



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS – GRADUAÇÃO EM MEDICINA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ÍVINA ELAINE DOS SANTOS ROCHA

**SENSIBILIDADE INSULÍNICA E FUNÇÃO DA CÉLULA
BETA EM INDIVÍDUOS HETEROZIGÓTICOS PARA UMA
MUTAÇÃO NO GENE DO RECEPTOR DO GHRH**

**ARACAJU
2011**

ÍVINA ELAINE DOS SANTOS ROCHA

**SENSIBILIDADE INSULÍNICA E FUNÇÃO DA CÉLULA
BETA EM INDIVÍDUOS HETEROZIGÓTICOS PARA UMA
MUTAÇÃO NO GENE DO RECEPTOR DO GHRH**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe - UFS, como um dos pré requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Hermínio de Aguiar Oliveira

**Aracaju
2011**

**Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da Saúde
Universidade Federal de Sergipe**

R672s Rocha, Ívina Elaine dos Santos
Sensibilidade insulínica e função de célula beta em indivíduos heterozigóticos para uma mutação no gene do receptor do GHRH / Ívina Elaine dos Santos Rocha. -- Aracaju, 2011.
85f.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Hermínio de Aguiar Oliveira

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Núcleo de Pós-Graduação e Pesquisa em Medicina.

1. Hormônio do crescimento humano - Deficiência 2. Células beta 3. Insulina 4. Heterozigose 5. Variação fenotípica 6. Endocrinologia I. Título

CDU 612.43:577.175.72

ÍVINA ELAINE DOS SANTOS ROCHA

**SENSIBILIDADE INSULÍNICA E FUNÇÃO DA CÉLULA
BETA EM INDIVÍDUOS HETEROZIGÓTICOS PARA UMA
MUTAÇÃO NO GENE DO RECEPTOR DO GHRH**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Núcleo de Pós-Graduação em Medicina da
Universidade Federal de Sergipe, para
obtenção do grau de Mestre em Ciências da
Saúde.

APROVADA EM: 09/05/2011

BANCA EXAMINADORA

ORIENTADOR: PROF. DR. MANUEL HERMÍNIO AGUIAR-OLIVEIRA - UFS

1ª EXAMINADORA: PROF. DR. ALEXANDER AUGUSTO DE LIMA JORGE – USP

2º EXAMINADOR: PROF. DR. FRANCISCO DE ASSIS PEREIRA - UFS

PARECER

*“ Na vida ficam três coisas: a certeza de que
estamos sempre começando, a certeza de que é
preciso continuar e a certeza de podemos ser
interrompidos antes de terminamos.*

*Fazer da interrupção um caminho novo, da queda,
um passo de dança,
do medo, uma escada, do sonho, uma ponte, da
procura, um encontro e assim, terá valido a pena.”*

Fernando Sabino

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, pela luz que me guia, sempre;

Aos meus pais, meus eternos e grandes amores, Getúlio e Creuza, pelos valores, pela dignidade, pelo caráter, pela honestidade e incentivo em todos os projetos de minha vida;

Aos meus irmãos, Gether, Alynson e Getúlio Jr. pelo incentivo, sempre, amo vocês;

Aos meus sobrinhos, pelos momentos de distração e muitas, muitas alegrias;

A minha grande amiga Alda, minha dinda, pelos momentos de alegria, de muitas conversas, pelo exemplo de perseverança e crescimento, pelo apoio. Sucesso na sua jornada.

Aos meus amigos do HU, Jane, Viviane, Silvia, Paulo e Sandro pela ajuda, pelos momentos de gargalhadas e apoio para sempre seguir em frente, ultrapassando todos os obstáculos; em especial Dra. Flávia, pelos conselhos e Dra. Djane por escutar as angústias de uma mestrandia.

A Fábio e Cândida, colegas e companheiros nessa jornada;

A Dra. Carla Raquel Pereira Oliveira pela grande ajuda, pela paciência;

Em especial, a Dr. Manuel Hermínio, meu orientador, mestre, pela oportunidade, pelo entusiasmo e incentivo.

Ao grupo de colaboradores no projeto de Itabaianha, pela ajuda na realização deste trabalho especialmente as bioquímicas Rossana, Raquel e Suili;

A população de Itabaianinha, pelo apoio ao desenvolvimento da ciência.

RESUMO

GH e o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) apresentam funções sinérgicas sobre a síntese protéica e massa muscular. No tecido adiposo, o GH estimula a lipólise e oxidação lípidica, enquanto o IGF-I estimula a diferenciação dos pré adipócitos em adipócitos. No metabolismo glicídico, GH e IGF-I têm ações opostas, sendo o GH antagonístico e o IGF-I sinérgico à sensibilidade insulínica (SI). Indivíduos heterozigóticos adultos para a mutação c.104=1G>A gene do receptor do hormônio liberador do GH (MUT/N) no, apresentam discreta redução do GH e níveis normais de IGF-I acompanhada de redução significativa da massa magra (Kg), com tendência à redução da massa gorda (Kg), em relação aos indivíduos homozigóticos normais (N/N). A SI e a função das células beta são desconhecidas nos indivíduos MUT/N. Para avaliá-las, foi realizado o teste de tolerância oral à glicose com administração de 75g de glicose e dosagens de glicose e insulina nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos em 25 indivíduos MUT/N (12 M/ 13 F; 40,08 ± 10,87 anos) e 25 N/N (14 M/ 11 F; 39,96 ± 12,49 anos). Não houve diferença na altura, contudo o peso, o IMC, a cintura e o quadril foram menores nos indivíduos MUT/N. A sensibilidade à insulina (SI) foi avaliada pelo HOMA_{ir}, onde menores valores, indicam maior SI e pelos QUICKI, OGIS 2 e OGIS 3, onde maiores valores, indicam maior SI. A função da célula beta foi avaliada pelo HOMA-beta, índice insulínogênico e área sob a curva da razão insulina/ glicose (ASC I/G). ANOVA indicou que não houve diferença entre as respostas glicêmica e insulinêmica entre os grupos. As áreas sob a curva de glicose e insulina foram semelhantes como também entre o número de pacientes com pré diabetes e diabetes. Não foram verificadas variações no HOMA_{ir}, QUICKI, OGIS 2 e OGIS 3, HOMA beta, índice insulínogênico e ASC I/G entre os dois grupos. Em conclusão, a sensibilidade insulínica e a função de célula beta nos indivíduos MUT/N são semelhantes a dos indivíduos N/N.

Palavras Chave: deficiência de GH, função de célula beta; heterozigose; sensibilidade insulínica.

ABSTRACT

GH and the insulin like growth factor type I (IGF-I) have synergistic functions on protein synthesis and muscle mass. In adipose tissue, GH stimulates lipolysis and lipid oxidation, while IGF-I stimulates the differentiation of pre adipocytes to adipocytes. In glucose metabolism, GH and IGF-I have antagonist opposite actions, GH antagonist and IGF-I synergetic to insulin sensitivity (IS). Heterozygous adults individuals for the mutation c.104 = 1G> A in the GH releasing hormone receptor gene (MUT/N), present a mild reduction of GH and normal IGF-I levels accompanied by a significant reduction in lean body mass (Kg), with a tendency of reduction in fat mass (kg), compared to homozygous normal adults individuals (N/N). IS and the beta cell function are unknown in individuals MUT/ N. To evaluate them, it was performed the oral glucose tolerance test with administration of 75g of glucose and serum glucose and insulin were measured at 0, 30, 60, 90, 120 and 180 minutes in 25 individual MUT/ N (12 M / 13 F, 40.08 $\pm$ 10.87 years) and 25 N/N (14 M / F 11; 39.96 $\pm$ 12.49 years). There was no difference in height, nevertheless weight, BMI, waist and hip circumferences were lower in individuals MUT/N. IS was assessed by HOMA_{IR}, where lower values indicate a greater IS and the QUICKI, OGIS 2 and OGIS 3, where higher values indicate higher SI. The beta cell function was assessed by HOMA-beta, insulinogenic index and area under the curve of insulin / glucose ratio (ASC I/G). ANOVA showed no difference between glucose and insulin responses between the groups. The areas under the curve of glucose and insulin were also similar between the number of patients with pre diabetes and diabetes. No changes were observed in the HOMA_{IR}, QUICKI, OGIS 2 and OGIS 3, HOMA beta, insulinogenic index and ASC I/G between the two groups. In conclusion, insulin sensitivity and beta cell function in MUT/N individuals are similar to N/N individuals.

Key Words: beta cell function; GH deficiency; heterozygosis ; insulin sensitivity.

LISTA DE ABREVIATURAS

A – Adenina

ASC G – Área Sob a Curva da glicose

ASC I – Área Sob a Curva da insulina

ASC I/G – Área Sob a Curva da relação Insulina/Glicose

DM – Diabetes mellitus

DP – Desvio padrão

DIGH – Deficiência Isolada do Hormônio de Crescimento

DGGE - *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* – eletroforese em gel com gradiente de desnaturação.

Z Score a/i – Escore do desvio padrão da altura em relação à idade

F – Feminino

G – Guanina

GH – Hormônio do crescimento

GH-R – Receptor do hormônio do crescimento

GH-R – Gene do receptor do Hormônio e crescimento

GHRH – Fator liberador do GH

GHRH-R – Receptor do fator liberador do GH

GHRH-R – Gene do receptor do GHRH

HDL- Lipoproteína de alta densidade

HOMAbeta - *Homeostasis model assessment* – índice de função de célula beta

HOMAir – *Homeostasis model assessment* – modelo de resistência à insulina

IGF-I – Fator de crescimento semelhante à insulina

IGFBP3 – Proteína carreadora de IGF, tipo 3

IMC – Índice de massa corpórea

LDL – *Low Density Liprotein* - Lipoproteína de baixa densidade

M – Masculino

MUT/MUT – Indivíduos homozigóticos afetados para mutação no *GHRH-R*

MUT/N – Indivíduos heterozigóticos afetados para mutação no *GHRH-R*

N/N – Indivíduos homozigóticos normais para mutação no *GHRH-R*

OGIS 2 – *Oral Glucose Insulin Sensitivity* - Sensibilidade insulínica à glicose oral, calculado pelo TTGO com 2 horas de duração

OGIS 3 - *Oral Glucose Insulin Sensitivity* - Sensibilidade insulínica à glicose oral, calculado pelo TTGO com 3 horas de duração

PCRas – Proteína C reativa de alta sensibilidade

PCR – *Polimerase Chain Reaction* – reação em cadeia de polimerase

QUICKI – *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index* – índice de sensibilidade à insulina

RI – Resistência à Insulina

SI – Sensibilidade à Insulina

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TTGO – Teste de Tolerância Oral à Glicose

TTGO 3h – Teste de Tolerância Oral à Glicose com 3 horas de duração

LISTA DE SÍMBOLOS

g – Grama

Kg – Kilograma

$\pm$ - Mais ou menos

ng – Nanograma

% - Porcentagem

Km – Kilômetro

Km² – Kilômetro ao quadrado

μU/mL – Microunidade por mililitro

mmol – Micromolar

mg/dL – Miligramas por decilitro

$\sqrt{}$ - Raiz quadrada

$\geq$ - Maior ou igual

m – Metro

mL – Mililitro

°C – Graus centígrados

$<$ - Menor

$\leq$ - Menor ou igual

h - Hora

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da regulação intrínseca do eixo GH-IGF-I.....	20
Figura 2. Esquema representativo das bandas após PCR (reação em cadeia de polimerase) em indivíduos de Itabaianinha-SE	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resposta glicêmica, após dose oral de glicose , entre os grupos Heterozigótico (MUT/N) e Homozigótico normal (N/N).....	41
Gráfico 2. Resposta insulinêmica (logaritmo de insulina) após dose oral de glicose entre os grupos Heterozigótico (MUT/N) e Homozigótico normal (N/N).....	43
Gráfico 3. Representação gráfica das áreas sob as curvas de insulina (ASC I) nos grupos Heterozigótico (MUT/N) e Homozigótico normal (N/N).....	43
Gráfico 4. HOMA-beta nos grupos Heterozigótico (MUT/N) e Homozigótico normal (N/N).....	45
Gráfico 5. Índice insulinogênico nos grupos Heterozigótico (MUT/N) e Homozigótico normal (N/N).....	45
Gráfico 6. Representação gráfica das áreas sob as curvas da relação insulina/glicose (ASC I/G) entre os grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N)).....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ações metabólicas do GH e do IGF-I.....	23
Tabela 2 – Dados antropométricos dos grupos de indivíduos Heterozigóticos e Homozigóticos normais.....	40
Tabela 3 – Estratificação dos indivíduos Heterozigóticos e Homozigóticos normais por idade e sexo.....	40
Tabela 4 - Comportamento da glicemia durante o TTGO 3h nos grupos Heterozigótico (MUT/N) e Homozigótico normal (N/N).....	41
Tabela 5 – Nº de indivíduos com diagnóstico de pré diabetes e diabetes entre os grupos Heterozigótico (MUT/N) (n=25) e Homozigótico normal (N/N) (n=25).....	42
Tabela 6 - Comportamento da insulina durante o TTGO 3h nos grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N).....	42
Tabela 7 – Resultados de OGIS 2, OGIS 3, HOMA _{air} e QUICKI em indivíduos Heterozigóticos e Homozigóticos normais.....	44
Tabela A1 – Características antropométricas do grupo Heterozigótico (12M/13F).....	76
Tabela A2 - Características antropométricas no grupo Homozigótico normal (14M/11F)	77
Tabela A3 – Dose de glicose (g), Glicemia nos 6 tempos do TTGO e ASC Glicose (mg/dL) no grupo Heterozigótico.....	78
Tabela A4 - Dose de glicose (g), Glicemia nos 6 tempos do TTGO e ASC Glicose (mg/dL) no grupo Homozigótico normal	79
Tabela A5 - Insulina (μ U/mL) nos 6 tempos de TTGO e ASC Insulina no grupo Heterozigótico.....	80
Tabela A6 - Insulina (μ U/mL) nos 6 tempos de TTGO e ASC Insulina no grupo Homozigótico normal.....	81
Tabela A7 – HOMA _{air} , QUICKI, OGIS 2, OGIS 3, HOMA beta, Índice Insulinogênico e ASC I/G no grupo Heterozigótico	82
Tabela A8 - HOMA _{air} , QUICKI, OGIS 2, OGIS 3, HOMA beta, Índice Insulinogênico e ASC I/G no grupo Homozigótico normal.....	83

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Hormônio do Crescimento- GH e Deficiência Isolada (DIGH).....	19
2.1.1 Ações Metabólicas do GH e IGF-I em humanos.....	21
2.1.2 DIGH de Itabaianinha.....	23
2.2 Heterozigose na DIGH.....	24
2.3 Sensibilidade Insulínica (SI).....	25
2.3.1 GH e Sensibilidade Insulínica.....	27
2.4 Função de Célula beta.....	28
2.5 Justificativa.....	29
3. OBJETIVOS.....	31
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	33
4.1 Casuística.....	34
4.1.1 População de estudo.....	34
4.1.2 Pré – seleção.....	34
4.1.3 Critérios de inclusão e exclusão.....	35
4.2 Métodos.....	36
4.2.1 Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTGO).....	36
4.2.2 Avaliação da sensibilidade insulínica.....	37
4.2.3 Avaliação da função de célula beta.....	37
4.2.4 Análise estatística.....	38
5. RESULTADOS.....	39
5.1 Dados antropométricos.....	40
5.2 Resposta glicêmica no TTGO 3h.....	41
5.2.1 Diagnóstico de pré diabetes e diabetes.....	42
5.3 Resposta Insulinêmica no TTGO 3h.....	42
5.4 Sensibilidade à insulina.....	44
5.5 Função da célula beta.....	44
6. DISCUSSÃO.....	47
7. CONCLUSÕES.....	52
8. REFERÊNCIAS.....	54

9. ANEXOS.....	64
Anexo 1 – Equações de Mari <i>et al</i> , 2001 para os cálculos de OGIS 3.....	65
Anexo 2 – Parecer do CONEP nº 1361 / 2004.....	66
10. APÊNDICES.....	67
Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	68
Apêndice 2 – Tabelas do estudo: avaliação de sensibilidade insulínica e função de célula beta.....	76

1. INTRODUÇÃO

O hormônio do crescimento (GH), principal regulador do crescimento pós-natal, tem importantes ações metabólicas em diferentes tecidos, sinérgicas ou até antagônicas às do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I), produzido principalmente no fígado após ligação do GH ao seu receptor (GH-R). Experimentos em modelos animais indicam um papel importante do GH na resistência à insulina, enquanto o papel do IGF-I parece ser importante na função de massa de células beta produtoras de insulina (YAKAR *et al*, 2004). Em humanos, o GH promove aumento da lipólise e da oxidação lipídica, enquanto o IGF-I desencadeia o aumento da oxidação lipídica apenas cronicamente. O GH e o IGF-I têm ações sinérgicas sob síntese de proteínas e massa muscular (OLIVEIRA, 2010). Enquanto as ações sobre o crescimento são temporárias, as ações metabólicas do eixo GH/IGF-I perduram durante toda a vida.

A deficiência isolada do hormônio do crescimento (DIGH) tem uma ocorrência familiar em 5 a 30 % dos casos (SOUZA, 1997). Quatro modelos de herança têm sido descritos: tipo IA, com herança autossômica recessiva com GH ausente e frequente produção de anticorpos anti-GH o que frustra o tratamento de reposição com GH, tipo IB, autossômica recessiva com GH baixo, tipo II, autossômica dominante com GH baixo e tipo III com herança ligada ao cromossomo X com GH baixo. Enquanto que os defeitos genéticos causadores do tipo III são desconhecidos, sabe-se que grandes deleções no GH1 são causas de DIGH tipo IA e IB e mutações no genes do GH1 e do *GHRH-R* são causas de DIGH tipo B. Provavelmente as mutações no *GHRH-R* são as causas mais frequentes de DIGH tipo B (SALVATORI *et al*, 2001).

Desde que a primeira mutação humana de *GHRHR* (E72X) foi relatada no sub continente indiano (WAJNRAJCH *et al.*, 1996; MAHESHWARI *et al.*, 1998), mutações genéticas do *GHRH-R* foram descritas em muitas áreas geográficas diferentes, incluindo América do Norte e do Sul, Europa, África e Ásia. Até o momento 17 mutações foram relatadas (MARTARI; SALVATORI, 2009), cada uma em uma área geográfica específica, à exceção da mutação p.L144H encontrada no Brasil (Aquidabã, Sergipe), Espanha e nos EUA (SALVATORI *et al*, 2002). O fato de que, em várias famílias de afetados, os indivíduos heterozigóticos combinam mutações em alelos distintos no *GHRH-R* defeituosos, sugere que estas mutações podem ser bastante prevalentes na população em geral (SALVATORI *et al.*, 2001; 2002).

Identificamos uma grande família com DIGH familiar, com 105 indivíduos afetados em mais de 7 gerações, residindo no município brasileiro de Itabaianinha, Sergipe. Nesta população, a DIGH é uma mutação causada por uma mutação homozigótica no início do íntron 1 (c.104+G>A) do *GHRH-R* (SALVATORI *et al.*, 1999). Os indivíduos homozigóticos afetados apresentam níveis muito baixos de GH e IGF-I, massa magra diminuída, aumento do percentual de massa gorda, relação cintura/quadril aumentada, aumento dos níveis de LDL colesterol e da proteína C reativa de alta sensibilidade, aumento da pressão sanguínea sistólica, sem resistência à insulina e sem evidência de aterosclerose prematura (BARRETTO *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2006), associados a níveis nomais de leptina e aumentados de adiponectina (OLIVEIRA *et al.*, 2010) e longevidade semelhante (AGUIAR-OLIVEIRA *et al.*, 2010) quando comparados a indivíduos homozigóticos normais.

O conceito de que a DIGH frequentemente é associada a maior propensão à hipoglicemia, vem sendo desafiado por estudos mostrando a associação entre a DIGH, de início na idade adulta e resistência à insulina (AMATO *et al.*, 1993; GOLLA *et al.*, 2005) em um paradoxo de que a deficiência e o excesso de GH (CLEMMONS *et al.*, 2004) estariam associados à resistência insulínica. Estes dados sugerem que a DIGH de início na infância pode não apresentar a resistência à insulina característica da DIGH de início na idade adulta (HEW *et al.*, 1996). Contudo, estudo recente na DIGH de Itabaianinha, demonstrou que em indivíduos homozigóticos afetados, a sensibilidade insulínica (SI) é semelhante a função de célula beta é reduzida (OLIVEIRA, 2011).

Mutações em heterozigose no *GHRH-R*, causam redução de 50% na concentração do receptor, que poderia causar retardo no déficit estatural e alterações metabólicas. Dados obtidos em familiares dos anões de Sindh, no Paquistão, que tem uma mutação nula no *GHRH-R*, mutação c.612781+G>T (BAUMANN; MAHESHAWARI, 1997) sugeriram um atraso no crescimento, porém não déficit na estatura adulta (MAHESHAWARI *et al.*, 1998), dados similares aos obtidos com estudo preliminar, em indivíduos MUT/N para a mutação c.104+G>A, em Itabaianinha/SE (HAYASHIDA *et al.*, 2000). Porém a idade heterogênea e o pequeno número de indivíduos MUT/N comparados aos controles limitam as conclusões finais do estudo.

Segundo Pereira *et al*, 2007, a heterozigose para a mutação no *GHRH-R* não reduz estatura final, nem o nível de IGF-I, não provoca alterações no perfil lipídico nem na proteína C reativa de alta sensibilidade, mas promove significativas mudanças na composição corporal em relação aos indivíduos homozigóticos normais (massa magra, em Kg diminuída, porcentagem de massa gorda semelhante, entretando o peso, IMC e as pregas cutâneas são reduzidos, com tendência à redução da massa gorda, em Kg). Os indivíduos heterozigóticos apresentaram possível redução na resistência insulínica avaliada pelo Índice Homeostático de Insulino Resistência – HOMA_{IR} - *Homeostasis Model Assessment*.

O objetivo deste estudo foi avaliar a SI e função da célula beta em indivíduos heterozigóticos, utilizando-se técnicas basais e dinâmicas. Com as últimas, pôde-se avaliar o *clearance* de glicose e secreção de insulina após sobrecarga oral de glicose. Nossa hipótese é que os indivíduos heterozigóticos, que não apresentam um perfil corpóreo, lipídico e inflamatório adverso, também possam apresentar um fenótipo protetor sobre a homeostase insulino glicídica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hormônio do Crescimento – GH e Deficiência Isolada (DIGH)

O GH é secretado pelos somatotrofos hipofisários com estrutura constituída de 191 aminoácidos e peso molecular de 22.000 daltons e tem como órgão alvo o fígado, além de ossos e cartilagens. Em indivíduos com hipófise em funcionamento normal, observa-se uma secreção diária de 500 a 875 η g de GH (GREENSPAN; STREWLWER, 1997; ISSELBACHER *et al.*, 1998). Cerca de metade do GH produzido na corrente sanguínea circula ligado a uma proteína de alta afinidade, a proteína ligadora do GH (GHBP – *Growth Hormone Binding Protein*), cuja estrutura representa a parte extracelular do receptor de GH (BOGUSZEWSKI, 2001).

A secreção hipofisária de GH é determinada por um triplo controle hipotalâmico exercido pelo hormônio liberador de GH (GHRH), secretado em pulsos com ritmo circadiano, cuja amplitude e frequência aumentam, em crianças e adultos, uma hora após o sono profundo (SALVATORI *et al.*, 1999), pela somatostatina e pela grelina (ROSICKA *et al.*, 2002). A somatostatina participa da regulação da secreção de GH controlando a frequência dos pulsos de GH sem afetar a biossíntese do GH, enquanto o GHRH atua através de seu receptor específico (GHRH-R), estimulando a secreção de GH (GIUSTINA; VELDHUIS, 1998). A grelina, um peptídeo encontrado nas células do estômago e no hipotálamo, dentre outros tecidos (ROSICKA *et al.*, 2002), estimula a secreção de GH. Uma vez secretado, o GH age através do seu receptor (GH-R) estimulando a produção do fator de crescimento semelhante à insulina, tipo I (IGF-I) (AGUIAR-OLIVEIRA *et al.*, 1999) (Figura 1).

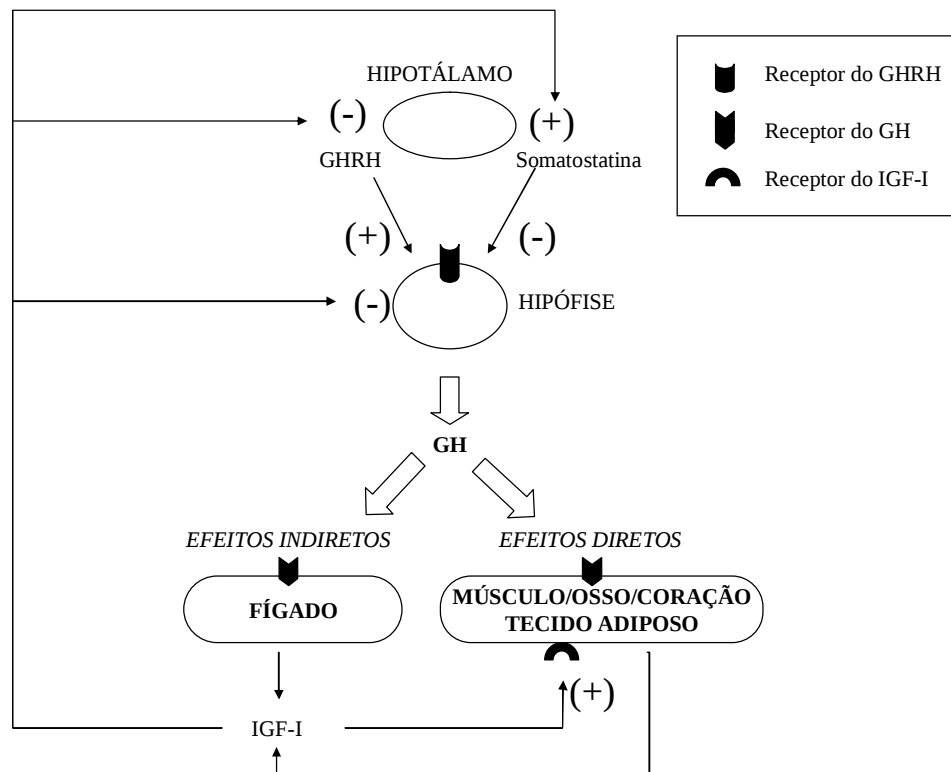


Figura 1 – Esquema da regulação intrínseca do eixo GH-IGF-I. O GH é produzido pela hipófise após estímulo do GHRH, secretado pelo hipotálamo. A produção do GH é estimulada pelo GHRH e inibida pela somatostatina. AGUIAR-OLIVEIRA *et al*, 2010.

A secreção de GH sofre variação no decorrer da vida. Diminui de forma acentuada após a quarta década e em alguns processos metabólicos, como variações glicêmicas e ingestão de proteínas. Na puberdade a secreção de GH tem um considerável aumento devido à secreção de esteróides sexuais e declinam na velhice. Os níveis de GH também declinam com aumento de peso e hiperglicemia e aumentam com hipoglicemia e ingestão protéica (CORONHO; PETROIANER; MATOS SANTANA, 2001).

O GH possui, no organismo humano, funções importantes como diferenciação de células ósseas, estímulo do crescimento de cartilagens epifisárias e de ossos longos e efeito em processos metabólicos como aumento do consumo de carboidratos e ácidos graxos do tecido adiposo, ou seja, efeito lipolítico e antagônico à insulina (CUNEO *et al*, 1992, UNDERWOOD; VAN, 1992). Parte das funções do GH são mediadas pela ação do IGF-I, polipeptídeo produzido no fígado, importante no diagnóstico de deficiência na produção de GH, por possuir meia-vida mais longa que o hormônio em questão. Circula no organismo ligado a proteínas denominadas IGFBPs - *Insulin-like Growth Factor-Binding Protein* –

proteínas ligadoras de IGF, sendo a mais importante a IGFBP3 - *Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 3* (SMITH *et al*, 1993).

A deficiência isolada do hormônio de crescimento (DIGH), como causa de baixa estatura, é estimada em 1/3.480 a 1/10.000 por nascidos vivos (LACEY; PARKIN, 1974; VIMPANI *et al.*, 1977; LINDSAY *et al.*, 1994; RONA; TANNER, 1997). Enquanto a maioria desses casos é esporádico e causado por uma variedade de danos hipotalâmicos ou pituitários, as anormalidades anatômicas são achadas em somente 12% dos pacientes examinados por ressonância magnética, como exemplo a interrupção da haste hipofisária, sugerindo que causas genéticas podem ser mais frequentes que as alterações estruturais da hipófise na etiologia da DIGH familiar.

2.1.1 Ações metabólicas do GH e IGF-I em Humanos

Os efeitos metabólicos do GH (Tabela 1) são conhecidos desde os primeiros trabalhos com a administração de GH hipofisário em altas doses que demonstraram acentuada lipólise, resistência à insulina e hiperglicemia (BECK *et al*, 1957). A exposição ao GH leva ao aumento dos níveis circulantes de ácidos graxos livres (AGL), corpos cetônicos, IGF-I, insulina e glicose, todos anabólicos (DAVIDSON, 1987; MOLLER, 1993). O jejum e o estresse amplificam a secreção do GH, enquanto a alimentação em geral a inibe (HO *et al*, 1988) sugerindo um papel predominante do GH nos estados pós-absortivos ou de jejum prolongado.

Um dos efeitos do GH é estimulação da lipólise e oxidação lipídica, além da inibição da lipase lipoprotéica (LPL) no tecido adiposo, enzima fundamental à hidrólise dos triglicérides e da estimulação desta enzima em nível muscular que permite uma maior utilização de AGL pelo músculo esquelético (LeROITH; YAKAR, 2007). Isto poupa os estoques de proteínas e de carboidratos de imediatos requerimentos oxidativos garantindo a adequada conservação de proteínas.

A administração de GH em doses elevadas a voluntários normais provoca aumento da síntese protéica e diminuição de excreção de uréia (FRYBURG *et al*, 1992), mas leva a prejuízo da sensibilidade insulínica no fígado e periferia, sobretudo no músculo esquelético

(BRATUSH-MARRAIN; SMITH; DeFRONZO, 1982), evidenciando sua ação antagonista à insulina.

O GH tem um papel importante na homeostase da glicose, visto que ele atua de forma antagônica à insulina. O GH aumenta a gliconeogênese hepática e a glicogenólise e diminui a utilização da glicose periférica. Esses efeitos do GH antagônicos à insulina são diretos ou mediados pela lipólise, como sugerido pela observação de que a resistência à insulina pode ser evitada por uma droga anti-lipolítica (SEGERLANTZ *et al.*, 2003). Por outro lado, a sua ação lipolítica pode aumentar indiretamente a sensibilidade à insulina, ao reduzir o acúmulo de gordura abdominal. Por fim, IGF-I tem uma homologia estrutural semelhante ao da insulina e possui ações semelhantes à insulina *in vitro*. É consequentemente possível que em altas concentrações, o IGF-I pode ter atividade insulínica, como ocorre quando é administrado em altas doses em crianças com o nanismo de Laron.

Os receptores do IGF-I estão presentes principalmente em tecido muscular esquelético, cuja estimulação aumenta a captação de glicose, através da ativação dos transportadores de glicose tipo 4 (Di COLA *et al.*, 1997) e provoca também diminuição da gliconeogênese e glicogenólise hepática, melhorando sensibilidade à insulina e a homeostase glicêmica, ações insulino-símile. No metabolismo lipídico, o IGF-I parece ter pouca influência, pois os receptores de IGF-I são escassos nos adipócitos, no entanto, nos pré-adipócitos esses receptores são abundantes e o IGF-I estimula a diferenciação dessas células (SCAVO *et al.*, 2004). Quanto ao metabolismo protéico, o IGF-I tem ações sinérgicas ao GH e as ações anabólicas do GH imprescindíveis para o crescimento, são mediadas pelo IGF-I (MAURAS; HAYMOND, 2005).

Tabela 1: Ações metabólicas do GH e do IGF-I

Órgão	GH	IGF-I
Tecido Adiposo	Aumenta lipólise	Induz diferenciação de pré-adipócitos
	Reduz captação de glicose	
	Reduz lipogênese	
	Reduz re-esterificação de AGL	
Músculo Esquelético	Estimula síntese de proteínas	Estimula síntese de proteínas
	Reduz captação de glicose	Estimula captação de glicose (GLUT-4)
	Aumenta atividade da LPL	
Fígado	Aumenta secreção de VLDL	Diminui produção hepática de glicose
	Aumenta atividade de HL	
	Reduz expressão de P-PAR α	
Global	Aumenta síntese de proteínas	Aumenta síntese de proteínas
	Aumenta MM e reduz MG %	Aumenta MM e reduz MG %
	Reduz sensibilidade insulínica	Aumenta sensibilidade insulínica
	Aumenta a produção e captação de lipoproteínas	Agudamente reduz e cronicamente aumenta a oxidação lipídica
	Aumenta lipólise	
	Aumenta oxidação lipídica	

AGL - ácidos graxos livres; LH- lipase hepática; P-PAR α - receptor ativado do proliferador do peroxisomo tipo α ; LPL - lipase lipoprotéica; VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade; MM - massa magra; MG% - percentual de massa gorda. (OLIVEIRA, 2010).

2.1.2 DIGH de Itabaianinha

A DIGH dessa região é uma doença autossômica recessiva com alto grau de consanguinidade, descrita em 105 indivíduos (SALVATORI *et al.*, 1999) caracterizada pela mutação homozigótica no *GHRH-R*, do tipo “splice” no início do íntron I, onde a G (guanina) foi substituída pela A (adenina) (c.104+G>A) impedindo a síntese do RNA mensageiro (RNAm) do *GHRH-R*, resultando na supressão deste receptor com consequente deficiência severa de GH (SALVATORI *et al.*, 1999, 2001, 2002). Em sua maioria, indivíduos com DIGH não foram tratados durante a infância, o que permite o estudo das consequências a longo prazo da DIGH favorecendo a descrição do fenótipo clínico e laboratorial.

Os indivíduos adultos com DIGH apresentam acentuada baixa estatura, com redução proporcional das dimensões ósseas (SOUZA, 1997). A redução do perímetro cefálico é menos acentuada do que a redução na altura anterior da face, resultando em fácies de “boneca” ou fácies de “anjo querubim”, sendo o comprimento maxilar a dimensão facial com

maior redução, de mesma intensidade que a redução estatural (OLIVEIRA-NETO *et al*, 2009). A voz de timbre agudo e forte é decorrente do menor desenvolvimento da porção inferior da laringe (BARRETO *et al*, 2009). Apresentam dimensões reduzidas da hipófise (OLIVEIRA *et al*, 2003), tireóide (ALCÂNTARA *et al*, 2006), coração (BARRETO-FILHO *et al*, 2002; OLIVEIRA *et al*, 2006) útero (MENEZES *et al*, 2008; OLIVEIRA *et al*, 2008) e baço (OLIVEIRA *et al*, 2008).

Esses indivíduos apresentam alterações na composição corporal com redução da massa magra, aumento do percentual de gordura com distribuição central, aumento do LDL, aumento da proteína C reativa de alta sensibilidade, aumento da pressão arterial sistólica com insulina e HOMA_{ir} menores que os indivíduos homozigóticos normais da mesma região (BARRETO *et al*, 1999; BARRETO-FILHO *et al*, 2002; OLIVEIRA *et al*, 2006). Apresentam também menor resistência óssea, embora acima do limiar de fraturas (de PAULA *et al*, 2008), puberdade atrasada, fertilidade normal, paridade diminuída, climatério antecipado (MENEZES *et al*, 2008), qualidade de vida (BARBOSA *et al*, 2009) e longevidade (OLIVEIRA *et al*, 2010) semelhante aos indivíduos homozigóticos normais

2.2 Heterozigose na DIGH

Mutações heterozigóticas no *GHRH-R*, causando uma redução de 50% na concentração do GHRH, poderiam estar associadas a um fenótipo parcial incluindo déficit estatural decorrente da deficiência moderada de GH e IGF-I. Em Itabaianinha existem mais de 2000 indivíduos heterozigóticos para a DIGH, o que propicia estudo de um fenótipo parcial para mutações no *GHRH-R* (PEREIRA *et al*, 2007). Estudo prévio, nesta população, foi realizado com a finalidade de verificar a existência de fenótipo parcial em adultos avaliando a repercussão da heterozigose em 153 indivíduos (76 heterozigóticos - 25M e 77 homozigóticos normais - 25M), pareados por sexo e idade. Concluiu-se que existe um fenótipo parcial para os MUT/N para a mutação no *GHRH-R* apesar de não haver diferença significativa entre a altura e nem nos níveis séricos de IGF-I. As dobras cutâneas foram reduzidas nos indivíduos heterozigóticos entretanto, a porcentagem de massa gorda e relação cintura/quadril foram semelhantes. Não houve diferença no perfil lipídico, porém os valores de insulina e HOMA_{ir} foram baixos nos indivíduos heterozigóticos ($3,06 \pm 2,25$ x $4,09 \pm 2,73$, $p=0,004$ e $0,71 \pm 0,59$ x $0,98 \pm 0,67$, $p = 0,014$, respectivamente) sugerindo uma maior sensibilidade à insulina

em relação aos homozigóticos normais (PEREIRA *et al*, 2007) o que será avaliado no presente estudo.

2.3 Sensibilidade Insulínica (SI)

Reduzida SI é uma característica do diabetes tipo 2, embora alterações na tolerância à glicose só ocorrem quando algum déficit da função de célula beta se instale. Em um contexto mais amplo, redução da SI é um fator importante para dislipidemias, acúmulo de gordura visceral, hipertensão arterial e aterosclerose (RASHID *et al*, 2003; DUVNJAK; DUVNJAK, 2009).

Em humanos, a SI diminui com o aumento da idade, sendo a resistência insulínica (RI) importante fator de risco ao diabetes quando associado a diferentes fenótipos intermediários. Durante o processo de envelhecimento, ocorrem efeitos catabólicos que alteram a composição corporal provocando diminuição da massa magra, aumentando o acúmulo de gordura e perda de densidade mineral óssea. A secreção de GH e níveis de IGF-I, em indivíduos normais, sofrem declínio estimado durante o decorrer da idade (JUUL, *et al*, 1994) atribuído à diminuição do eixo-hipotalâmico hipofisário (LAMBERTS, *et al*, 1997).

Os métodos para avaliar SI envolvem a homeostase insulino glicose através de técnicas basais ou indiretos (sem estímulo) e técnicas dinâmicas ou diretos (com diferentes estímulos) .

Classificam-se como técnicas basais:

- Insulinemia de jejum
- HOMA_{IR} – índice de insulino resistência (MATHEUS *et al*, 1985)

Calculado segundo a fórmula: glicemia (mmol) x insulina (μU/mL) / 22,5

- QUICKI – *Quantitative insulin sensitivity check index* (KATZ; NAMBI; MATHER, 2000). calculado segundo a fórmula: $1 / (\log \text{ insulina } \mu\text{U/mL} + \log \text{ glicemia mg/dL})$.

Classificam-se como técnicas dinâmicas:

- Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTGO) - Consiste na ingestão oral de glicose (75g) com determinações de glicose e insulina a cada 30 minutos, durante 2 a 3 horas. A razão entre glicemia e insulina, em termos absolutos, considerando o incremento basal, é calculado para cada ponto da curva e para a curva como um todo. Quanto menor o incremento da curva, mais sensível será o indivíduo estudado.

- Índice de Matsuda e DeFronzo (MATSUDA; DeFRONZO, 2000).

Como estímulo, utiliza a glicose oral. Para o cálculo, utiliza-se a fórmula:

$$ISI_{comp} = 10.000 / \sqrt{(\text{glicose no tempo 0} \times \text{insulina no tempo 0}) \times (\text{glicose média} \times \text{insulina média})}$$

- OGIS 2 e OGIS 3 (MARI *et al*, 2001)

Índice de SI frente à glicose oral calculado através de um modelo matemático onde é utilizado o TTGO de 2 e 3 horas, respectivamente (Anexo 1). Este índice prediz o *clearance* de glicose no *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico. Descreve a cinética da glicose durante o TTGO como modelo de compartimento único. Administra-se uma dose oral de glicose e determina-se as concentrações de glicose e insulina nos tempos 0, 90 e 120 minutos para o OGIS 2 e nos tempos 0, 120 e 180 minutos para o OGIS 3.

- Técnica do modelo mínimo ou *frequent sample IV glucose test* (BERGMAN, 2005).

Neste teste são analisadas as curvas de glicemia e insulina plasmáticas em resposta à infusão de glicose, gerando elevações nos valores de glicemia e insulina levando ao um posterior *clearance* de glicose sendo reflexo da sensibilidade insulínica. Tal método requer elevadas dosagens sanguíneas

- Teste de supressão insulínica (GREENFIELD *et al*, 1981)

Consiste na administração simultânea de insulina, glicose, adrenalina e propranolol. Apresenta uma correlação significativa com o *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico.

- *Clamp* hiperglicêmico (DeFRONZO; TOBIN; ANDRES, 1979)

Avalia a resposta secretória de insulina / glicose e quantifica o consumo do organismo como um todo sob condições constantes de hiperglicemia.

- *Clamp* euglicêmico e hiperinsulinêmico (BLOOMGARDEN, 2006).

Considerado padrão ouro para a avaliação da SI. Consiste em dosar a captação de glicose após submeter o organismo à hiperinsulinemia fixa. Administra-se, simultaneamente, glicose e insulina durante 4 horas. O clearance de glicose será calculado pela taxa de infusão de glicose nos 20, 40 ou 60 minutos finais do *clamp*. Possui a desvantagem de não refletir as condições diárias dos indivíduos em estudo.

Os métodos que avaliam as medidas em jejum são considerados simples e de fácil execução, entretanto, os que avaliam a insulina no estado pós-absortivo indicam boa sensibilidade hepática à insulina e não refletem a ação da insulina em tecidos insulino dependentes. Desta maneira, testes que utilizam a administração oral de glicose correlacionam-se melhor com a secreção pós alimentar, o que confere vantagens fisiológicas (FERRANNINI *et al*, 2007).

No presente estudo, foram executados os testes de OGIS 2 e OGIS 3 (MARI *et al*, 2001) por apresentar facilidade em sua execução e refletir o estado pós alimentar e, dos métodos que utiliza a administração de glicose oral, foi o que mais se aproximou do teste padrão ouro – o *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico – este de difícil execução pois exige aparelhagem específica e pessoal altamente capacitado (BONORA *et al*, 2000).

2.3.1 GH e Sensibilidade Insulínica

Experimentos envolvendo camundongos com deleção do *GH-R*, demonstraram que os mesmos são sensíveis à insulina, entretanto possuem diminuída tolerância à glicose resultante de um menor número de células beta-pancreáticas e secreção reduzida de insulina consequente do reduzido estímulo de GH (LIU *et al*, 2004).

Como critério de diferenciação da insulino-resistência por baixa concentração de IGF-I ou por níveis elevados de GH, realizou-se estudos em animais transgênicos

provenientes do cruzamento de animais com deficiência do GH e animais que expresam antagonismo ao GH (YAKAR *et al*, 2004). Nesses experimentos observou-se o papel fundamental do GH na resistência insulínica, entretanto, o papel do IGF-I não está completamente esclarecido.

2.4 Função da célula beta

A célula beta das ilhotas de Langerhans pancreáticas secreta o principal hormônio envolvido no metabolismo energético, regulando o metabolismo de glicose, de proteínas e lipídios – a insulina. Tal produção é liberada aos tecidos de forma a manter a concentração de glicose muito estreita sendo compatível com o fornecimento de glicose através das refeições e a SI.

O aumento lento e progressivo das concentrações de glicose é acompanhado de um aumento correspondente da secreção de insulina, entretanto quando a concentração de glicose é elevada abruptamente observa-se um perfil bifásico de secreção de insulina o que não ocorre quando a glicose aumenta progressivamente após as refeições ou sobrecarga oral de glicose (CERASI, 1972). O aumento da resposta insulínica inicia-se com concentrações séricas de glicose a partir de valores de jejum em torno de 90 mg/dL e tem pico máximo com valores de glicose entre 162 e 360 mg/dL, valores semelhantes são encontrados no período pós-prandial (MALAISSE, 1979).

A habilidade da célula beta em responder prontamente ao estímulo parece ser essencial para a homeostase da glicose e a perda dessa capacidade tem sido considerada um sinal de disfunção desta célula característico ou preditivo de Diabetes mellitus (BRUNZELL, 1976). A sensibilidade da célula beta à glicose tem sido quantificada através do *slope* ou angulação da curva que descreve a resposta secretória de insulina em função de concentrações progressivas de glicose. Esta importante medida define a rapidez e a intensidade da resposta insulínica (KANH *et al*, 1993; TOFFOLO; De GRANDI; COBELLI, 1995; MARI *et al*, 2002).

Neste sentido, para avaliar se a secreção de insulina, ou melhor, se a função da célula beta é adequada ao grau de resistência à insulina, deve-se avaliar concomitantemente a

sensibilidade à insulina e a relação com as células beta (BERGMAN, 2005; MARI *et al*, 2005).

A função da célula beta pode ser avaliada por métodos basais e dinâmicos, semelhante a SI. Como método basal destaca-se:

- - HOMA beta (MATHEUS *et al*, 1985) - para cálculo utiliza-se a fórmula:

$$(20 \times \text{insulina de jejum } \mu\text{U/mL}) / (\text{glicemia de jejum mg/dL} \times 0,05551) - 3,5$$

Classificam-se como métodos dinâmicos:

- Índice insulinogênico (SELTZER *et al*, 1967) - caracteriza a fase de secreção rápida de insulina. Obtido segundo a fórmula:

$$(\text{Insulina no tempo 30} - \text{insulina no tempo 0}) / (\text{Glicemia no tempo 30} - \text{glicemia no tempo 0})$$

- Área sob a curva da relação insulina / glicose (ASC I/G) (SELTZER *et al*, 1967). Calcula-se a área sob a curva da razão insulina/glicose em todo o período avaliado no TTGO e reflete a capacidade de secreção da célula beta diante do aumento dos níveis séricos de glicose.

2.5 Justificativa

Nos últimos anos, a investigação básica e clínica demonstrou que os transtornos de sensibilidade à insulina em tecidos periféricos constituem um fator de risco, ao menos um marcador metabólico preditivo para o Diabetes mellitus. A consequência de uma diminuição na SI é o hiperinsulinismo, como um mecanismo compensatório. Quando há comprometimento funcional das células beta, surge as alterações da glicemia pós prandial e/ou da glicemia de jejum.

Indivíduos heterozigóticos, de Itabaianinha, apresentaram sugestão de uma maior SI quando avaliados pelo HOMAir, na realidade um índice de insulino resistência. Neste trabalho pretende-se completar a avaliação da SI com técnicas dinâmicas com ênfase no *clearance* de glicose obtido com o teste oral de tolerância à glicose com dosagens de glicemia e insulina. Por outro lado a avaliação da função de célula beta foi também realizada com o objetivo de avaliar a secreção insulínica em resposta ao estímulo glicêmico. Em conjunto pretende-se verificar um fenótipo protetor nos indivíduos heterozigóticos sobre a homeostase insulino glicídica.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a sensibilidade insulínica e a função das células beta em indivíduos heterozigóticos para a mutação no *GHRH-R*.

Objetivos Específicos

1. Avaliar o fenótipo antropométrico nos indivíduos heterozigóticos.
2. Estudar a sensibilidade à insulina nos indivíduos heterozigóticos
3. Estudar a função da célula beta e indivíduos heterozigóticos
4. Estudar a frequência de pré diabetes e diabetes em indivíduos heterozigóticos.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Casuística

4.1.1. População de estudo

A população estudada situa-se no município de Itabaianinha, região oeste do centro-sul do estado de Sergipe. Possui, cerca de, 39 mil habitantes (IBGE, 2010) e extensão territorial de 478 Km², onde a agricultura prevalece como atividade econômica para sustento das famílias. Nessa região, a DIGH é doença autossômica recessiva com grau de consanguinidade alto (SALVATORI, *et al*, 1999; SOUZA *et al*, 2004), cuja frequência fenotípica é bastante elevada, cerca de 1:279, sendo maior em Carretéis, povoado de características rurais onde concentram-se indivíduos homozigóticos afetados, que é de 1:32 (SOUZA, 1997).

4.1.2. Pré- seleção

Foi realizado um estudo transversal, com grupo controle. Os indivíduos heterozigóticos e homozigóticos normais foram selecionados previamente através de uma triagem populacional entre parentes de indivíduos homozigóticos afetados de 1º, 2º e 3º graus baseada na genotipagem dos mesmos através da análise de DNA. A extração de DNA foi realizada em material colhido da mucosa jugal com auxílio de escovinha. O material colhido foi acondicionado em invólucro próprio, devidamente identificado, armazenado sob refrigeração e enviado à Universidade Johns Hopkins / EUA. A genotipagem foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Dr. Roberto Salvatori, em Baltimore, Maryland/EUA através da amplificação do DNA por PCR (*Polimerase chain reaction*) e posterior eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE - *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) (SALVATORI *et al*, 1999).

Nos resultados observados, os indivíduos homozigóticos normais apresentaram uma única banda, os indivíduos homozigóticos afetados, uma única banda de migração mais lenta e os indivíduos heterozigóticos, quatro bandas: um alelo normal e um alelo afetado e duas bandas correspondentes a heterodímeros gerados durante a amplificação por PCR (SALVATORI *et al*, 1999). Foram identificado 50 indivíduos que constituíram os grupos caso (25 heterozigóticos) e controle (25 homozigóticos afetados). Os participantes assinaram o

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1) e o presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe – UFS, parecer nº 1361/2004 (Anexo 2).

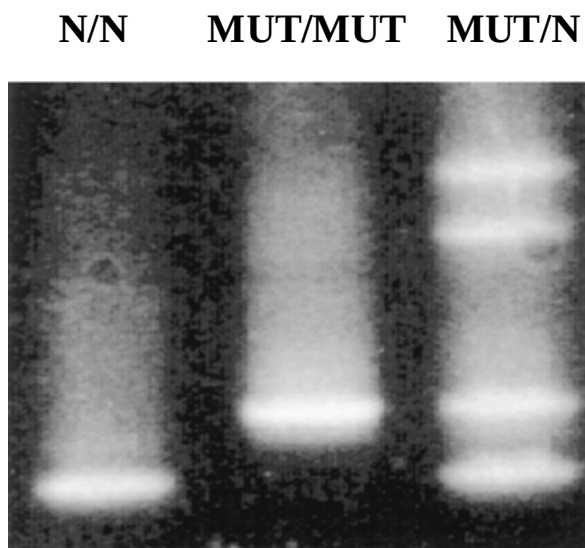


Figura 2 – Esquema representativo das bandas após DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) em indivíduos de Itabaianinha-SE. Indivíduos Homozigóticos normais (N/N) apresentaram uma única banda, indivíduos Homozigóticos afetados (MUT/MUT), uma única banda mais lenta e os Heterozigóticos (MUT/N), quatro bandas, a do alelo normal e a do alelo mutante e duas bandas mais lentas que representam heterodímeros gerados pelo anelamento das fitas anterior e posterior ds alelos de G (Guanina) e A (Adenina) durante amplificação do PCR. SALVATORI *et al*, **J Clin Metab**, v.84, n.3, p.917-923, 1999.

4.1.3. Critérios de inclusão e exclusão

Após aplicação de questionário para determinar o perfil dos indivíduos participantes, foram incluídos indivíduos parentes ou não dos afetados, com genotipagem confirmada. Foram excluídos do grupo indivíduos com história de uso de medicamentos que interferissem nos resultados laboratoriais como estrógenos, contraceptivos e glicocorticóides em menos de seis meses, indivíduos com quadro clínico de hipogonadismo, gravidez, amenorréia recente, insuficiência renal e doenças hepáticas, bem como tabagistas ou que fizeram ingestão de bebidas alcóolicas nas últimas 12 horas, indivíduos com Diabetes mellitus ou que apresentaram na realização do protocolo de SI, glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL e indivíduos com idade inferior a 25 anos. Foram excluídos um indivíduo com glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL e um indivíduo que ingeriu, equivocadamente, o dobro da dose oral de glicose.

4.2 Métodos

4.2.1 Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTGO – 3 horas)

Consiste na ingestão oral de glicose (75g) com determinações de glicose e insulina a cada 30 minutos, durante 2 a 3 horas. A razão entre glicemia e insulina, em termos absolutos, considerando o incremento basal, é calculado para cada ponto da curva e para a curva como um todo. Quanto menor o incremento da curva, mais sensível será o indivíduo estudado.

Os indivíduos selecionados, heterozigóticos (MUT/N) e homozigóticos normais (N/N) compareceram ao local de coleta, com 12 horas de jejum e, inicialmente, preencheram questionário onde constavam informações relevantes como idade (anos), sexo, peso (Kg) e altura (m). Com o objetivo de analisar-se conjuntamente a altura de ambos os sexos, foi calculado o *Z score* da altura para a idade de cada indivíduo, utilizando os dados do NCHS – *National Center of Health Statistics*. Calculou-se o IMC (Índice de Massa Corpórea) utilizando a fórmula: $\text{peso} / \text{altura}^2$ (HAMIL *et al*, 1979). O peso foi obtido através da utilização de balança digital e a altura, o antropômetro vertical portátil (indivíduo descalço sobre a plataforma, calcanhares juntos, nádegas e ombros em contato com o eixo vertical do instrumento).

Após a colheita dos dados, cada indivíduo, foi submetido ao TTGO. Um acesso foi obtido através de punção venosa periférica com auxílio de “Scalp” e coletados 8ml de sangue. Foi realizada a medição de glicemia através de glicosímetro e o sangue distribuído em tubo com gel separador posteriormente centrifugado com separação do soro, caracterizando o tempo 0 (zero) minutos. Foi administrada solução saturada de glicose 75g/300mL por via oral e imediatamente, marcado tempo de 30 minutos. O acesso, “Scalp”, foi heparinizado para que o sangue não coagulasse, bloqueando o acesso.

Coletou-se sangue nos tempos de 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, 8 mL para cada tempo, utilizando um relógio marcador de minutos. Para cada tempo, foi determinada a glicemia, com auxílio de glicosímetro. Todos os tubos coletados foram centrifugados e os soros separados em tubos de polipropileno, corretamente identificados com o nome completo

e número de ordem impresso no questionário e acondicionados sob congelamento (- 30°C) para dosagem de insulina realizada em um único momento.

A insulina ($\mu\text{U/mL}$) foi quantificada por ensaio imunofluorimétrico – AUTO DELFIA, *PerkinElmer Life and Analytical Sciences*, Turku, Finland, com sensibilidade de 0,5 $\mu\text{U/mL}$ e o erro intra e inter ensaio de 2,5% e 3,0%, respectivamente. Tais dosagens foram realizadas na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Sergipe – ULaClin/HU/UFS.

Com os valores obtidos de glicemia em cada tempo, foram traçadas curvas de resposta glicêmica para cada grupo. Foi diagnosticado como pré-diabéticos, indivíduos que apresentaram valores de glicemia em jejum $\geq 100 \text{ mg/dL}$ e $< 126 \text{ mg/dL}$ ou quando, após 120 minutos da ingestão de glicose oral, os valores de glicemia apresentaram-se $\geq 140 \text{ mg/dL}$ e $< 200 \text{ mg/dL}$. Para caracterizar indivíduos diabéticos, considerou-se valores de glicemia, após 120 minutos, superiores a 200 mg/dL .

4.2.2 Avaliação da sensibilidade insulínica

A SI foi determinada pelo HOMA_{Air}, QUICKI calculados segundo as fórmulas: glicemia (mmol) x insulina ($\mu\text{U/mL}$) / 22,5] e $1 / (\log \text{ insulina } \mu\text{U/mL} + \log \text{ glicemia mg/dL})$, respectivamente e pelo OGIS 2 e OGIS 3 calculados através de um modelo matemático onde é utilizado o TTGO de 2 e 3 horas, respectivamente (Anexo 1).

4.2.3 Avaliação da função da célula beta

O HOMA-beta, índice insulinogênico e a área sob a curva da relação insulina x glicose (ASC I/G) foram utilizados para avaliar a capacidade do organismo em produzir insulina após uma sobrecarga de glicose. Sendo:

- HOMA-beta: $(20 \times \text{insulina jejum}) / \{(\text{glicemia jejum} \times 0,05551) - 3,5\}$

Demonstra a secreção, em jejum, de insulina

- Índice Insulinogênico: demonstra a fase rápida de secreção de insulina

$(\text{insulina tempo } 30 - \text{insulina tempo } 0) / (\text{glicemia tempo } 30 - \text{glicemia tempo } 0)$

- ASC I/G: demonstra a dinâmica de secreção de insulina por todo o período.

4.2.4 Análise estatística

Foi utilizado o teste t para comparar variáveis de distribuição normal e o teste de Mann Whitney, para as variáveis de distribuição assimétrica. Os valores dos dados obtidos foram expressos em média $\pm$ desvio padrão, com exceção do índice insulinogênico expresso em mediana $\pm$ distância interquartilica.

ANOVA de medição mista, foi utilizado para avaliar o efeito do tempo e do grupo sobre as medidas repetidas de glicose e insulina. Estes dados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

O teste Binominal foi utilizado para comparar a frequência de pré diabéticos e diabéticos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa SPSS 18.0 (*Statistical Packet for Social Science, Inc., Chicago, Illinois*). Foi considerado como significativo um $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Dados antropométricos

Os dados antropométricos estão demonstrados na Tabela 2. As variáveis peso, IMC, cintura e quadril foram reduzidos no heterozigóticos. A Tabela 3 mostra a estratificação dos indivíduos por idade, entre 25 a 50 anos e 51 a 70 anos e por sexo. Os dois grupos foram similares em idade e sexo.

Tabela 2: Dados antropométricos dos grupos de indivíduos heterozigóticos e homozigóticos normais. Os valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	Homozigóticos normais (25 indivíduos)	Heterozigóticos (25 indivíduos)	p
Sexo (M/F)	14/11	12/13	0,272
Idade (anos)	40,0 $\pm$ 12,5	40,1 $\pm$ 10,9	0,971
Peso (Kg)	69,7 $\pm$ 13,1	59,4 $\pm$ 10,3	0,003
Z score a/i	-1,0 $\pm$ 1,0	-1,6 $\pm$ 1,3	0,094
IMC (Kg/m ²)	25,3 $\pm$ 3,9	22,9 $\pm$ 2,8	0,014
Cintura (cm)	86,5 $\pm$ 10,3	80,5 $\pm$ 7,7	0,023
Quadril (cm)	98,1 $\pm$ 9,3	92,0 $\pm$ 8,0	0,016
Relação C/Q	0,9 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	0,821

Tabela 3: Estratificação dos indivíduos Heterozigóticos e Homozigóticos normais por idade e sexo.

Idade	Homozigóticos normais n = 25		Heterozigóticos n = 25	
	Homem	Mulher	Homem	Mulher
25 – 50 anos	12	07	09	12
51 – 70 anos	02	04	03	01
TOTAL	14	11	12	13

5.2. Resposta Glicêmica no TTGO 3h

Neste experimento, não foi encontrada diferença significativa na glicemia de jejum entre os grupos. Como esperado, houve uma elevação da glicemia em ambos os grupos ($p < 0,0001$) ao longo do tempo. Não houve efeito de grupo na resposta glicêmica (Tabela 4). As áreas sob as curvas de glicose (ASC G) foram semelhantes entre os grupos heterozigótico ($126,42 \pm 29,55$) e homozigótico normal ($117,30 \pm 23,47$), $p = 0,23$ (Gráfico 1).

Tabela 4: Comportamento da glicemia durante o TTGO 3h nos grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N). Glicemia 0 é a glicemia de jejum. Glicemia 30 é a glicemia 30 minutos após a ingestão de 75g de glicose, semelhante para as glicemias 60, 90, 120 e 180 minutos. Os valores foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

	Glic 0	Glic 30	Glic 60	Glic 90	Glic120	Glic 180	Efeito do Grupo
N/N	94,3 $\pm$ 1,9	140,3 $\pm$ 6,0*	131,2 $\pm$ 9,2*	127,2 $\pm$ 8,8*	116,6 $\pm$ 7,1*	83,1 $\pm$ 5,3*	0,133
MUT/N	96,0 $\pm$ 1,9	150,5 $\pm$ 6,3*	155,3 $\pm$ 9,7*	129,3 $\pm$ 8,4*	121,2 $\pm$ 6,9*	93,7 $\pm$ 5,6*	

* $p < 0,0001$ em relação ao basal para os grupos, efeito do tempo.

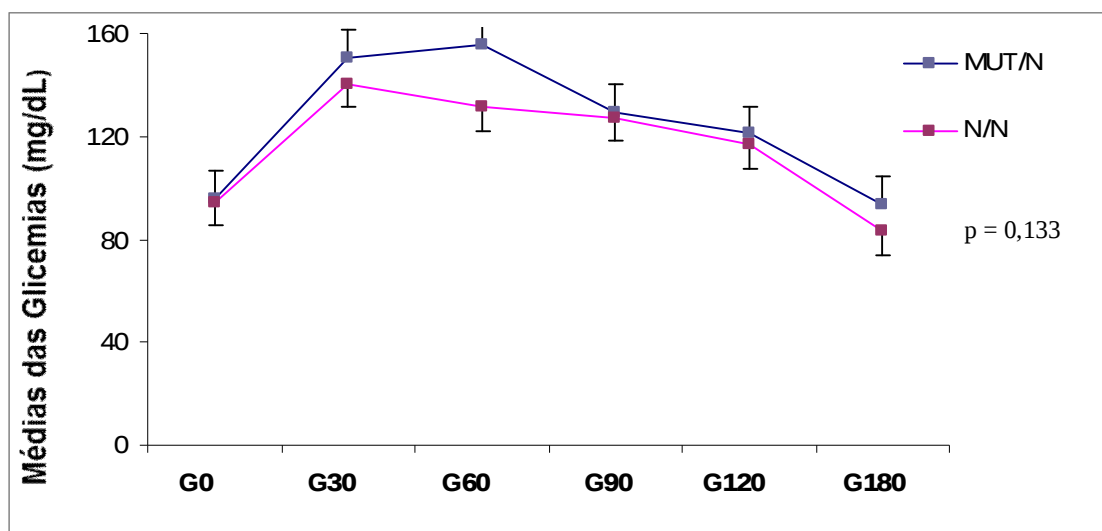


Gráfico 1: Resposta glicêmica, após dose oral de glicose, entre os grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N). G0 é a glicemia de jejum. G30 é a glicemia 30 minutos após a ingestão de 75g de glicose, semelhante para G60, G90, G120 e G180. O p reflete o efeito do grupo ($p = 0,133$).

5.2.1 Diagnóstico de pré diabetes ou diabetes

O número de indivíduos com diagnóstico de pré diabetes, utilizando como critério a glicemia de jejum, foi semelhante entre os grupos. Não houve diferença no diagnóstico de pré diabetes ou diabetes entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5: N° de indivíduos com diagnóstico de pré diabetes e diabetes entre os grupos Heterozigótico (MUT/N) (n=25) e Homozigótico normal (N/N) (n=25)

		MUT/N	N/N	p
		n (%)	n (%)	
Pré diabetes	Glicemia de jejum			
	($\geq 100\text{mg/dL}$ e $< 126 \text{ mg/dL}$)	7 (28%)	7 (28%)	1
	Glicemia 120 min			
	($\geq 140\text{mg/dL}$ e $< 200 \text{ mg/dL}$)	6 (24%)	3 (12%)	0,07
Diabetes	Glicemia de jejum			
	($\geq 126 \text{ mg/dL}$)	-	-	
	Glicemia 120 min			
	($\geq 200 \text{ mg/dL}$)	1 (4%)	1 (4%)	1

5.3. Resposta Insulinêmica no TTGO 3h

Não houve diferença significativa nas insulinas de jejum entre grupos. Conforme esperado, houve elevação da insulina ao longo do tempo após a administração de glicose oral nos dois grupos estudados. O comportamento de elevação da insulina foi semelhante entre os grupos quando utilizamos o logaritmo da insulina (Tabela 6 e Gráfico 2). As áreas sob as curvas de insulina (ASC I) não apresentaram diferença significativa entre os grupos heterozigóticos ($45,52 \pm 24,85$) e homozigóticos normais ($39,93 \pm 31,04$), $p=0,49$ (Gráfico 3).

Tabela 6: Comportamento da insulina durante o TTGO 3h nos grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N). Insulina 0 é a insulina de jejum. Insulina 30 é a insulina 30 minutos após a ingestão de 75g de glicose, semelhante para as insulinas 60, 90, 120 e 180 minutos. Os valores foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

	Ins 0	Ins 30	Ins 60	Ins 90	Ins 120	Ins 180	Efeito do grupo
MUT/N	$4,6 \pm 0,5$	$59,1 \pm 7,2^*$	$59,3 \pm 7,0^*$	$53,0 \pm 6,9^*$	$50,1 \pm 7,7^*$	$24,7 \pm 6,0^*$	0,752
N/N	$4,1 \pm 0,5$	$59,4 \pm 9,1^*$	$57,7 \pm 11,8^*$	$48,8 \pm 7,6^*$	$40,9 \pm 8,1^*$	$13,4 \pm 2,4^*$	

* $p<0,0001$ em relação ao basal entre os grupos, efeito do tempo.

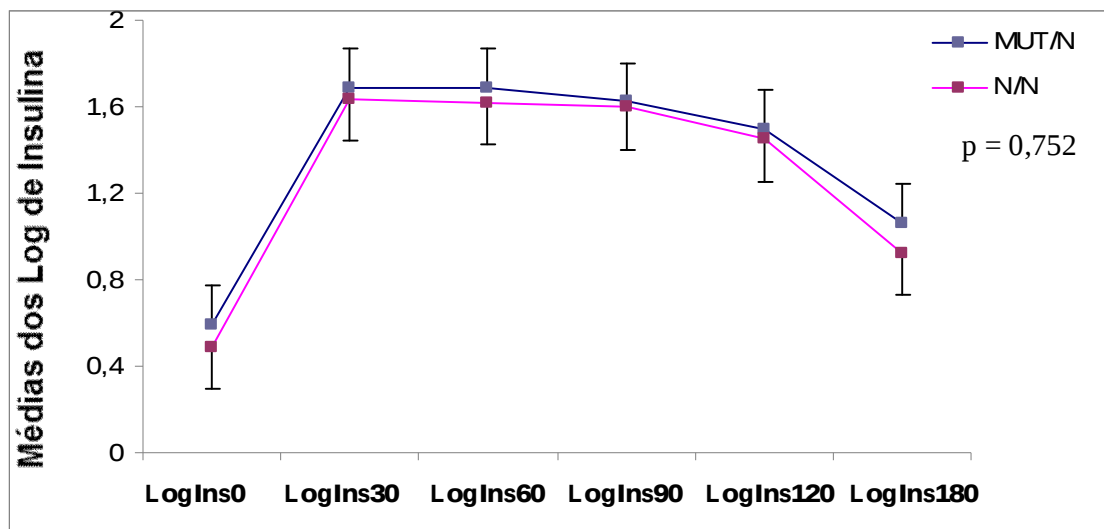


Gráfico 2: Resposta insulinêmica (logaritmo de insulina) após dose oral de glicose, entre os grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N). LogIns0 é o Log da insulina de jejum. LogIns30 é o Log da insulina 30 minutos após a ingestão de 75g de glicose, semelhante para LogIns60, LogIns90, LogIns120 e LogIns180.

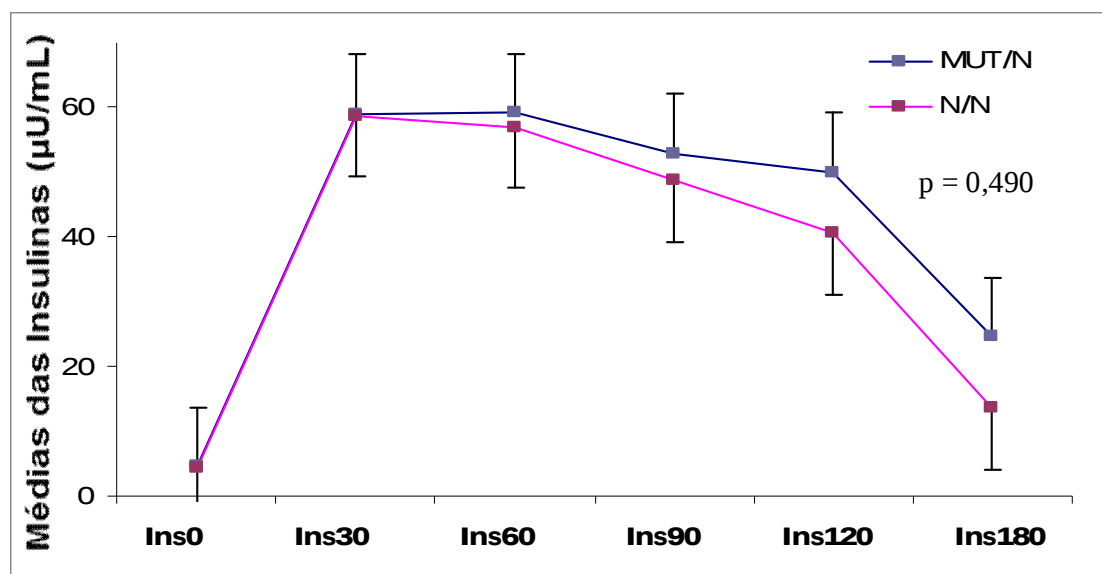


Gráfico 3: Representação gráfica das áreas sob as curvas de insulina (ASC I) nos grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N). Ins0 é a insulina de jejum. Ins30 é a insulina 30 minutos após a ingestão de 75g de glicose, semelhante para Ins60, Ins90, Ins120 e Ins180 minutos. As ASC I foram similares entre os dois grupos.

5.4. Sensibilidade à insulina

A sensibilidade à insulina é semelhante para os heterozigóticos quando comparada ao grupo dos homozigóticos normais. Não houve alteração significativa entre os grupos em relação ao OGIS 2, OGIS 3 QUICKI (Tabela 7).

Tabela 7: Resultados de OGIS 2, OGIS 3, HOMA_{ir} e QUICKI em indivíduos heterozigóticos e homozigóticos normais. Os valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	Heterozigóticos	Homozigóticos normais	p
OGIS 2	413,2 $\pm$ 59,7	418,5 $\pm$ 54,1	0,450
OGIS 3	430,1 $\pm$ 72,2	451,3 $\pm$ 63,1	0,419
HOMA _{ir}	1,1 $\pm$ 0,6	1,0 $\pm$ 0,6	0,420
QUICKI	0,4 $\pm$ 0,04	0,4 $\pm$ 0,05	0,201

5.5. Função da célula beta

Os índices utilizados para avaliação da função da célula beta, HOMA beta* (heterozigóticos: 52,2 $\pm$ 26,9 x homozigóticos normais: 50,1 $\pm$ 35,7, p=0,734) (Gráfico 4), índice insulinogênico** (heterozigóticos: 0,99 $\pm$ 0,97 x homozigóticos normais: 0,85 $\pm$ 0,99, p=0,447) (Gráfico 5) e ASC I/G* (heterozigóticos: 0,36 $\pm$ 0,17 x homozigóticos normais: 0,34 $\pm$ 0,24, p=0,730) (Gráfico 6) não foram, significamente, diferentes entre os grupos. A função de célula beta foi semelhante entre os grupos.

* Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

** Valores expressos em mediana $\pm$ distância interquartilica

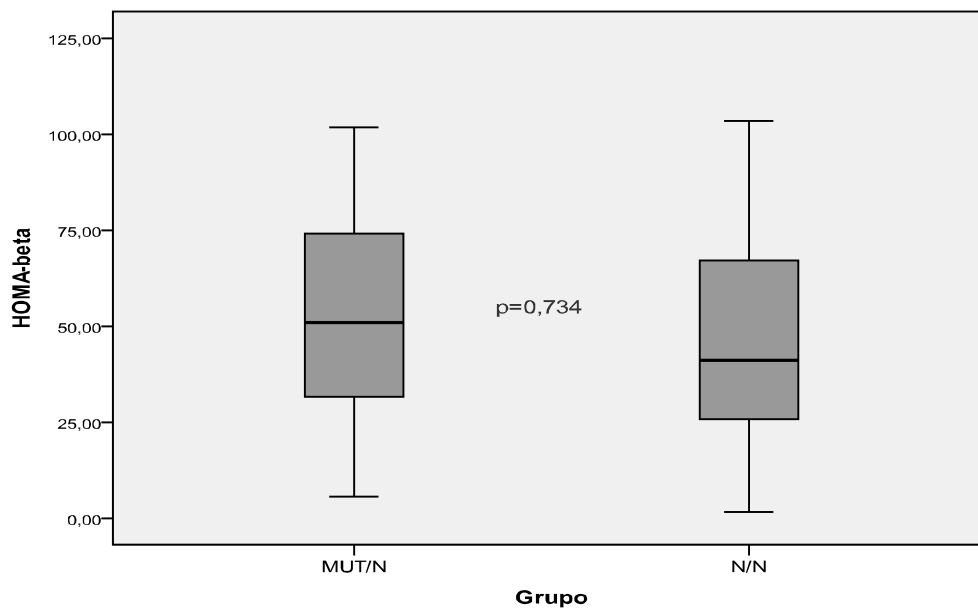


Gráfico 4: HOMA-beta nos grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N).

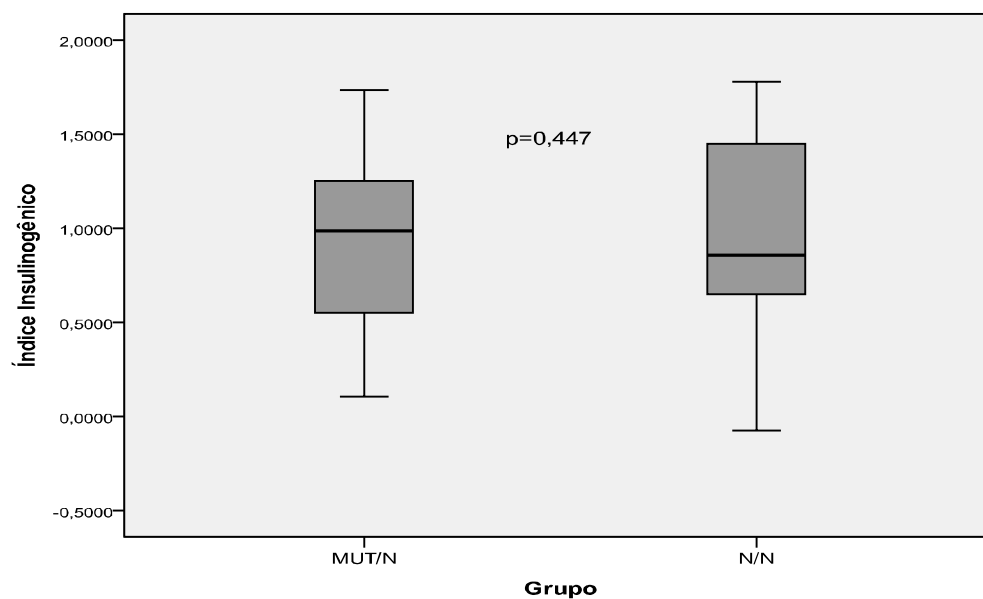


Gráfico 5: Índice insulinogênico nos grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N).

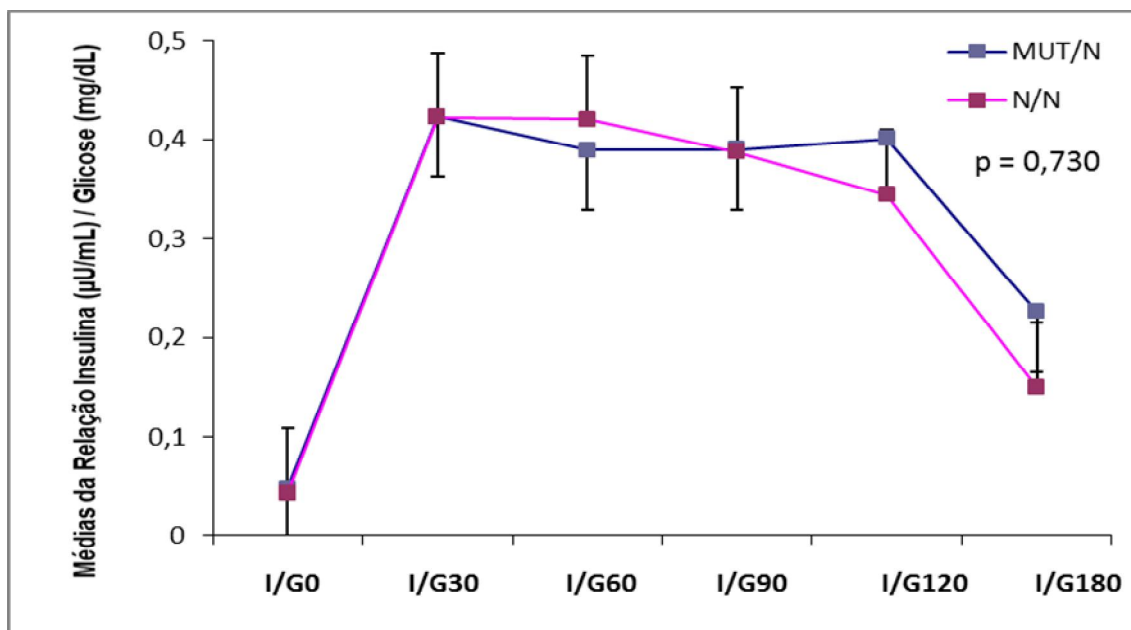


Gráfico 6: Representação gráfica das áreas sob as curvas da relação insulina/glicose (ASC I/G) entre os grupos heterozigótico (MUT/N) e homozigótico normal (N/N). As ASC I/G foram semelhantes entre os grupos ($p = 0,730$).

6. DISCUSSÃO

Os dados deste estudo revelam que os indivíduos heterozigóticos para a mutação c.104+1G>A no *GHRH-R* apresentam redução do peso, IMC e medidas de cintura e quadril. A SI e função de células beta, nesses indivíduos, são semelhantes a dos indivíduos homozigóticos normais. O número de indivíduos com pré diabetes e diabetes não diferiu entre os grupos.

A altura é um dos achados mais avaliados no estudo da heterozigose para mutações, que em homozigose alteram o eixo GH/IGF-I. É discutível que a síndrome de resistência parcial ao GH apresente redução estatural (WOODS, 1997; ATTIE, 2000). Já indivíduos heterozigóticos adultos equatorianos, para mutação E180 no *GH-R* não apresentam redução da estatura em relação aos indivíduos homozigóticos da mesma família (ROSENBLOOM *et al*, 1998). Nosso estudo não revelou diferença na estatura entre os indivíduos heterozigóticos para a mutação c.104+1G>A no *GHRH-R* e homozigotos normais. Nossos dados são similares ao previamente publicado em indivíduos heterozigóticos e homozigóticos normais diferente do estudado com um tamanho amostral adequado para esta análise (PEREIRA, *et al* 2007).

Estudo realizado no Paquistão com 22 indivíduos heterozigóticos para mutação c.612781+G>T, p.E72x no *GHRH-R* e 5 homozigóticos normais, não revelou diferença no *Z score*. O *Z score* para os indivíduos heterozigóticos adultos foi mais alto que crianças e adolescentes, sugerindo que a heterozigose para esta mutação pode causar retardo do crescimento e não déficit na estatura final (MAHESHWARI *et al*, 1998). O *Z score* em estudo realizado em Itabaianinha com 13 indivíduos heterozigóticos não diferiu quando comparado a 5 indivíduos homozigóticos normais. Os níveis de IGF-I foram mais baixos no grupo dos heterozigóticos, porém não atingiram significância estatística. Foi encontrado uma correlação negativa entre níveis de IGF-I e idade, sugerindo que, o processo de envelhecimento, quando a secreção de GH e IGF-I diminui, provoca redução de IGF-I nos indivíduos idoso. (HAYASHIDA *et al*, 2000).

Embora não tenham sido encontradas diferenças na altura, em indivíduos adultos, observou-se efeitos da heterozigose em relação ao peso e composição corporal. Indivíduos heterozigóticos possuem peso menor que os normais, com redução de IMC e das medidas de

cintura e quadril, dados estes, concordantes com os apresentados por PEREIRA *et al.*, 2007. Embora tenha aspecto sinérgico na síntese de proteínas e massa muscular, o GH tem efeito lipolítico importante, porém o IGF-I parece não exercer efeito direto na lipólise ou lipogênese (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Estudos anteriores revelam que indivíduos adultos com DIGH, apresentam acentuada obesidade central (BARRETO-FILHO *et al.*, 2002) acompanhada de redução de massa magra em torno de 50% (24Kg) em relação aos indivíduos normais (OLIVEIRA *et al.*, 2006) e aumento do percentual de massa gorda com a quantidade absoluta, em quilos, semelhante aos indivíduos homozigóticos normais. Indivíduos heterozigóticos tem uma redução de massa gorda em torno de 18% (4Kg) em relação aos indivíduos homozigóticos normais e percentual de gordura semelhante com tendência da quantidade de massa gorda, em Kg, diminuída (PEREIRA *et al.*, 2007).

Estes dados parecem indicar que a heterozigose para a mutação no *GHRH-R* de Itabaianinha causa declínio paralelo de massa gorda e massa magra embora mais marcado para massa magra. Redução de massa magra é achada comumente em adultos com deficiência de GH adquirida (MOLITCH *et al.*, 2006), e observou-se em indivíduos homozigóticos afetados sem uso prévio de GH durante a vida (OLIVEIRA *et al.*, 2006), e reversível com o tratamento com GH (GLEESON *et al.*, 2007). Assim não é inusitado que indivíduos heterozigóticos possam ter uma redução de massa magra. Contudo, a redução de massa magra em indivíduos heterozigóticos é normalmente associada com um aumento da massa gorda (SNEL, 1995). Os indivíduos heterozigóticos têm, pelo contrário, uma tendência da redução de massa gorda, em quilos, ao invés de um possível aumento que poderia ser esperado no estado de deficiência leve do GH. A constatação de um IMC menor nos indivíduos heterozigóticos no presente estudo, confirma os dados anteriores obtidos em indivíduos diferentes (PEREIRA *et al.*, 2007). Em conjunto os nossos dados e os da literatura suportam que indivíduos heterozigóticos, adultos, não apresentam déficit estatural e sim alteração na composição corpórea.

Em nosso estudo, observamos que não houve diferença significativa no índice de resistência à insulina – HOMA_{ir}, sugerindo que os indivíduos heterozigóticos tem SI comparada aos indivíduos homozigóticos normais e, ambos os grupos, estão dentro da faixa normal de indivíduos brasileiros e abaixo do limiar de 2,71 que define RI. O GH tem

importante papel no metabolismo glicídico, sendo o IGF-I peptídeo de grande semelhança estrutural com a molécula de insulina (TWIGG; BAXTER, 1998). Estudos com animais transgênicos *Knock-out* para o gene do IGF-I hepático, que apresentam reduzidos níveis de IGF-I e valores aumentados de GH, bloqueando o efeito do GH, demonstraram um aumento na sensibilidade insulínica (YAKAR *et al.*, 2004). Em analogia, concebe-se que uma discreta redução na secreção de GH, em indivíduos heterozigóticos, poderia ocasionar um aumento na sensibilidade insulínica quando comparado aos indivíduos homozigóticos normais sem, contudo alterar os níveis de IGF-I.

Segundo dados de PEREIRA *et al.*, 2007, a avaliação de 76 indivíduos heterozigóticos e 77 normais, sugeriram uma maior sensibilidade insulínica no grupo de heterozigóticos, com HOMA_{ir} significamente menor ($0,71 \pm 0,59$ x $0,98 \pm 0,67$, respectivamente, $p= 0,014$). SANDHU *et al.*, 2002, fizeram estudo envolvendo 615 indivíduos, normoglicêmicos, sem deficiência de GH, entre 45 a 65 anos, utilizando TTGO e dosagens de IGF-I. Observou-se, neste estudo, que baixas concentrações de IGF-I, aumentam o risco à resistência insulínica. Crianças e adultos com DIGH em Itabaianinha, apresentam níveis extremamente baixos de IGF-I (AGUIAR-OLIVEIRA *et al.*, 1999) e os adultos apresentaram valores de insulina e índice de resistência à insulina – HOMA_{ir} menores que os normais (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Semelhantemente aos indivíduos homozigóticos afetados, indivíduos heterozigóticos têm HOMA_{ir} normal sugerindo que heterozigose para a mutação no gene do *GHRH-R* esteja associada à sensibilidade insulínica preservada. Estes dados vistos conjuntamente sugerem que determinados efeitos do GH possam ter limiares diferentes. É concebível que grau moderado de redução da secreção de GH (como pode ocorrer nos indivíduos heterozigóticos) pode causar aumento na sensibilidade à insulina e redução da massa magra, enquanto redução no crescimento somático e da secreção de IGF-I no fígado, aumento de massa gorda e dos lipídeos sanguíneos pode precisar de déficit de GH mais acentuado. A SI normal dos heterozigóticos está de acordo com recente trabalho em nosso grupo que mostrou longevidade similar entre heterozigóticos e normais (AGUIAR-OLIVEIRA *et al* 2010) e em concordância com trabalhos que relacionam longevidade com SI (PAOLISSO, *et al*, 1997).

Os indivíduos heterozigóticos, do nosso grupo, demonstram função de célula beta normal em relação ao controles. Camundongos com deleção do *GH-R*, são sensíveis à insulina, porém intolerantes à glicose ocasionado por um menor número de células beta pancreáticas com consequente diminuição da secreção de insulina, o que pode, também, estar relacionado à redução do estímulo de GH e IGF-I nestas células (LIU *et al.*, 2004). Um aumento na expressão gênica de IGF-I, nesses animais, normaliza as ações das células beta, secreção de insulina e tolerância à glicose, sugerindo ser o nível baixo de IGF-I explicação para os achados (GUO *et al.* 2005). Por analogia, indivíduos com DIGH, onde os níveis de IGF-I são extremamente baixos, exibem sensibilidade à insulina normal e função de célula beta reduzida (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Em nosso estudo, os indivíduos heterozigóticos apresentaram função de célula beta semelhante aos normais, sugerindo que o fenótipo parcial não altera a massa e função das células beta pancreáticas.

O nosso estudo apresenta algumas limitações. A primeira delas refere-se ao tamanho amostral. Para avaliação da estatura ele é insuficiente. Não há, pelo ineditismo do trabalho, dados para calcular o tamanho amostral adequado para o estudo da sensibilidade insulínica e função de células beta. Como foi encontrado déficit de função de célula beta em 25 indivíduos homozigóticos afetados em relação ao mesmo grupo controle do nosso experimento, supomos que para estas finalidades o tamanho amostral bastante utilizado em experimentos clínicos possa ser suficiente. Outra limitação decorre do fato dos heterozigóticos apresentarem IMC menor que os homozigotos normais, o que poderia resultar em uma sensibilidade insulínica maior nos indivíduos heterozigóticos. Por outro lado, a redução do índice de massa corpórea e de ambas as circunferências de cintura e quadril, sem interferir na relação cintura/ quadril, parece ser característico dos indivíduos heterozigóticos, pois confirma dados anteriores com o tamanho amostral maior. Estudos subsequentes avaliarão esses achados.

7. CONCLUSÕES

Indivíduos heterozigóticos, em relação aos homozigóticos normais, apresentam:

1. Menor redução de peso, IMC e medidas de cintura e quadril
2. Sensibilidade à insulina semelhante
3. Função de célula beta semelhante
4. Frequência de pré diabéticos e diabéticos semelhante.

8. REFERÊNCIAS

AGUIAR-OLIVEIRA, M.H. *et al.* Effect of Severe Growth Hormone (GH) Deficiency due to a Mutation in the GH-Releasing Hormone receptor Insulin- Like Factors (IGf-I), IGF-Binding Proteins and ternary Complex Formation Throughout Life. **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, p.4118-4125, 1999.

AGUIAR-OLIVEIRA, M.H. *et al.* Longevity in untreated congenital growth hormone deficiency due to a homozygous mutations in the GHRH receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab**, v.95, p.714-721, 2010.

ALCÂNTARA, M.R.S. *et al.* Thyroid Morfology and Function in Adults with Untreated Isolated Growth Hormone Deficiency. **J Clin Endocrinol Metab**, v.91, p.860-864, 2006.

AMATO, G. *et al.* Body composition, bone metabolism and heart structure and function in growth hormone (GH) deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses. **J Clin Endocrinol Metab**, v.77, p. 1671-1676, 1993.

ATTIE, K.M. Genetic studies in idiopathic short stature. **Curr Opin Pediatr**. V.12, p.400-404, 2000.

BARBOSA, J.A. *et al.* Quality of life in congenital, untreated, lifetime isolated hormone deficiency. **Psychoneuroendocrinology**, v.34, p.894-900, 2009.

BARRETO, E. S. A. *et al.* Serum leptin and body composition in children with familial GH deficiency (GHD) due to a mutation in the growth hormone-releasing hormone (GHRH) receptor. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v.51(5), 559-564, 1999.

BARRETO-FILHO, J.A.S. *et al.* Familial Isolated Growth Hormone Deficiency is associated with increased systolic blood pressure, central obesity, and dyslipidemia. **J Clin Endocrinol Metab**, v.87, p.2018-2023, 2002.

BAUMANN, G.; MAHESHWARI, H. Severe growth hormone-releasing hormone receptor gene. **Acta Pediatric Suppl**, v.423, p.33-38, 1997.

BECK, J.C. *et al.* Metabolic effects of human and monkey growth hormone in man. **Science**, v. 125, p. 884-885, 1957.

BERGMAN, R.N. Minimal model: perspective from 2005. **Horm Res**, v.64, p.8-15, 2005.

BLOOMGARDEN, Z.T. Measures of insulin sensitivity. **Clin Lab Med**, v. 26, p.611-633, 2006.

BOGUSZEWSKI, C. L. Genética molecular do eixo GH-IGF-1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.45, n.1, p.5-14, 2001.

BONORA, E. *et al.* Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity.. **Diabetes Care**, v.23, p.57-63, 2000.

BRATUSH-MARRAIN PR, SMITH D, DeFRONZO RA. The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 55, p. 973-982, 1982.

BRUNZELL, J.D. *et al.* Relationships between fasting plasma glucose levels and insulin secretion uring intranenous gucose tolerance tests. **J Clin Endocrinol Metab**, v.42, p.222-229, 1976

CERASI, E.; LUFT, R.; EFENDIC, S. Decreased sensitivity of the oncreatic beta cells to gucose in prediabetic and diabetic subjects. A glucose dose-responses study. **Diabetes Care**, v.21, p.224-234, 1972.

CLEMMONS, D.R. The relative roles of growth hormone and IGF-I in controlling insulin sensitivity. **J Clin Invest**, v.113, p.25-27, 2004.

CORONHO, V.; PETROIANER, A.; MATOS SANTANA, E. **Tratado de Endocrinologia e Cirurgia Endócrina**. Ed. Guanabara Koogan, 2001. p.222-235.

CUNEO, R.C. *et al.* The growth hormone deficiency in adults. **J Clin Endocrinol Metab**, v.37, p.387-397, 1992.

DAVIDSON, M. B. Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. **Endocrinol Rev**, v. 89, 115-131, 1987.

DeFRONZO, R.; TOBIN, J.; ANDRES, R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **Am J Physiol**, v. 237, p. 214-213, 1979.

de PAULA, F.J. *et al.* Consequences of lifetime isolated growth hormone (GH) deficiency and effects of short-term GH treatment on bone in adults with a mutation in the GHRH-receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab**, v.70, p.35-40, 2008.

Di COLA G. *et al.* Hypoglycemic effect of insulin-like growth factor-I in mice lacking insulin receptors. **J Clin Invest**, v.99, p. 2538-2544, 1997.

DUVNJAK, L.; DUVNJAK, M. The metabolic syndrome – an ongoing story. **J Physiol Pharmacol**, v. 60, p. 19-24, 2009.

FERRANNINI, E. *et al.* Insulin resistance , insulin response and obesity as indicators of metabolic risk. **J Clin Endocrinol Metab**, v.92, p.2885-92, 2007.

FRYBURG D.A, *et al.* Growth hormone stimulates skeletal muscle protein synthesis and antagonizes insulin's antiproteolytic action in humans. **Diabetes Care**, v. 41, p. 424-429, 1992.

GIUSTINA, A.; VELDHUIS, J.D. Pathophysiology of the Neuroregulation of Growth Hormone secretion in experimental animals and humans. **Endocrinol Rev.** v.19, n.6, p. 787-797, 1998.

GLEESON, H.K. *et al.* Metabolic effects of growth hormone (GH) replacement in children and adolescents with severe isolated GH deficiency due to a GHRH receptor mutation. **J Clin Endocrinol Metab**, v.66, p.466-474, 2007.

GOLA, M. *et al.* Clinical review. Growth hormone and cardiovascular risk factor. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90, p.1864-1870. 2005.

GREENFIELD, M.S. *et al.* Assessment of insulin resistance with the insulin suppression test and the euglycemic clamp. **Diabetes Care**, v.30, p.387-392, 1981.

GREENSPAN, F.S.; STREWLWER, G.J. **Basic and Clinical Endocrinology**. 5.ed. USA. Appleton & Lange, 1997.

GUO, Y. *et al.* Pancreatic islet-specific expression of an insulin-like growth factor-I transgene compensates islet cell growth in hormone receptor gene deficient mice. **Endocrinol Rev**, v.146, p.2602-2609, 2005.

HAMILL, P.V. et al. Physical growth: national for health statistics percentiles. **Am J Clin Nutr**, v.32, p.607, 1979.

HAYASHIDA, C. Y.; GONDO, R. G.; FERRARI, C. Familial growth hormone deficiency with mutated GHRH receptor gene: clinical and hormonal findings in homozygous and heterozygous individual from Itabaininha-SE. **European Journal of Endocrinology**, v.142, 557-563, 2000

HEW, F.L. *et al.* Insulin resistance in growth hormone-deficient adults: defects in glucose utilization and glycogen synthase activity. **J Clin Endocrinol Metab.**, v.81, p.555–564, 1996.

HO, K.Y, *et al.* Fasting enhances growth hormone secretion and amplifies the complex rhythms of growth hormone secretion in man. **J Clin Invest**, v. 81, p. 968-975, 1988.

ISSELBACHER, K.J. *et al.* **Harrison: Medicina Interna**. 14. ed. 1998. p.2091-2120.

IBGE. Censo demográfico, 2010. disponível em : <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>. Acesso em: 12 abr. 2011.

JUUL, A.*et al.* Growth hormone (GH) provocative retesting of 108 young adults with childhood-onset GH deficiency and the diagnostic value of insulin-like growth factor I (IGF-1) and IGF-binding protein 3. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 82(4), p.195-1201, 1994.

KANH S.E. *et al.* Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects: evidence for a hyperbolic function. **Diabetes Care**, v. 42, p.1663-1672, 1993.

KATZ, A.; NAMBI, S.S.; MATHER, K. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI): a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, p.2402-2410, 2000.

LACEY, K.A.; PARKIN, J.M. Causes of short stature: a community study of children in Newcastle. **Upon Tyne Lancet.**, v.1, p.42-45, 1974.

LAMBERTS, S.W. *et al.* The Endocrinology of aging. **Science** v.17, p.419-424, 1997.

LINDSAY, R. *et al.* Utah growth study: growth standards and the prevalence of growth hormone deficiency. **Journal Pediatric**, v.125, p.29-35, 1994.

Le ROITH D., YAKAR, S. Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1. **Nat Clin Prac End Met**, v. 3, p. 302-310, 2007.

LIU, J.L. *et al.* Disruption of growth hormone receptor gene causes diminished pancreatic islet size and increased insulin sensitivity in mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.287, p.405–413, 2004.

MAHESHWARI, H.G. *et al.* Phenotype an genetic analysis of a syndrome caused by an inactivating mutation in the growth hormone – releasing hormone receptor. Dwarfism of Sindh. **J Clin Endocrinol Metab**, v.83, p.4065-4074, 1998.

MALAISSSE W.J, *et al.* Insulin release : the fuel hypothesis. **Metabolism**, v. 28, p. 373, 1979.

MARI, A. *et al.* A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. **Diabetes Care**, v. 24, p.539-548, 2001.

MARI, A. *et al.* Meal and oral glucose tests for assessment of beta-cell function: modeling analysis in normal subjects. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 283, p. 1159-1166, 2002.

MARTARI, M.; SALVATORI, R. Diseases associated with growth hormone-releasing hormone receptor (GHRH-R) mutations. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v.88, p.57-84, 2009.

MATTHEWS, D. *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, v. 28, p. 412-419, 1985.

MATSUDA, M.; DEFRONZO, R.A. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. **Diabetes Care**, v.22, p.1462-1470, 2000.

MAURAS, N; HAYMOND, M.W. Are the metabolic effects of GH and IGF-I separable? **Growth Horm IGF Res**, v. 15, p. 19-27, 2005.

MENEZES, M. *et al.* Climateric in Untreated Isolated Growth Hormone Deficiency. **Menopause**, v.15, p.743-747, 2008

MOLITCH, M.E. *et al.* Evaluation and treatment of adult growth hormone deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrin Metab**, v.91, p.1621-1634, 2006.

MOLLER N. The role of growth hormone in the regulation of human fuel metabolism. Growth hormone and Insulin-like growth factors in human and experimental diabetes. **Chichester: John Wiley & Sons**, p. 224-332, 1993.

OLIVEIRA, H.A. *et al.* Magnetic resonance imaging study of pituitary morphology in subjects homozygous and heterozygous for a null mutation of the GHRH receptor gene. **Eur J Endocrinol**, v. 148, p.427-32, 2003.

OLIVEIRA, J.L.M. *et al.* Lack of Evidence of Premature Atherosclerosis in Untreated Severe Isolated Growth Hormone Deficiency Due to a GHRH Receptor Mutation. **J Clin Endocrin Metab**, v.91, p.2093-2099, 2006.

OLIVEIRA, C.R.P. *et al.* Sizes of abdominal organs in adults with severe short stature due to severe, untreated, congenital GH deficiency caused by a homozygous mutation in the GHRH receptor gene. **Clin Endocrinol**, v.69, p.153-158, 2008.

OLIVEIRA, C.R.P. *et al.* Adipokine Profile and Urinary Albumin Excretion in Isolated Growth Hormone Deficiency, **J Clin Endocrinol Metab**, v.95, p.693–698, 2010.

OLIVEIRA-NETO, L.A. **Achados cefalométricos em adultos com deficiência genética e Isolada do Hormônio de Crescimento**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Núcleo de Pós-Graduação em Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Sergipe.

OLIVEIRA, C.R.P. **Adipocinas, excreção urinária de albumina, sensibilidade insulínica e função de célula beta na deficiência isolada do hormônio de crescimento**. 2011.138f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju.

OLNEY, R.C. *et al.* Heterozygous mutations in natriuretic peptide receptor-B(NPR2) are associated with short stature. **J Clin Endocrinol Metab**, v.91, p.1229-1232, 2006.

PAOLISSO, G. *et al.* Serum levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein in healthy centenarians: relationships with plasma leptin and lipid concentrations, insulin action, and cognitive function. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 82, p. 2204-2209, 1997.

PEREIRA, R.M.C *et al.* Heterozygosity for a mutation in the growth hormone-releasing hormone receptor gene does not influence adult stature, but affects body composition. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, p. 2353-2357, 2007.

PHILLIPS, J.A. Genetics defects of the growth hormone synthetic pathway. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.43, p.347-352, 1999.

RASHID, M.N. *et al.* Wehner OS. Obesity and the risk for cardiovascular disease. **Prev Cardiol**, v.6, p.42-47, 2003.

RONA, R.J.; TANNER, J.M. A etiology of idiopathic growth hormone deficiency in England and wales. **Arch dis Child.**, v.52, p.197-208, 1997.

ROSENBLOOM, A.L. *et al.* Stature in Ecuadorians heterozygous for growth hormone receptor gene E180 splice mutation does not differ from that of homozygous normal relatives. **J Clin Endocrinol Metab**, v.83, p.2373-2375, 1998.

ROSICKA, M. *et al.* Ghrelin – a new endogenous growth hormone secretagogue. **Physiol Rev**, v.51, p.435-441, 2002.

SALVATORI, R. *et al.* Familial dwarfism due to a novel mutation in the growth hormone – releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, n.3, p.917-923, 1999.

SALVATORI, R.; FAN, X.; PHILLIPS, J. A. Three new mutations in the gene for the growth hormone (GH) – releasing hormone receptor in familial isolated GH deficiency tipe ib. **J Clin. Endocrinol. Metab**, v. 86(1), p. 273-279, 2001.

SALVATORI, R. *et al.* Detection of recurring mutation in the human growth hormone releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab**, v.57, p.77-80, 2002b.

SANDHU, M.S. *et al.* Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and development of glucose intolerance: a prospective observacional study. **Lancet**, v.359, p.1740-1745, 2002

SCAVO, L.M. *et al.* Insulin –like growth factor-I stimulates both cell growth and lipogenesis during differentiation of human mesenchymal stem cells into adipocytes. **J Clin Endocrinol Metab**, v.89, p.3543-3553, 2004

SEGERLANTZ, M. *et al.* Inhibition of lipolysis during acute GH exposure increases sensitivity in previously untreated GH-deficient adults. **Eur J Endocrinol**, v. 149, p. 511–519, 2003.

SELTZER, H.S. *et al.* Insulin secretion in response to glycemic stimulus: relation of delayed initial release to carbohydrate intolerance in mild diabetes mellitus. **J Clin Invest**, v.46, p.323-335, 1967.

SMITH, W.J. *et al.* Use of Insulin – Like Growth Factor Protein - 2 (IGFBP-2), IGFBP – 3 and IGF-1 for assessing growth hormone status in short children. **J Clin Endocrinol Metab**, v.77, p.1294-1299, 1993.

SNELL, Y.E.M. *et al.* Magnetic resonance imaging-assessed adipose and serum lipid and insulin concentrations in growth hormone-deficient adults. EFFECT OF GROWTH HORMONE REPLACEMENT. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.15, p.1543-1548, 1995.

SOUZA, A.H.O. **Estudo das crianças de Carretéis** – deficiência familiar isolada do hormônio de crescimento. 1997. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Núcleo de Pós-graduação em Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju.

SOUZA, A.H.O. **Qualidade de vida de portadores da deficiência do hormônio do crescimento e Itabaianinha-SE** 1999. Monografia (Especialização em Endocrinologia Genética), Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Sergipe.

SOUZA, A.H.O. *et al.* Hormônio do crescimento ou Somatotrófico. Novas perspectivas na deficiência isolada de GH a partir da descrição da mutação no gene do receptor do GHRH nos indivíduos da cidade de Itabaianinha, Brasil. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.48, n.3, p.406-413, 2004.

TOFFOLO, G.; De GRANDI, F.; COBELLI C. Estimation of beta-cell sensitivity from intravenous glucose tolerance test C-peptide data. Knowledge of the kinetics avoids errors in modeling the secretion. **Diabetes**, v. 44, p. 845-854, 1995.

TWIGG, S.M.; BAXTER, R.C. Insulin like growth factor (IGF-I) binding protein 5 forms an alternative ternary complex IGFs and the acid-labile subunit. **J Biol Chem**, v.273, p.6074-6079, 1998.

UNDERWOOD, L.E.; VAN, W.Y.K.J.J. Normal and aberrant growth. In: WILSON, J.D.; FOSTER, D.W.(eds). **Textbook of Endocrinology**. 8.ed. Philadelphia: W.B. Saunders CO, 1992. p. 1079-1138.

VIMPANI, G.V. *et al.* Prevalence of severe growth hormone deficiency. **Br. Med. Journal**, v.2, p.427-431, 1997.

YAKAR, S. *et al.* Inhibition of growth hormone action improves insulin sensitivity in liver IGF-1-deficient mice. **J Clin Invest**, v. 113, p. 96- 105, 2004.

WAJNRAJCH, M.P. *et al.* Nonsense Mutation in the Human Growth Hormone-Releasing Hormone Receptor causes Growth Failure Analogous to the Little (lit) Mouse. **Nat. Genet.**, v.12, p.88-90, 1996.

WOODS, K.A. *et al.* Phenotype: relationships in growth hormone insensitivity syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, v.82, p.3529-3235, 1997.

9. ANEXOS

10. APÊNDICES

APÊNDICE 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

O TCLE, utilizado neste estudo, está impresso, na íntegra, nas folhas seguintes.

APÊNDICE 2

Tabelas do estudo: avaliação de sensibilidade insulínica e função de célula beta.

Tabela A1: Características antropométricas do grupo Heterozigótico (12M/13F)*

Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (cm)	IMC (Kg/cm ²)	Cintura (cm)	Quadril (cm)	C/Q
M	28	53,3	171,5	18	66	84	0,79
F	43	65,2	164,0	24	90	98	0,91
M	27	52,9	152,0	23	72	96	0,75
M	39	72,2	177,0	23	89	94	0,95
M	52	74,5	163,0	28	93	96	0,97
M	25	64,4	174,5	21	75	90	0,83
F	25	46,0	160,3	18	69	86	0,80
F	32	47,9	157,5	19	73	87	0,84
F	25	70,0	165,5	26	79	107	0,74
M	57	57,9	160,0	23	83	75	1,11
M	48	50,6	159,0	20	77	84	0,91
M	33	58,3	167,0	21	79	87	0,91
M	47	54,0	156,0	22	75	84	0,89
M	30	79,2	180,2	24	93	99	0,94
M	49	71,4	165,0	26	94	96	0,98
F	51	64,4	160,7	25	89	93	0,96
F	50	56,4	152,7	24	79	92	0,86
F	30	74,0	164,0	28	87	105	0,83
F	48	50,0	143,5	24	80	92	0,87
M	54	49,1	153,5	21	78	83	0,93
F	50	38,4	144,0	19	75	81	0,92
F	49	59,1	157,7	24	83	95	0,87
F	43	53,1	150,0	24	80	94	0,86
F	42	60,4	153,0	26	83	98	0,84
F	25	61,0	165,0	22	74	104	0,71
Média	40,08	59,35	160,66	22,88	80,46	91,95	0,88
DP	10,87	10,25	9,27	2,79	7,72	7,91	0,09

* M - masculino / F- feminino

Tabela A2: Características antropométricas do grupo Homozigótico normal (14M/11F)*

Paciente	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (cm)	IMC (Kg/cm ²)	Cintura (cm)	Quadril (cm)	C/Q
1	F	26	70,6	158,0	28	89	104	0,86
2	F	52	58,2	148,3	27	86	93	0,92
3	M	48	69,9	174,0	23	91	94	0,97
4	M	62	69,9	170,5	24	89	98	0,91
5	F	39	51,6	155,0	22	77	96	0,80
6	F	25	55,4	168,0	20	67	100	0,67
7	F	37	51,1	153,5	22	72	92	0,78
8	M	36	70,2	169,0	25	84	99	0,85
9	F	57	64,0	150,0	28	81	107	0,76
10	F	60	55,6	160,0	22	78	92	0,85
11	F	43	90,7	158,0	36	107	119	0,89
12	M	30	89,0	178,5	28	93	95	0,98
13	M	46	75,9	179,5	24	88	91	0,97
14	M	26	74,7	169,5	26	85	104	0,82
15	M	26	49,1	154,0	21	79	82	0,96
16	F	45	69,7	168,5	25	86	100	0,86
17	M	33	75,1	173,5	25	88	98	0,90
18	F	30	77,0	161,5	30	98	107	0,92
19	M	44	61,1	171,0	21	73	77	0,95
20	M	40	72,3	175,0	24	86	89	0,97
21	M	55	86,0	175,0	28	101	104	0,97
22	M	25	83,4	173,5	28	88	110	0,80
23	M	26	97,9	176,0	32	112	114	0,98
24	F	60	63,0	155,0	26	86	98	0,88
25	M	28	60,0	164,5	22	81	93	0,87
Média	14M/11F	39,96	69,66	165,57	25,31	86,5	98,06	0,88
DP		12,49	13,06	9,46	3,86	10,3	9,27	0,08

* M - masculino / F- feminino

Tabela A3: Dose de glicose (g), Glicemia nos 6 tempos do TTGO e ASC Glicose (mg/dL) no grupo Heterozigótico

Paciente	Dose de Glicose	Glicemia 0	Glicemia 30	Glicemia 60	Glicemia 90	Glicemia 120	Glicemia 180	ASC Glicose
1	75	90	123	100	91	80	76	92,50
2	75	94	140	156	126	116	78	120,16
3	75	92	158	128	122	142	104	128,50
4	75	95	161	166	77	64	72	103,25
5	75	96	163	204	154	161	82	148,75
6	75	85	130	102	80	84	76	92,75
7	75	90	132	168	134	137	129	135,58
8	75	90	140	151	162	125	137	137,08
9	75	94	153	102	93	122	86	110,66
10	75	81	184	180	158	137	131	149,83
11	75	105	139	188	137	141	111	139,83
12	75	102	153	169	113	97	93	120,75
13	75	83	85	54	52	61	91	69,16
14	75	93	144	181	132	106	79	123,58
15	75	99	179	231	131	115	58	136,83
16	75	109	193	178	194	162	109	161,91
17	75	94	178	193	184	160	130	162,00
18	75	90	98	93	67	75	61	79,41
19	75	95	124	116	164	115	91	119,16
20	75	125	217	225	182	149	80	165,00
21	75	102	133	139	101	105	62	107,25
22	75	103	168	206	140	137	80	141,83
23	75	96	151	118	120	103	71	110,41
24	75	103	203	236	222	210	171	199,75
25	75	92	114	98	97	125	84	104,41
Média	75	95,96	150,52	155,28	129,32	121,16	93,68	126,42
Erro padrão		1,85	6,27	9,74	8,42	6,91	5,56	5,91

Tabela A4: Dose de glicose (g), Glicemia nos 6 tempos do TTGO e ASC Glicose (mg/dL) no grupo Homozigótico normal

Paciente	Dose de Glicose	Glicemia 0	Glicemia 30	Glicemia 60	Glicemia 90	Glicemia 120	Glicemia 180	ASC Glicose
1	75	87	144	133	125	104	106	117,9
2	75	86	177	153	108	110	86	122,0
3	75	113	151	208	146	117	108	140,8
4	75	110	176	202	243	204	115	182,8
5	75	109	131	135	150	143	151	139,3
6	75	73	98	63	78	102	86	85,8
7	75	97	183	169	151	125	53	132,0
8	75	77	106	105	93	104	88	97,8
9	75	90	85	117	121	114	81	103,3
10	75	89	132	139	125	112	106	119,1
11	75	87	116	89	148	121	100	113,0
12	75	87	136	99	120	107	76	105,8
13	75	100	154	143	87	100	45	104,8
14	75	97	146	173	117	115	67	120,7
15	75	95	145	101	110	95	66	102,0
16	75	103	151	92	123	117	96	114,8
17	75	94	132	92	84	114	49	95,8
18	75	96	130	124	130	138	64	117,2
19	75	98	162	102	85	67	66	94,1
20	75	102	184	91	189	106	75	124,8
21	75	81	138	145	125	114	58	112,9
22	75	87	117	94	65	59	86	82,3
23	75	99	137	175	151	140	63	130,9
24	75	107	174	211	193	194	99	170,3
25	75	93	102	126	113	93	87	102,3
Média	75	94,3	140,3	131,2	127,2	116,6	83,1	117,3
Erro padrão da média		1,9	6,0	9,2	8,8	7,1	5,3	23,5

Tabela A5: Insulina ($\mu\text{U/mL}$) nos 6 tempos do TTGO e ASC Insulina no grupo Heterozigótico

Paciente	Insulina 0	Insulina 30	Insulina 60	Insulina 90	Insulina 120	Insulina 180	ASC Insulina
1	2,44	44	19	15,10	15,50	4,79	17,92
2	4,13	52	48	26,20	35,20	8,02	31,53
3	4,96	45	46	42,10	37,20	18,30	34,96
4	3,68	82	62	15,90	2,30	0,86	27,70
5	4,83	53	89	64,30	76,80	9,49	55,56
6	,96	46	21	14,00	4,80	0,47	16,27
7	7,04	34	101	103,00	96,40	103,00	79,30
8	4,17	95	93	104,00	121,00	101,00	93,27
9	4,63	161	66	47,10	72,00	6,75	65,33
10	3,96	15	55	59,40	45,20	43,90	40,48
11	1,97	18	19	24,50	25,60	14,90	19,23
12	2,88	13	32	31,80	15,50	12,00	18,88
13	4,59	99	8	7,50	68,10	37,60	43,20
14	8,05	66	115	84,30	75,00	13,70	65,90
15	4,16	42	98	40,10	43,40	7,37	42,37
16	10,70	81	66	119,00	128,00	34,30	82,85
17	4,53	51	54	83,00	49,90	54,50	53,28
18	3,67	70	75	37,50	17,10	24,74	34,85
19	6,50	108	46	79,70	51,80	9,08	53,87
20	,98	19	18	25,00	12,10	1,54	13,61
21	2,08	23	44	53,20	38,70	7,61	31,18
22	3,41	23	62	25,00	33,40	5,80	27,86
23	4,07	60	40	57,60	28,10	2,74	34,12
24	8,30	107	147	127,00	140,00	32,20	104,55
25	8,18	73	59,26	38,40	19,20	63,90	49,79
Média	4,59	59,10	59,27	52,99	50,10	24,74	45,52
Erro padrão	0,48	7,12	7,02	6,88	7,70	6,03	4,97

Tabela A6: Insulina ($\mu\text{U/mL}$) nos 6 tempos do TTGO e ASC Insulina no grupo Homozigótico normal

Paciente	Insulina 0	Insulina 30	Insulina 60	Insulina 90	Insulina 120	Insulina 180	ASC Insulina
1	11,10	93,6	70,6	75,9	40,3	39,00	57,5
2	3,78	81,8	114,0	121,0	117,0	48,80	90,5
3	3,59	33,6	54,8	56,3	10,3	13,90	29,3
4	5,36	10,9	26,9	36,4	6,8	20,60	17,9
5	1,26	23,2	18,8	25,1	25,4	21,00	21,1
6	1,00	73,1	6,5	12,4	31,9	21,20	26,9
7	2,27	43,8	43,4	38,7	39,1	3,18	31,5
8	1,95	20,8	26,2	22,8	20,1	11,00	18,7
9	2,27	2,6	27,2	30,9	29,7	13,25	19,9
10	2,47	38,8	43,4	29,0	22,8	11,40	26,3
11	6,88	29,9	66,0	85,3	84,2	21,60	55,4
12	5,90	62,7	20,1	45,5	23,8	3,04	28,3
13	3,74	65,1	58,7	28,4	34,3	1,31	34,5
14	7,50	203,5	190,0	56,4	65,3	9,43	93,5
15	1,40	67,6	31,6	46,8	20,2	2,71	30,0
16	5,35	87,4	19,9	23,0	27,7	17,70	32,0
17	4,56	24,5	29,5	26,8	26,0	3,43	20,9
18	6,14	32,8	26,4	37,2	26,4	7,25	24,4
19	1,74	38,2	43,9	10,9	3,5	1,54	16,8
20	4,30	60,0	51,0	58,0	12,7	1,62	32,0
21	2,53	104,0	76,6	62,8	65,9	4,93	58,1
22	1,71	34,3	37,8	26,4	5,6	1,32	18,2
23	10,50	137,5	276,0	189,0	189,5	17,10	151,5
24	2,47	26,7	25,4	33,8	52,3	22,70	31,4
25	5,85	37,1	41,7	39,6	32,8	19,20	31,6
Média	4,23	58,76	57,05	48,73	40,54	13,56	39,90
Erro padrão da média	0,50	9,10	11,80	7,60	8,10	2,40	6,50

Tabela A7: HOMA_{air}, QUICKI, OGIS 2, OGIS 3, HOMA- beta, índice insulínogênico e ASC I/G no grupo Heterozigótico

Paciente	HOMA _{air}	QUICKI	OGIS 2	OGIS 3	HOMA beta	Índice Insulínogênico	ASC I/G
1	0,54	0,43	500,19	516,02	32,62	1,25	0,19
2	0,96	0,39	437,26	465,35	48,08	1,04	0,26
3	1,13	0,38	410,14	452,90	61,73	0,60	0,27
4	0,86	0,39	482,10	491,71	41,50	1,18	0,26
5	1,14	0,38	365,02	409,73	52,82	0,72	0,37
6	0,20	0,52	497,95	525,47	15,76	1,04	0,17
7	1,56	0,36	376,77	351,56	94,12	0,68	0,58
8	0,93	0,39	396,33	306,16	55,75	1,73	0,68
9	1,07	0,38	376,64	400,11	53,90	2,56	0,59
10	0,79	0,40	455,78	409,31	79,49	0,10	0,27
11	0,51	0,43	351,85	341,00	16,92	0,45	0,13
12	0,72	0,41	396,65	424,02	26,64	0,19	0,15
13	1,09	0,39	420,66	438,57	52,24	48,64	0,62
14	1,85	0,35	588,89	402,53	96,85	1,13	0,53
15	1,02	0,38	384,41	391,79	41,69	0,47	0,30
16	2,88	0,33	404,36	476,17	83,90	0,83	0,51
17	1,05	0,38	318,69	316,10	52,74	0,55	0,32
18	0,81	0,40	383,68	394,84	49,07	8,07	0,43
19	1,52	0,36	451,40	525,16	73,30	3,50	0,45
20	0,30	0,48	411,63	447,80	5,61	0,19	0,08
21	0,52	0,43	367,79	474,50	19,24	0,67	0,29
22	0,87	0,39	414,29	538,99	30,75	0,30	0,19
23	0,96	0,39	402,62	461,81	44,51	1,02	0,30
24	2,11	0,34	416,85	511,42	74,86	0,98	0,52
25	1,86	0,35	317,54	280,57	101,81	2,98	0,47
Média	1,09	0,39	413,18	430,14	52,24	0,99*	0,36
DP	0,61	0,04	59,74	72,20	26,92	0,97**	0,17

* Mediana

** Distância Interquartilica

Tabela A8: HOMA_{Air}, QUICKI, OGIS 2, OGIS 3, HOMA- beta, índice insulínogênico e ASC I/G no grupo Homozigótico normal

Paciente	HOMA _{Air}	QUICKI	OGIS 2	OGIS 3	HOMA beta	Índice insulínogênico	ASC I/G
1	2,38	0,34	422,4	409,8	167,00	1,4	0,5
2	0,80	0,40	372,2	379,9	59,35	0,9	0,7
3	1,00	0,38	355,9	386,5	25,90	0,8	0,2
4	1,45	0,36	382,6	457,8	41,13	0,1	0,1
5	0,34	0,47	390,5	344,8	9,88	1,0	0,2
6	0,18	0,54	542,7	517,5	36,22	2,9	0,3
7	0,54	0,43	428,6	526,8	24,09	0,5	0,2
8	0,37	0,46	498,4	497,8	50,37	0,7	0,2
9	0,50	0,43	447,0	481,5	30,35	-0,1	0,2
10	0,54	0,43	462,2	446,1	34,30	0,8	0,2
11	1,48	0,36	399,1	362,7	103,51	0,8	0,5
12	1,27	0,37	432,2	473,9	88,76	1,2	0,3
13	0,92	0,39	395,1	507,0	36,47	1,1	0,3
14	1,79	0,35	385,1	430,7	79,60	4,0	0,8
15	0,33	0,47	436,7	543,3	15,79	1,3	0,3
16	1,36	0,36	406,1	413,0	48,25	1,7	0,3
17	1,06	0,38	396,3	529,5	53,09	0,5	0,2
18	1,45	0,36	394,3	502,8	67,14	0,8	0,2
19	0,42	0,45	485,6	533,4	17,94	0,6	0,2
20	1,08	0,38	410,8	472,8	39,78	0,7	0,3
21	0,51	0,43	431,9	468,1	50,79	1,8	0,5
22	0,37	0,46	493,1	418,7	25,73	1,1	0,2
23	2,56	0,33	276,7	310,9	105,24	3,3	1,2
24	0,65	0,41	369,9	418,2	20,25	0,4	0,2
25	1,34	0,37	447,4	448,5	70,38	3,5	0,3
Média	0,99	0,4	418,5	451,3	52	0,85*	0,34
Desvio Padrão	0,64	0,05	54,10	63,10	35,60	0,99**	0,24

* Mediana

** Distância Interquartilica