RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 14/11/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Beatriz Martins Holtz

Valores glicêmicos de ratas diabéticas e sua relação com os critérios diagnósticos estabelecidos para o *Diabetes mellitus* gestacional, desfechos reprodutivos maternos e perinatais

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Tocoginecologia.

Área de concentração: Obstetrícia.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno
Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato

Botucatu
2024

BEATRIZ MARTINS HOLTZ

Valores glicêmicos de ratas diabéticas e sua relação com os critérios diagnósticos estabelecidos para o *Diabetes mellitus* gestacional, desfechos reprodutivos maternos e perinatais

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Tocoginecologia.

Área de concentração: Obstetrícia

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno
Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato

Botucatu
2024

H758v

Holtz, Beatriz Martins

Valores glicêmicos de ratas diabéticas e sua relação com os critérios diagnósticos estabelecidos para o Diabetes mellitus gestacional, desfechos reprodutivos maternos e perinatais / Beatriz Martins Holtz. -- Botucatu, 2024

57 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Débora Cristina Damasceno

Coorientador: Gustavo Tadeu Volpato

1. Gravidez. 2. Glicemia. 3. Diabete. 4. Pesquisa médica translacional. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

BEATRIZ MARTINS HOLTZ

VALORES GLICÊMICOS DE RATAS DIABÉTICAS E SUA RELAÇÃO COM OS CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS ESTABELECIDOS PARA O *DIABETES MELLITUS* GESTACIONAL, DESFECHOS REPRODUTIVOS MATERNOS E PERINATAIS

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu-SP, para obtenção do título de Mestra em Tocoginecologia.

Área de concentração: Obstetrícia.

Data da defesa: 14/11/2024

Banca examinadora:

_____

Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno
UNESP – Faculdade de Medicina – Campus de Botucatu-SP

_____

Profa. Dra. Verônyca Gonçalves Paula
UNESP – Pós-doutoranda Faculdade de Medicina – Campus de Botucatu-SP

_____

Profa. Dra. Rafaianne Queiroz de Moraes Souza
UNIVAR – Centro Universitário do Vale do Araguaia – Campus de Barra do Garças-MT

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas. Mas, ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

– Carl Jung.

Dedicatória

Aos meus pais, filhos e marido por todo o amor, inspiração e sacrifícios. Vocês sonharam junto comigo e, por tudo, sou grata.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela força incondicional, por me permitir chegar até aqui e ser o guia em meio a todas as minhas fraquezas. Por me mostrar que Seus planos são maiores que os meus e Sua vontade é soberana. Por me sustentar nos momentos de tempestade. ***"Esta é minha ordem: Seja forte e corajoso! Não tenha medo nem desanime, pois o Senhor, seu Deus, estará com você por onde você andar". – JS 1:9.***

Agradeço à minha mãe, Sheylla, minha melhor amiga, confidente e motivadora. Você torna os meus dias mais leves e me ajuda constantemente a entender o sentido da vida. Ao meu pai e herói, Vandoir, obrigada por cada conselho, exemplo e apoio. Vocês acreditaram em mim, sonharam e lutaram por essa conquista. Sem vocês nada seria possível e cada palavra escrita reflete seu incentivo.

Ao meu companheiro de vida, Danylo, pela compreensão e amor. Por entender o propósito e renúncias, por trilhar esse caminho ao meu lado e sonhar os meus sonhos. Aos meus filhos, Theodoro e Bento, que mesmo sem entender se tornaram maior fonte de força e motivação dessa conquista. Ao meu irmão, Felipe, pelo companheirismo e cumplicidade. Sem vocês eu nada seria.

Às minhas tias, Luciana, Dorisa e Shirley, por serem exemplos de força e determinação. Aos meus sogros e cunhada, Neli, Rodrigo e Danielli, pela confiança e ajuda nos momentos de dificuldade.

À Yasmin, pelo encorajamento e conselhos, pelas risadas e ombro amigo.

Aos meus avós, Laurica e Galdino, Arnilda e Arnildo (in memorian), por todo o amor e orgulho que sempre tiveram.

À toda minha família e amigos, pela dedicação e contribuição para que o caminho até aqui tenha sido mais leve.

À minha orientadora, Profa. Dra. Débora Damasceno, pela ternura e carinho. Jamais me esquecerei de todos os ensinamentos (que foram além da ciência). Obrigada pelo acolhimento, confiança, pela paciência ao ensinar e pelos conselhos valiosos.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Gustavo Volpato, por ter me conduzido ao

caminho científico desde o primeiro semestre da graduação e pelo apoio durante todos esses anos.

Aos meus companheiros do LAPGO e do FISIOTOX, pela troca de experiências, aprendizados, amizade e por cederem seus bancos de dados para que essa pesquisa fosse possível.

Aos assistentes técnicos do LAPGO, Srs. Danilo Chaguri e Jurandir Antônio, pelos cuidados na manutenção dos animais, cujos dados fizeram com que este Mestrado ocorresse.

Aos membros da banca de qualificação, Profa. Dra. Rafaianne Queiroz Souza e Profa. Dra. Verônyca Gonçalves Paula, pelas contribuições, disponibilidade e transmissão de conhecimentos.

Ao Escritório de Apoio à Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, em especial ao Prof. Titular José Eduardo Corrente, pelas análises estatísticas e auxílio nas interpretações dos resultados.

À equipe da biblioteca da Unesp de Botucatu, pelo trabalho realizado durante o meu Mestrado.

À equipe de secretaria da Pós-graduação e à Solange Cagliari pela ajuda.

Ao Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia, Laboratório de Pesquisa Experimental em Ginecologia e Obstetrícia (LAPGO) e Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 88887.914078/2023-00.

Aos animais, gestantes e aos que contribuíram, direta ou indiretamente, para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Diabetes mellitus (DM) é uma doença que gera hiperglicemia crônica e pode resultar em complicações secundárias. Os critérios diagnósticos para o diabete são métodos para a detecção da doença e seu manejo clínico. No entanto, diferente dos critérios estabelecidos para mulheres diabéticas não-grávidas, não há um consenso único no cenário atual para o diagnóstico do *Diabetes mellitus* Gestacional (DMG) pelas agências normativas. Estudos conduzidos em modelos experimentais com roedores são frequentemente utilizados em avaliações maternas e embriofetais. Desta forma, é importante destacar a melhor forma para realização do critério diagnóstico de ratas diabéticas utilizando o TOTG (Teste oral de tolerância à glicose) como feito nas gestantes. Para isso, foram elaborados dois capítulos para compor esta Dissertação: *Capítulo 1:* Pelo fato de haver controvérsias entre as agências normativas para o rastreio e manejo do diabete em gestantes, não há um consenso único no cenário atual para diagnóstico do DMG. Por isso, foi realizada uma revisão de artigos que teve como objetivo elencar a evolução dos critérios diagnósticos para DMG, com foco na influência de grandes ensaios clínicos nos padrões atuais e explorar as áreas onde ainda existem lacunas e divergências entre as diretrizes. Trata-se de uma atualização bibliográfica sobre os critérios diagnósticos do *Diabete mellitus* gestacional em mulheres e sua evolução nas últimas décadas. Para abranger as principais definições e abordagens, foram incluídos estudos publicados nas bases de dados *PubMed*, *Embase*, *Scopus* e *Scielo* nos idiomas português, espanhol e inglês. Para o *Capítulo 2:* O estudo visa relacionar as glicemias obtidas e armazenadas em nosso banco de dados de ratas com diabete moderado que foram submetidas ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG) em relação às glicemias obtidas no TOTG que constam no banco de dados das pesquisas clínicas de gestantes com e sem diabete. O objetivo é verificar um tempo específico no TOTG que seja um identificador prévio das complicações decorrentes da hiperglicemia na gestação e relacionar com os desfechos reprodutivos maternos das ratas. Portanto, os estudos clínicos selecionados para análise descritiva demonstram que o critério diagnóstico do IADPSG, atualmente recomendado pela ADA, é o mais eficaz na identificação precoce do *Diabetes mellitus* gestacional (DMG) e funciona como um preditor de riscos materno-fetais. Com relação ao capítulo seguinte, as glicemias em torno de 180 mg/dL já consistem em resultados translacionais, visto que a glicemia das ratas no tempo 30 do TOTG das ratas se equipara aos das mulheres no tempo 60 do TOTG. Além disso, os desfechos materno-fetais foram compatíveis aos existentes nas gestantes diabéticas.

Palavras-chave: estudos translacionais, gravidez, glicemia, diabete.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a disease that generates chronic hyperglycemia and can result in secondary complications. Diagnostic criteria for diabetes are methods for detecting the illness and its clinical management. However, unlike the criteria established for non-pregnant diabetic women, there is no single consensus in the current scenario for the diagnosis of Gestational *Diabetes mellitus* (GDM) by regulatory agencies. Long-term studies in experimental models with rodents are often used in maternal and embryofetal evaluations. Therefore, it is important to highlight the best way to perform the selective diagnosis of diabetic rates using the OGTT (Oral Glucose Tolerance Test) as performed in pregnant women. For this purpose, two chapters were prepared to compose this Dissertation: Chapter 1: Due to the controversies among regulatory agencies for the screening and management of diabetes in pregnant women, there is no single consensus in the current scenario for the diagnosis of GDM. Therefore, a review of articles was carried out with the aim of listing the evolution of diagnostic criteria for GDM, focusing on the influence of large clinical trials on current standards and exploring areas where gaps and divergences between guidelines still exist. This is a bibliographic update on the diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus in women and its evolution in recent decades. To cover the main definitions and approaches, studies published in the PubMed, Embase, Scopus and Scielo databases in Portuguese, Spanish and English were included. For Chapter 2: The study aims to relate the blood glucose levels found and stored in our database of female rats with moderate diabetes who underwent the oral glucose tolerance test (OGTT) in relation to the blood glucose levels obtained in the OGTT that are included in the database of clinical research of pregnant women with and without diabetes. The objective is to verify a specific time in the OGTT that is a prior identifier of complications resulting from hyperglycemia in pregnancy and related to the maternal reproductive outcomes of rats. Therefore, the clinical studies selected for descriptive analysis demonstrate that the IADPSG diagnosis, currently recommended by the ADA, is the most effective in the early identification of gestational diabetes mellitus (GDM) and works as a predictor of maternal-fetal risks. Regarding the following chapter, blood glucose levels around 180 mg/dL already consist of translational results, since the blood glucose levels of rats at time 30 of the OGTT are similar to those of women at time 60 of the OGTT. In addition, the maternal-fetal outcomes were compatible with those of diabetic pregnant women.

Keywords: translational research, pregnancy, blood glucose, diabetes.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – *Diabetes mellitus* gestacional: a evolução dos critérios diagnósticos

Introdução…….....15

Metodologia…….....17

Resultados……..19

Discussão……...28

Conclusão.....…….....35

Referências Bibliográficas.....……..……..36

CAPÍTULO 2 – Valores glicêmicos de ratas diabéticas e sua relação com os critérios diagnósticos estabelecidos para o *Diabetes mellitus* gestacional, desfechos reprodutivos maternos e perinatais

Introdução…….....43

Objetivo.....44

Metodologia…….....44

Resultados……..47

Discussão……...50

Conclusão.....…….....52

Referências Bibliográficas……..……..53

ANEXOS.....55

CAPÍTULO 1

Diabetes mellitus gestacional: A evolução dos critérios diagnósticos

Após as contribuições dos membros da banca, este manuscrito será padronizado de acordo com as instruções para autores e submetido à revista *Systems Biology in Reproductive Medicine.*

RESUMO

Diabetes mellitus (DM) é uma doença multifatorial que causa hiperglicemia crônica e sua fisiopatologia envolve fatores genéticos e ambientais. A hiperglicemia no DM ocorre por diferentes mecanismos de falha na secreção/ação da insulina pelas células beta (β)-pancreáticas, responsáveis por sintetizar e secretar insulina e, desta forma, modula a glicose plasmática. A resistência, deficiência ou ausência de secreção insulínica é determinante na classificação do DM. No diabete tipo 1 (DM1), o aumento da glicemia plasmática se deve à autodestruição imunológica das células β-pancreáticas. Já, no diabete tipo 2 (DM2), há defeito progressivo na síntese e/ou secreção de insulina, gerando um quadro de resistência a este hormônio, levando à resposta inadequada do organismo à quantidade de insulina sintetizada. Outra classe de DM é o *Diabetes mellitus gestacional* (DMG), cujos critérios diagnósticos são determinados a partir da concentração de glicose plasmática em jejum, teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e/ou rastreio da hemoglobina glicada (HbA1c), observando protocolos específicos de coleta e avaliação. É essencial que haja padronização para a detecção precoce do diabete e de seu manejo clínico, bem como para a prevenção de complicações em função das intervenções e tratamentos individualizados. Para isso, foi realizado este estudo que teve como objetivo elencar a evolução dos critérios diagnósticos para DMG, com foco na influência de grandes ensaios clínicos nos padrões atuais e explorar as áreas onde ainda existem lacunas e divergências entre as diretrizes. Os estudos selecionados para análise descritiva demonstram que o critério diagnóstico do IADPSG, atualmente recomendado pela ADA, é o mais eficaz na identificação precoce do *Diabetes mellitus* gestacional (DMG) e funciona como um preditor de riscos materno-fetais. Contudo, muitas gestantes ainda são submetidas a rastreios baseados em critérios desatualizados, o que pode atrasar o diagnóstico e aumentar o risco de complicações

Palavras-chave: gestantes, diabetes, TOTG, glicemia, agências normativas**.**

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a multifactorial disease that causes chronic hyperglycemia and its pathophysiology involves genetic and environmental factors. Hyperglycemia in DM occurs due to different mechanisms of failure in the secretion/action of insulin by pancreatic beta (β) cells, which are responsible for synthesizing and secreting insulin and, thus, modulating plasma glucose. Resistance, deficiency or absence of insulin secretion is a determining factor in the classification of DM. In type 1 diabetes (DM1), the increase in plasma glucose is a consequence of the immunological self-destruction of pancreatic β cells. In type 2 diabetes (DM2), there is a progressive defect in the synthesis and/or secretion of insulin, generating a condition of resistance to this hormone, leading to an inadequate response of the body to the amount of insulin synthesized. Another type of DM is gestational *Diabetes mellitus* (GDM), whose diagnostic criteria are determined based on fasting plasma glucose concentration, oral glucose tolerance test (OGTT) and/or glycated hemoglobin (HbA1c) screening, following specific collection and evaluation protocols. It is essential to standardize early detection of diabetes and its clinical management, as well as to prevent complications based on individualized interventions and treatments. Therefore, this study was conducted to list the evolution of diagnostic criteria for GDM, focusing on the influence of large clinical trials on current standards and to explore areas where gaps and divergences between guidelines still exist. The studies selected for descriptive analysis demonstrate that the IADPSG diagnostic criteria, currently recommended by the ADA, are the most effective in early identification of gestational diabetes mellitus (GDM) and function as a predictor of maternal-fetal risks. However, many pregnant women still undergo screening based on outdated criteria, which can delay diagnosis and increase the risk of complications.

Keywords: pregnant women, diabetes, OGTT, blood glucose, regulatory agencies.

INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus (DM) é uma doença complexa e de caráter multifatorial que causa implicações relacionadas à disfunção na regulação glicêmica, gerando um estado de hiperglicemia crônica que, por sua vez, resulta em complicações secundárias e progressivas (*American Diabetes Association* - ADA, 2024). A fisiopatologia do diabete envolve fatores genéticos e ambientais que contribuem para a hiperglicemia crônica levando a disfunções metabólicas micro e macrovasculares. A hiperglicemia no DM ocorre por diferentes mecanismos de falha na secreção/ação da insulina pelas células beta (β)-pancreáticas, responsáveis por sintetizar e secretar insulina e, desta forma, modula a glicose plasmática (KHAN *et al.,* 2019; Sociedade Brasileira de Diabetes - SBD, 2023). A resistência, deficiência ou ausência de secreção insulínica é determinante na classificação do DM. No diabete tipo 1 (DM1), o aumento da glicemia plasmática se deve à autodestruição imunológica das células β-pancreáticas. Já, no diabete tipo 2 (DM2), há defeito progressivo na síntese e/ou secreção de insulina, gerando um quadro de resistência a este hormônio, levando à resposta inadequada do organismo à quantidade de insulina sintetizada (KHAN *et al.*, 2019). A longo prazo, o diabete causa complicações em diferentes órgãos e tecidos, dentre eles os rins, coração, olhos e vasos sanguíneos. Estas complicações prejudicam a saúde dos indivíduos e causa um aumento considerável aos cofres públicos devido à alta taxa de morbimortalidade (GLECHNER *et al.,* 2018; KHAN *et al*., 2019; MARCIANO *et al.*, 2019).

Com relação aos critérios diagnósticos do diabete, é essencial que haja padronização para a detecção precoce da doença e seu manejo clínico, bem como para a prevenção de complicações em função das intervenções e tratamentos individualizados. A criação dos protocolos de investigação pelas agências normativas especializadas em diabete segue evidências científicas e diferentes métodos de rastreio (ADA, 2014). As recomendações recentes da ADA para diagnóstico do diabete são baseadas na mensuração da hemoglobina glicada (HbA1c), glicose plasmática em jejum, valor de glicemia após 2h durante o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) de 75g ou glicose aleatória, sendo os três primeiros

testes apropriados para triagem diagnóstica. Destaca-se que os mesmos testes podem ser utilizados para rastrear indivíduos com pré-diabete (ADA, 2024).

A Sociedade Brasileira de Diabete (SBD) recomenda que o rastreio para *Diabetes mellitus* em mulheres não-grávidas e assintomáticas seja realizado pela glicemia plasmática de jejum maior ou igual a 126 mg/dL, a glicemia 2h após uma sobrecarga de 75g de glicose maior ou igual a 200 mg/dL ou a hemoglobina glicada (HbA1c ou A1c) maior ou igual a 6,5%. Para isso, é necessário que, pelo menos, dois desses parâmetros estejam alterados (SBD, 2023). O diagnóstico também pode ser realizado a partir de uma glicemia aleatória que, quando igual ou maior que 200 mg/dL, e associada a sintomas de hiperglicemia indica a presença de DM. Essas recomendações seguem as diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabete (SBD, 2021).

A ADA ressalta que há uma maior especificidade no diagnóstico do diabete pela mensuração da HbA1C, porque seus valores são menos alterados com as mudanças do dia a dia, incluindo situações de estresse, e não é necessário o jejum para a coleta. Além disso, a HbA1c reflete a glicose ligada à hemoglobina dos últimos 120 dias, por isso é menos suscetível a alterações ao gerar uma “média ponderada”. No entanto, há um maior custo para realização do teste e este pode ser inacessível em algumas regiões do mundo e não é ideal para indivíduos com síndromes que afetam os glóbulos vermelhos do sangue (ECKHARDT *et al.,* 2012; ADA, 2024).

Considerando os últimos avanços tecnológicos, novas pesquisas correlacionam a fisiopatologia do diabete com a existência de biomarcadores específicos, estresse oxidativo e epigenética (DHAWAN e NATARAJAN, 2019). Os compostos moleculares, que são observados antes dos primeiros sintomas aparecerem através de análises clínicas de materiais biológicos, também poderiam ser considerados como biomarcadores genéticos. Além disso, possuem um papel essencial na detecção e manejo do diabete, especialmente no DM1 e DM2 (SILVA *et al.,* 2009; OBANDO *et al.,* 2022). Atualmente, a análise de biomarcadores vem se tornando uma estratégia para prevenção de comorbidades, visto que são identificados antes do aparecimento da doença clínica (FDA-NIH, 2016; CALIFF, 2018; OBANDO *et al.,* 2022). À medida que os estudos avançam, os biomarcadores

para DM podem se tornar ferramentas complementares aos critérios diagnósticos tradicionais (BALKRISHNA *et al.,* 2024).

O DM2, presente antes da gestação, está relacionado a desfechos adversos como morbidade materna, macrossomia fetal, perda fetal e óbito neonatal (SZMUILOWICZ *et al.*, 2019). Caso não manejado corretamente durante o pré-natal, pode gerar o agravamento do controle glicêmico e complicações crônicas microvasculares, visto que a gravidez propriamente dita gera um estado diabetogênico (ABI-ABIB *et al.,* 2014). O diagnóstico do DMG, por sua vez, baseia-se em critérios similares aos definidos por diferentes agências normativas que regulamentam as principais diretrizes de cuidado e abordam as mais recentes recomendações na área. Os critérios diagnósticos são determinados a partir da mensuração dos níveis de glicose plasmática em jejum, TOTG e/ou rastreio da HbA1c, observando protocolos específicos de coleta e avaliação (ADA, 2024). Estes parâmetros foram determinados após várias revisões, ensaios clínicos e estudos observacionais que evidenciaram necessidade de maior precisão diagnóstica para aprimorar a prática clínica e a pesquisa (O'SULLIVAN e MAHAN, 1964; CARPENTER e COUSTAN, 1982; HAPO, 2008; IADPSG, 2010). O DMG é caracterizado pela intolerância à glicose com diagnóstico a partir do segundo trimestre da gravidez (ADA, 2024). Segundo a *Internacional Diabetes Federation* (IDF), um a cada seis nascimentos são afetados pela hiperglicemia na gestação (IDF, 2021).

Há controvérsias entre as agências normativas para o rastreio e manejo do diabete em gestantes. Não há um consenso único no cenário atual para diagnóstico do DMG (IADPSG, 2010; OMS – Organização Mundial da Saúde, 2023; ADA, 2024). Frente aos diversos critérios para diagnóstico do diabete na gravidez pelas agências regulamentadoras, é necessário revisar os critérios diagnósticos para DMG, destacando seus pontos cruciais na precisão diagnóstica e detecção precoce da doença. Para isso, foi realizada uma revisão de artigos que teve como objetivo elencar a evolução dos critérios diagnósticos para DMG, com foco na influência de grandes ensaios clínicos nos padrões atuais e explorar as áreas onde ainda existem lacunas e divergências entre as diretrizes.

METODOLOGIA

CDC – US CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (2024). National Diabetes Statistics Report - diabetes basics.

COMMITTEE ON PRACTICE BULLETINS – OBSTETRICS (2018). ACOG practice bulletin n190: gestational diabetes mellitus. Obstetrics & Gynecology 131, 49–64. doi: 10.1097/AOG.0000000000002501

O'SULLIVAN JB, MAHAN CM (1964). Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. Diabetes 13, 278-285.

CARPENTER MW, COUSTAN DR (1982). Criteria for screening tests for gestational diabetes. American Journal of Obstetrics and Gynecology 144, 768-773. doi: 10.1016/0002-9378(82)90349-0

COUSTAN DR, et al (2010). The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study: paving the way for new diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. American Journal of Obstetrics and Gynecology 202, 654. doi: 10.1016/j.ajog.2010.04.006

DHAWAN S, NATARAJAN R (2019). Epigenetics and type 2 diabetes risk. Current Diabetes Reports 19, 47. doi: 10.1007/s11892-019-1168-8.

DURAN A, et al. (2014). Introduction of IADPSG criteria for the screening and diagnosis of gestational diabetes mellitus results in improved pregnancy outcomes at a lower cost in a large cohort of pregnant women: the St. Carlos Gestational Diabetes Study. Diabetes Care, 37, 2442-2450. doi: 10.2337/dc14-0179

ECKHARDT BJ, HOLZMAN RS, KWAN CK, BAGDADI J, ABERG J (2012). Hemoglobina A(1c) glicada como triagem para diabetes mellitus em indivíduos infectados pelo HIV. Cuidados com Pacientes com AIDS DST 26, 197-201. doi: 10.1089/apc.2011.0379

EDELSON KP, JAMES KE, LEONG A, ARENAS J, CAYFORD M, CALLAHAN MJ, et al. (2020). Longitudinal changes in the relationship between hemoglobin A1c and glucose tolerance across pregnancy and postpartum. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 105, 1999-2007. doi: 10.1210/clinem/dgaa053

FEIG DS, MURPHY K, ASZTALOS E, et al. (2016). Metformin in women with type 2 diabetes in pregnancy (MiTy): a multi-center randomized controlled trial. BMC Pregnancy and Childbirth, 16, 173. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30310-7.

FARRAR D, et al. (2017). Diagnostic criteria for gestational diabetes: a systematic review of the literature. BMJ, 359, 4875. doi: 10.1136/bmj-2022-071920

FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP (2016). Biomarkers, endpoints, and other tools (BEST) resource.

GLECHNER A, KEUCHEL L, AFFENGRUBER L, TITSCHER V, SOMMER I, MATYAS N, et al. (2018). Effects of lifestyle changes on adults with prediabetes: A systematic review and meta-analysis. Primary Care Diabetes 12, 393-408. doi: 10.1016/j.pcd.2018.07.003

HAPO STUDY COOPERATIVE RESEARCH GROUP (2008). Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. New England Journal of Medicine 358, 1991-2002. doi: 10.1056/NEJMoa0707943

HOUSHMAND G. (2019). Evolution of diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 104, 720-726. doi: 10.1111/aogs.12152

HARPER LM, et al. (2016). Carpenter-Coustan compared with National Diabetes Data Group criteria for diagnosing gestational diabetes. Obstetrics & Gynecology 127, 873-879. doi: 10.1097/AOG.0000000000001383

IADPSG CONSENSUS PANEL (2010). International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. Diabetes Care 33, 676-682. doi: 10.2337/dc09-1848

HARE J, WHITE P. (1980). Gestational diabetes and the White classification. Diabetes Care, 3, 394. doi: 10.2337/diacare.3.2.394

MARCIANO L, CAMERINI AL, SCHULZ PJ (2019). The role of health literacy in diabetes knowledge, self-care, and glycemic control: a meta-analysis. Journal of General Internal Medicine 34, 1007-1017. doi:10.1007/s11606-019-04864-x

MINISTÉRIO DA SAÚDE, IBGE (2019). Percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal – Pesquisa Nacional de Saúde, 2019. Brasília: Ministério da Saúde.

MALERBI F, ANDRADE R, MORALES P, TRAVASSOS S, RODACKI M, BERTOLUCI M. (2023). Manejo da retinopatia diabética. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes.

MALERBI FK, ANDRADE RE, MORALES PH, STUCHI JA, LENCIONE D, DE PAULO JV, et al. (2021). Diabetic retinopathy screening using artificial intelligence and handheld smartphone-based retinal camera. Journal of Diabetes Science and Technology 15, 1-9. doi:10.1177/1932296820985567

MOON J, JANG H. (2022). Gestational diabetes mellitus: diagnostic approaches and maternal-offspring complications. Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine 35, 1951-1957. doi:10.1080/14767058.2021.1970193

MOCELLIN MC, et al. (2024). Prevalência de diabetes gestacional no Brasil: revisão sistemática e metanálise. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 46, 45-53. doi:10.1055/s-0043-1760190

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS), MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS), FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (FEBRASGO), SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). (2017). Rastreamento e diagnóstico de diabetes mellitus gestacional no Brasil. Sociedade Brasileira de Diabetes 1, 1-36

O'SULLIVAN JB, MAHAN CM. (1964). Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. Diabetes 13, 278-285.

PITITTO A, et al. (2023). Dados epidemiológicos do diabetes mellitus no Brasil. Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD).

POLTAVSKI E, KIM DJ, BANG H. (2016). Comparação das pontuações de triagem para diabetes e pré-diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice 118, 146-153. doi: 10.1016/j.diabres.2016.06.022

SACKS DA, et al. (2012). Frequency of gestational diabetes mellitus at collaborating centers based on IADPSG consensus panel-recommended criteria: the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study. Diabetes Care 35, 526-528. doi:10.2337/dc11-2040

SILVA MER, MORY D, DAVINI E. (2008). Marcadores genéticos e autoimunes do diabetes melito tipo 1: da teoria para a prática. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia 52, 166-180. doi:10.1590/S0004-27302008000200003

SCHOLTENS DM, et al. (2019). Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Follow-up Study (HAPO FUS): Maternal Glycemia and Childhood Glucose Metabolism. Diabetes Care 42, 381-392. doi:10.2337/dc18-1599

SZMUILOWICZ ED, et al. (2019). Gestational Diabetes mellitus. Endocrinology & Metabolism Clinics 48, 479-493. doi:10.1016/j.ecl.2019.01.001

UKPDS STUDY GROUP (1998). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). The Lancet 352, 878-887. doi:10.1016/S0140-6736(98)02255-6

WAHABITA HA, FAYED A, ESMAIL S, et al. (2020). Revisão sistemática e meta-análise da eficácia dos cuidados pré-gravidez para mulheres com diabetes para melhorar os resultados maternos e perinatais. PLoS ONE 15. doi:10.1371/journal.pone.0237571

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2013). Diagnostic criteria and classification of hyperglycemia first detected in pregnancy. Diabetes Research and Clinical Practice 103, 341-363. doi:10.1016/j.diabres.2013.06.002

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2014). Diagnostic criteria and classification of hyperglycemia first detected in pregnancy: A World Health Organization guideline. Diabetes Research and Clinical Practice 103, 341-363. doi:10.1016/j.diabres.2013.12.002

WHITE P. (1949). Pregnancy complicating diabetes. The American Journal of Medicine 7, 609-616. doi: 10.1016/0002-9343(49)90382-4

YE W, et al. (2023). Gestational diabetes mellitus and adverse pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. BMJ 382(2), e072134. doi:10.1136/bmj-2023-072134

ZAJDENVERG L, et al. (2023). Rastreamento e diagnóstico da hiperglicemia na gestação. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes.

ZHANG X, GREGG AI, WILLIAMSON DF, et al. (2010). Nível de A1C e risco futuro de diabetes: uma revisão sistemática. Diabetes Care 33, 1665-1673. doi:10.2337/dc09-2071

ZAMORA-OBANDO HR, et al. (2022). Biomarcadores moleculares de doenças humanas: conceitos fundamentais, modelos de estudo e aplicações clínicas. Química Nova 45, 1098-1113. doi:10.21577/0100-4042.20220065

ZERA CA, SEELY EW (2021). Controversies in gestational diabetes. Touch Medical Media. doi: 10.17925/EE.2021.17.2.102

CAPÍTULO 2

Valores glicêmicos de ratas diabéticas e sua relação com os critérios diagnósticos estabelecidos para o *Diabetes mellitus* gestacional, desfechos reprodutivos maternos e perinatais

Após as contribuições dos membros das bancas, este manuscrito será padronizado de acordo com as instruções para autores e submetido à revista *Systems Biology in Reproductive Medicine.*

RESUMO

Este estudo visa relacionar as glicemias obtidas e armazenadas em nosso banco de dados de ratas com diabete moderado que foram submetidas ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG) em relação às glicemias obtidas no TOTG que constam no banco de dados das pesquisas clínicas de gestantes com e sem diabete. O objetivo foi verificar um tempo específico no TOTG que seja um identificador prévio das complicações decorrentes da hiperglicemia na gestação e, a partir daí, adotar este critério único e padronizado para garantir um diagnóstico precoce e uniforme, assegurando melhores desfechos gestacionais. Trata-se de um estudo retrospectivo de pesquisa clínica com gestantes com e sem diabete. Com relação às ratas prenhes, com e sem diabete, trata-se de um estudo experimental em que não houve manipulação dos animais. Para obtenção dos resultados tanto das gestantes quanto das ratas com diabete moderado induzido quimicamente pela droga beta-citotóxica *Streptozotocin* (STZ, Sigma Aldrich®), foram avaliadas apenas as informações já existentes nos bancos de dados clínicos e das pesquisas experimentais referente às ratas. Os dados dos projetos de pesquisa que constam nos bancos foram devidamente aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina de Botucatu da UNESP de Botucatu-SP e da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), bem como pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) da FMB/Unesp. Após análise dos dados experimentais (ratas) e clínico (gestantes), usando o teste t em par, foi observado que as médias glicêmicas das ratas (184,54 mg/dL) no tempo de 30 minutos após a sobrecarga de glicose tiveram concordância significativa com os valores das médias glicêmicas das gestantes (176,67 mg/dL) no tempo 60 min. Além disso, as ratas diabéticas apresentaram perdas antes e e após a implantação embrionária ao final da prenhez. Portanto, glicemias em torno de 180 mg/dL já consistem em resultados translacionais, visto que a glicemia das ratas no tempo 30 do TOTG das ratas se equipara aos das mulheres no tempo 60 do TOTG. Além disso, os desfechos materno-fetais foram compatíveis aos existentes nas gestantes diabéticas.

Palavras-chave: ratas, gravidez, gestantes, TOTG, diabetes.

ABSTRACT

This study aims to report the blood glucose levels obtained and stored in our database of rats with moderate diabetes underwent the oral glucose tolerance test (OGTT) to the blood glucose levels obtained in the OGTT that are included in the database of clinical research of pregnant women with and without diabetes. The objective was to determine a specific time in the OGTT that is a prior identifier of complications resulting from hyperglycemia during pregnancy and, from there, to adopt this unique and standardized criterion to guarantee an early and uniform diagnosis, ensuring better gestational outcomes. This is a retrospective clinical research study with pregnant women with and without diabetes. In relation to pregnant rats, with and without diabetes, this is an experimental study in which there was no manipulation of the animals. To obtain the results from both pregnant rats and rats with moderate diabetes chemically induced by the beta-cytotoxic drug Streptozotocin (STZ, Sigma Aldrich®), only the information already existing in the clinical databases and experimental research related to rats was evaluated. The data from the research projects contained in the databases were duly approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the Botucatu School of Medicine of UNESP in Botucatu-SP and the Federal University of Mato Grosso (UFMT), as well as by the Research Ethics Committee (CEP) of FMB/Unesp. After analyzing the experimental (rats) and clinical (pregnant) data, using the paired t-test, it was observed that the mean glycemic levels of the rats (184.54 mg/dL) at 30 minutes after the glucose overload had significant agreement with the mean glycemic values of the pregnant women (176.67 mg/dL) at 60 minutes. In addition, the diabetic rats presented losses before and after embryo implantation at the end of pregnancy. Therefore, glycemia levels around 180 mg/dL already consist of translational results, since the glycemia of the rats at time 30 of the OGTT of the rats is similar to that of the women at time 60 of the OGTT. In addition, the maternal-fetal outcomes were compatible with those existing in diabetic pregnant women.

Keywords: rats, pregnancy, pregnant women, OGTT, diabetes.

INTRODUÇÃO

A pesquisa translacional, através dos estudos pré-clínicos, é uma ferramenta essencial para práticas baseadas em evidências experimentais. A ciência translacional permite que os resultados obtidos em laboratório sejam norteadores para estudos em humanos, de modo que os frutos da pesquisa se movam da bancada do pesquisador à beira-leito do paciente (DAMASCENO *et al.,* 2014). Nossa equipe de laboratório investiga há anos modelos de indução do diabete em ratas para mimetizar as complicações materno-fetais humanas. Dentre os modelos usados, o diabete moderado é induzido com o uso de droga beta (β)-citotóxica, streptozotocin, logo após o nascimento dos filhotes, visto que na vida adulta estes animais que sofreram a indução do diabete, apresentam uma hiperglicemia menos exacerbada na vida adulta – similar ao *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) ou o *Diabetes mellitus* gestacional (DMG) humano (DAMASCENO *et al.,* 2014). Em relação aos desfechos materno-fetais, ratas com diabete moderado apresentam maiores prejuízos ao final da prenhez (IESSI *et al.*, 2010; DALLAQUA *et al*., 2012; KLOPPEL *et al*., 2022).

Atualmente, o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e a glicemia de jejum são utilizados como critérios diagnósticos de inclusão de animais diabéticos em grupos experimentais (GALLEGO *et al*., 2019). Quanto aos critérios diagnósticos do *Diabetes mellitus* gestacional (DMG) em mulheres grávidas, as agências normativas baseiam-se em estudos com grande número de amostras e fortes evidências para rastreio. Entretanto, há disparidades quanto às faixas glicêmicas no método diagnóstico (IADPSG, 2010). Antes da padronização proposta pelo estudo HAPO (2008), os pesquisadores adotavam como critérios diagnósticos dados epidemiológicos, que possuíam menor acurácia na detecção do DMG. Segundo Holtz *et al.* 2024 (submetido para publicação), o critério diagnóstico do IADPSG, atualmente recomendado pela ADA, é o mais eficaz na identificação precoce do DMG e funciona como um preditor de riscos materno-fetais. Contudo, muitas gestantes ainda são submetidas a rastreios baseados em critérios desatualizados, o que pode atrasar o diagnóstico e aumentar o risco de complicações.

Considerando que os modelos experimentais envolvendo o diabete que são desenvolvidos em nosso laboratório reproduzem as repercussões perinatais das encontradas em mulheres com diabete antes e/ou durante a gravidez, é importante destacar a melhor forma para realização do critério diagnóstico em modelos animais utilizando o TOTG. Este estudo visa relacionar as glicemias obtidas e armazenadas em nosso banco de dados de ratas com diabete moderado que foram submetidas ao TOTG em relação às glicemias obtidas no TOTG que constam no banco de dados das pesquisas clínicas com gestantes com e sem diabete.

OBJETIVO

Pretendemos verificar um tempo específico no TOTG que seja um identificador prévio das complicações decorrentes da hiperglicemia na gestação e, a partir daí, adotar este critério único e padronizado para garantir um diagnóstico precoce e uniforme, assegurando melhores desfechos gestacionais.

METODOLOGIA

Tipo de estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo de pesquisa clínica com gestantes com e sem diabete. Com relação às ratas prenhes, com e sem diabete, trata-se de um estudo experimental em que não houve manipulação dos animais. Para obtenção dos resultados tanto das gestantes quanto das ratas com diabete moderado induzido quimicamente pela droga beta-citotóxica *Streptozotocin (STZ, S*igma Aldrich®), foram avaliadas apenas as informações já existentes nos bancos de dados clínicos e das pesquisas experimentais referente às ratas. Esses projetos de pesquisa foram devidamente aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina de Botucatu da UNESP de Botucatu-SP (Certificados 1218/2017; 1326/2019) e da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) (Certificados 23108.001991/13–1; 23108.022251/2019-61). Os resultados clínicos foram obtidos dos projetos aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu da Unesp (Certificados 401.058; 545/2004; 12388/2005); 828/2010; 1003/2013).

HAPO STUDY COOPERATIVE RESEARCH GROUP (2008). Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. New England Journal of Medicine 358, 1991-2002. doi: 10.1056/NEJMoa0707943

IESSI IL, DAMASCENO DC, VOLPATO GT, et al. (2010). Evaluation of neonatally-induced mild diabetes in rats: Maternal and perinatal outcomes. Diabetology & Metabolic Syndrome 2, 37. doi: 10.1186/1758-5996-2-37

IADPSG CONSENSUS PANEL. (2010). International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy. Diabetes Care 33, 676-682. doi: 10.2337/dc09-1848.

JENUM AK, et al. (2012). Impacto da etnia no diabetes gestacional identificado com os critérios da OMS e da International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups modificados: um estudo de coorte de base populacional. Eur J Endocrinol 166, 317–324. doi: 10.1530/EJE-11-0866

KALE PL, JORGE MHP de M, FONSECA SC, CASCÃO AM, SILVA KS, REIS AC, et al. (2018). Mortes de mulheres internadas para parto e por aborto e de seus conceptos em maternidades públicas. Ciênc saúde coletiva 23, 1577–90. doi: 10.1590/1413-81232018235.18162016.

KLOPPEL E, et al. (2022). Benefits of Vitamin D Supplementation on Pregnancy of Rats with Pregestational Diabetes and Their Offspring. Reproductive Sciences 30, 1241-1256. doi: 10.1007/s43032-022-01056-0

LAWN JE, BLENCOWE H, WAISWA P, AMOUZOU A, MATHERS C, HOGAN D, FLENADY V, FROEN JF, QURESHI ZU, CALDERWOOD C, SHIEKH S, JASSIR FB, YOU D, MCCLURE EM, MATHAI M, COUSENS S. (2016). Stillbirths: rates, risk factors, and acceleration towards 2030. Lancet 387, 587-603. doi:10.1016/S0140-6736(16)31448-4

MWANRI AW, et al. (2015). Gestational diabetes mellitus in sub-Saharan Africa: systematic review and metaregression on prevalence and risk factors. Trop Med Int Health 20, 983-1002. doi: 10.1111/tmi.12521

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS), MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS), FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (FEBRASGO), SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD) (2017). Rastreamento e diagnóstico de diabetes mellitus gestacional no Brasil. Sociedade Brasileira de Diabetes, 1-36.

PAULA VG, et al. (2022). Metabolic changes in female rats exposed to intrauterine hyperglycemia and postweaning consumption of high-fat diet. Biology of Reproduction 106, 200-212. doi: 10.1093/biolre/ioab195

PITITTO A, et al. (2023). Dados epidemiológicos do diabetes mellitus no Brasil. Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD).

SINZATO YK, et al. (2021). Comparison of streptozotocin-induced diabetes at different moments of the life of female rats for translational studies. Laboratory Animals 55, 329-340. doi: 10.1177/00236772211001895

UKPDS STUDY GROUP. (1998). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). The Lancet 352, 878-887. doi:10.1016/S0140-6736(98)02255-6

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (2014). Diagnostic criteria and classification of hyperglycemia first detected in pregnancy: A World Health Organization Guideline. Diabetes Research and Clinical Practice 103, 341-363. doi:10.1016/j.diabres.2013.12.002

RIOS WL, MELO NC, MORAES CL, MENDONÇA CR, AMARAL WN (2019). Repercussions of diabetes mellitus in the fetus: obstetric changes and structural malformations. Femina 47, 307-316.

JIANG TT, ZHAO L, LIN Y, ZHOU D, WANG L, SUN GQ, XIAO M. (2019). Efeitos do diabetes mellitus gestacional no tempo até o parto e nos resultados da gravidez em gestações a termo com indução do parto com dinoprostona. Clin Exp Hypertens 41, 44-48. doi:10.1080/10641963.2018.1441859