroidogênese adrenal

A glândula adrenal é um órgão endócrino situado sobre o pólo superior dos rins e é composta de córtex e medula, que têm diferentes funções e origens de desenvolvimento [1]. O córtex adrenal sintetiza hormônios esteroides através de uma série de vias metabólicas. A medula produz epinefrina e norepinefrina como parte do sistema nervoso simpático. O córtex se desenvolve a partir do tecido mesodérmico, enquanto a medula se origina da neuroectoderme [2-4]. O córtex é circundado por células mesenquimais que formam a cápsula adrenal.

A esteroidogênese ocorre nas 3 camadas do córtex adrenal: a zona glomerulosa, a mais externa, responsável pela síntese de aldosterona, a zona intermediária, denominada fasciculada onde é produzido o cortisol; e a zona reticulada, mais interna, local da biossíntese de esteroides sexuais. A matéria prima desses produtos é o colesterol e proteínas específicas estão presentes em cada zona do córtex adrenal [5-7]. A seguir, uma breve revisão dos principais passos da produção dos esteroides adrenais (Figura 1):

Clivagem da cadeia lateral do colesterol: a esteroidogênese se inicia com a conversão do colesterol em pregnenolona, catalisada pela enzima de clivagem de cadeia lateral, a P450_{scc} (gene CYP11A1). Para que o colesterol dos depósitos citoplasmáticos entre em contato com a P450_{scc}, localizada na membrana mitocondrial interna, há a ação da proteína reguladora esteroidogênica aguda (StAR), que se situa na membrana mitocondrial externa. [8]. A ação de StAR depende de sua fosforilação e interação com algumas outras proteínas, cujo mecanismo exato de ação ainda é alvo de estudos [9-10].



Fonte: adaptado de El-Maouche, D. et al.[19]

Figura 1: Representação esquemática da esteroidogênese

3 β -hidroxisteróide desidrogenase: após a síntese da pregnenolona, ela pode ser convertida em progesterona pela 3 β -hidroxiesteróide desidrogenase (3 β -HSD). Existem 2 genes 3 β -HSD humanos: 3 β -HSD1, que codifica uma isoenzima encontrada principalmente na placenta, cérebro e fígado; e 3 β -HSD2, que codifica uma isoenzima encontrada nas suprarrenais e gônadas. Ambas as isoenzimas podem converter os Δ 5-esteróides (pregnenolona, 17-hidroxipregnenolona [17OHPreg], dehidroepiandrosterona [DHEA] e androstenediol) nos Δ 4-esteróides correspondentes (progesterona, 17OH-progesterona [17OHP] e androstenediona) [11].

17 α -hidroxilase / 17,20-liase A pregnenolona também pode ser convertida em 17OH-Preg pela 17 α -hidroxilase (ou P450c17, gene CYP17A1). O CYP17A1 transcreve a enzima que tem as funções de 17 α -hidroxilase e de 17,20-liase. A 17 α -hidroxilase converte a pregnenolona em 17OHPreg e a progesterona em 17OHP. A 17,20-liase pode converter 17OH-Preg em DHEA, mas muito pouco 17OHP é convertido em androstenediona porque a enzima humana catalisa fracamente essa reação [12-13]. As expressões do gene CYP17A1 ocorrem de forma específica por zona: a enzima está ausente na zona glomerulosa adrenal, portanto, a pregnenolona é precursora da aldosterona; apenas a atividade da 17 α -hidroxilase é encontrada na zona fasciculada, portanto, a pregnenolona é convertida a cortisol; ambas as atividades estão presentes na zona reticular, dessa forma, a pregnenolona é a precursora dos esteróides sexuais com 19 carbonos [14].

P450 oxidoredutase (POR): Todas as enzimas do citocromo P450 (CYP), incluindo os produtos de transcrição dos genes CYP17A1, CYP21A2, CYP19A1 (aromatase ou P450aro), bem como as enzimas CYP que metabolizam drogas do fígado, requerem a atividade de POR, uma flavoproteína que transfere elétrons de NADPH para todas essas enzimas CYP [15].

11 β -hidroxilase e aldosterona sintase: A 11 β -hidroxilase ou P450c11 β (gene CYP11B1) e aldosterona sintase, P450c11AS ou P450aldo (gene CYP11B2) são enzimas intimamente relacionadas que catalisam as etapas finais na síntese de glicocorticóides e mineralocorticóides, respectivamente; eles são codificados por genes duplicados [16-17].

21 α -hidroxilase: a 21 α -hidroxilase ou P450c21 (gene CYP21A2), assim como a 17 α -hidroxilase, catalisa 2 reações essenciais na esteroidogênese adrenal [16]. Seu principal substrato é a 17OHP, que é convertida em 11-desoxicortisol na zona fasciculada durante a síntese do cortisol; na zona glomerulosa, ela hidroxila a progesterona em 11-desoxicorticosterona na via da aldosterona.

Aromatase: a aromatase (gene CYP19A1) converte androgênios de 19 carbonos em estrogênios de 18 carbonos [18]. A aromatase é abundantemente expressa no ovário e na placenta e é ligeiramente expressa em gordura, mas só é expressa na adrenal em certas doenças malignas.

Hiperplasia adrenal congênita – conceitos, classificação e epidemiologia

A hiperplasia adrenal congênita (HAC) é uma doença autossômica recessiva caracterizada pela deficiência da síntese de cortisol. Mais de 90% dos casos de HAC são causados por deficiência de 21-hidroxilase (D21OH) causada por mutações no gene CYP21A2 [19]. Ao longo do tempo, foi criada a divisão entre as formas clássicas e não clássicas (NC), embora atualmente se considere que as mutações

genéticas e suas manifestações fenotípicas formam um *continuum*. A forma clássica, cuja prevalência é de aproximadamente 1:15.000 nascimentos, é caracterizada por uma atividade enzimática extremamente reduzida ou até mesmo ausente com síntese diminuída de cortisol clinicamente manifesta no período neonatal. A forma perdedora de sal (SW), a mais grave da HAC clássica, não há praticamente atividade enzimática e que resulta em deficiência de cortisol e aldosterona. A ausência de feedback negativo no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal cursa com excesso de produção de andrógenos adrenais, uma vez que os esteroides precursores elevados são desviados para as vias íntegras de síntese. Se não forem tratados precocemente, os recém-nascidos com essa forma de HAC desenvolvem em curto espaço de tempo a chamada “crise perdedora de sal”, com alta letalidade, caracterizada por desidratação, hiponatremia, hipercalemia, acidose metabólica e choque. Os recém-nascidos com capacidade de sintetizar uma quantidade um pouco maior de aldosterona, são menos propensos a desenvolverem a crise perdedora de sal; no entanto, ainda não são capazes de produzirem cortisol adequadamente e possuem grave deficiência deste hormônio. Assim, apresentam elevada produção de andrógenos adrenais. A forma virilizante simples (SV), é caracterizada por possuir atividade enzimática residual de 1% a 5% em comparação com indivíduos normais. Os neonatos com a forma clássica de HAC indistintamente se beneficiam de tratamento conjunto de glicocorticoide com mineralocorticoide no início da vida, quando existe uma relativa resistência tubular renal aos efeitos retentores de sal exercidos pela aldosterona na primeira infância [20]. Na HAC, o desenvolvimento das gônadas é normal, no entanto, a elevada produção intrauterina de andrógenos adrenais é responsável pela virilização da genitália externa feminina [21], com graus variáveis de aumento do clitóris e fusão labial.

Uma vez feito o diagnóstico adequado e instituído o tratamento com glicocorticóides associados ou não com mineralocorticoides, estes não são capazes de mimetizar a secreção fisiológica desses hormônios. Ainda, há o fato da possibilidade de má aderência ao tratamento, comum no contexto das doenças crônicas. Assim, podem-se encontrar situações em que há concentrações suprafisiológicas de corticoides com diminuição de

andrógenos adrenais e vice-versa. O excesso de andrógenos pode aumentar a velocidade de crescimento na infância, avanço da idade óssea com diminuição da estatura final na vida adulta. [22]. Concentrações elevadas de andrógenos adrenais influenciam o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. A puberdade precoce central é uma possibilidade nos pacientes que permanecem longos períodos hipotratados. Mulheres com HAC controlada via de regra apresentam menarca normal [23]. No entanto, o mal controle relaciona-se com o aparecimento de acne, hirsutismo, alopecia androgenética, irregularidade menstrual e infertilidade [24]. Homens mal controlados podem apresentar testículos pequenos e tumores testiculares resultantes da hipertrofia e hiperplasia de resquícios adrenais embrionários [25].

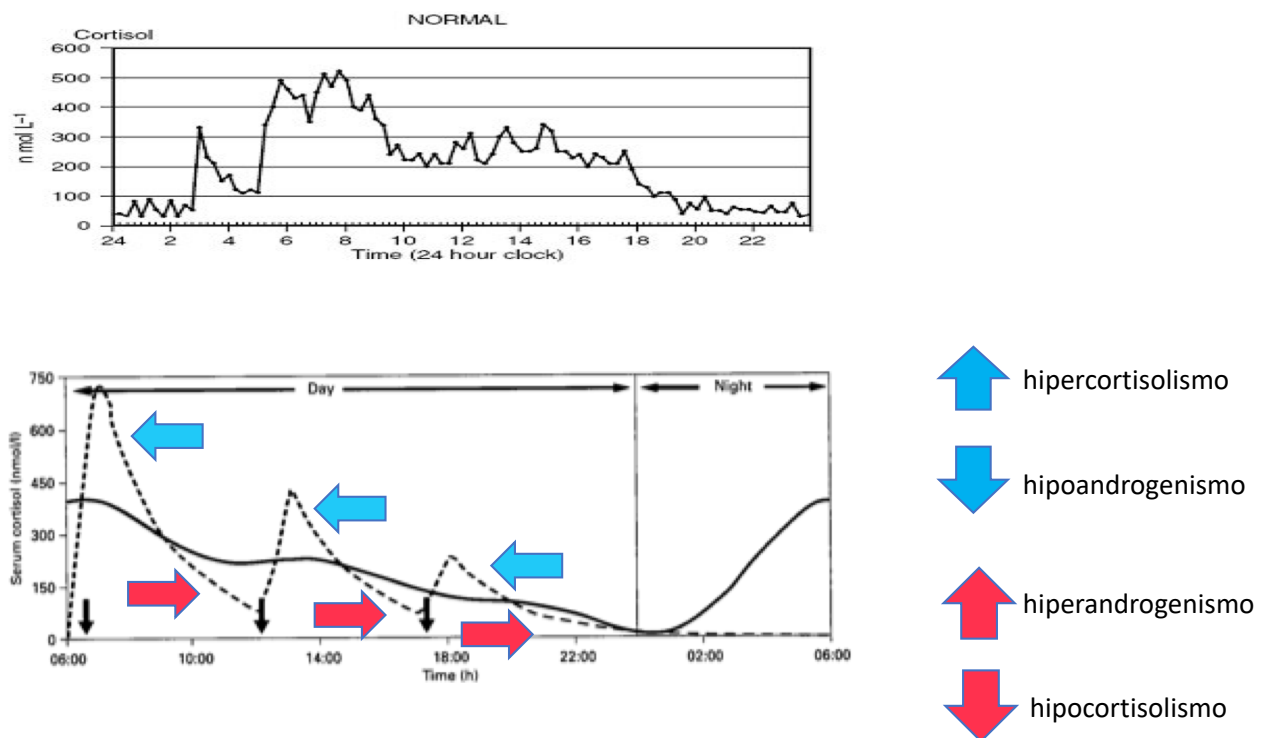


Figura 2: Comparação entre a cortisolemia de indivíduos normais em 24 horas (acima) e em portadores da forma clássica de HAC em uso de hidrocortisona em 3 doses diárias (abaixo). Adaptado de Charmandari et al. [69]

Os indivíduos afetados com mutações mais brandas tendem a procurar o médico após a infância, daí o termo HAC de “início tardio” ou “não clássica”. Esses são portadores de enzimas com atividade residual de 20% a 50%. Caracterizam-se, assim, pela produção normal de cortisol e aldosterona basal, mas concentrações aumentadas de andrógenos adrenais. Nessa população, entretanto, concentrações menores de cortisol são relatadas em até 30% dos pacientes após estimulação com hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) [26]. As crianças podem apresentar sinais de hiperandrogenismo, como adrenarca precoce, acne e avanço de idade óssea, mas muitos, especialmente os meninos, são assintomáticos. Meninas adolescentes ou mulheres adultas podem apresentar hirsutismo, alterações de regularidade menstrual, acne e infertilidade [26].

Consequências do tratamento da HAC no longo prazo

Com os avanços nos procedimentos diagnósticos da HAC-D21OH e a introdução do tratamento com glicocorticóides e mineralocorticóides a partir da década de 50, o número de óbitos que ocorriam na infância causados pelas crises de perda de sal foram reduzidos drasticamente e, conseqüentemente, houve um aumento na sobrevivência destes pacientes [19,27]. As consequências metabólicas do tratamento não-fisiológico da HAC no longo prazo ainda não estão totalmente claras e tem sido estudadas por diversos grupos pelo mundo.

Especialmente em relação ao conhecimento produzido que correlaciona a corticoterapia e seus efeitos metabólicos no metabolismo da glicose, alguns pontos merecem ser apresentados e destacados, uma vez que se tem, aqui, a base para a concepção e elaboração desse trabalho.

Em roedores, Saad et al [28] demonstraram que após tratamento por 5 dias com dexametasona 1mg/kg, não houve diminuição da

concentração do receptor de insulina no fígado. Entretanto a autofosforilação desse receptor diminuiu quase pela metade. As concentrações intracelulares de IRS-1 e PI3-kinase aumentaram, respectivamente em 73 e 25%, mas a fosforilação do IRS-1 diminuiu mais de 30% e a atividade da PI3-kinase diminuiu aproximadamente 80%. Nesse mesmo trabalho, ao se identificar os efeitos no músculo, esses não foram tão marcantes quanto no fígado e, interessante, esses foram na direção oposta aos do fígado. Assim, não houveram alterações tanto na quantidade de receptores de insulina quanto na sua fosforilação após tratamento com dexametasona. As concentrações de IRS-1 e PI3-kinase diminuíram, respectivamente, em 39 e 66%. A fosforilação do IRS-1 não estava diminuída, mas a da PI3-kinase estava em torno de 40%.

Estudos conduzidos a partir de culturas de células, usando miócitos e adipócitos, estes quando tratados com dexametasona desenvolvem redução da captação de glicose sinalizada por insulina, e cuja causa está associada a menor transdução de sinalização do receptor de insulina e menor concentração da GLUT-4 [29,30,31]. Outro estudo conduzido com ratos, que receberam dexametasona na dose de 1 mg/kg apresentaram, aproximadamente, 70% e 40% de redução na captação de glicose mediada pela insulina nos tecidos muscular e adiposo, respectivamente [32]. Esses mesmos autores demonstraram no tecido adiposo e muscular, uma diminuição da quantidade de proteína quinase B (PKB) e fosforilação de serina/treonina da PKB mediada pela insulina. Esses fenômenos foram observados pelo aumento da lipólise em resposta ao 8-bromo-AMP e mitigação dos efeitos antilipolíticos da insulina. [32]. Um fato que merece destaque é que a resistência a insulina mediada pela dexametasona também pode ocorrer independentemente da ativação do receptor de glicocorticoide. A redução da ação da insulina em adipócitos tratados com dexametasona ocorreu mesmo com o tratamento com cicloheximida ou um antagonista do receptor de glicocorticoides, o RU38486. [29]

Um estudo realizado com ratos tratados com glicocorticóides tiveram redução da captação de glicose estimulada pela insulina, fruto de

uma menor translocação do GLUT-4 para a membrana celular em miócitos [33]. Corroborando esses achados, humanos saudáveis, submetidos à ingestão durante 6 dias com prednisolona (0,8 mg / kg /dia) diminuíram a captação de glicose induzida por insulina na musculatura das pernas em 65% quando comparado ao grupo placebo [34].

Uma série de estudos evidenciaram em humanos saudáveis que a corticoterapia aumenta a produção de glicose hepática [35,36,37]. Somente um trabalho conduzido por Wajngot et. al não demonstrou tal fenômeno [38]. O aumento da produção de glicose hepática mediada pelos glicocorticóides pode ter como etiologia a gliconeogênese, já que essas drogas estimulam enzimas limitantes na cascata da gliconeogênese, como, por exemplo, fosfoenolpiruvato carboxilase e glicose-6-fosfatase [39,40]

A obesidade, especialmente associada à deposição de gordura visceral, leva à esteatose hepática [41], que por sua vez, diminui a sensibilidade à insulina nesse órgão [42].

Outro estudo envolvendo ratos conduzido por Weinstein et al [43], documentou que, no músculo, o tratamento com dexametasona por 2 dias com 0,9 mg/kg diminuiu a captação de glicose em 48% com concomitante diminuição da concentração de GLUT-4 na superfície celular também em 48%. Interessante que a quantificação dessa proteína no tecido muscular estava aumentada em aproximadamente 25%, sugerindo que há o comprometimento no recrutamento desta do citoplasma para a superfície celular.

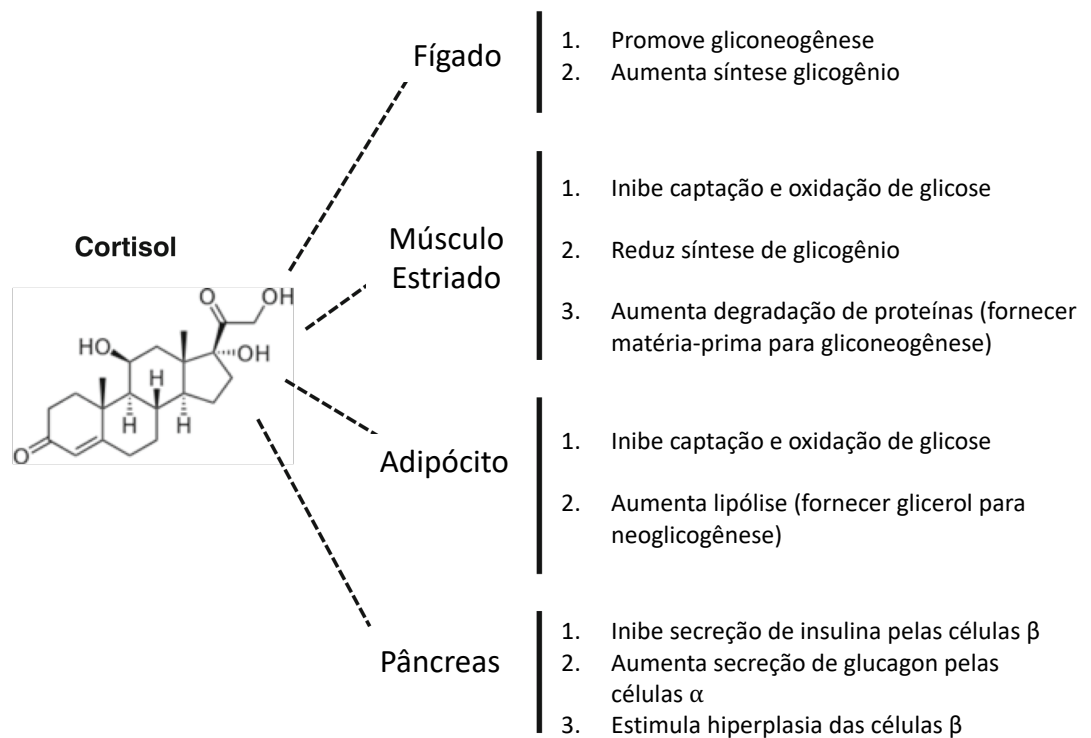
Em relação a resposta das células β pancreáticas aos glicocorticóides, depende se esse estímulo é agudo ou crônico.

In vitro, as influências diretas dos glicocorticóides (GCs) na secreção de insulina estimulada por glicose são via de regra inibitórios e já são perceptíveis em poucos minutos, conforme estudo usando ilhotas de ratos isoladas tratadas com corticosterona [44]. Essa inibição é mediada pela sinalização alfa-adrenérgica [45]. Este rápido impacto dos GCs não é reproduzido por esteróides sintéticos. Inibição da secreção de insulina

estimulada por glicose em ratos [46] e ilhotas de rato [47] são perceptíveis após a terceira hora do tratamento com dexametasona.

Estudos *in vivo*, em que houve administração aguda de glicocorticóides pode-se haver inibição da secreção de insulina. 75 mg de prednisolona em uma única dose oral [48] ou 1 mg de dexametasona [49] em indivíduos saudáveis levou a uma redução da secreção de insulina. Por outro lado, outros estudos falharam em mostrar este efeito dos glicocorticóides em homens saudáveis [50] ou ratos adultos normais [51]. É importante destacar que 24 horas após a finalização da administração dos glicocorticóides, reestabeleceram-se todos os parâmetros basais das células beta [48].

A realização de experimentos *in vitro* com culturas de células de roedores tratados cronicamente com glicocorticóides, acarreta na diminuição de secreção de insulina [46, 47, 52, 53]. A ação dos glicocorticóides nessa inibição estão ligados ao prejuízo no metabolismo oxidativo da glicose [52], ativação de canais de potássio [53], aumento na produção de espécies reativas de oxigênio [54], estresse do retículo endoplasmático [55], ativação de 11 β -HSD1 [56] e mitigação da eficiência do Ca²⁺ intracelular na resposta secretora [46,47,52].



Fonte: adaptado de Kuo T et al. [57]

Figura 3: ação do cortisol nos diferentes tecidos-alvo

O tratamento crônico in vivo com corticosteroides é responsável pela adaptabilidade das células beta pancreáticas, que, diante do aumento da resistência periférica à ação da insulina, aumentam a produção e secreção desse hormônio. Como exemplos, trabalhos em que voluntários saudáveis foram tratados com doses relativamente elevadas de dexametasona (2–15 mg) ou prednisolona (30 mg) por intervalos de tempo mais longos (respectivamente 4 e 15 dias), manteve-se a euglicemia ou um pequeno incremento na glicemia de jejum [48, 49, 58, 59, 60, 61]. Fato importante é que na quase totalidade dos estudos, os indivíduos estudados apresentavam hiperinsulinemia. Utilizando-se do clamp hiperglicêmico [58, 62] ou teste oral de tolerância a glicose [49, 59, 63] a secreção de insulina

foi maior, com significância estatística, em indivíduos tratados com glicocorticóides quando comparados com grupos controle. Semelhantemente, as concentrações de peptídeo C plasmático também estavam elevadas após administração de prednisolona em indivíduos saudáveis no estado de jejum [59] e no transcorrer de um teste de tolerância à refeição [48].

O mecanismo de adaptação que explica o estado de hiperinsulinemia parece estar associado a aumento da secreção de insulina. Isso foi evidenciado em estudos com culturas de ilhotas de ratos tratados com glicocorticóides [64, 65, 66]. Outros fenômenos que são importantes e foram estudados são o aumento de massa de células beta dependente do tempo e dose de administração de glicocorticóides [67]. De acordo com o conhecimento atual, tanto em modelos animais, quanto em humanos, o tratamento crônico com corticoides acarreta em aumento de secreção de insulina para se adaptar a resistência periférica e manter a euglicemia.

As principais causas das alterações metabólicas em pacientes com HAC parecem estar relacionadas com tratamento com corticoides em si, além da possibilidade de serem influenciadas por uma disfunção da medula adrenal e pelo hiperandrogenismo [68,69,70,71,72,73].

Diversos estudos procuraram observar o comportamento da pressão arterial nos pacientes com HAC. Algumas publicações mostraram pressões normais em repouso [74,75,76] e durante monitorização por 24 horas [77]. Não obstante, outras relataram um discreto aumento na pressão arterial sistólica diurna ou durante a monitorização durante 24 horas em comparação com controles pareados [71,78]. Os dados sobre a prevalência de hipertensão em adultos com HAC são escassos [79,80], com resultados conflitantes em estudos unicêntricos realizados em diferentes locais [81,82]. Uma revisão sistemática e meta-análise [83] concluiu que os indivíduos com HAC tinham pressão arterial sistólica e diastólica discretamente elevada. O estudo não foi capaz de medir os efeitos de várias variáveis importantes, como sexo, tipo e dose de glicocorticóide, dose de fludrocortisona e genótipo, e os vieses identificados nos trabalhos foi de moderado a alto.

A disfunção da medula adrenal, presente na forma clássica de HAC, pode levar a algumas importantes implicações metabólicas, como hiperinsulinemia e resistência à insulina, aumento nas concentrações séricas da leptina, diminuição da termogênese e da lipólise influenciadas pela deficiência de adrenalina e metanefrinas [72]. Um único estudo que utilizou calorimetria indireta, não evidenciou diminuição da taxa metabólica basal nesta população [84]. Pacientes com a forma clássica da HAC demonstraram valores significativamente menores de adrenalina e metanefrina plasmáticas e mais elevados de insulina em jejum em comparação a controles normais [72,73]. Além disso, as crianças com HAC-D21OH apresentam valores significativamente maiores de insulina jejum e de resistência à insulina, em comparação com indivíduos normais [85].

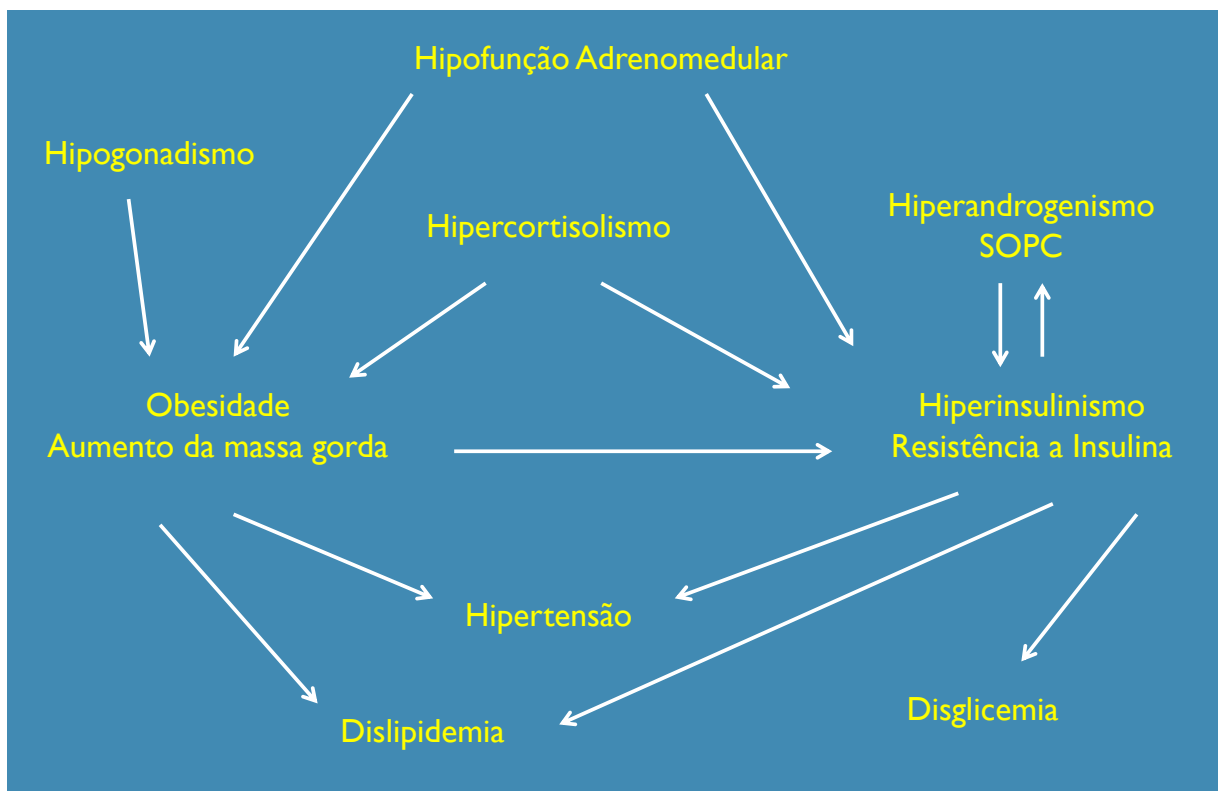


Figura 4: fatores associados que predisõem a síndrome metabólica em portadores de HAC. Adaptado de Charmandari et al. [69]

O hiperandrogenismo pode ser outro fator importante que contribui para o quadro de resistência à insulina. Esta situação leva ao aumento dos níveis séricos de GH e IGF-1, que por sua vez contribuem para um estado de hiperinsulinemia [86]. Uma condição em que há hiperinsulinemia e resistência à insulina, associada à obesidade e hipercortisolismo periódico podem promover o desenvolvimento de hipertensão, dislipidemia, alterações no metabolismo dos carboidratos e lesão endotelial, acarretando em aumento de risco para eventos cardiovasculares [87]. Um estudo mostrou ausência de descenso noturno na pressão diastólica em 84% dos pacientes com HAC, que é considerado um fator de risco cardiovascular significativo, o que é uma evidência indireta da resistência à insulina em que há perda de sua ação vasodilatadora nos vasos [88]. Pacientes com HAC com idade média de 28,5 anos apresentaram, além de sensibilidade diminuída à insulina, um aumento na espessura da íntima média em relação aos controles. A espessura aumentada das carótidas é um preditor precoce de aterosclerose e outro importante fator de risco cardiovascular [89].

Além disso, a obesidade em pacientes com HAC pode estar relacionada a alterações na leptina [90]. Apesar desse hormônio ser um supressor de apetite, indivíduos obesos parecem desenvolver resistência à sua ação, e conseqüentemente apresentarem altas concentrações séricas [90]. Desta mesma forma, já foi relatado que pacientes com HAC apresentam correlação positiva entre as concentrações séricas de leptina e o IMC tal qual ocorre na fisiologia normal, mas aparentemente com valores mais elevados do que o esperado para o grau de adiposidade [90]. Charmandari et al. [91] também mostraram concentrações mais altas de leptina em crianças com HAC-D21OH em relação aos controles normais, em contrapartida, esses resultados não foram confirmados por Isguven e cols. [92].

O risco cardiovascular é difícil de mensurar na HAC, devido a existência de poucos dos pacientes estudados com mais de 50 anos [93]. Os resultados da espessura da íntima média da carótida (cIMT), um marcador de doença endotelial, são variáveis nos diversos estudos [73, 80,

89], sem associação entre cIMT e doses cumulativas de glicocorticóides ou concentrações de andrógenos [89]. Uma revisão sistemática e meta-análise mostraram, embora pequena, mas estatisticamente significativa, maior espessura da íntima da carótida [83]. Em adolescentes e adultos com HAC, não se evidenciou remodelamento de ventrículo esquerdo [70, 94], mas disfunção diastólica leve e prejuízo no desempenho durante o exercício. Um estudo sueco analisou a morbidade cardiovascular e metabólica em pacientes com HAC, encontrando aumentos nas doenças cardiovasculares e metabólicas, incluindo prevalências mais elevadas de hipertensão, dislipidemia e fibrilação atrial [81]. A obesidade foi mais prevalente em todos os subgrupos, enquanto o diabetes aumentou nas mulheres, nos fenótipos virilizante simples e não clássica e naqueles com mais de 40 anos de idade. No entanto, os pacientes não obesos apresentaram prevalência semelhante de hipertensão e diabetes na coorte de HAC. Portanto, a HAC pode estar associada a um maior risco cardiovascular [95,96]. O aumento da mortalidade cardiovascular foi relatado na HAC na Suécia, perdendo apenas para a crise adrenal como causa de morte [81]. É necessário, portanto, um acompanhamento regular, junto com intervenções no estilo de vida, para limitar o ganho de peso, prevenir a obesidade, diabetes e dislipidemia. O monitoramento cuidadoso das doses de glicocorticóides e mineralocorticóides é importante. Mais estudos prospectivos em coortes maiores são necessários para esclarecer os mecanismos que levam a anormalidades metabólicas e cardiovasculares, e para entender os respectivos papéis dos hormônios sexuais adrenais, tratamento com glicocorticóides e mineralocorticóides ao longo da vida [97], e o impacto do histórico genético, como polimorfismos do gene do receptor de glicocorticóide e outros loci que contribuem para perfis de risco cardiometabólicos adversos [98].

A relação entre peso e HAC ainda é controverso. Há uma maior prevalência de sobrepeso e obesidade em adultos com HAC no Reino Unido [99] e na Suécia [81]. No entanto, não se observou essa diferença em estudos realizados nos Estados Unidos [100] e na França [74, 101]. O aumento da deposição de gordura troncular, em comparação com o tecido

adiposo subcutâneo, estava presente em adolescentes e adultos jovens com HAC em comparação com controles pareados por idade, sexo e IMC [101]. A presença de síndrome metabólica foi observada em quase 20% de adultos na coorte de estudo transversal do NIH [100], havendo associação com a idade, mas não com a concentração de andrógenos, esquema de tratamento instituído ou dose total de glicocorticóides administrada. Uma meta-análise mostrou aumento da resistência periférica à insulina através do índice HOMA nos pacientes com HAC. Entretanto, nenhuma diferença foi observada na glicemia de jejum, insulinemia de jejum e glicemia e insulinemia após teste de tolerância a glicose [83].

O primeiro, mas pequeno estudo com a metodologia padrão-ouro, o clamp euglicêmico hiperinsulinêmico foi realizado em indivíduos com a forma clássica de HAC, que evidenciou aumento da resistência a insulina em relação ao grupo controle [103]. Bem recentemente, um grupo brasileiro estudou, com a mesma metodologia, portadores da forma não clássica, corroborando os mesmos achados [104]. A etiopatogenia do diabetes mellitus tipo 2 está intimamente associada à presença de resistência a ação da insulina nos seus tecidos-alvo e hiperinsulinemia compensatória para manutenção da euglicemia. Essa compensação pode ocorrer por 2 mecanismos: aumento da secreção pancreática e diminuição do clearance hepático. A síntese protéica aumentada e sustentada das células β pancreáticas levam ao stress oxidativo e predispõe a desdiferenciação e apoptose dessas células especializadas. Consequentemente, estabelece-se uma insulinopenia relativa e a manifestação clínica da hiperglicemia [105].

Para que se evidencie discretas elevações da glicemia, diminuição na ordem de 2/3 da capacidade de secreção de insulina já ocorreram [106]. Uma maneira de se observar mais precocemente esse fenômeno é a realização do clamp hiperinsulinêmico, método capaz de fornecer excelentes dados a respeito da resistência periférica a insulina e capacidade de secreção de insulina aliado ao clearance hepático. Logo, é possível compreender qual o peso de cada processo (aumento secreção x diminuição do clearance hepático) na hiperinsulinemia compensatória.

Até o presente momento não há estudos que tenham observado nos indivíduos com HAC, com o método padrão-ouro, o clamp hiperglicêmico, os mecanismos envolvidos que proporcionam uma hiperinsulinemia adequada para manutenção da homeostase glicêmica.

OBJETIVOS

Primários

Determinar a resposta adaptativa das células β pancreáticas ao ambiente de resistência periférica a insulina em pacientes eutróficos com a forma clássica de HAC-D21OHD utilizando-se o clamp hiperinsulinêmico.

Determinar o papel e a influência do clearance hepático de insulina na homeostase glicêmica nesse contexto.

Secundários

Avaliar a resistência periférica a insulina nos indivíduos com HAC D21OHD através do clamp hiperglicêmico.

MÉTODOS

Delineamento do Estudo e Pacientes

Foram estudados 30 pacientes pós-púberes com HAC D21-OH (15 com a forma perdedora de sal e 15 com a forma virilizante simples) no Centro de Endocrinologia Pediátrica da Universidade de Campinas. O diagnóstico de HAC D21-OH foi confirmado pelas concentrações séricas de 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) e análise molecular do gene CYP21. A forma perdedora de sal foi confirmada clinicamente pela evolução ponderal, história de desidratação e complementada com a avaliação laboratorial e constatação de hiponatremia, hipercalemia, atividade plasmática elevada da renina e redução da concentração sérica de aldosterona. Vinte e um voluntários saudáveis foram selecionados na comunidade universitária e nas vizinhanças dos domicílios dos pacientes para compor o grupo controle, sendo pareados por idade, sexo e índice de massa corporal (IMC) com os pacientes com HAC.

Os critérios de exclusão para o estudo foram: disglícemias, disfunções tireoideanas, doença sistêmica grave, uso de anticoncepcionais orais, não aceitação por parte do paciente em realizar o estudo

A terapia de reposição com hidrocortisona, dexametasona, prednisona e fludrocortisona é mostrada na Tabela 1. A terapia foi iniciada a partir do diagnóstico da doença e mantida no esquema de dosagem apresentada pelo menos por 90 dias antes da avaliação.

O estudo foi realizado de acordo com a Declaração de Helsinque e recebeu a aprovação do Comitê de Ética Local (número 157.824). Além disso, o consentimento informado foi obtido de todos os pacientes.

Tabela 1
Idade, Gênero, Fenótipo, Altura, Índice de Massa Corporal (IMC), e Medicamentos nos 30 Pacientes com Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC)

P	Idade (anos)	Sexo	Fenótipo	Altura (cm)	IMC (kg/m ²)	Dose diária glicocorticoide	Dose diária mineralocorticoide
1	28	F	SW	157	19.4	HC 10 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	
2	20	F	SW	157	21.9	HC 12 mg + DXM 0.25 mg (8 AM-8 PM)	
3	20	M	SW	165	28	HC 15 mg + DXM 0.35 mg (8 AM-8 PM)	
4	23	M	SW	152	23.3	HC 15 mg + DXM 0.15 mg (8 AM-8 PM)	0.1 mg
5	27	F	SW	147	20.6	Pred 7.5 mg (8 AM)	0.05 mg
6	22	F	SV	162	24.2	Pred 5 mg (8 AM)	0.05 mg
7	25	F	SV	148	33.2	HC 12 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	
8	17	M	SW	167	19.7	HC 15 mg + DXM 0.30 mg (8 AM-8 PM)	0.05 mg
9	18	F	SW	155	28.8	HC 12 mg + DXM 0.25 mg (8 AM-8 PM)	
10	27	F	SW	156	19.5	HC 10 mg + DXM 0.15 mg (8 AM-8 PM)	
11	29	F	SV	158	22.3	HC 12 mg + DXM 0.25 mg (8 AM-8 PM)	
12	22	M	SV	161	29.4	Pred 7.5 mg (8 AM)	
13	24	F	SV	151	26.7	Pred 7.5 mg (8 AM)	
14	25	M	SW	156	18.5	HC 13 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	0.05 mg
15	24	F	SW	153	24.1	Pred 4 + 4.5 mg (8 AM-8 PM)	
16	22	F	SW	151	22.3	Pred 5 + 5 mg (8 AM-8 PM)	
17	27	M	SV	173	25.9	Pred 2.5 + 5 mg (8 AM-8 PM)	
18	17	M	SV	149	22.7	HC 12 mg + DXM 0.10 mg (8 AM-8 PM)	0.025 mg
19	20	F	SW	158	21.8	HC 10 mg + DXM 0.15 mg (8 AM-8 PM)	
20	29	M	SV	151	32.7	HC 10 mg + DXM 0.25 mg (8 AM-8 PM)	
21	22	F	SW	167	25	HC 10 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	
22	26	M	SV	165	24	HC 10 mg + DXM 0.25 mg (8 AM-8 PM)	
23	21	F	SV	173	36.8	HC 12 mg + DXM 0.12 mg (8 AM-8 PM)	
24	19	F	SV	162	16.9	HC 12 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	0.05 mg
25	18	F	SV	164	34	Pred 5 + 2.5 mg (8 AM-8 PM)	
26	22	F	SV	158	19.2	HC 10 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	
27	20	F	SW	148	23.9	HC 12 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	
28	18	F	SV	144	29.5	HC 10 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	
29	22	F	SW	155	23,5	HC 12 mg + DXM 0,10 mg (8 am - 8 pm)	
30	26	M	SV	164	27.3	HC 12 mg + DXM 0.20 mg (8 AM-8 PM)	0.025 mg × 2 (8 AM-8 PM)

Abreviações: DXM = dexametasona; F = feminino; HC = hidrocortisona; M = masculino; Pred = prednisona; SW = perdedora de sal; SV = virilizante simples.

Antropometria e Avaliação da Composição Corporal

Os voluntários foram submetidos a um exame antropométrico padrão detalhado por examinadores treinados, vestindo roupas leves e sem sapatos. A estatura foi determinada utilizando um estadiômetro fixado na parede com 220 cm de comprimento e subdividido em incrementos de 0,1 cm. O peso foi medido em uma balança digital eletrônica posicionada em uma superfície plana, com capacidade máxima de 200 kg e sensibilidade de 100 g. A circunferência da cintura foi mensurada em pé, com fita métrica flexível e inelástica ao nível da cicatriz umbilical, após expiração normal sem roupas na área de medição e tomando o cuidado necessário para não comprimir os tecidos. A circunferência do quadril foi mensurada no ponto mais saliente entre a cintura e a coxa [107]. A circunferência do pescoço foi medida no ponto médio do pescoço. Todas as medições foram realizadas em duplicata e em seguida feito a média. A relação cintura-quadril e IMC também foram calculados.

As composições regionais e de corpo inteiro foram medidas com aparelho de densitometria óssea usando o DEXA (GE Healthcare Lunar, Madison, WI) com o software enCORE 2011 versão 13.60 (GE Healthcare Lunar). O software do sistema estimou o conteúdo mineral ósseo, a massa gorda, a massa magra não óssea, a gordura visceral, gínóide e andróide. Os coeficientes médios de variação do conteúdo mineral ósseo, massa gorda e massa magra não óssea com medidas repetidas em 5 homens e 5 mulheres foram $0,2 \pm 0,2\%$, $0,9 \pm 1\%$ e $0,3 \pm 0,2\%$, respectivamente. A quantidade de massa livre de gordura também foi determinada usando um analisador de bioimpedância tetrapolar, modelo BIA 310 (massa corporal magra, SEE (erro padrão da estimativa) = 1,4 kg, $r = 0,97$), de acordo com o protocolo do fabricante (Biodinâmica) Corp, Seattle, WA).

Ultrassonografia abdominal

Os resultados ultrassonográficos foram divididos entre os positivos e negativos para esteatose hepática. Os graus ultrassonográficos de esteatose foram categorizados como: ausente, em que a ecotextura do parênquima hepático estava normal; esteatose leve, em que há uma discreta hiperecogenicidade hepática com visualização normal do diafragma e da veia portal; esteatose moderada, quando uma hiperecogenicidade do parênquima foi evidenciada e uma leve dificuldade em observar a veia porta e o diafragma estão presentes; esteatose grave, com evidência de uma maior ecogenicidade do parênquima e difícil ou impossibilidade de se visualizar tanto o diafragma quanto a veia portal nessa situação.

Análise Bioquímica

Para avaliação bioquímica, amostras de sangue foram coletadas às 7:00 horas após jejum de 12 horas durante a noite. A pressão arterial sistólica e diastólica foi aferida com um esfigmomanômetro aneroide. Colesterol total (CT) sérico, lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e triglicerídeos (TG) foram medidos usando técnicas enzimáticas automatizadas padrão (Technicon Instruments Co., Tarrytown, NY, EUA). Lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) foram estimados usando a equação de Friedewald et al.

As concentrações de glicose plasmática foram medidas em jejum usando o método da hexoquinase enzimática. Hemoglobina glicada foi medida por cromatografia líquida de alta performance. Para análise de sódio e potássio foi utilizado o eletrodo íon seletivo. Aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram medidos usando o método cinético (sem fosfato de piridoxal). Leptina e adiponectina foram medidas usando o método ELISA (Linco Research, Inc, St. Charles, MO, EUA). Insulina sérica, hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), androstenediona, testosterona total, 17-hidroxiprogesterona (17OHP), hormônio folículo estimulante, hormônio luteinizante, estradiol, peptídeo C, insulina, testosterona total e livre, hormônio adrenocorticotrópico e renina foram medidos

usando o Modular E170 automatizado método imunométrico quimioluminescente (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN, EUA) com um coeficiente intra-ensaio de variação de menos de 3,5%

Clamp hiperglicêmico

A secreção de insulina pelas células β foi avaliada pela técnica de clamp hiperglicêmico proposta por DeFronzo [108]. Esta técnica, padrão-ouro para a avaliação da secreção de insulina, consiste na infusão intravenosa de glicose com o objetivo de elevar a glicemia agudamente a um platô hiperglicêmico fixo durante 3 horas.

Para a realização do clamp, cada voluntário foi orientado a manter seus padrões alimentares e de atividade física de costume. No dia do clamp, cada voluntário compareceu ao laboratório às 7 horas, após jejum noturno de 8 horas.

O voluntário foi pesado em balança eletrônica digital e posteriormente conduzido ao leito permanecendo em decúbito dorsal confortável. Em seguida, são realizadas duas punções venosas com cateter tipo venocan. A primeira em veia antecubital, onde foram coletadas as amostras de sangue para a dosagem de glicose, insulina e peptídeo C. A segunda no antebraço, próximo ao cotovelo, onde foi infundida solução glicosada a 25%; ambas se mantendo pérvias com solução fisiológica contínua a 0,9%. A mão onde foi puncionada a veia antecubital permaneceu envolta por uma manta térmica aquecida a aproximadamente 40°C para arterialização do sangue venoso.

Por 30 minutos, antes do início da infusão de glicose a 25%, foram colhidas três amostras basais, a cada 15 minutos, para dosagem da glicose, insulina e peptídeo C plasmáticos. A infusão de glicose foi dividida em duas fases: “primeira dose”, que compreende uma quantidade suficiente de glicose para elevar a glicemia ao platô desejado e a “dose de manutenção” que é calculada a cada intervalo de 5 minutos ao longo do teste. A primeira dose será infundida em bolus, sendo a quantidade de glicose baseada no peso corporal e na glicemia inicial de cada indivíduo, para elevá-la agudamente a 180 mg/dL, segundo a fórmula:

Bolus inicial de glicose (mL) = $2 \times \text{Peso (kg)} \times 1,5 \times [180 \text{ (mg/dL)} - \text{glicemia inicial (mg/dL)}]1000$

Imediatamente após essa infusão, a glicemia de 180 mg/dL deverá ser mantida por três horas por meio de infusão variável de glicose, com bomba de infusão. As quantidades infundidas serão baseadas através de cálculos derivados dos resultados das medidas de glicemia dosadas a intervalos de 5 minutos no equipamento *Glucose Analyser* em amostras de 1 mL.

O valor glicêmico médio nas últimas duas horas do clamp (60 a 180 minutos) e o seu coeficiente de variação (CV) expressarão a qualidade do experimento, isto é, atingir e manter a glicemia em 180 mg/dL durante aquele período de tempo.

Nos primeiros dez minutos do clamp, serão coletadas amostras de sangue a cada 2,5 minutos, e depois a cada 5 minutos. Em todas as amostras, será dosada glicose. A insulina e o peptídeo C serão igualmente quantificados durante os vinte minutos iniciais do clamp e, depois, até o final do estudo, a cada vinte minutos.

A secreção de insulina será avaliada pelo modelo de cinética do peptídeo C padronizado por Van Cauter e col. [109], o qual considera as seguintes variáveis de ajuste: sexo, idade, grau de obesidade e nível de tolerância à glicose. A primeira fase de secreção será avaliada pelas dosagens realizadas nos primeiros 10 minutos. Para a segunda fase, serão computadas as dosagens realizadas na última hora do clamp hiperglicêmico, quando as concentrações de insulina e peptídeo C estiverem mais constantes, de acordo com o platô hiperglicêmico.

A sensibilidade à insulina será calculada pelo índice de sensibilidade à insulina (ISI), dividindo a média da taxa de infusão de glicose durante a última hora do clamp menos a excreção urinária de glicose ocasional, pela média da concentração da insulinemia durante o mesmo período. Sob condições de equilíbrio hiperglicêmico, a taxa de glicose infundida (GIR) fornece uma estimativa da quantidade de glicose metabolizada pelos tecidos, uma vez que a produção endógena de glicose está suprimida. Esse valor, dividido pela resposta insulinêmica plasmática (segunda fase de secreção de insulina) proporciona uma estimativa da sensibilidade tecidual à insulina endógena secretada pelo pâncreas.

Em relação a avaliação da função das células β pancreáticas, a análise será dividida entre as medições da insulinemia pós-hepática e da insulinemia pré-hepática (ou *insulin secretion rate* - ISR), esta obtida através da modelagem matemática pela deconvolução do peptídeo-C. As insulinemias serão calculadas a partir da área sobre a curva (AUC) traçadas a partir das dosagens séricas realizadas durante o *clamp*. As avaliações considerarão a primeira fase isoladamente e posteriormente a insulinemia durante todo o experimento.

Com os dados de insulinemia pré e pós hepática, é possível estimar a proporção de insulina que é depurada pelo fígado.

Por fim, outro índice importantíssimo na análise dos mecanismos de adaptação para manutenção da euglicemia é o *Disposition Index* (DI), obtido com a multiplicação da insulinemia (no nosso caso utilizaremos a pré e pós-hepática) pelo índice de sensibilidade à insulina. Este dado fornece a informação da quantidade de insulina disponibilizada na circulação para atender a demanda dos tecidos-alvo.

Análise Estatística

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão ou mediana (percentis 25 a 75). O teste t de Student e o teste de Mann-Whitney foram utilizados para comparar grupos independentes de acordo com a normalidade das variáveis. O método de correlação de Spearman foi utilizado em análises de regressão linear não paramétricas. Estimativa por curva hiperbólica foi empregada para avaliar a relação entre sensibilidade a insulina, insulinemia pós hepática na primeira fase de secreção e taxa de secreção de insulina na primeira fase do clamp. A área sobre a curva foi estimada através da regra trapezoidal. Todas as análises estatísticas foram realizadas no IBM SPSS versão 24.0. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo.

A dosagem da insulinemia é uma metodologia ainda utilizada em muitos estudos para avaliação da secreção pancreática desse hormônio. Não obstante, a concentração periférica de insulina não é capaz de proporcionar essa informação de forma fiel e adequada. Isso é verdade devido ao fato da insulina sofrer uma depuração hepática, o chamado efeito de primeira passagem em torno de 50%, isto é, cerca de metade da secreção de insulina não atinge o sangue periférico. Além disso, a depuração da insulina, da qual a extração hepática é um determinante principal, sofrer variações em diferentes condições metabólicas [110]. Portanto, as diferenças na insulinemia fruto de dosagens em sangue periférico podem não apenas ser resultado das diferenças na secreção de insulina, mas também na depuração da insulina [111, 112]. Importante pontuar que o perfil de concentração de insulina observado no sangue periférico é praticamente proporcional ao da secreção de insulina, pois a farmacocinética da insulina é rápida. A rápida liberação de insulina, como a observada na secreção da primeira fase, é nitidamente refletida na concentração de insulina. Para mitigar o problema da depuração não constante da insulina, e consequentes falsas interpretações decorrentes desse fenômeno, uma metodologia alternativa baseada na dosagem do peptídeo C foi desenvolvida na década de 80 do século passado [113]. O peptídeo C é secretado de forma equimolar com a insulina, praticamente não sofre extração e tem cinética linear e razoavelmente constante. Assim, a concentração do peptídeo C reflete mais precisamente a real secreção de insulina pancreática (secreção pré-hepática), embora sua meia-vida e cinética sejam bem diferentes em relação à insulina. Para resolver essa questão, um método matemático, chamado deconvolução, é utilizado para se obter a secreção de insulina pré pancreática (também denominada *insulin secretion rate* – ISR) a partir da concentração do peptídeo C. [113]. Para o sucesso da deconvolução, a cinética do peptídeo C tem de ser bem conhecida. O estudo pioneiro de Eaton et al. [114], corroborado por estudos posteriores, a cinética do peptídeo C foi descrita por meio de experimento utilizando-se de injeção em bolus de peptídeo C biossintético nos indivíduos voluntários. O aprimoramento nos cálculos da deconvolução [109], tornou possível a ampla aplicação da metodologia de deconvolução do peptídeo C e é até hoje um dos métodos mais empregados para obtenção acurada da secreção de insulina. A deconvolução do peptídeo C permanece, infelizmente, uma abordagem bastante especializada, pois necessita de pesquisadores com expertise nesse tipo de cálculo e softwares especializados.

RESULTADOS

Antropometria e Composição Corporal

As características clínicas dos participantes do estudo são mostradas na Tabela 2. Considerando o grupo total de indivíduos estudados em 51 participantes (33 mulheres e 18 homens), eles apresentaram uma idade média (desvio padrão) de 24 (3,6) anos, IMC de 24,6 (4,9) kg/m², glicemia de jejum de 86,6 (6,3) mg/dL e hemoglobina glicada de 5,1% (0,3%). Os pacientes com HAC D21OH (20 mulheres e 10 homens) eram um pouco mais velhos que os controles (13 mulheres e 8 homens) mas com IMCs semelhantes. Comparações entre os grupos estão na tabela 2. O subgrupo com a forma virilizante simples tem um IMC um pouco maior, mas significativo, em relação ao subgrupo com a forma perdedora de sal ($p=0,035$). Ademais, os homens pertencentes ao grupo HAC tem uma quantidade total de gordura maior comparado ao grupo controle. Em relação à distribuição de gordura corporal, o grupo CAH e controle tem as mesmas circunferências de quadril, mas o subgrupo com a forma virilizante simples tem circunferência de cintura maior em relação aos com a forma perdedora de sal ($p=0,016$).

Após ajustes no grupo de pacientes de modo a não haver diferença estatisticamente significativa em relação à idade, não houve alteração nos resultados dos achados. Assim manteve-se o grupo originalmente estudado.

Parâmetros (unidade)	Controle (n=21)	HAC (n=30)	*p	HAC SV (n=15)	HAC SW (n=15)	**p
Idade (anos)	25.4 (2.9)	23.0 (3.7)	.014	23.5 (3.9)	22.6 (3.5)	.546
Gênero (feminino/masculino) (n)	13/8	20/10	----	9/6	11/4	----
Tempo de Tratamento (anos)	----	21.7 (3.7)	----	21.2 (3.8)	22.2 (3.7)	.487
Dose equivalente Hidrocortisona (mg/m ²)	----	13.0 (4.7)	----	11.9 (3.4)	14.2 (5.7)	.214
IMC (kg/m ²)	24.1 (5.1)	25.0 (5.0)	.488	26.9 (5.6)	23.1 (3.4)	.035
Massa Gorda (%)						
	33.8 (7.5)	36.8 (6.2)	.886	39.0 (7.4)	35.3 (5.1)	.274
Feminino						
Masculino	19.2 (4.7)	29.1 (9.1)	.014	28.6 (8.7)	30.1 (11.7)	.853
Circunferência Cintura (cm)						
	72.4 (12.6)	73.0 (8.7)	.250	78.5 (8.3)	68.2 (6.1)	.016
Feminino						
Masculino	77.5 (4.8)	81.7 (7.2)	.172	82.6 (5.7)	80.3 (9.9)	.274
Glicemia (mg/dl)	83 (5)	83 (9)	.738	85 (10)	81 (7)	.220
HbA1c (%)	5.0 (0.3)	5.2 (0.3)	.033	5.2 (0.2)	5.1 (0.3)	.132
Colesterol Total (mg/dl)	170 (44)	179 (36)	.499	174 (27)	184 (44)	.503
LDL-colesterol (mg/dl)	91 (31)	103 (31)	.202	97 (28)	110 (34)	.301
HDL-colesterol (mg/dl)	58 (19)	57 (15)	.768	56 (19)	58 (10)	.698
Triglicérides (mg/dl)	104 (63)	91 (46)	.454	107 (52)	75 (32)	.057
Ácido Úrico (mg/dl)	4.2 (1.0)	4.7 (1.3)	.106	5.1 (1.4)	4.4 (1.2)	.156
AST (U/ml)	15 (5)	21 (10)	.016	20 (6)	19 (5)	.780
ALT (U/ml)	19 (5)	20 (6)	.619	21 (11)	21 (9)	.873
Sódio (mEq/l)	140 (2)	140 (2)	.411	141 (3)	140 (2)	.381
Potássio (mEq/l)	4.1 (0.2)	4.2 (0.3)	.444	4.1 (0.3)	4.2 (0.4)	.346
Pressão Sistólica (mm/Hg)	108 (10)	107 (11)	.958	112 (11)	103 (7)	.021
Pressão Diastólica (mm/Hg)	64 (9)	66 (8)	.600	69 (6)	62 (6)	.004

Tabela 2 – Principais dados clínicos e bioquímicos básicos entre os grupos e subgrupos de voluntários. Valores estão expressos pela média (desvio padrão). HAC (Hiperplasia Adrenal Congênita), SV (HAC forma virilizante simples), SW (HAC forma perdedora de sal). HbA1c, hemoglobina glicada. AST, aspartato aminotransferase. ALT, alanina aminotransferase. Dados explicitados como média (desvio padrão). *p = comparação entre grupo controle vs HAC. **p = comparação entre HAC SV vs HAC SW.

Ultrassonografia convencional não detectou esteatose hepática em nenhum dos participantes

Os parâmetros bioquímicos foram na maioria das vezes semelhantes entre os grupos de pacientes e controles, com exceção dos níveis de HbA1c e aspartato aminotransferase, que foram ligeiramente maiores nos pacientes com HAC do que nos controles ($P = 0,033$ e $P = 0,016$; respectivamente), mas os dados estavam na faixa da normalidade. Os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica foram reduzidos no grupo CAH-SW em comparação com o grupo CAH-SV ($P = 0,021$ e $P = 0,004$; respectivamente).

Após a realização de ultrassonografia em todos os participantes do estudo, não se evidenciou sinal ultrassonográfico de infiltração gordurosa hepática em nenhum exame.

Clamp hiperinsulinêmico

As concentrações de glicose, insulina e peptídeo C durante o teste de clamp hiperglicêmico são ilustradas na Fig. 1A-1C. As metas de glicemia foram atingidas e mantidas em ambos os grupos durante o clamp de 180 minutos, e a área sobre a curva para a glicose (AUC_{glu}) foi semelhante entre os grupos CAH e controle ($P = 0,295$). Ao longo do clamp, as concentrações periféricas de insulina foram maiores em indivíduos com HAC ($P = 0,012$), e $AUC_{insulina}$ também foi maior no grupo HAC ($P = 0,019$) durante os primeiros 10 minutos (primeira fase). No entanto, a concentração periférica do peptídeo C ($AUC_{peptídeoC}$) só foi maior no grupo CAH na primeira fase do teste de clamp ($P = 0,022$) (Fig. 1).

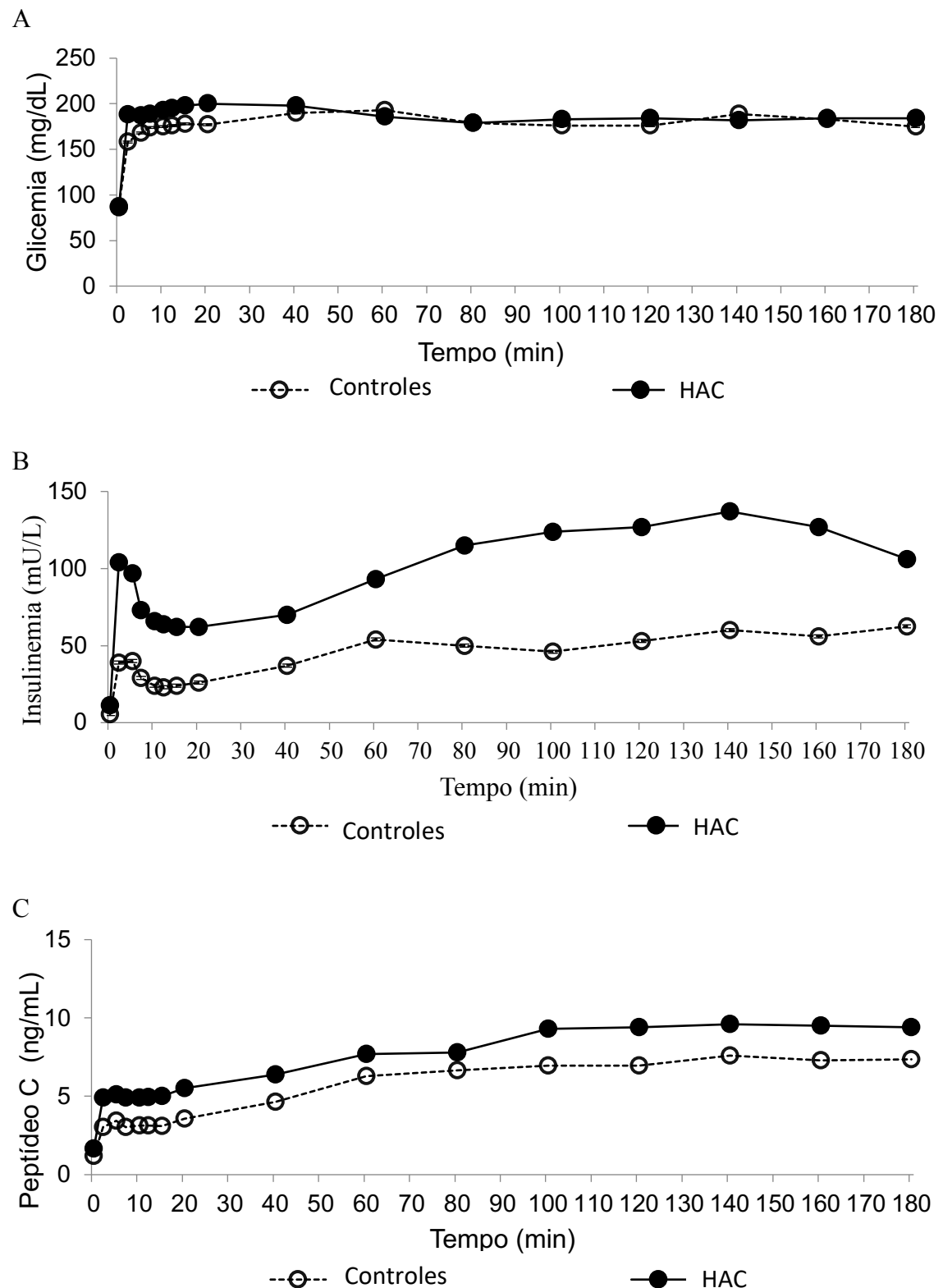


Figura 5 – (A) Glicemia, (B) Insulinemia, e (C) Peptídeo C sérico durante o clamp hiperglicêmico de 180 minutos nos grupos HAC (•) e Controles (◦). A área sob a curva (AUC_{180min}) para glicose e peptídeo C foram semelhantes entre os grupos. ($p=0.884$ e $p=0.754$, respectivamente). A área sobre a curva para insulina foi maior para o grupo HAC em comparação aos controles ($p=0.012$).

Sensibilidade à insulina

O índice de sensibilidade à insulina com base no clamp hiperglicêmico foi reduzido no grupo HAC em comparação com os controles (17,2 [12,2] vs 8,2 [5,3] $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1} / \mu\text{U mL}$, respectivamente, $P = 0,005$) (Tabela 3). O índice HOMA-IR também confirmou maior resistência à insulina no grupo HAC ($P = 0,032$). Considerando o quintil mais baixo para ISI no grupo controle para definir o limiar de resistência à insulina, 40% dos pacientes com HAC foram considerados resistentes à insulina. Curiosamente, usando o limiar validado do HOMA-IR de $> 2,7$ para o diagnóstico de resistência à insulina na população brasileira [115], exatamente os mesmos 40% dos pacientes com HAC foram classificados como resistentes à insulina. Em outras palavras, encontramos 2 vezes mais pacientes com resistência à insulina no grupo HAC.

	Controle (n=21)	HAC (n=30)	<i>p</i>
Sensibilidade à Insulina			
HOMA-IR	1.52 (1.21)	2.37 (1.18)	0.032
IS (mg.kg ⁻¹ .min ⁻¹ /uU.ml)	17.2 (12.2)	8.2 (5.3)	0.005
Insulinemia pós hepática			
Insulinemia primeira fase (ug/ml)	232 (220)	393 (216)	0.025
Insulinemia Total (ug/ml)	328 (295)	534 (256)	0.024
DI (Insulinemia 1ª fase X IS)	2314 (989)	2529 (1252)	0.556
Insulinemia pré hepática (função células beta)			
ISR 1ª fase (ug/ml)	832 (752)	816 (304)	0.929
ISR total (ug/ml)	12676 (7305)	12705 (6143)	0.989
DI _{1stISR} (ISR 1ª fase X IS)	9869 (6098)	6167 (3271)	0.028
DI _{totalISR} (ISR total X IS)	165135 (98241)	90817 (5843)	0.007
Clearance Hepático			
Clearance Hepático de Insulina (%)	61.7 (19.1)	43.5 (14.4)	0.002

Tabela 3 – Sensibilidade à Insulina, Secreção de Insulina, Função das células beta e Clearance Hepático de Insulina. Comparação entre os grupos HAC e controle.

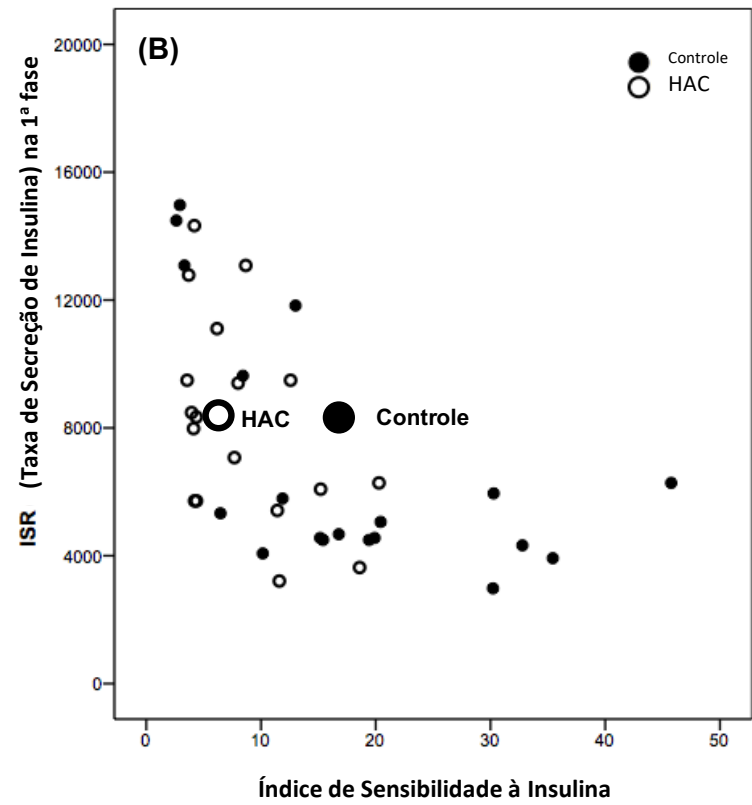
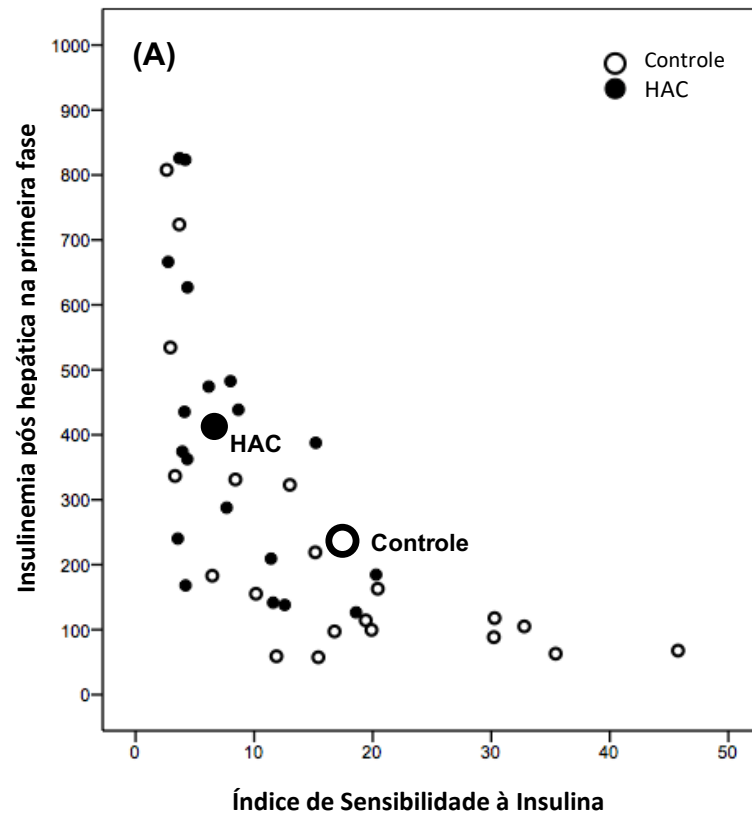
Dados expressos como média (desvio padrão). HAC: Hiperplasia Adrenal Congênita; HOMA-IR: índice HOMA para resistência à insulina; IS: índice de Sensibilidade da Insulina; DI: Disposition Index baseado na insulinemia pós hepática da primeira fase de secreção; ISR: Taxa de Secreção de Insulina; DI_{1stISR}: Disposition Index baseado na insulinemia pré hepática da primeira fase de secreção; DI_{totalISR}: Disposition Index baseado na insulinemia pré hepática durante todo o clamp (180 min).

Parâmetros	Clearance Hepático de Insulina			
	Controle (n=30)		HAC (n=21)	
	r	p	r	p
IMC	- 0.376	0.102	- 0.444	0.057
Circunferência da cintura	- 0.265	0.273	- 0.719	0.004
Massa Gorda	- 0.083	0.729	- 0.521	0.039
HOMA-IR	- 0.916	<0.001	- 0.505	0.027
IS	0.880	<0.001	0.759	<0.001
AUC _{Insulina}	- 0.757	<0.001	- 0.677	0.001
AUC _{ISR}	- 0.620	0.004	- 0.512	0.025
DI _{ISRtotal} (ISR _{total} X IS)	0.863	<0.001	0.713	0.001
Dose Hidrocortisona*			- 0.654	0.002

Tabela 4 – Correlações de Spearman entre o clearance hepático de insulina e parâmetros antropométricos e metabólicos. HOMA-IR: índice de HOMA para resistência à insulina (calculado como [insulinemia de jejum (uU/l) X glicemia de jejum (mg/dl)/405]); IS (índice de sensibilidade à insulina); AUC_{insulin} (área sobre a curva de insulina); AUC_{ISR} (área sobre a curva da taxa de secreção de insulina); DI (disposition index). * dose equivalente de hidrocortisona.

Adaptação ao aumento da resistência à insulina:
relação da sensibilidade à insulina com respostas de células
beta e depuração de insulina

Em condições normais, a secreção de insulina e a sensibilidade à insulina apresentam uma relação hiperbólica, em que a secreção de insulina mostra um aumento compensatório quando a sensibilidade à insulina é reduzida [116]. Na Fig. 2, uma relação hiperbólica é observada entre a insulinemia de primeira fase pós-hepática e ISI sem ajuste para modelagem de peptídeo C (DI) (Fig. 2A), onde o DI foi semelhante entre controles e pacientes com HAC ($P = 0,556$). Uma relação hiperbólica entre ISR e ISI também foi observada usando a primeira fase ou o ISR total como uma medida da função das células beta (Fig. 2B), mas os DIs correspondentes (DI_{1stISR} e $DI_{totalISR}$) foram claramente diferentes entre os grupos ($P = 0,028$ e $P = 0,007$, respectivamente).



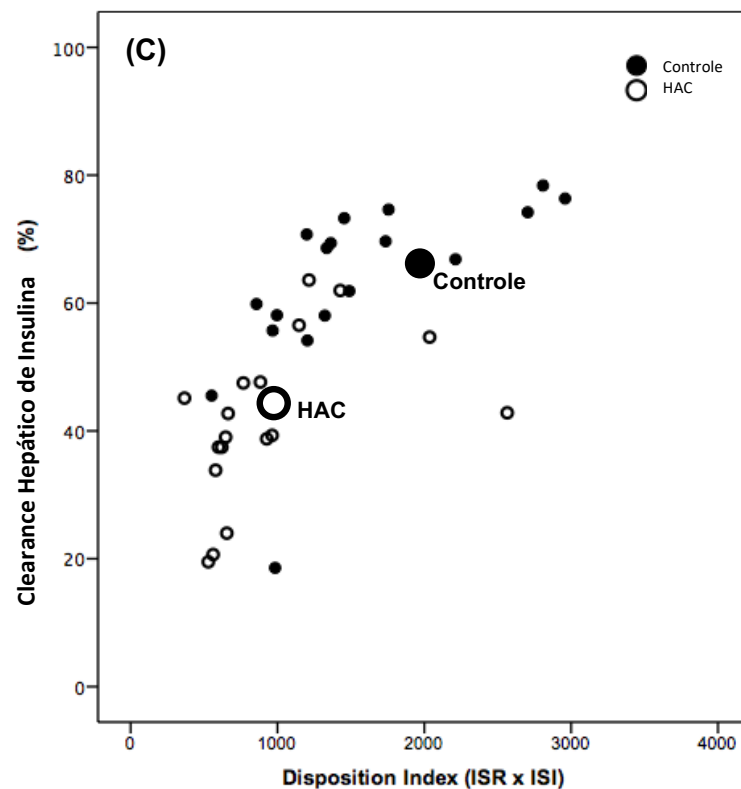


Figura 6 – (A) Relação hiperbólica entre a secreção de insulina (baseada na insulinemia pós hepática durante a primeira fase de secreção) e o índice e sensibilidade à insulina (ISI), ambos derivados do clamp hiperglicêmico, para o grupo controle ($r=0.86$; $p<0.001$) e para o grupo HAC ($r=0.61$; $p=0.039$). Essa relação sugere uma resposta adaptativa para a redução da sensibilidade à insulina com uma hiperinsulinemia compensatória, sem haver distinção entre a contribuição das células β pancreáticas com aumento da secreção de insulina (insulinemia pré-hepática) ou uma diminuição do clearance hepático da insulina. (B) Utilizando-se a modelagem estatística baseada na cinética do peptídeo C, a função da célula β (insulinemia pré-hepática ISR_{1st}) foi calculada. ISR_{1st} e ISI também apresentam uma relação hiperbólica entre o grupo controle ($r=0.85$; $p=0.009$) e o grupo HAC ($r=0.56$; $p=0.036$). (C) Essa relação sugere uma resposta adaptativa para a redução da sensibilidade à insulina e redução da função das células beta por uma menor depuração hepática da insulina. O resultado individual de cada indivíduo está representado pelos pontos pequenos e a média para cada grupo foi representada pelos símbolos maiores.

Relações entre depuração de insulina hepática e sensibilidade à insulina, hiperinsulinemia, função das células beta e adiposidade

A depuração de insulina hepática foi reduzida entre os pacientes com HAC em $43,5 \pm 14,4\%$ vs $61,7 \pm 19,1\%$ no grupo controle ($P = 0,002$) (Fig. 2C). As relações entre a depuração de insulina hepática e os parâmetros antropométricos e metabólicos são apresentadas na Tabela 4. Em ambos os grupos, a depuração de insulina hepática se correlacionou significativamente com a sensibilidade à insulina, conforme mostrado pelo HOMA-IR ($P < 0,001$ para controles e $P = 0,027$ para CAH), e por ISI durante o clamp hiperglicêmico ($P < 0,001$ para ambos os grupos). Além disso, em ambos os grupos, a depuração da insulina hepática correlacionou-se inversamente com a secreção de insulina pós e pré-hepática ($AUC_{Insulina}$ e AUC_{ISR} , que representam hiperinsulinemia e função das células beta, respectivamente). Em relação à antropometria, a depuração de insulina hepática se correlacionou positivamente com a massa gorda ($P = 0,004$) e circunferência da cintura ($P = 0,039$) apenas no grupo HAC. Além disso, a depuração de insulina hepática correlacionou-se positivamente com a dose equivalente de hidrocortisona de GCs.

Hormônios

Os hormônios sexuais e adrenais são mostrados na Tabela 5. Os pacientes com HAC e controles exibiram perfis semelhantes em relação ao hormônio luteinizante, hormônio folículo-estimulante, testosterona total e estradiol. Por outro lado, a testosterona livre e o estradiol livre foram ambos reduzidos em homens com HAC em comparação aos homens do

grupo controle ($P = 0,040$ e $P = 0,030$, respectivamente). Como esperado, a 17-hidroxiprogesterona foi maior no grupo CAH ($P = 0,03$). Além disso, androstenediona e o ACTH foram semelhantes entre os grupos, indicando a adequação do tratamento atual para HAC. Por outro lado, a renina foi maior nos pacientes com HAC do que nos controles ($P = 0,029$), sugerindo tratamento insuficiente com mineralocorticoide entre os pacientes com HAC.

	Controle (n=21)	HAC (n=30)	<i>p</i>
Hormônios			
ACTH (pg/mL)	22.5 (20.0-47.4)	25.4 (12.7-67.9)	.874
Androstenediona (ng/mL)	1.59 (1.26-2.51)	1.45 (0.70-2.63)	.329
Testosterona Livre (pg/mL)			
feminino	1.01(0.85-1.17)	0.66 (0.31-1.15)	.062
masculino	17.76 (17.05-18.90)	13.43 (8.90-16.79)	.019
Testosterona Total (ng/mL)			
feminino	0.23 (0.13-0.32)	0.09 (0.03-0.32)	.218
masculino	6.42 (5.75-7.18)	5.23 (3.07-6.04)	.040
Estradiol (pg/mL)			
feminino	33.1 (5.0-70.4)	45.1 (5.0-80.7)	.655
masculino	33.8 (30.6-40.3)	23.0 (21.2-30.1)	.030
17-OH Progesterona (ng/mL)	0.89 (0.44-1.77)	7.40 (0.81-28.1)	.003
FSH (mUI/dL)	3.68 (1.75-7.28)	3.67 (2.42-6.23)	.714
LH (mUI/dL)	5.19 (1.51-6.73)	4.39 (2.73-7.22)	.917
Renina (pg/mL)	18.0 (7.0-34.5)	28.5 (18.7-50.2)	.029

Tabela 5 – Hormônios nos grupos HAC e Controle. Valores apresentados como média (interquartis). Valores de referência: ACTH (< 46 pg/mL), Androstenediona (Masc: 0.7–3.6 ng/mL, Fem: 0.3–3.5 ng/mL), Testosterona Livre (Masc: 8.7–50 pg/mL, Fem: sem contraceptivos: 0.45–3.2 ng/mL, em uso de contraceptivos: 0.25–1.00 ng/mL), Testosterona Total (Masc: 2.49–8.36 ng/mL, Fem: 0.08–0.48 ng/mL), Estradiol (Masc: 7.6-42.6 pg/mL, Fem: fase folicular: 12.5-166 pg/mL, fase ovulatória: 85.8-498 pg/mL, fase lútea: 43.8-211 pg/mL), 17-OH Progesterona (Masc: 0.63–2.15 ng/mL, Fem: fase folicular: 0.21–1.50 ng/mL, fase lútea: 0.25–3.0 ng/mL, em uso de contraceptivo: 0.25-1.0 ng/mL), FSH (Masc: 1.5–12.4 mUI/mL, Fem: fase folicular: 3.5–12.5 mUI/mL, fase ovulatória: 4.7–21.5 mUI/mL, fase lútea: 1.7–7.7 mUI/mL), LH (Masc: 1.7–8.6 mUI/mL, Fem: fase folicular: 2.4–12.6 mUI/mL, fase ovulatória: 14.0–95.6 mUI/mL, fase lútea: 1.0–11.4 mUI/mL), Renina: (2.7–16.5 pg/mL).

DISCUSSÃO

O presente estudo é o maior até o momento envolvendo pacientes com HAC-D21OH em que a resistência à insulina, função de células beta e depuração de insulina hepática foram medidos usando um teste de clamp hiperglicêmico associado com o modelo matemático de deconvolução do peptídeo C. Como esperado, encontramos resistência à insulina (RI) significativa e hiperinsulinemia compensatória entre pacientes euglicêmicos com HAC- D21OH. Três aspectos novos, entretanto, emergem dos dados presentes. Em primeiro lugar, a RI está presente em uma população não obesa de 21-DOH, sem componentes alterados da síndrome metabólica. Em segundo lugar, a secreção de insulina surpreendentemente não aumentou, uma vez que a hiperinsulinemia em estados de RI é comumente resultado do aumento da função das células beta. Terceiro, a redução da depuração de insulina hepática foi primariamente responsável pela hiperinsulinemia compensatória e consequente tolerância normal à glicose dos pacientes com 21-DOH.

O IS derivado do clamp foi 50% menor no grupo CAH. IR também foi medido pelo índice HOMA [117], e 40% dos pacientes com HAC apresentaram RI considerando o limiar de $\text{HOMA-IR} > 2,7$, conforme validado previamente em nossa população [115]. Um estudo avaliou RI em 12 pacientes não obesos com HAC usando o teste de clamp hiperinsulinêmico euglicêmico e mostrou uma IS reduzida em comparação com indivíduos de controle ($0,35 \pm 0,16$ vs $0,56 \pm 0,30$ mmol / kg por minuto (mU / L), $P = 0,03$) [103]. Nesse estudo, a função das células beta não foi avaliada. Um outro estudo recém publicado, aplicou o clamp euglicêmico hiperinsulinêmico em indivíduos com a forma não clássica da hiperplasia adrenal congênita, com resultados semelhantes ao anterior [104].

O GC pode prejudicar a função das células beta [118, 119, 120], e a ação crônica de GCs exógenos resulta em aumento da RI e bloqueio parcial da função das células beta em modelos animais [118]. No entanto, o estudo de Speiser et al. mostraram aumento da função das células beta

usando um teste de tolerância à glicose intravenosa (IVGTT) entre pacientes com HAC não clássica [121], embora os autores presumissem que o DI (uma avaliação razoável da funcionalidade das células beta) era semelhante ao de indivíduos normais. A principal razão para esse achado é que os autores consideraram apenas a insulina pós-hepática para seus cálculos. Em nosso estudo, a primeira impressão foi a mesma de Speiser et al. [121], pois poderíamos calcular um DI levando ao mesmo resultado daquele estudo, mostrando uma função aumentada da célula beta mal interpretada ao considerar o produto entre a insulina de primeira fase pós-hepática após a carga de glicose e ISI (Fig. 2A). No entanto, após a normalização para o modelo matemático de deconvolução do peptídeo C, o DI baseado no ISR pré-hepático na primeira fase foi definitivamente reduzido em pacientes com HAC (Fig. 2B). No presente estudo, os pacientes com HAC mostraram uma resposta à RI, em que, ao invés das células beta pancreáticas aumentarem a produção de insulina, o aumento da insulinemia ocorreu por uma diminuição da depuração hepática desse hormônio, um mecanismo que pode manter a tolerância normal à glicose e preservar a integridade das células beta do estresse relacionado à compensação para RI induzida por GC. Seria de se esperar que uma pequena diminuição na depuração de insulina hepática tivesse um impacto muito maior na distribuição periférica do que um aumento comparável na secreção de insulina pré-hepática [122]. Na verdade, observamos uma redução de 50% na sensibilidade à insulina que poderia ser compensada por uma redução de 33% no clearance de insulina. A depuração da insulina foi inversamente associada com as doses médias de GCs entre os pacientes com D21-OH. A redução da depuração hepática de insulina pode ser a primeira linha de defesa contra a hiperglicemia em pacientes com HAC. Uma explicação alternativa para a sequência de eventos seria o aumento da depuração hepática da insulina, compensando a redução da função das células beta.

O mecanismo adaptativo exato da depuração da insulina na HAC ainda não foi descrito [123]. A expressão de enzimas responsáveis pela degradação da insulina hepática pode ser reduzida em pacientes com HAC, pois as enzimas que degradam a insulina (IDEs) são *downregulated*

após a administração de GC em modelos animais [124,125,126]. A degradação da insulina hepática ocorre logo após a insulina ser ligada ao seu receptor [122]. O complexo ligado ao receptor é internalizado em endossomos através da endocitose. Em seguida, a insulina se dissocia do receptor dentro da vesícula devido à acidificação do endossomo [122]. IDEs são responsáveis pelo processo de degradação da insulina pós-ligação que precede a acidificação. A enzima CEACAM-1 (molécula 1 de adesão celular relacionada ao antígeno carcinoembrionário da glicoproteína) é altamente expressa nos hepatócitos [122] e aumenta a taxa de captação do complexo receptor de insulina [122]. CEACAM-1, assim como as IDEs, podem ser reduzidas ou inativadas em indivíduos afetados por HAC usando doses suprafisiológicas de GCs. CEACAM-1 também é reduzido em indivíduos com obesidade e naqueles com doença hepática gordurosa [122]. Além disso, a supressão ou inativação seletiva de IDEs no fígado tem sido considerada um potencial tratamento anti-hiperglicêmico em situações de secreção prejudicada de insulina [127]. Recentemente, foi demonstrado que a redução da depuração da insulina e da atividade IDE contribuem para a hiperinsulinemia em afro-americanos [128]. No entanto, um estudo recente em camundongos *knockout* IDE específicos do fígado mostrou que a IDE é improvável um fator limitante da taxa de controle da depuração de insulina pelo fígado [129]. Juntos, esses dados sugerem que a inativação de IDE por exposição crônica a GC é um plausível mecanismo subjacente à redução adaptativa da depuração hepática de insulina para aumentar a resistência à insulina na HAC, contribuindo finalmente para a manutenção da tolerância normal à glicose.

O GC pode prejudicar a produção do peptídeo semelhante ao glucagon (GLP) -1, contribuindo para a redução da função das células beta na HAC [119]. Por outro lado, o GLP-1 endógeno aumenta a depuração de insulina hepática [130]. Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que a supressão de GLP-1 induzida por GC pode ser contrabalançada pela redução da depuração de insulina induzida por GLP-1 suprimido.

Limitações do estudo

As limitações do estudo estão relacionadas ao pequeno número de pacientes adultos jovens incluídos, à avaliação indireta do clearance de insulina hepática e à falta de avaliação da produção de glicose hepática e incretinas. Além disso, usamos o teste de clamp hiperglicêmico para quantificar simultaneamente a função das células beta e a sensibilidade à insulina, mas essa abordagem não explorou as diferenças nas respostas específicas do tecido à insulina. Houve diferença numericamente pequena, mas significativa na idade entre os grupos. Acreditamos que essa diferença de 2,4 anos na média de idade não influenciou os resultados do estudo.

CONCLUSÃO

Em conclusão, o duplo papel adaptativo do pâncreas e do fígado na modulação das concentrações sistêmicas de insulina para compensar a RI, conforme observado na obesidade, envelhecimento e outras condições, é substituído por um único mecanismo no fígado entre os pacientes com D21-OH. Uma adaptação exclusiva do fígado atua como um mecanismo de passagem para regular o acesso da insulina a outros tecidos sensíveis à insulina. Embora o curso de tempo e a durabilidade desse fenômeno em pacientes com HAC permaneçam desconhecidos, parece que essa compensação não é estática. Portanto, se os pacientes ganharem peso, o que piora sua RI, a redução da depuração de insulina compensando a disfunção das células beta pode não ser suficiente e o DM2 pode se desenvolver. Assim, evitar o ganho de peso parece ser o principal objetivo dos pacientes com D21OH.

Referências

1. **Yates R, Katugampola H, Cavlan D, Cogger K, Meimaridou E, Hughes C, et al.** Adrenocortical development, maintenance, and disease. *Curr Top Dev Biol* 2013;106:239-312.
2. **Ross IL, Louw GJ.** Embryological and molecular development of the adrenal glands. *Clin Anat* 2015;28:235-42.
3. **Walczak EM, Hammer GD.** Regulation of the adrenocortical stem cell niche: implications for disease. *Nat Rev Endocrinol* 2015;11:14-28.
4. **Pihlajoki M, Dorner J, Cochran RS, Heikinheimo M, Wilson DB.** Adrenocortical zonation, renewal, and remodeling. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015;6:27.
5. **Freedman BD, Kempna PB, Carlone DL, Shah M, Guagliardo NA, Barrett PQ, et al.** Adrenocortical zonation results from lineage conversion of differentiated zona glomerulosa cells. *Dev Cell* 2013;26:666-73.
6. **Kim AC, Reuter AL, Zubair M, Else T, Serecky K, Bingham NC, et al.** Targeted disruption of beta-catenin in Sf1-expressing cells impairs development and maintenance of the adrenal cortex. *Development* 2008;135:2593-602.
7. **Wood MA, Acharya A, Finco I, Swonger JM, Elston MJ, Tallquist MD, et al.** Fetal adrenal capsular cells serve as progenitor cells for steroidogenic and stromal adrenocortical cell lineages in *M. musculus*. *Development* 2013;140:4522-32.
8. **Miller WL.** Disorders in the initial steps of steroid hormone synthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;165(Pt A):18-37.
9. **Selvaraj V, Stocco DM, Clark BJ.** Current knowledge on the acute regulation of steroidogenesis. *Biol Reprod.* 2018;99(1):13-26.
10. **Miller WL.** Steroidogenesis: unanswered questions. *Trends Endocrinol Metab.* 2017;28(11):771-793.
11. **Simard J, Ricketts ML, Gingras S, Soucy P, Feltus FA, Melner MH.** Molecular biology of the 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta5-delta4 isomerase gene family. *Endocr Rev.* 2005;26(4):525-582.
12. **Auchus RJ, Lee TC, Miller WL.** Cytochrome b5 augments the 17,20-lyase activity of human P450c17 without direct electron transfer. *J Biol Chem.* 1998;273(6):3158-3165.
13. **Flück CE, Miller WL, Auchus RJ.** The 17, 20-lyase activity of cytochrome p450c17 from human fetal testis favors the delta5 steroidogenic pathway. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(8):3762-3766.
14. **Auchus RJ.** The genetics, pathophysiology, and management of human deficiencies of P450c17. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2001;30(1):101-19.
15. **Miller WL.** Minireview: regulation of steroidogenesis by electron transfer. *Endocrinology.* 2005;146(6):2544-2550.
16. **Miller WL, Auchus RJ.** The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev.* 2011;32(1):81-151.
17. **White PC, Curnow KM, Pascoe L.** Disorders of steroid 11 beta- hydroxylase isozymes. *Endocr Rev.* 1994;15(4):421-438.
18. **Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, et al.** Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev.* 1994;15(3):342-355.
19. **El-Maouche, D., W. Arlt, D.P. Merke.** Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet*, 2017. 390(10108): 2194-2210.
20. **Martinerie L, Pussard E, Foix-L'Hélias L, et al.** Physiological partial aldosterone resistance in human newborns. *Pediatr Res.* 2009;66(3):323-328.

21. **van der Straaten S, Springer A, Zecic A, et al.** The external genitalia score (EGS): a European multicenter validation study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(3):e222-e230.
22. **Muthusamy K, Elamin MB, Smushkin G, et al.** Clinical review: adult height in patients with congenital adrenal hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4161-4172.
23. **Völkl TM, Öhl L, Rauh M, Schöfl C, Dörr HG.** Adrenarche and puberty in children with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Horm Res Paediatr.* 2011;76(6):400-410.
24. **Gomes LG, Bachega TASS, Mendonca BB.** Classic congenital adrenal hyperplasia and its impact on reproduction. *Fertil Steril.* 2019;111(1):7-12.
25. **Mendes-Dos-Santos CT, Martins DL, Guerra-Júnior G, et al.** Prevalence of testicular adrenal rest tumor and factors associated with its development in congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res Paediatr.* 2018;90(3):161-168.
26. **Falhammar H, Nordenström A.** Nonclassic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: clinical presentation, diagnosis, treatment, and outcome. *Endocrine.* 2015;50(1):32-50.
27. **Torresani T, Biason-Lauber A.** Congenital adrenal hyperplasia: diagnostic advances. *J Inher Metab Dis.* 2007;30(4):563-575.
28. **Saad MJ, Folli F, Kahn JA & Kahn CR.** Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *Journal of Clinical Investigation.* 1993; 92 2065–2072.
29. **Ishizuka T, Nagashima T, Kajita K, Miura A, Yamamoto M, Itaya S, Kanoh Y, Ishizawa M, Murase H, Yasuda K.** Effect of glucocorticoid receptor antagonist RU 38486 on acute glucocorticoid-induced insulin resistance in rat adipocytes. *Metabolism.* 1997 Sep;46(9):997-1002
30. **Burén J, Liu HX, Jensen J, Eriksson JW.** Dexamethasone impairs insulin signalling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. *Eur J Endocrinol.* 2002 Mar;146(3):419-29.
31. **Sakoda H, Ogihara T, Anai M, Funaki M, Inukai K, Katagiri H, Fukushima Y, Onishi Y, Ono H, Fujishiro M, Kikuchi M, Oka Y, Asano T.** Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction. *Diabetes.* 2000 Oct;49(10):1700-8.
32. **Burén J, Lai YC, Lundgren M, Eriksson JW, Jensen J.** Insulin action and signalling in fat and muscle from dexamethasone-treated rats. *Arch Biochem Biophys.* 2008 Jun 1;474(1):91-101.
33. **Dimitriadis G, Leighton B, Parry-Billings M, Sasson S, Young M, Krause U, Bevan S, Piva T, Wegener G, Newsholme EA.** Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in rat skeletal muscle. *Biochem J.* 1997 Feb 1;321 (Pt 3) (Pt 3):707-12.
34. **Short KR, Bigelow ML, Nair KS.** Short-term prednisone use antagonizes insulin's anabolic effect on muscle protein and glucose metabolism in young healthy people. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 Dec;297(6): E1260-8.
35. **Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE.** Cortisol-induced insulin resistance in man: impaired suppression of glucose production and stimulation of glucose utilization due to a postreceptor defect of insulin action. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982 Jan;54(1):131-8.
36. **Pagano G, Cavallo-Perin P, Cassader M, Bruno A, Ozzello A, Masciola P, Dall'omo AM, Imbimbo B.** An in vivo and in vitro study of the mechanism of

- prednisone-induced insulin resistance in healthy subjects. *J Clin Invest*. 1983 Nov;72(5):1814-20.
37. **Rooney DP, Neely RD & Cullen C.** The effect of cortisol on glucose/glucose-6-phosphate cycle activity and insulin action. *Journal of Clinical Endocrinology*, 1993; 77 1180–1183.
 38. **Wajngot A, Khan A, Giacca A, Vranic M & Efendic S.** Dexamethasone increases glucose cycling, but not glucose production, in healthy subjects. *American Journal of Physiology*, 1990; 259 E626–E632.
 39. **Lange AJ, Argaud D, el-Maghrabi MR, Pan W, Maitra SR & Pilkis SJ.** Isolation of a cDNA for the catalytic subunit of rat liver glucose-6- phosphatase: regulation of gene expression in FAO hepatoma cells by insulin, dexamethasone and cAMP. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1994; 201 302–309
 40. **Cassuto H, Kochan K, Chakravarty K, Cohen H, Blum B, Olswang Y, Hakimi P, Xu C, Massillon D, Hanson RW et al.** Glucocorticoids regulate transcription of the gene for phosphoenolpyruvate carboxykinase in the liver via an extended glucocorticoid regulatory unit. *Journal of Biological Chemistry*, 2005 280 33873–33884.
 41. **Fransson L, Franzen S, Rosengren V, Wolbert P, Sjöholm A & Orntoft H.** β -Cell adaptation in a mouse model of glucocorticoid-induced metabolic syndrome. *Journal of Endocrinology*. 2013;219 231–241.
 42. **Kim JS, Le KA, Mahurkar S, Davis JN & Goran MI.** Influence of elevated liver fat on circulating adipocytokines and insulin resistance in obese Hispanic adolescents. *Pediatric Obesity*. 2012; 7 158–164.
 43. **Weinstein SP, Wilson CM, Pritsker A, Cushman SW.** Dexamethasone inhibits insulin-stimulated recruitment of GLUT4 to the cell surface in rat skeletal muscle. *Metabolism*. 1998 Jan;47(1):3-6.
 44. **Billaudel B & Sutter BC.** Direct effect of corticosterone upon insulin secretion studied by three different techniques. *Hormone and Metabolic Research*. 1979; 11 555–560
 45. **Barseghian G & Levine R.** Effect of corticosterone on insulin and glucagon secretion by the isolated perfused rat pancreas. *Endocrinology*. 1980; 106 547–552.
 46. **Lambillotte C, Gilon P & Henquin JC.** Direct glucocorticoid inhibition of insulin secretion. An in vitro study of dexamethasone effects in mouse islets. *Journal of Clinical Investigation*. 1997; 99 414–423.
 47. **Zawalich WS, Tesz GJ, Yamazaki H, Zawalich KC & Philbrick W.** Dexamethasone suppresses phospholipase C activation and insulin secretion from isolated rat islets. *Metabolism*. 2006; 55 35–42.
 48. **van Raalte DH, Nofrate V, Bunck MC, van Iersel T, Ellassaïss Schaap J, Nassander UK, Heine RJ, Mari A, Dokter WH, Dokter M et al.** Acute and 2-week exposure to prednisolone impair different aspects of b-cell function in healthy men. *European Journal of Endocrinology*. 2010; 162 729–735.
 49. **Schneider P & Tappy L.** Kinetics of dexamethasone-induced alterations of glucose metabolism in healthy humans. *American Journal of Physiology* 1998; 275 E806–E813.
 50. **Vila G, Krebs M, Riedl M, Baumgartner-Parzer SM, Clodi M, Maier C, Pacini G & Luger A.** Acute effects of hydrocortisone on the metabolic response to a glucose load: increase in the first-phase insulin secretion. *European Journal of Endocrinology*. 2010; 163 225–231.
 51. **Stojanovska L, Rosella G & Proietto J.** Evolution of dexamethasone- induced insulin resistance in rats. *American Journal of Physiology*. 1990; 258 E748–E756.

52. **Shao J, Qiao L & Friedman JE.** Prolactin, progesterone, and dexamethasone coordinately and adversely regulate glucokinase and cAMP/PDE cascades in MIN6 b-cells. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 2004; 286 E304–E310.
53. **Ullrich S, Berchtold S, Ranta F, Seebohm G, Henke G, Lupescu A, Mack AF, Chao CM, Su J, Nitschke R et al.** Serum- and glucocorticoid- inducible kinase 1 (SGK1) mediates glucocorticoid-induced inhibition of insulin secretion. *Diabetes*. 2005; 54 1090–1099
54. **Roma LP, Oliveira CA, Carneiro EM, Albuquerque GG, Boschero AC & Souza KL.** N-acetylcysteine protects pancreatic islets against glucocorticoid toxicity. *Redox Report*. 2011; 16 173–180.
55. **Linssen MM, van Raalte DH, Toonen EJ, Alkema W, van der Zon GC, Dokter WH, Diamant M, Guigas B & Ouwens DM** Prednisolone- induced b cell dysfunction is associated with impaired endoplasmic reticulum homeostasis in INS-1E cells. *Cellular Signalling*. 2011; 23 1708–1715.
56. **Davani B, Khan A, Hult M, Martensson E, Okret S, Efendic S, Jornvall H & Oppermann UC** Type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase mediates glucocorticoid activation and insulin release in pancreatic islets. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275 34841–34844.
57. **Kuo T, McQueen A, Chen TC, Wang JC.** Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids. *Adv Exp Med Biol*. 2015;872:99-126.
58. **Beard JC, Halter JB, Best JD, Pfeifer MA & Porte D Jr.** Dexamethasone- induced insulin resistance enhances B cell responsiveness to glucose level in normal men. *American Journal of Physiology*. 1984; 247 E592–E596.
59. **Hollindal M, Juhl CB, Dall R, Sturis J, Veldhuis JD, Schmitz O & Pørksen N.** Glucocorticoid induced insulin resistance impairs basal but not glucose entrained high-frequency insulin pulsatility in human. *Diabetologia*. 2002, 45 49–55.
60. **Ahren B.** Evidence that autonomic mechanisms contribute to the adaptive increase in insulin secretion during dexamethasone-induced insulin resistance in humans. *Diabetologia*. 2008; 51 1018–1024.
61. **Petersons CJ, Mangelsdorf BL, Jenkins AB, Poljak A, Smith MD, Greenfield JR, Thompson CH & Burt MG.** Effects of low-dose prednisolone on hepatic and peripheral insulin sensitivity, insulin secretion, and abdominal adiposity in patients with inflammatory rheumatologic disease. *Diabetes Care*. 2013; 36 2822–2829
62. **Nicod N, Giusti V, Besse C & Tappy L.** Metabolic adaptations to dexamethasone-induced insulin resistance in healthy volunteers. *Obesity Research*. 2003; 11 625–631
63. **Willi SM, Kennedy A, Wallace P, Ganaway E, Rogers NL & Garvey WT.** Troglitazone antagonizes metabolic effects of glucocorticoids in humans: effects on glucose tolerance, insulin sensitivity, suppression of free fatty acids, and leptin. *Diabetes*. 2002; 51 2895–2902
64. **Novelli M, De Tata V, Bombara M, Lorenzini A, Masini M, Pollera M, Bergamini E & Masiello P.** Insufficient adaptive capability of pancreatic endocrine function in dexamethasone-treated ageing rats. *Journal of Endocrinology*. 1999; 162 425–432
65. **Karlsson S, Ostlund B, Myrsen-Axcrona U, Sundler F & Ahren B.** β cell adaptation to dexamethasone-induced insulin resistance in rats involves increased glucose responsiveness but not glucose effectiveness. *Pancreas*. 2001; 22 148–156
66. **Rafacho A, Quallio S, Ribeiro DL, Taboga SR, Paula FM, Boschero AC & Bosqueiro JR.** The adaptive compensations in the endocrine pancreas from

- glucocorticoid-treated rats are reversible after the interruption of treatment. *Acta Physiologica*. 2010; 200 223–235
67. **Rafacho A, Abrantes JL, Ribeiro DL, Paula FM, Pinto ME, Boschero AC & Bosqueiro JR.** Morphofunctional alterations in endocrine pancreas of short- and long-term dexamethasone-treated rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2011; 43 275–281
 68. **Nimkarn S, Lin-Su K, New MI.** Steroid 21 hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2009;38(4):699-718.
 69. **Charmandari E, Chrousos GP.** Metabolic syndrome manifestations in classic congenital adrenal hyperplasia: do they predispose to atherosclerotic cardiovascular disease and secondary polycystic ovary syndrome? *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1083:37-53.
 70. **Mooij CF, Kroese JM, Claahsen-van der Grinten HL, Tack CJ, Hermus AR.** Unfavourable trends in cardiovascular and metabolic risk in pediatric and adult patients with congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73(2):137-146.
 71. **Merke DP, Chrousos GP, Eisenhofer G, Weise M, Keil MF, Rogol AD, et al.** Adrenomedullary dysplasia and hypofunction in patients with classic 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med*. 2000;343(19):1362-1368.
 72. **Charmandari E, Eisenhofer G, Mehlinger SL, Carlson A, Wesley R, Keil MF, et al.** Adrenomedullary function may predict phenotype and genotype in classic 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(7):3031-3037.
 73. **Finkelstein GP, Kim MS, Sinaii N, et al.** Clinical characteristics of a cohort of 244 patients with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(12):4429-4438.
 74. **Bouvattier C, Esterle L, Renoult-Pierre P, et al.** Clinical outcome, hormonal status, gonadotrope axis, and testicular function in 219 adult men born with classic 21-hydroxylase deficiency. A French National Survey. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(6):2303-2313.
 75. **Reisch N, Arlt W.** Fine tuning for quality of life: 21st century approach to treatment of Addison's disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2009;38(2):407-18, ix.
 76. **Falhammar H, Filipsson Nyström H, Wedell A, Thorén M.** Cardiovascular risk, metabolic profile, and body composition in adult males with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Eur J Endocrinol*. 2011;164(2):285-293.
 77. **Ubertini G, Bizzarri C, Grossi A, et al.** Blood pressure and left ventricular characteristics in young patients with classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Int J Pediatr Endocrinol*. 2009;2009(2):383610.
 78. **Vijayan R, Bhavani N, Pavithran PV, et al.** Metabolic profile, cardiovascular risk factors and health-related quality of life in children, adolescents and young adults with congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2019;32(8):871-877.
 79. **Subbarayan A, Dattani MT, Peters CJ, Hindmarsh PC.** Cardiovascular risk factors in children and adolescents with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;80(4):471-477.
 80. **Bouvattier C, Esterle L, Renoult-Pierre P, et al.** Clinical outcome, hormonal status, gonadotrope axis, and testicular function in 219 adult men born with classic 21-hydroxylase deficiency. A French National Survey. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(6):2303-2313.
 81. **Falhammar H, Frisén L, Hirschberg AL, et al.** Increased cardiovascular and metabolic morbidity in patients with 21-hydroxylase deficiency: a Swedish

- population-based national cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(9):3520-3528.
82. **Rosenbaum D, Gallo A, Lethielleux G, et al.** CARDIOHCS study group. Early central blood pressure elevation in adult patients with 21-hydroxylase deficiency. *J Hypertens.* 2019;37(1):175-181.
 83. **Tamhane S, Rodriguez-Gutierrez R, Iqbal AM, et al.** Cardiovascular and metabolic outcomes in congenital adrenal hyperplasia: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(11):4097-4103.
 84. **de Oliveira DM, Vasques ACJ, Gonçalves EM, de Lemos-Marini SHV, Guerra-Junior G, Geloneze B.** Energy expenditure in 21-hydroxylase congenital adrenal hyperplasia patients and comparison with predictive equations. *Endocr Pract.* 2020 apr;26(4):388-398.
 85. **Volkl TM, Simm D, Beier C, Dorr HG.** Obesity among children and adolescents with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics.* 2006;117(1):98-105.
 86. **Bhasin S.** Effects of testosterone administration on fat distribution, insulin sensitivity, and atherosclerosis progression. *Clin Infect Dis.* 2003;37(Suppl 2):142-149.
 87. **Min L.** Functional hypercortisolism, visceral obesity, and metabolic syndrome. *Endocr Pract.* 2016;22(4):506-508.
 88. **Mooij CF, Kroese JM, Sweep FC, Hermus AR, Tack CJ.** Adult patients with congenital adrenal hyperplasia have elevated blood pressure but otherwise a normal cardiovascular risk profile. *PLoS One.* 2011;6:e24204.
 89. **Sartorato P, Zulian E, Benedini S, Mariniello B, Schiavi F, Bilora F, et al.** Cardiovascular risk factors and ultrasound evaluation of intima-media thickness at common carotids, carotid bulbs, and femoral and abdominal aorta arteries in patients with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(3):1015-1018.
 90. **Mantzoros CS.** The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med.* 1999;130(8): 671-680
 91. **Charmandari E, Weise M, Bornstein SR, Eisenhofer G, Keil MF, Chrousos GP, et al.** Children with classic congenital adrenal hyperplasia have elevated serum leptin concentrations and insulin resistance: potential clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(5):2114-2120.
 92. **Isguven P, Arslanoglu I, Mesutoglu N, Yildiz M, Erguven M.** Bioelectrical impedance analysis of body fatness in childhood congenital adrenal hyperplasia and its metabolic correlates. *Eur J Pediatr.* 2008;167(11):1263-1268.
 93. **Falhammar H, Thorén M.** Clinical outcomes in the management of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrine.* 2012;41(3):355-373.
 94. **Marra AM, Improda N, Capalbo D, et al.** Cardiovascular abnormalities and impaired exercise performance in adolescents with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(2):644-652.
 95. **Improda N, Barbieri F, Ciccarelli GP, Capalbo D, Salerno M.** Cardiovascular health in children and adolescents with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:212.
 96. **Gomes LG, Mendonca BB, Bachega TASS.** Long-term cardiometabolic outcomes in patients with classical congenital adrenal hyperplasia: is the risk real? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2020;27(3):155-161.
 97. **Paizoni L, Auer MK, Schmidt H, Hübner A, Bidlingmaier M, Reisch N.** Effect of androgen excess and glucocorticoid exposure on metabolic risk profiles in patients

- with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;197(8):105540.
98. **Moreira RP, Gomes LG, Mendonca BB, Bachega TA.** Impact of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on the metabolic profile of adult patients with the classical form of 21-hydroxylase deficiency. *PLoS One*. 2012;7(9):e44893.
 99. **Arlt W, Willis DS, Wild SH, et al.** United Kingdom Congenital Adrenal Hyperplasia Adult Study Executive (CaHASE). Health status of adults with congenital adrenal hyperplasia: a cohort study of 203 patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(11):5110-5121.
 100. **Finkelstein GP, Kim MS, Sinaii N, et al.** Clinical characteristics of a cohort of 244 patients with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(12):4429-4438.
 101. **Bachelot A, Golmard JL, Dulon J, et al.** Determining clinical and biological indicators for health outcomes in adult patients with childhood onset of congenital adrenal hyperplasia. *Eur J Endocrinol*. 2015;173(2):175-184.
 102. **Kim B, Lee MN, Park HD, et al.** Dried blood spot testing for seven steroids using liquid chromatography-tandem mass spectrometry with reference interval determination in the Korean population. *Ann Lab Med*. 2015;35(6):578-585.
 103. **Koenen TB, Tack CJ, Kroese JM, Hermus AR, Sweep FC, van der Laak J, Stalenhoef AF, de Graaf J, van Tits LJ, Stienstra R.** Pioglitazone treatment enlarges subcutaneous adipocytes in insulin-resistant patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Nov;94(11):4453-7.
 104. **Delai A, Gomes PM, Foss-Freitas MC, Elias J, Antonini SR, Castro M, Moreira AC, Mermejo LM.** Hyperinsulinemic-euglycaemic clamp strengthens the insulin resistance in nonclassical congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Oct 25:Epub ahead of print.
 105. **Christensen AA, Gannon M.** The Beta Cell in Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2019 Aug 9;19(9):81.
 106. **DeFronzo RA. Banting Lecture.** From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*. 2009 Apr;58(4):773-95.
 107. **Stabe C, Vasques AC, Lima MM, et al.** Neck circumference as a simple tool for identifying the metabolic syndrome and insulin resistance: results from the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013; 78: 874-881.
 108. **DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R.** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979 Sep;237(3):E214-23.
 109. **Van Cauter E, Mestrez F, Sturis J, Polonsky KS.** Estimation of insulin secretion rates from C-peptide levels. Comparison of individual and standard kinetic parameter for C-peptide clearance. *Diabetes* 1992;41(3):368-77.
 110. **Duckworth WC, Bennett RG, Hamel FG (1998)** Insulin degradation: progress and potential *Endocr Rev* 19, 608–624
 111. **Ferrannini E, Natali A, Bell P et al. (1997)** Insulin resistance and hypersecretion in obesity European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) *J Clin Invest* 100, 1166–1173
 112. **Camasta S, Manco M, Mari A et al. (2005)** β -cell function in morbidly obese subjects during free living: long-term effects of weight loss *Diabetes* 54, 2382–2389
 113. **Eaton RP, Allen RC, Schade DS et al. (1980)** Prehepatic insulin production in man: kinetic analysis using peripheral connecting peptide behavior *J Clin Endocrinol Metab* 51, 520–528

114. Hovorka R, Jones RH (1994) How to measure insulin secretion *Diabetes Metab Rev* 10, 91–117
115. Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006;**72**(2):219-220.
116. Ahrén B, Pacini G. Age-related reduction in glucose elimination is accompanied by reduced glucose effectiveness and increased hepatic insulin extraction in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;**83**(9):3350-3356.
117. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 2006;**116**(7):1802-1812.
118. Falhammar H, Filipsson H, Holmdahl G, et al. Increased liver enzymes in adult women with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr J.* 2009;**56**(4):601-608.
119. Kappe C, Fransson L, Wolbert P, Ortsäter H. Glucocorticoids suppress GLP-1 secretion: possible contribution to their diabetogenic effects. *Clin Sci (Lond).* 2015;**129**(5):405-414.
120. Esguerra JLS, Ofori JK, Nagao M, et al. Glucocorticoid induces human beta cell dysfunction by involving riborepressor GAS5 LincRNA. *Mol Metab.* 2020;**32**(February):160-167.
121. Speiser PW, Serrat J, New MI, Gertner JM. Insulin insensitivity in adrenal hyperplasia due to nonclassical steroid 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;**75**(6):1421-1424.
122. Najjar SM, Perdomo G. Hepatic insulin clearance: mechanism and physiology. *Physiology (Bethesda).* 2019;**34**(3):198-215.
123. Duckworth WC, Bennett RG, Hamel FG. Insulin degradation: progress and potential. *Endocr Rev.* 1998;**19**(5):608-624.
124. Maianti JP, Tan GA, Vetere A, et al. Substrate-selective inhibitors that reprogram the activity of insulin-degrading enzyme. *Nat Chem Biol.* 2019;**15**(6):565-574.
125. Heinrich G, Ghadieh HE, Ghanem SS, et al. Loss of hepatic CEACAM1: a unifying mechanism linking insulin resistance to obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;**8**(January):8.
126. Protzek AO, Rezende LF, Costa-Júnior JM, Ferreira SM, Cappelli AP, de Paula FM, de Souza JC, Kurauti MA, Carneiro EM, Rafacho A, Boschero AC. Hyperinsulinemia caused by dexamethasone treatment is associated with reduced insulin clearance and lower hepatic activity of insulin-degrading enzyme. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016 Jan;**155**(Pt A):1-8.
127. Maianti JP, McFedries A, Foda ZH, et al. Anti-diabetic activity of insulin-degrading enzyme inhibitors mediated by multiple hormones. *Nature.* 2014;**511**(7507):94-98.
128. Fosam A, Sikder S, Abel BS, et al. Reduced insulin clearance and insulin-degrading enzyme activity contribute to hyperinsulinemia in African Americans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;**105**(4):e1835- e1846.
129. Villa-Pérez P, Merino B, Fernández-Díaz CM, et al. Liver-specific ablation of insulin-degrading enzyme causes hepatic insulin resistance and glucose intolerance, without affecting insulin clearance in mice. *Metabolism.* 2018; **88**:1-11.
130. Keyhani-Nejad F, Barbosa Yanez RL, Kemper M, et al. Endogenously released GIP reduces and GLP-1 increases hepatic insulin extraction. *Peptides.* 2020;**125**(March):170231.

ANEXOS

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO CARDIOMETABÓLICA E DO PADRÃO DE SECREÇÃO DE CÉLULAS β ETA PANCREÁTICAS EM PACIENTES PORTADORES DE HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA

Pesquisador: Daniel Minutti de Oliveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 07886312.5.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas - UNICAMP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 157.824

Data da Relatoria: 05/12/2012

Apresentação do Projeto:

A deficiência da enzima 21-hidroxilase (D21OH) é a forma mais comum da hiperplasia adrenal congênita (HAC), responsável por mais de 90% dos casos da forma clássica da doença. Com a melhora do diagnóstico e a introdução do tratamento com a reposição de corticóides, houve aumento importante na sobrevida destes pacientes. No entanto, os estudos sobre os efeitos em longo prazo desse tratamento, em especial do ponto de vista cardiometabólico, ainda são escassos e, em parte, controversos. Portanto, o objetivo deste estudo será avaliar o risco cardiometabólico, incluindo a sensibilidade à insulina por meio do clamp hiperglicêmico, de pacientes com a forma clássica da HAC-D21OH em relação a um grupo controle pareado por idade, sexo e IMC. Também será verificada a associação dos fatores de risco presentes na síndrome metabólica em pacientes com HAC-D21OH com idade, sexo, genótipo, controle da doença, composição corporal, nível de atividade física, parâmetros laboratoriais séricos (leptina, adiponectina, proteína C reativa e metanefrina livre), resistência à insulina, e espessura das camadas íntima e média das carótidas (EIMC). Serão avaliados pacientes com idades acima de 18 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de HAC-D21H e acompanhados rotineiramente há pelo menos dois anos em ambulatório. Para a determinação do risco cardiometabólico, serão realizadas as avaliações da composição corporal (IMC, DXA, dobras cutâneas, bioimpedância elétrica), do monitoramento da pressão arterial por 24 horas, de parâmetros sanguíneos (perfil lipídico, leptina, adiponectina, IL-6, IL-1 β , proteína C reativa e metanefrinas na urina e no soro, e o clamp hiperglicêmico), da

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

**FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)**



atividade física por questionário, da EIMC por ultrassonografia, e da clarimetria indireta. Na análise dos resultados serão utilizados os testes estatísticos de comparação (Qui-quadrado, t de Student e Mann-Whitney), além da regressão linear múltipla, com p menor que 0,05.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar fatores de risco cardiometabólicos em pacientes com a forma clássica da HACD21OH e compará-los a um grupo controle.

Objetivos Secundários: a) Avaliar o padrão de secreção de insulina por meio do clamp hiperglicêmico em relação a um grupo controle; b) Verificar a prevalência de cada fator de risco cardiometabólico em pacientes com HAC-D21OH e compará-los ao grupo controle. c) Verificar a presença de síndrome metabólica entre em pacientes com HACD21OH, de acordo com critérios estabelecidos na literatura e compará-los ao grupo controle. d) Verificar a associação dos fatores de risco presentes na síndrome metabólica em pacientes com HACD21OH com: - idade; sexo; genótipo; forma clínica da doença; controle da doença; composição corporal (IMC, DXA, BIA e EDC); nível de atividade física; leptina, adiponectina e proteína C reativa; metanefrina livre plasmática; resistência à insulina; e a EIMC. e) Estimar a taxa de metabolismo basal nos pacientes através de calorimetria indireta.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Durante a realização do clamp existe chance de hipoglicemia após o término do experimento. Esse risco é baixíssimo devido à presença de médico experiente nesse tipo de procedimento, com tomada de medidas preventivas - diminuição lenta da infusão de glicose, almoço ao término do clamp e medidas de glicemia capilar no período de observação após o término do experimento. Existe também o risco de equimoses nos locais de punção venosa, que também são pequenos, pela presença no laboratório, de Enfermeira experiente.

Benefícios: não há benefícios diretos aos voluntários da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O pesquisador respondeu a todas as pendências comentadas na primeira versão do projeto:

- Deixou claro quais as responsabilidades de cada autor do projeto (mestrando, orientador e co-orientador) bem como sua finalidade (tese de mestrado);
- Submeteu ao CEP nova versão do TCLE, incluindo outros métodos de avaliação clínica do voluntário e endereço do CEP.
- O questionário internacional de atividade física a ser aplicado aos voluntários da pesquisa, questionário sócio-econômico, questionário sobre antecedentes familiares relacionados ao risco cardiovascular, bem como as tabelas de coleta de dados foram apresentadas no corpo da nova versão projeto de pesquisa completo.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- O pesquisador apresentou a folha de rosto devidamente assinada;
- O pesquisador revisou o TCLE, adequando-o de forma satisfatória;
- O pesquisador apresentou os questionários que serão aplicados aos voluntários da pesquisa.

Recomendações:

1. Lembramos que o TCLE deve ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa ou por seu representante legal e uma arquivada pelo pesquisador (resolução 196/96 CNS/MS, artigo IV.2 ϵ d₂).
2. Se o TCLE tiver mais de uma página, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas desse documento, apondo suas assinaturas na última página do referido termo (Carta Circular nº. 003/2011/CONEP/CNS).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado após resposta a pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPINAS, 29 de Novembro de 2012

Assinador por:
Carlos Eduardo Steiner
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Avaliação Cardiometabólica e do Padrão de Secreção de Células β Pancreáticas em Pacientes Portadores de Hiperplasia Adrenal Congênita

O(A) Sr(a). está sendo convidado(a) a fazer parte de um estudo de pesquisa, conduzido pelo Dr. Daniel Minutti e outros pesquisadores. Este termo de consentimento tem o objetivo de fornecer informações sobre o estudo que está sendo proposto e sobre os possíveis riscos relacionados.

Leia este termo de consentimento atentamente e, se tiver alguma dúvida, peça explicações ao médico ou a alguém da equipe do estudo. Se concordar em participar do estudo e autorizar o uso e divulgação das informações obtidas durante o mesmo, assine a última página deste termo de consentimento.

Enquanto participar deste estudo, você não deve tomar parte em outro projeto de pesquisa sem a aprovação dos pesquisadores envolvidos no estudo. Isso visa protegê-lo de possíveis problemas para sua saúde causados, por exemplo, pela interação de drogas usadas em pesquisas simultâneas.

Objetivo do estudo

O objetivo deste estudo é avaliar se existe um aumento na chance de se desenvolver doenças cardiovasculares (enfarte do coração, derrame cerebral) e o padrão de funcionamento das células do pâncreas que produzem insulina nos pacientes com Hiperplasia Adrenal Congênita. Sua participação é muito importante, pois nos ajudará a definir se é possível tomar medidas precoces que possam evitar essas doenças e esclarecer se existe alguma alteração no funcionamento do pâncreas que leve a um possível aumento de chance de se desenvolver diabetes no futuro. Os progressos no conhecimento da doença e seus

tratamentos necessitam de estudos como este, pois métodos alternativos existem e já foram estudados. Entretanto, perguntas importantes ainda permanecem sem respostas e esse trabalho pode ajudar muito nesse processo.

Procedimentos do estudo

Você será convidado a realizar o clamp hiperglicêmico, um teste realizado em um leito do nosso laboratório, supervisionado por um médico e auxiliado por uma enfermeira. Tem a duração aproximada de uma manhã. Outros testes também serão realizados antes do início do clamp.

Serão feitas algumas perguntas sobre a sua saúde, condição de vida e atividade física. Serão verificadas pressão arterial, peso, altura e circunferência abdominal.

A medida da gordura corporal será medida por 3 métodos, que levarão no total aproximadamente 10 minutos. O primeiro método é o de pregas cutâneas, em que será medida a espessura do tecido gorduroso com uma régua especial na panturrilha, braço, barriga e costas. O segundo é a bioimpedância, que colocará um fio em cada mão e em cada pé, conectados em um aparelho que produzirá uma corrente elétrica imperceptível durante alguns segundos para realizar os cálculos. O terceiro e último método é o DEXA. É um aparelho parecido com um Raio X, mas que não produz radiação. Ele possui um detector que captará a radiação produzida pelo seu organismo. Com isso, é capaz de precisar os locais do corpo onde se deposita a gordura.

Em seguida, serão feitas as medidas da espessura das artérias carótidas com um ultrassom, localizadas no pescoço. Levará menos de um minuto.

No início do procedimento principal, será feita a aferição da sua taxa de metabolismo com um aparelho denominado calorímetro. Você deverá inspirar e expirar através de um tubo entre 8 e 10 minutos. Esse ar será analisado por um sensor acoplado a um computador para a realização do cálculo.

Por fim, o clamp consiste em um teste em que será infundida

solução com glicose em uma veia, para que a taxa de açúcar no sangue se eleve, fazendo com que o pâncreas produza insulina. O modo como o pâncreas se comporta nessa situação será estudado, com a coleta de sangue em intervalos regulares durante aproximadamente 3 horas.

Existe o risco de ocorrer hipoglicemia (baixa quantidade de açúcar no sangue) principalmente no final do teste. Essa chance é muito baixa, já que o médico responsável é experiente nesse tipo de procedimento. Outro risco é a formação de manchas roxas no local de coleta do sangue. Como dispomos de enfermeira experiente, também é baixa a probabilidade de isso acontecer.

A primeira coleta de sangue do teste também servirá para os exames do próximo retorno no ambulatório e para as dosagens de algumas substâncias presentes no sangue que podem estar relacionados com o que estamos estudando.

No final do exame, um almoço será oferecido a você.

Na véspera da consulta de retorno, iremos solicitar uma coleta de urina de 24 horas e medir a pressão arterial também por 24 horas, com um aparelho portátil que ficará instalado em seu braço.

Dados relativos ao seu acompanhamento no Ambulatório serão coletados do seu Prontuário Médico.

Confidencialidade e privacidade dos seus dados e identificação

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

Posso me recusar a participar do estudo?

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

A qualquer momento você poderá recusar-se a continuar participando do estudo e também poderá retirar este consentimento, sem que isso traga qualquer penalidade ou prejuízo.

Como poderei tirar dúvidas a respeito do estudo?

Em caso de dúvida entre em contato com os médicos que estão conduzindo o estudo, no Ambulatório de Pediatria da Unicamp, às segundas-feiras de manhã e quintas – feiras o dia todo, ou pelo telefone (19) 3521-7646 (Dr.Daniel Minutti ou Sofia Lemos). Se tiver dúvidas sobre seus direitos como participante do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP pelo telefone (19) 3521-8936, 3521-7187 ou e-mail cep@fcm.unicamp.br, endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 - Caixa Postal 6111 13083-887, Campinas – SP.

NÓS NÃO PODEMOS E NÃO GARANTIREMOS QUE VOCÊ RECEBERÁ QUALQUER BENEFÍCIO DIRETO DESTE ESTUDO.

A SUA ASSINATURA, EM CADA PÁGINA DESTE DOCUMENTO, SIGNIFICA QUE: VOCÊ LEU E ENTENDEU AS INFORMAÇÕES ACIMA; VOCÊ DISCUTIU O ESTUDO COM O INVESTIGADOR PRINCIPAL E/OU SUA EQUIPE; VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DO ESTUDO COM BASE NAS INFORMAÇÕES FORNECIDAS; UMA CÓPIA DESTE CONSENTIMENTO FOI DADA A VOCÊ.

Nome do voluntário: _____

Assinatura: _____ **Data** ____/____/____

Assinatura do pesquisador responsável: _____



Clinical Research Article

Insulin Resistance in Congenital Adrenal Hyperplasia is Compensated for by Reduced Insulin Clearance

Daniel Minutti de Oliveira,¹ Andrea Tura,² Ana Carolina Junqueira Vasques,^{1,3} Daniella Fernandes Camilo,¹ Marcelo Miranda Lima,¹ Sofia Helena Valente de Lemos-Marini,⁴ Ezequiel Moreira Gonçalves,⁵ Gil Guerra-Junior,^{4,5} and Bruno Geloneze^{1,6}

¹Laboratory of Investigation in Metabolism and Diabetes (LIMED), Gastrocentro, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; ²Metabolic Unit, CNR Institute of Neuroscience, Padova, Italy; ³School of Applied Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Limeira, Brazil; ⁴Pediatric Endocrinology Department, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; ⁵Growth and Development Laboratory—Center for Investigation in Pediatrics (CIPED), University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; and ⁶Obesity and Comorbidities Research Center (OCRC), University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

ORCID numbers: 0000-0003-3466-5900 (A. Tura); 0000-0002-0557-4578 (B. Geloneze).

Abbreviations: 21-OHD, 21-hydroxylase deficiency; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate amino transferase; AUC, area under the curve; BMI, body mass index; CAH, congenital adrenal hyperplasia; CEACAM-1, glycoprotein carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1; DI, disposition index; FM, fat mass; GC, glucocorticoid; GLP, glucagon-like peptide; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA, homeostasis model assessment index; IDE, insulin degrading enzyme; IR, insulin resistance; IS, insulin sensitivity; ISI, insulin sensitivity index; ISR, insulin secretory rate; SW, salt wasting; SV, simple virilizing; T2DM, type 2 diabetes.

Received: 21 May 2020; Editorial Decision: 6 January 2021; First Published Online: 9 January 2021; Corrected and Typeset: 9 February 2021.

Abstract

Context: Congenital adrenal hyperplasia (CAH) patients have potential normal longevity. However, a greater risk for cardiovascular disease has been reported. Insulin resistance and hyperinsulinemia have been described in CAH patients, whereas the prevalence of overt type 2 diabetes is not higher in CAH than in normal population.

Objective: To examine the contributions of insulin secretion and of hepatic insulin clearance to compensatory hyperinsulinemia in young insulin-resistant adults with classic CAH due to 21-hydroxylase deficiency (21-OHD).

Design: Cross-sectional.

Setting: University outpatient clinics.

Methods: Fifty-one participants: 21 controls, and 30 CAH (15 virilizing and 15 salt-wasting phenotypes), female/male (33/18), age (mean [SD]): 24.0 (3.6) years, body mass index: 24.6 (4.9) kg/m² with normal glucose tolerance, were submitted to a hyperglycemic clamp study.