

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA
DOUTORADO INTERINSTITUCIONAL UFPel-UFES



Tese de doutorado

**CONDIÇÕES DA GESTAÇÃO E DA INFÂNCIA ASSOCIADAS AO
PEPTÍDEO-C E SUA ATUAÇÃO SOBRE COMPONENTES DO RISCO
CARDIOVASCULAR EM ADULTOS JOVENS NA COORTE DE
NASCIMENTOS DE 1982, PELOTAS; RS**

ROMILDO LUIZ MONTEIRO ANDRADE

Pelotas, 2017

ROMILDO LUIZ MONTEIRO ANDRADE

**CONDIÇÕES DA GESTAÇÃO E DA INFÂNCIA ASSOCIADAS AO
PEPTÍDEO-C E SUA ATUAÇÃO SOBRE COMPONENTES DO RISCO
CARDIOVASCULAR EM ADULTOS JOVENS NA COORTE DE
NASCIMENTOS DE 1982, PELOTAS; RS**

Tese apresentada ao Programa de
Pós- Graduação em Epidemiologia
da Universidade Federal de Pelotas,
como requisito parcial à obtenção do
título de Doutora em Epidemiologia.

Orientador: Prof. Dr. Bernardo Lessa Horta

Pelotas
2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas

Catálogo na Publicação

A553c Andrade, Romildo Luiz Monteiro

Condições da gestação e da infância associadas ao Peptídeo-C e sua atuação sobre componentes do risco cardiovascular em adultos jovens na coorte de nascimentos de 1982, Pelotas RS / Romildo Luiz Monteiro Andrade; Bernardo Lessa Horta, orientador. — Pelotas, 2017.

156 f.: il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Epidemiologia. 2. Doenças cardiovasculares. 3. Peptídeo-C. 4. Parto adulto jovem. 5. Risco Cardiovascular. I. Horta, Bernardo Lessa, orient. II. Título.

CDD : 614.4

E

laborada por Elionara Giovana Rech CRB: 10/1693

Romildo Luiz Monteiro Andrade

**Condições da gestação e da infância associadas ao Peptídeo-C e sua
atuação
sobre componentes do risco cardiovascular em adultos jovens na Coorte
de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.**

Banca examinadora:

Prof/Dr. Bernardo Lessa Horta (Orientador)
Universidade Federal de Pelotas

Prof/Dr. Aluísio Jardim Dornellas de Barros
Universidade Federal de Pelotas

Prof/ Fernando César Wehrmeister
Universidade Federal de Pelotas

Prof/Janaína Vieira dos Santos Motta
Universidade Católica de Pelotas

Dedico este trabalho a minha filha Nathalia,
minha esposa Samia e minha mãe Clara

AGRADECIMENTOS

Aos participantes da Coorte de Pelotas que no anonimato contribuem com a pesquisa e o desenvolvimento da ciência no Brasil.

A minha filha Nathalia, que me inspira à construção de um mundo melhor.

A professora Nágela Valadão Cade que nos incentivou e confortou frente aos desafios acadêmicos a serem transpostos.

Ao meu orientador, professor Bernardo L. Horta, pelo seu brilhantismo aplicado aos métodos epidemiológicos.

Ao professor Pedro Rodrigues Curi Hallal, que buscou entendimento e acolhimento aos alunos do DINTER junto ao programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da UFPel.

A Prof^a Andréa Homsí Dâmaso que nos acompanhou no estágio docência orientado e que nos inspirou ao ensino da epidemiologia aos jovens alunos na graduação.

Aos colegas do doutorado em especial aos do Dinter, que com a sede do saber, “embarcaram” na aventura do aprendizado: “ quando juntos, nos fizemos fortes frente à tarefa de compreender os métodos epidemiológicos”

“Nas grandes batalhas da vida,
o primeiro passo para a vitória é
o desejo de vencer.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

ANDRADE, Romildo Luiz Monteiro. **Condições da gestação e da infância associadas ao Peptídeo-C e sua atuação sobre componentes do risco cardiovascular em adultos jovens na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.** 2017. 147f. Tese (Doutorado em Epidemiologia) - Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, 2017.

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo e sua prevalência aumenta com a idade e com a simultaneidade dos fatores de risco. O Peptídeo-C derivado da clivagem enzimática da pró-insulina em insulina é secretado em quantidades equimolares a mesma, servindo como um indicador de sua secreção. O papel do Peptídeo-C tem sido investigado como marcador do risco cardiovascular em adultos. Poucos estudos têm avaliado as condições da gestação e da infância, associadas aos níveis do Peptídeo-C na idade adulta. A Coorte de Nascimentos de Pelotas (RS) tem acompanhando, em diferentes momentos do ciclo vital, indivíduos nascidos na cidade de Pelotas a partir do ano de 1982. Em 2004-2005 buscou-se acompanhar todos participantes da coorte, através de entrevistas e avaliações clínicas, quando foram colhidas amostras sanguíneas de 3913 participantes. O presente trabalho tem por objetivo identificar as condições precoces ligadas à gestação, nascimento e infância associada ao Peptídeo-C na idade adulta e sua possível associação com fatores metabólicos do risco cardiovascular em adultos jovens na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.

Palavras-chave: Peptídeo-C; gravidez; parto; adulto jovem; doenças cardiovasculares; risco cardiovascular

ABSTRACT

ANDRADE, Romildo Luiz Monteiro. **Conditions of gestation, childbirth and childhood associated with C-Peptide and cardiovascular risk factors in young adults in the 1982 Pelotas Birth Cohort Study, RS, Brazil.** 2017. 140f. Thesis (Doctorate in Epidemiology) - Post-Graduate Program in Epidemiology. Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil, 2017.

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in the world and their prevalence increases with age and the simultaneity of risk factors. The C-Peptide derived from the enzymatic cleavage of the proinsulin into insulin is secreted in equimolar amounts the same, serving as an indicator of its secretion. The role of C-Peptide has been investigated as a marker of cardiovascular risk in adults. Few studies have evaluated gestational and childhood conditions associated with C-Peptide levels in adulthood. The Pelotas Birth Cohort (RS) has been accompanying, at different moments in the life cycle, individuals born in the city of Pelotas since 1982. In 2004-2005, all cohort participants were monitored through interviews and evaluations. When blood samples were taken from 3913 participants. The present work aims to identify the early conditions associated with pregnancy, birth and childhood associated with C-Peptide in adulthood and its possible association with metabolic factors of cardiovascular risk in young adults in the 1982 Birth Cohort, Pelotas; Br.

Keywords: C-peptide, pregnancy, childbirth, young adults, cardiovascular diseases, risk

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	11
PROJETO DE PESQUISA	13
RESUMO.....	16
INTRODUÇÃO	17
PEPTÍDEO-C E SEU PAPEL FISIOPATOLÓGICO	19
Uso terapêutico do Peptídeo-C.....	24
REVISÃO DA LITERATURA	25
Condições precoces e Peptídeo-C	25
Peptídeo-C e fatores de risco cardiovascular	27
Relação entre o Peptídeo-C e as lipoproteínas	29
Relação entre o Peptídeo-C e outros marcadores bioquímicos.....	31
Componentes do Risco Cardiovascular	31
JUSTIFICATIVA	35
OBJETIVOS	36
Objetivo Geral.....	36
Objetivos Específicos	37
HIPÓTESES.....	38
MODELO TEÓRICO	38
MÉTODOS	40
Delineamento.....	40
Metodologia da Coorte de Nascimento de Pelotas de 1982	40

População Alvo	41
CrITÉrios de inclusão	41
Variáveis utilizadas nos artigos.....	42
Poder Amostral	48
Instrumentos	48
Aspectos ticos	49
CRONOGRAMA.....	50
DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS.....	61
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	62
MODIFICAÇÕES NO PROJETO ORIGINAL.....	63
RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO.....	66
ARTIGO 1.....	73
ARTIGO 2.....	97
ARTIGO 3.....	122
NOTA  IMPRENSA.....	156

APRESENTAÇÃO

APRESENTAÇÃO

Este trabalho representa o volume final de Tese de Doutorado como requisito para conclusão do curso de Doutorado em Epidemiologia, parceria interinstitucional da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), de Romildo Luiz Monteiro Andrade sob orientação da Prof. Dr. Bernardo Lessa Horta, do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da UFPel.

Este volume é composto por cinco partes: projeto de pesquisa, relatório do trabalho de campo, as modificações ao projeto inicial incorporadas ao longo de sua construção, os artigos originais e uma matéria destinada a imprensa.

Os artigos que serão apresentados para a banca estão descritos a seguir:

Artigo 1 – “Conditions of gestation, childbirth and childhood associated with C-Peptide in young adults in the 1982 Birth Cohort in Pelotas-RS; Brazil”
Essa pesquisa teve como objetivo avaliar a associação entre as condições da gestação, do parto e do nascimento e o Peptídeo-C em adultos jovens. Está aceito para publicação na Revista *BMC Cardiovascular Disorders*.

Artigo 2 – “C-Peptide and cardiovascular risk factors among young adults in a southern brazilian cohort study”. Esse estudo teve por objetivo avaliar a associação entre o Peptídeo-C e os fatores de risco cardiovascular em adultos jovens encontra-se em reformulação para nova submissão no periódico *Cardiovascular Diabetology*.

Artigo 3 – “C-Peptide and cardiovascular risk: Systematic review and Meta-Analysis” este artigo foi desenvolvido com o propósito de revisar as evidências a respeito da associação entre o Peptídeo-C e o risco

cardiovascular, representado pela mortalidade cardiovascular e mortalidade geral encontra-se em reformulação para nova submissão em periódico ainda a ser definido.

PROJETO DE PESQUISA



Universidade Federal de Pelotas

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia



Projeto de Tese de Doutorado

**Condições da gestação e da infância associadas ao Peptídeo-C e sua
atuação sobre componentes do risco cardiovascular em adultos jovens
na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.**

Romildo Luiz Monteiro Andrade

Pelotas, 2015



Universidade Federal de Pelotas

Faculdade de Medicina



Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia

Romildo Luiz Monteiro Andrade

**Condições da gestação e da infância associadas ao Peptídeo-C e sua
atuação sobre componentes do risco cardiovascular em adultos jovens
na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.**

Projeto de Tese apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em
Epidemiologia da Universidade
Federal de Pelotas, como requisito
parcial para obtenção do título de
Doutor em Epidemiologia.

Orientador: Bernardo Lessa Horta

Pelotas, 2015

RESUMO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo e sua prevalência aumenta com a idade e com a simultaneidade dos fatores de risco. O Peptídeo-C derivado da clivagem enzimática da pró-insulina em insulina é secretado em quantidades equimolares a mesma, servindo como um indicador de sua secreção. O papel do Peptídeo-C tem sido investigado como marcador do risco cardiovascular em adultos. Poucos estudos têm avaliado as condições da gestação e da infância, associadas aos níveis do peptídeo-C na idade adulta. A Coorte de Nascimentos de Pelotas (RS) tem acompanhando, em diferentes momentos do ciclo vital, indivíduos nascidos na cidade de Pelotas a partir do ano de 1982. Em 2004-2005 buscou-se acompanhar todos participantes da coorte, através de entrevistas e avaliações clínicas, quando foram colhidas amostras sanguíneas de 3913 participantes. O presente trabalho tem por objetivo identificar as condições precoces ligadas à gestação, nascimento e infância associadas ao Peptídeo-C na idade adulta e sua possível associação com fatores metabólicos do risco cardiovascular em adultos jovens na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS

INTRODUÇÃO

As doenças e agravos não transmissíveis (DANT) são a principal causa de óbito no mundo, estima-se que 80% das mortes ocorram nos países de renda média e baixa (ALWAN, 2011; STRONG et al., 2005). No Brasil, no ano de 2007, cerca de 70% das mortes foram atribuídas as DANT (SCHMITDT et al., 2011). Dentre as DANT destacam-se as doenças cardiovasculares (DCV), responsáveis por cerca de 30% dos óbitos. (LAURENTI; BUCHALLA, 2011).

Mudanças socioeconômicas e ambientais estariam relacionadas com o aumento na prevalência dos fatores de risco associados às DANT, tais como obesidade (HU et al., 2004) e inatividade física (CASPERSEN; PEREIRA; CURRAN, 2000; HALLAL et al., 2012). Projeções para as próximas décadas apontam para o crescimento da mortalidade por DANT, em torno de 15%, podendo chegar a 20% em regiões como África, sudeste da Ásia e Mediterrâneo Oriental, acarretando 44 milhões de óbitos (ALWAN et al., 2011).

No Brasil, entre 1996 e 2012, as Doenças Cardiovasculares (DCV) foram a principal causa de óbito, seguidas pelas neoplasias e as causas externas (Figura 1), (BRASIL, 2008; BRASIL, 2011; SCHMIDT et al., 2011).

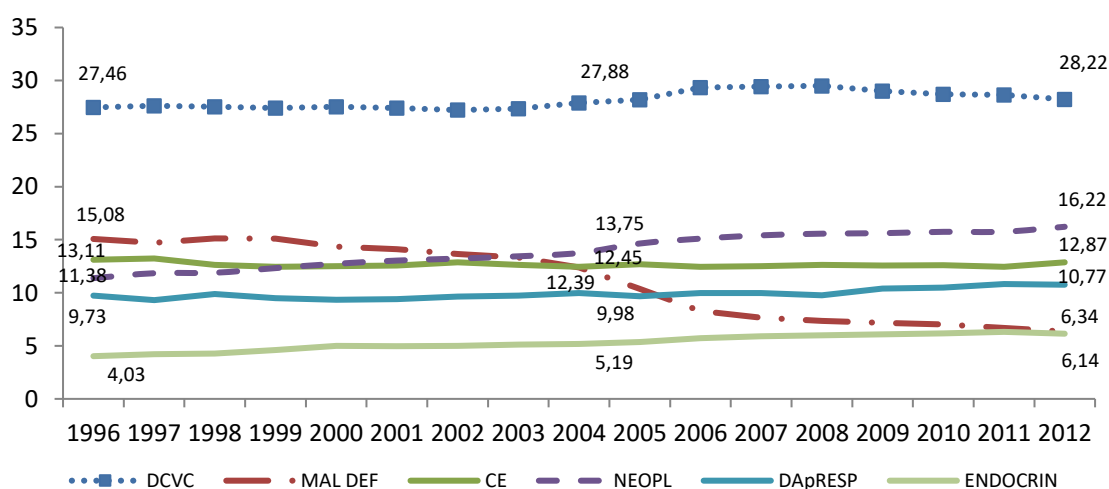


Figura 1. Mortalidade proporcional segundo grupo de causas no Brasil, no período de 1996 a 2012.
Fonte: BRASIL, 2014.

No que diz respeito à tendência secular para os fatores de risco cardiovasculares, o VIGITEL, inquérito telefônico realizado nas capitais brasileiras, observou que, entre os anos de 2006 e 2013, a prevalência do tabagismo decresceu 28%, enquanto o excesso de peso e a obesidade aumentaram 19,2 e 48,3%, respectivamente (BRASIL, 2013). No mesmo período, observou-se aumento na proporção de indivíduos que relataram consumo regular de pelo menos 400g de frutas e hortaliças, em 0,6 e 0,8 ponto percentual, respectivamente. A proporção de indivíduos que praticam atividade física no tempo livre (lazer) por pelo menos 150 minutos por semana, elevou-se de 30,3% (2009) para 33,8% (2013) (BRASIL, 2013).

Além dos fatores de risco tradicionais, marcadores bioquímicos, que podem estar associados com o risco cardiovascular, vêm sendo alvo de estudos recentes. O peptídeo de conexão da insulina também denominado de Peptídeo-C (Pep-C), é um dos marcadores bioquímicos estudado como um possível marcador do risco cardiovascular.

O Pep-C é uma molécula que estaria associada ao desenvolvimento da aterosclerose (VASIC et al., 2012; KOMATU; 2012), favorecendo a ocorrência futura de eventos cardiovasculares, como a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), o Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) e o Acidente Vascular Encefálico (AVE). Ronnema et al (1988) evidenciou maior incidência de IAM (16,8% vs. 5,2%, $p < 0,01$) e AVE (9,3% vs. 2,0%, $p < 0,05$) em grupos de diabéticos com níveis séricos de Pep-C elevados. Donatelli et al (1991) identificou maiores valores do Pep-C e entre indivíduos obesos hipertensos diabéticos ($3,33 \pm 0,27$ ng/ml $p < 0,001$) comparados a obesos e obesos-hipertensos.

Achados desta natureza contribuem no sentido de considerar o Pep-C como um marcador independente da “condição de resistência à insulina”, com biodisponibilidade superior à da glicemia de jejum, exercendo um papel de marcador subclínico da aterosclerose em adultos. O presente projeto tem por objetivos identificar condições da gestação, nascimento e infância associadas ao Pep-C e a associação dos níveis séricos do Pep-C com fatores metabólicos de risco cardiovascular em adultos jovens da Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.

PEPTIDEO-C E SEU PAPEL FISIOPATOLÓGICO

Originário da secreção das células- β das ilhotas de Langerhans no pâncreas o Pep-C foi primeiramente descrito por Steiner e colaboradores em 1967, por ocasião da descoberta do mecanismo da síntese da insulina. É armazenado nos grânulos secretores do Complexo de Golgi e liberado na corrente sanguínea, em resposta ao estímulo da glicose, em quantidades equimolares a da insulina, sendo posteriormente degradado e eliminado pelos rins (RUBENSTEIN et al., 1969; STEINER et al., 1995).

Durante décadas foi considerado como um subproduto organicamente inerte, oriundo da clivagem da molécula da pró-insulina (Figura 2), cujo papel “restrito” consistiria em promover a conexão não estrutural das cadeias A e B da insulina.

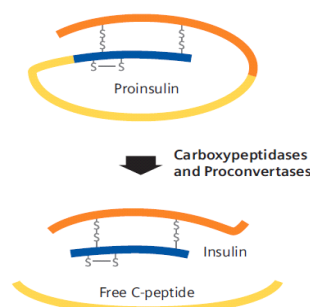


Figura 2. Representação esquemática da molécula da Pró-insulina, que após ação das enzimas (peptidase e convertase), transforma-se nas moléculas de Insulina e Peptídeo-C.
Fonte: BAL, 2009.

O Pep-C é formado por uma sequência de 31 aminoácidos, com massa molecular em torno 3.030,3 g/mol (STEINER et al., 1995). Possui uma meia vida ($t_{1/2}$) de aproximadamente 20 a 30 minutos, cerca de cinco vezes superior à da insulina (± 5 a 10 minutos), condição que favorece sua titulação, manuseio e utilidade clínica laboratorial na avaliação da capacidade residual do pâncreas endócrino em secretar insulina em portadores de Diabetes Mellitus Tipo I (DM-I) (LITTLE et al., 2008).

Apesar das ações fisiológicas da insulina estarem bem estabelecidas, as funções do Pep-C ainda vêm sendo investigadas. Estudos demonstraram tratar-se de uma molécula com propriedades de estimular vias de sinalização celulares como a Na-K-ATPase com ações semelhantes a outros peptídeos com função hormonal como gastrina e colecistoquinina (OHTOMO et al. 1998).

Marques et al (2004) descreveu que o Pep-C se ligaria à superfície celular em receptores de células cultivadas de túbulos renais humano, mesângio, fibroblastos da pele e da veia safena, sugerindo atuação através da acoplação à proteína G por transporte dependente de cálcio, com aumento da atividade dos canais de troca da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ dependente e que

tais atividades estariam comprometidas em portadores de microangiopatia, nefropatia e retinopatia em portadores de DM-I.

Apesar de não terem sido descritos receptores de superfície para Pep-C nas células endoteliais, foi identificada sua presença na linha basal da aorta torácica de portadores de diabetes, dos quais 77% apresentavam sinais inflamatórios complementares, como infiltração de monócitos/macrófagos e de linfócitos (WALCHER; MARX, 2009). Tais achados sugerem sua atuação no processo aterogênico precoce. Etapas posteriores envolvendo ações quimiotáticas e demais componentes do processo atero-inflamatório comporiam o efeito pró-aterogênico do Pep-C (Figura 3) (VASIC; WALCHER, 2012). O Pep-C aumentaria a permeabilidade vascular para monócitos, estimulando a diferenciação para macrófagos que promoveriam a fagocitose das moléculas de lipoproteínas oxidadas, como lipoproteína de baixa densidade (LDL), diferenciando-se em células espumosas, substrato celular clássico das lesões ateroscleróticas.

Fases subsequentes do processo aterogênico também estariam associadas à atuação do Pep-C, como indutor da proliferação das células musculares lisas e da cascata de liberação de componentes pró-aterogênicos, como citosinas, metaloproteinases e moléculas oxidativas, além de fatores estimulantes da coagulação, como o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) (WALCHER et al., 2006; FORST et al., 2009; VASIC et al., 2012).

Estudos em portadores de DM-II descreveram que o Pep-C tem efeitos inflamatórios e pró-aterogênicos (MARX et al., 2004; VASIC et al., 2011), assim como na reparação das células do músculo liso (LUPPI et al., 2008; MUGHAL et al., 2010). Achados como os de Sari R. e Balci M. K. (2005) fortalecem a

associação do aumento do nível sérico do Pep-C em portadores de DM-II e a presença de Doença Arterial Coronariana (DAC) (p 0,001), Doença Vascular Periférica (DAP) (p 0,001) e neuropatia autonômica (p 0,001).

Frente às evidências da ação pró-inflamatória do Pep-C, associada à etiologia do processo aterogênico (WANG; LOVEJOY; FAUSTMAN, 2012; PITTHAN; MARTINS; BARBISAN, 2014). Outros autores como MARX et al., (2013) realizaram estudos com foco na mortalidade e evidenciaram associações do Pep-C com eventos cardiovasculares fatais encontrando Hazard Ratio (HR) de 1,55 (IC 95% 1,07–2,24) e para mortalidade geral 1,46 (IC 95% 1,10–1,93) na comparação entre os indivíduos no terceiro tercil dos níveis de Pep-C em relação aqueles do primeiro. Min et al., 2013 numa coorte originária do NHANES III comparou quartis (Qt) de Pep-C estratificados em <1.32, 1.33–2.08, 2.09–3.05, e >3.06 ng/ml encontrando HR para a mortalidade por diabetes de 5.97 (1.67–21.32) na comparação do quarto com o primeiro quartil (MIN; MIN, 2013).

Patel e colaboradores (2012) encontraram Hazard Ratio de 12,2 para mortalidade por Doença Cardiovascular (DCV) e 26,4 para mortalidade geral associado aos níveis mais elevados de Pep-C ($\geq 0,984$ nmol/L) fortalecendo a proposição de considerar o Pep-C como um fator associado ao risco cardiovascular.

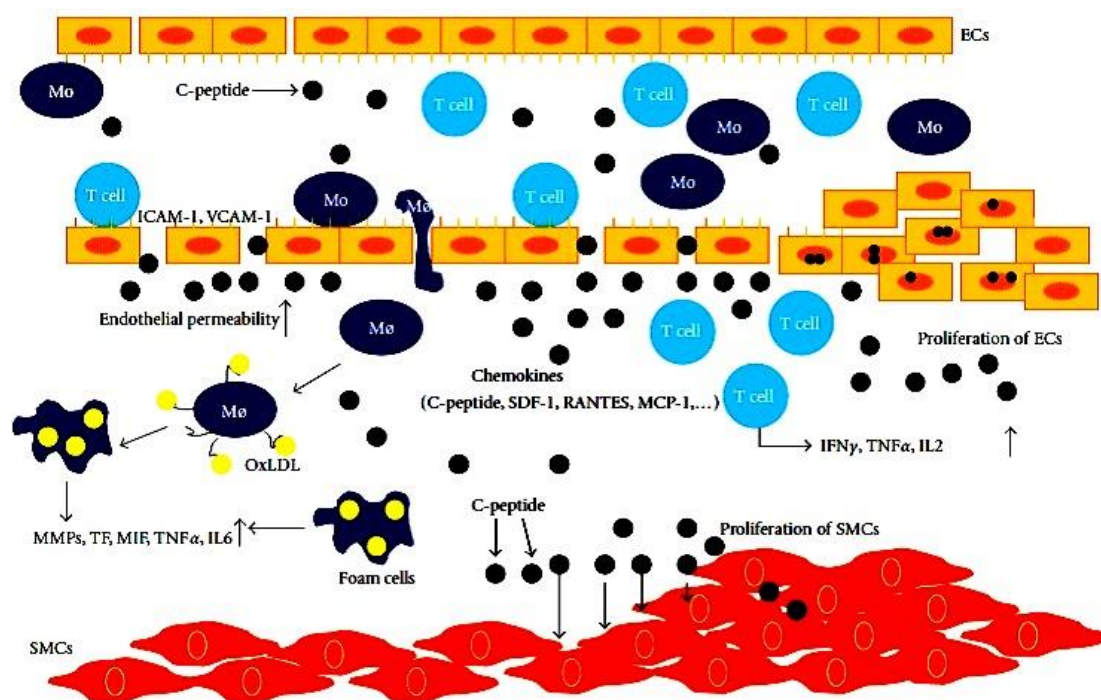


Figura 3. Modelo esquemático sequencial do papel do Pep-C na aterogênese. Observam-se depósitos de Peptídeo-C no espaço subendotelial na parede do vaso, seguido do efeito quimiotático sobre as células inflamatórias pela molécula de Pep-C, estimulando a migração de monócitos/macrófagos e linfócitos T para a parede do vaso. Ao nível da camada muscular lisa, observa-se o efeito de estímulo à proliferação celular (tradução nossa).
Fonte: VASIC; WALCHER, 2012.

Em portadores de DM-II, Beliakin e colaboradores (2014) estudaram a relação dos níveis de Pep-C com a resistência a insulina, componentes da síndrome metabólica e doença cardiovascular em portadores de DM II. Encontrando uma correlação positiva dos níveis de Pep-C com o índice de massa corporal (IMC), os níveis séricos de triglicérides e as razões de HDL/triglicérides. Concluindo que **“o Pep-C pode ser utilizado em doentes diabéticos tipo II para a detecção precoce de risco cardiovascular”**.

Von Eckardstein e colaboradores (2001) em análise multivariada em homens coronariopatas não diabéticos encontraram associações independentes do Pep-C (RO 4,1; IC 95% 2,2-7,5) e da Apoproteína A (RO 3,9 IC 95% 2,1-7,1) com doença coronariana. Outro estudo, de Cabrera (2015) em indivíduos adultos estratificados para ausência de resistência a insulina, com

Pep-C maior do que o 3º tercil e glicemia < 100mg/dl encontrou associação dos níveis séricos do Pep-C com DAC (RR 3,5; IC 95% 1,9-6,6) e IAM (RR 4,2; IC 95% 1,7-10,6).

Outros autores vêm encontrando resultados “negativos” a respeito da associação entre os níveis séricos de Pep-C e a prevalência de condições de risco, como o Diabetes Tipo II (DM-II), a Síndrome Metabólica (SM), Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e Dislipidemias (GARCIA-WEEB et al., 1984; DAMSGAARD et al., 1987; BOYKO,1991).

Uso terapêutico do Peptídeo-C

Outra vertente de investigação avalia o uso terapêutico do Pep-C em portadores de DM-I, que cursam com baixos níveis séricos do peptídeo demonstrando benefícios do seu emprego na prevenção de complicações renais como hiperfiltração glomerular e proteinúria em portadores de DM-I (SAMNEGARD et al., 2004; WAHREN et al., 2004; ZHONG et al., 2004; NORDQUIST et al., 2007). Resultados similares têm sido demonstrados nos estudos em animais com DM-I, a administração de Pep-C tem ocasionado melhorias significativas na função nervosa e renal. Animais com sinais precoces de neuropatia induzida pelo diabetes e tratados com Pep-C apresentaram melhora na função e na estrutura nervosa periférica (SIMA et al., 2001). Similarmente, animais com deficiência de Pep-C portadores de nefropatia apresentaram melhora na função e na estrutura renal, após administração do mesmo.

O efeito terapêutico do Pep-C também tem sido observado na excreção urinária de albumina e na prevenção ou diminuição das alterações glomerulares induzidas pelo diabetes, secundárias à expansão da matriz mesangial (SAMNEGARD et al., 2001; SAMNEGARD et al., 2005; NORDQUIST et al., 2009; NORDQUIST; WAHREN, 2009).

Ensaio clínico apontam para efeitos fisiológicos observados nos pacientes com DM-I, que não possuíam produção endógena de Pep-C que quando administrados observando-se melhora na neuropatia e nefropatia diabética, e redução de outras complicações ocorridas, em longo prazo, em decorrência do diabetes (JOHANSSON et al., 2000; WAHREN et al., 2001; WAHREN, 2004; KAMIYA et al., 2004; PANERO et al., 2009).

REVISÃO DA LITERATURA

Condições precoces e Peptídeo-C

Com o objetivo de identificar artigos publicados em revistas indexadas sobre os determinantes precoces do Pep-C (período da gestação, nascimento e infância), foi realizada busca sistematizada na base de dados *PubMed* utilizando os seguintes descritores do *Medical Subject Headings* (MeSH): (((C-Peptide[AllFields] OR (connecting [AllFields] AND peptide [AllFields])) OR (proinsulin [AllFields] AND c [AllFields] AND peptide [AllFields])) OR (c [AllFields] AND peptide [AllFields] AND proinsulin [AllFields])) AND determinants [AllFields] AND determinant [AllFields])).

Inicialmente foram excluídos os estudos realizados em animais e amostras laboratoriais (*in vitro*), a Figura 4 descreve o fluxograma de seleção dos artigos, que foram incluídos de acordo com os seguintes critérios:

- Artigos sobre as condições precoces (gestação, nascimento e infância) associadas ao nível sérico do Pep-C.
- Artigos realizados em humanos.

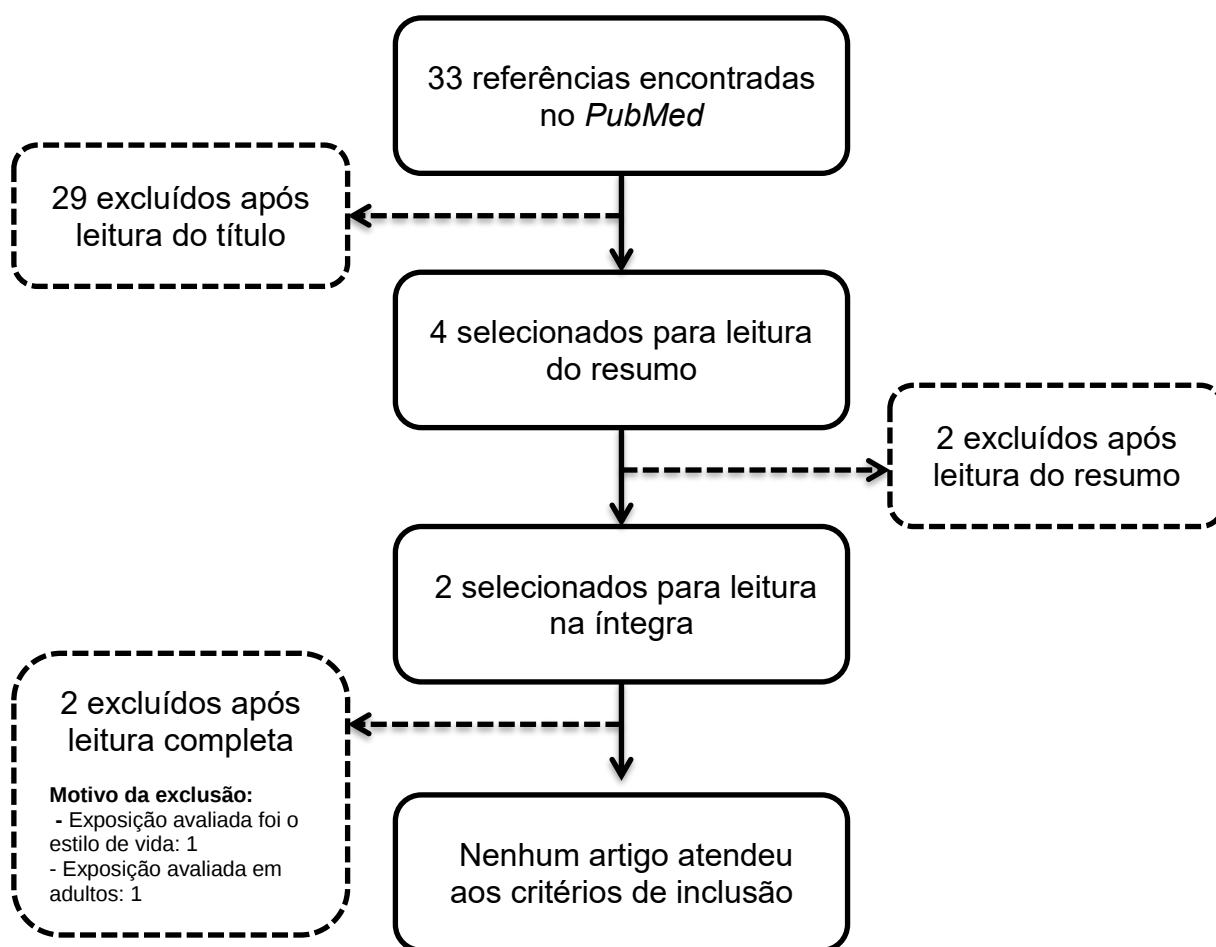


Figura 4. Fluxograma da busca de artigos sobre as condições precoces e o Pep-C.

Ao final da revisão, não foram identificados artigos que avaliaram as condições precoces associadas aos níveis séricos do Pep-C.

Peptídeo-C e fatores de risco cardiovascular

Com o objetivo de compreender a relação do Pep-C com componentes metabólicos do risco cardiovascular, foi realizada revisão da literatura na base de dados *PubMed*, utilizando os seguintes descritores: (*"c-peptide"[AllFields] OR "proinsulin c peptide"[AllFields]*) AND (*"cardiovascular system"[AllFields] OR "riskfactors"[AllFields] OR "cardiovascular"[AllFields] OR "cardiovascular diseases"[AllFields]*)).

Nessa busca foram encontrados 1.011 artigos e a Figura 5 descreve o fluxograma de seleção dos artigos. Foram excluídos os estudos realizados em animais e amostras laboratoriais (*in vitro*), sendo incluídos os que atendiam os seguintes critérios:

- Artigos que contemplaram os níveis séricos do Pep-C como fator de exposição e condições de risco cardiovascular como desfecho.
- Artigos realizados em humanos.

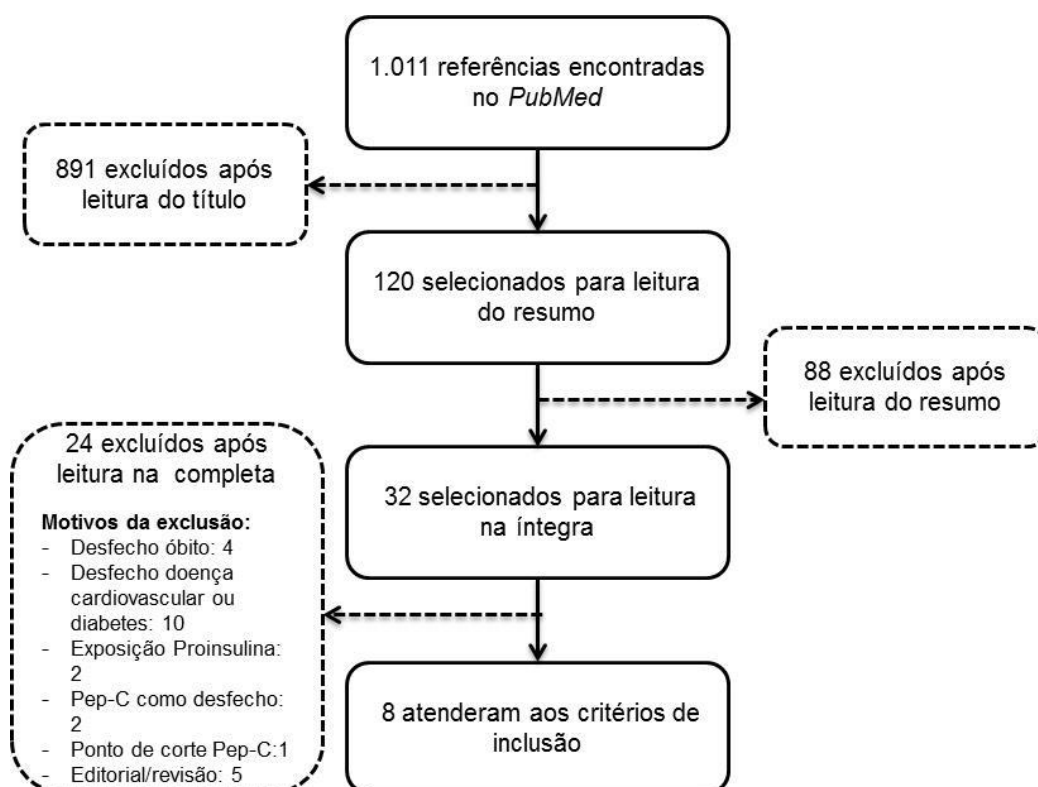


Figura 5. Fluxograma da busca de artigos sobre a relação entre o Pep-C e os componentes do risco cardiovascular.

No final da revisão foram encontrados oito artigos que apresentam resultados variados a respeito da associação entre o Pep-C e as condições de risco cardiovascular. A maioria dos estudos avaliou a associação entre níveis séricos do Pep-C e das lipoproteínas séricas (n=6) (EVERY et al., 1993; KATO et al., 1995; INUKAI et al., 1999; HABAN et al., 2002; ABDULLAH et al., 2012; PUROHIT, 2012; PUROHIT; MATHUR, 2013; LI et al., 2014; LI et al., 2015). Somente um artigo avaliou o efeito dos níveis de Pep-C na urina de 24 horas (KATO et al., 1995).

Relação entre o Peptídeo-C e as lipoproteínas

Seis artigos avaliaram a relação do Pep-C com os níveis séricos das lipoproteínas. Em relação ao colesterol total, Purohit e colaboradores encontraram resultados heterogêneos, em pessoas com hipotireoidismo observaram forte correlação positiva entre Pep-C e colesterol total ($r=0,630$; $p<0,001$), mas em pacientes com hipertireoidismo a mesma associação não foi observada (PUROHIT, 2012), enquanto que outro estudou não observou correlação em pessoas com DM II (não insulino dependente) ($r=0,18$; $p<0,3$) (KATO et al., 1995).

No tocante aos triglicerídeos em pacientes com hipertireoidismo, não foi observada correlação ($r=-0,135$; $p=0,26$) enquanto que em pacientes com hipertireoidismo foi encontrada correlação positiva ($r=0,3634$; $p<0,001$); PUROHIT 2012. Inukai e colaboradores (1999) também observaram maiores níveis de triglicerídeos no grupo com Pep-C sérico elevado ($>2,2$ ng/ml), comparado ao grupo com Pep-C normal ($0,7$ a $2,2$ ng/ml) ($p<0,05$).

No que diz respeito ao colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade), correlação negativa foi observada nos portadores de DM-II ($r=-0,567$; $p=0,001$) (HABAN et al., 2012) e, em não diabéticos portadores de sobrepeso/obesidade encontrou-se associação negativa ($\beta -9,46$; $p=0,01$) (ABDULLAH et al., 2012).

Por outro lado, estudo realizado nos Estados Unidos com indivíduos com mais de 20 anos, sem diabetes, identificou associação negativa entre os níveis séricos de Pep-C e os níveis de HDL ($p < 0,001$). Em relação aos homens de menor quartil de Pep-C, observaram-se RR 1,75, 2,79, e 3,07

comparados aos quartis superiores (segundo, terceiro e quarto) com redução gradual dos níveis séricos de HDL-C. Nas mulheres, os riscos encontrados entre os níveis séricos de Pep-C e o HDL-C foram 1,60; 2,61 e 3,67 (p valor para tendência linear de 0,001) (LI et al., 2015). Por outro lado, dois estudos não encontraram correlação, em pacientes com DM II ($r=-0,19$; $p<0,25$) (KATO et al., 1995) e naqueles com hipotireoidismo ($r=0,031$; $p<0,70$) ou com hipertireoidismo ($r=0,036$; $p=0,768$) (PUROHIT, 2012). A razão colesterol total /HDL apresentou correlação positiva com o Pep-C em estudo com portadores de DM II ($r=0,599$ $p=0,006$) (HABAN et al., 2012) e em portadores de hipotireoidismo ($r=0,501$; $p<0,0001$) (PUROHIT, 2012). Entretanto em pacientes com hipertireoidismo não foi observada correlação ($r=-0,167$; $p=0,163$). Haban e colaboradores também observaram correlação positiva com a razão de triglicerídeos/HDL ($r=0,587$; $p<0,008$) (HABAN et al., 2012).

O LDL colesterol apresentou correlação positiva com o Pep-C em portadores de hipertireoidismo ($r=0,618$ $p<0,0001$), mas em pacientes com hipotireoidismo não foram observadas correlação ($r=0,163$ $p=0,174$). Esse mesmo estudo observou correlação positiva nos pacientes com hipotireoidismo ($r=0,375$; $p<0,0001$) (PUROHIT 2012). Correlação positiva foi observada entre o Pep-C e a razão Apo-B/Apo-A em indivíduos com hipotireoidismo ($r=0,275$; $p=0,0006$). No hipertireoidismo não foi observada correlação ($r=-0,078$; $p=0,517$) (PUROHIT, 2012). Também nos pacientes com hipotireoidismo foi observada correlação positiva com Apolipoproteína B (Apo-B) ($r=0,473$; $p<0,0001$).

Relação entre o Peptídeo-C e outros marcadores bioquímicos

A associação entre o Pep-C e os níveis séricos do ácido úrico foi avaliada em dois estudos que encontraram associações positivas tanto em pacientes com DM II como naqueles sem diabetes, mas com sobrepeso/obesidade (HABAN et al., 2012; ABDULLAH et al., 2012). A glicemia de jejum foi avaliada em um estudo realizado em pacientes com DM-II, encontrando correlação positiva com o Pep-C ($r=0,406$; $p=0,029$) (HABAN et al., 2012).

Componentes do Risco Cardiovascular

A associação entre Pep-C e pressão arterial foi avaliada em cinco estudos. O Pep-C apresentou associação positiva com a pressão sistólica em quatro estudos: Donatelli et al.; 1991 encontraram níveis mais elevados de Pep-C em obesos hipertensos: $2,64 \pm 0,09$ ng/ml e obesos hipertensos e diabéticos: $3,33 \pm 0,27$ ng/ml; Every et al.; 1993 identificou correlação com a pressão diastólica (β 0,0436; $p=0,004$) e a pressão sistólica (β 0,0295; $p=0,05$); Kato et al.; 1995 analisou a excreção do Pep-C na urina não encontrando diferenças entre a pressão sistólica, e diastólica entre os indivíduos com excreção elevada vs. Pep-C normal e Abdullah e colaboradores (2012) não encontraram associação com a pressão arterial sistólica, porém observaram (β 4,2; $p=0,06$) para pressão diastólica. Inukai e colaboradores (1999) observaram que portadores de DM-II com níveis de Pep-C elevados apresentavam maior risco de hipertensão (INUKAI et al., 1999).

Somente o de estudo de Abdullah e colaboradores não encontrou associação entre o Pep-C e a pressão sistólica em pessoas com sobrepeso/obesidade (ABDULLAH et al., 2012).

Em relação à pressão diastólica, foi observada correlação positiva com o Pep-C em dois estudos, um realizado em portadores de hipotireoidismo ($r=0,21$; $p=0,01$; PUROHIT; MATHUR, 2013) e outro em portadores de DM II ($r=0,22$; $p<0,2$; KATO et al., 1995). Além disso, outros dois estudos encontraram associação positiva do Pep-C com a pressão diastólica em não diabéticos ($\beta 0,0436$; $p=0,004$; EVERY et al., 1993) ($\beta 4,2$; $p=0,06$; ABDULLAH et al., 2012).

A circunferência da cintura apresentou associação positiva com o Pep-C, mesmo após ajuste para fatores de confusão ($\beta 5,28$; $p=0,02$), em mulheres jovens saudáveis nos Emirados Árabes Unidos com sobrepeso/obesidade (ABDULLAH et al., 2012). Outros dois estudos encontraram correlação entre o índice de massa corporal (IMC) e o Pep-C ($r=0,49$; $p<0,002$; KATO et al., 1995; $r=0,519$; $p=0,004$; HABAN et al., 2002). Também foi observada associação positiva do Pep-C com a gordura corporal regional (membros inferiores, superiores e tronco) ($p<0,05$) e total ($\beta 0,061$; $p<0,001$), e negativa com a massa magra regional ($p<0,05$) e total ($\beta -0,074$; $p<0,001$), em indivíduos sem diabetes (LI et al., 2014).

Os estudos selecionados na revisão da literatura a respeito da associação do Pep-C com componentes do risco cardiovascular encontram-se listados no Quadro 1. O pequeno número de estudos ($n=10$) que avaliaram a associação entre Pep-C e fatores de risco cardiovasculares, reforça a

importância de se estudar os efeitos do Pep-C sobre os componentes do risco cardiovascular em adultos jovens.

Há cerca de seu aumento sérico e mesmo em indivíduos sem o status de resistência a insulina instalado, os níveis séricos do Pep-C estariam associados à mortalidade geral e CVC, bem como aos fatores cardiometabólicos propriamente ditos.

Quadro 1. Descrição dos artigos selecionados na revisão da literatura da associação do Pep-C com componentes do risco cardiovascular.

Autor e Ano de publicação	Tipo de estudo	País	População (n); faixa etária	Exposição	Desfecho	Efeito
Every et al.; 1993	Transversal	Estados Unidos	895 indivíduos com glicemia normal; 50,5 anos (média)	Pep-C e insulina sérica em jejum	Pressão sanguínea (sistólica e diastólica)	Pep-C: - pressão diastólica: β 0,0436; $p=0,004$ - pressão sistólica: β 0,0295; $p=0,05$
Kato et al.; 1995	Transversal	Japão	38 indivíduos com diabetes não insulino dependente; 36 a 81 anos.	Pep-C na urina 24 horas	IMC, pressão sanguínea, colesterol total, triglicerídeos, HDL	<u>Pep-C na urina de 24 horas (fraca correlação positiva):</u> - IMC: $r=0,49$; $p<0,002$ - pressão sistólica: $r=0,33$; $p<0,05$ <u>Pep-C na urina elevado (>100mcg/dia) vs. Pep C normal (<100mcg/dia):</u> - IMC: 26,0 vs. 21,3; $p<0,01$ - triglicerídeos: 173,8 vs. 113,0; $p<0,02$ <u>Pep-C na urina elevado vs. Pep C normal - sem diferença:</u> pressão sistólica, pressão diastólica, colesterol total, HDL
Inukai et al.; 1999	Transversal	Japão	256 indivíduos com DM-II;	Pep-C	IMC, triglicerídeos, hipertensão	<u>Pep-C elevado (>2,2 ng/ml) vs Pep C normal (0,7 a 2,2 ng/ml):</u> - $\uparrow$ IMC e $\uparrow$ triglicerídeos; $p<0,05$ <u>Hipertensão (prevalência):</u> - Pep-C baixo (<0,7 ng/ml): 16% - Pep-C normal: 28% - Pep-C elevado: 38%
Haban et al.; 2002	Transversal	Eslováquia	21 mulheres pós-menopausa e 8 homens com DM-II; 68,1 anos (média)	Pep-C	Leptina, IMC, glicemia, triglicerídeo, HDL, triglicerídeo/HDL, ácido úrico, índice aterogênico (colesterol total/HDL)	Pep-C: - leptina: $r=0,492$; $p=0,007$. - IMC: $r=0,519$; $p=0,004$. - triglicerídeos: $r=0,474$; $p=0,009$. - HDL: $r=-0,567$; $p=0,001$. índice aterogênico: $r=0,599$; $p=0,0006$ - triglicerídeo/HDL: $r=0,587$; $p=0,0008$.

Pep-C: Peptídeo-C. r: coeficiente de correlação. μ : média. β : coeficiente de regressão. p: valor de p com 95% de confiança. HDL: High density lipoprotein. IMC: índice de massa corporal.

Quadro 1. Descrição dos artigos selecionados na revisão da literatura da associação do Pep-C com componentes do risco cardiovascular (continuação).

Autor e Ano de publicação	Tipo de estudo	País	População (n); faixa etária	Exposição	Desfecho	Efeito
Abdullah et al.; 2012	Transversal	Emirados Árabes Unidos	80 mulheres jovens saudáveis; 21 anos (média da idade)	Pep-C	Insulina, HOMA-IR, HBA1c, leptina, colesterol total, pressão sistólica, pressão diastólica, triglicerídeos, proteína C reativa, adiponectina, glicemia, circunferência da cintura	Pep-C (sobrepeso/obeso): - ácido úrico: β 1,15; $p < 0,001$ - circunferência da cintura: β 5,28; $p = 0,02$ - HDL: β -9,46; $p = 0,01$ <u>Não encontrou correlação do Pep-C em sobrepeso/obeso:</u> Pressão sistólica ($p = 0,10$), proteína C reativa ($p = 0,66$). <u>Não encontrou associação do Pep-C em sobrepeso/obeso:</u> Leptina (β 0,57; $p = 0,91$), pressão diastólica (β 4,2; $p = 0,06$).
Purohit, P.; 2012	Casos e controles	Índia	100 controles saudáveis e 150 pacientes com hipotireoidismo e 70 com hipertireoidismo; 47 anos (média)	Pep-C, HOMA-IR, insulina em jejum	Colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL, VLDL, Apo A1, Apo B, colesterol total/HDL, Apo B/Apo A1.	<u>Pep-C (valor - ng/dl):</u> - controle saudável: 1,46; DP 1,08 - hipotireoidismo: 3,45; DP 1,93 - hipertireoidismo: 0,63; DP 0,91 <u>Pep-C (no hipertireoidismo):</u> - correlação negativa ($p > 0,05$): colesterol total, triglicerídeos, LDL, VLDL, Apo B, colesterol total/HDL, Apo B/Apo A1 - correlação positiva ($p > 0,05$): HDL, Apo A1 <u>Pep-C (no hipotireoidismo):</u> - colesterol total: $r = 0,630$; $p < 0,0001$ - triglicerídeos: $r = 0,364$; $p < 0,0001$ - LDL: $r = 0,618$; $p < 0,0001$ - VLDL: $r = 0,375$; $p < 0,0001$ - Apo-B: $r = 0,473$; $p < 0,0001$ - colesterol total/HDL: $r = 0,501$; $p < 0,0001$ - Apo-B/apo-A1: $r = 0,275$; $p = 0,0006$ - HDL: $r = 0,031$; $p = 0,70$ - Apo-A1: $r = 0,116$; $p = 0,156$

Pep-C: Peptídeo-C. r: coeficiente de correlação. μ : média. β : coeficiente de regressão. p: valor de p com 95% de confiança. HDL: High densitylipoprotein. IMC: índice de massa corporal. RO: razão de odds. HDL: High densitylipoprotein. ApoB: apolipoproteína B. Apo A1: apolipoproteína A1. HOMA: Homeostasis Model Assessment. VLDL: very low density lipoprotein. LDL: Low density lipoprotein.

Quadro 1. Descrição dos artigos selecionados na revisão da literatura da associação do Pep-C com componentes do risco cardiovascular (continuação).

Autor e Ano de publicação	Tipo de estudo	País	População (n); faixa etária	Exposição	Desfecho	Efeito
Li et al.; 2014	Transversal	Estados Unidos	7.030 indivíduos; 38,5 anos (média).	Pep-C	Gordura e massa magra corporal (total e regional)	<u>Pep-C (média) (p<0,001):</u> - diabéticos: μ 1,1; DP 0,7 - não diabéticos: μ 0,7; DP 0,4 <u>Pep-C (pacientes sem diabetes):</u> - massa gorda regional: p<0,05 - massa gorda total: β 0,061; p<0,001 - massa magra regional: p<0,05 - massa magra total: β -0,074; p<0,001. <u>Pep-C (pacientes com diabetes):</u> - sem associação com massa gorda e magra (p>0,05).
Li et al.; 2015	Coorte	Estados Unidos	13.185 indivíduos; 46 anos (média).	Pep-C em jejum	HDL	Tendência linear $\hat{e}$ HDL com $\hat{e}$ do quartil do Pep C, em ambos os sexos (p<0,001), ambos os sexos. ↓ <u>HDL (análise ajustada) - homens:</u> - 2º quartil Pep-C: RO 1,75; p<0,001 - 3º quartil Pep-C: RO 2,79; p<0,001 - 4º quartil Pep-C: RO 3,07; p<0,001 ↓ <u>HDL (análise ajustada) - mulheres:</u> - 2º quartil Pep-C: RO 1,60; p<0,001 - 3º quartil Pep-C: RO 2,61; p<0,001 - 4º quartil Pep-C: RO 3,67; p<0,001

Pep-C: Peptídeo-C. r: coeficiente de correlação. μ : média. β : coeficiente de regressão. p: valor de p com 95% de confiança. RO: razão de odds. HDL: High density lipoprotein. ApoB: apolipoproteína B. Apo A1: apolipoproteína A1. IMC: índice de massa corporal. HOMA: Homeostasis Model Assessment. Modelo de Avaliação da Homeostase HOMA-IR Valor de Referencia = 1 e HOMA-B igual a 100%

JUSTIFICATIVA

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no Brasil. (BRASIL, 2011; DUNCAN et al., 1993). Comportamentos de risco, como o sedentarismo e a obesidade, presentes já na infância e adolescência, são considerados como fatores de risco cardiovascular e comprometem a qualidade de vida do adulto jovem (BRASIL, 2011). No que diz respeito às exposições precoces, evidências sugerem a associação entre o baixo peso ao nascer (BPN) e o risco de doenças crônicas na idade adulta notadamente para DAC, AVE; HAS e DM II. (BARKER DJ, OSMOND C. 1986; BARKER DJ. 1995; BARKER DJ. 2004). O BPN empregado como um *proxy* do desenvolvimento fetal, contribui para a sugestão de que um atraso no crescimento uterino programaria o desenvolvimento de doenças crônicas na idade adulta. No que diz respeito ao crescimento na infância a recuperação ponderal acelerada, especialmente o catch-up tardio constitui numa condição de risco para obesidade na adolescência e na idade adulta (MONTEIRO et al., 2003; ERIKSSON et al., 1999; BAIRD et al., 2005). Horta e colaboradores (2009) encontraram menores níveis de HDL colesterol em crianças que obtiveram ganho de peso mais rápido do que o previsto segundo z-score entre no período de 20 e 42 meses (β -0,78 IC 95%: -1,28; -0,29) e maiores níveis da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e razão LDL / HDL na adolescência. Siervo e colaboradores (2010) identificaram o BPN e ganho de peso acelerado após 48 meses como fatores de risco para intolerância à glicose na idade adulta.

Pesquisas tem buscado identificar marcadores biológicos que possibilitem a identificação precoce do risco cardiovascular, antes da

manifestação das complicações. Um desses marcadores atualmente investigado é o Pep-C, em pessoas saudáveis e em portadores de diabetes tipo II, sua elevação estaria associada à presença de componentes do risco cardiovascular, tais como lipoproteínas, índice de massa corporal e pressão sistólica e diastólica (ABDULLAH et al, 2012; INUKAI et al, 1999; LI et al, 2014; LI et al, 2015).

Na revisão de literatura não foram identificados estudos que avaliaram associações entre as condições precoces da gestação, parto e nascimento e o Pep-C na idade adulta. Sendo assim, a identificação da associação do Pep-C com os componentes do risco cardiovascular, bem como a identificação das condições precoces que possam estar associadas ao aumento dos níveis séricos de Pep-C na idade adulta, tornam-se relevantes.

A Coorte de Nascimentos de 1982, de Pelotas, fornece informações dos participantes desde a gestação até a idade adulta, sendo uma fonte expressiva para investigar as condições precoces associadas ao Pep-C sérico, bem como a associação de seus níveis séricos aos componentes do risco cardiovascular.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Identificar condições precoces (gestação, perinatal e infância) associadas aos níveis séricos do Pep-C, e deste com os componentes do risco cardiovascular em adultos jovens acompanhados na Coorte de Nascimento de 1982, Pelotas, RS, Brasil.

Objetivos Específicos

- Identificar condições precoces (gestação, perinatal e infância) associadas aos níveis séricos do Pep-C aos 22 anos nos participantes da Coorte de Nascimento de 1982, Pelotas, RS, Brasil.

No que tange a condição de gestação busca-se investigar a ocorrência de comorbidades maternas como diabetes, hipertensão arterial e estado nutricional materno.

Em relação às condições perinatais pretende-se investigar o tipo de parto (normal ou cesárea), peso ao nascer, sexo, retardo de crescimento intrauterino.

No período da primeira infância busca-se investigar as condições de amamentação e catch-up de crescimento aos 2 e 4 anos.

- Investigar a associação entre os níveis séricos do Pep-C com fatores metabólicos do risco cardiovascular nos participantes da Coorte de Nascimento de 1982, Pelotas, RS, Brasil.

No que tange aos fatores metabólicos associados ao nível sérico do Pep-C pretende-se investigar a condição tensional (pressão arterial), glicemia capilar, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicerídeos, hemoglobina glicosilada, proteína-C reativa e circunferência abdominal.

- Realizar revisão sistemática sobre o papel do Pep-C sérico e sua associação com os componentes de risco cardiovascular.

HIPÓTESES

- Exposições precoces, como tipo de parto, peso ao nascimento, crescimento na infância, diabetes materna, estão associadas com aumento nos níveis séricos de Pep-C.

- Os componentes do risco cardiovascular apresentam relação direta com o aumento dos níveis séricos do Pep-C ($> 7,1$ ng/mml).

MODELO TEÓRICO

A influência de diferentes condições sobre o Pep-C e deste sobre os componentes do risco cardiovascular será avaliado ao longo do ciclo vital contemplando exposições ocorridas na gestação, período perinatal, infância, adolescência e idade adulta. Os fatores distais compreendendo os determinantes demográficos e socioeconômicos podem influenciar os componentes do risco cardiovascular na idade adulta, bem como os valores do Pep-C sérico. Os componentes do risco cardiovascular são influenciados por fatores de cada uma das fases da vida, e também por um processo cumulativo resultante dos efeitos somados e/ou da interação desses determinantes presentes nas fases anteriores.

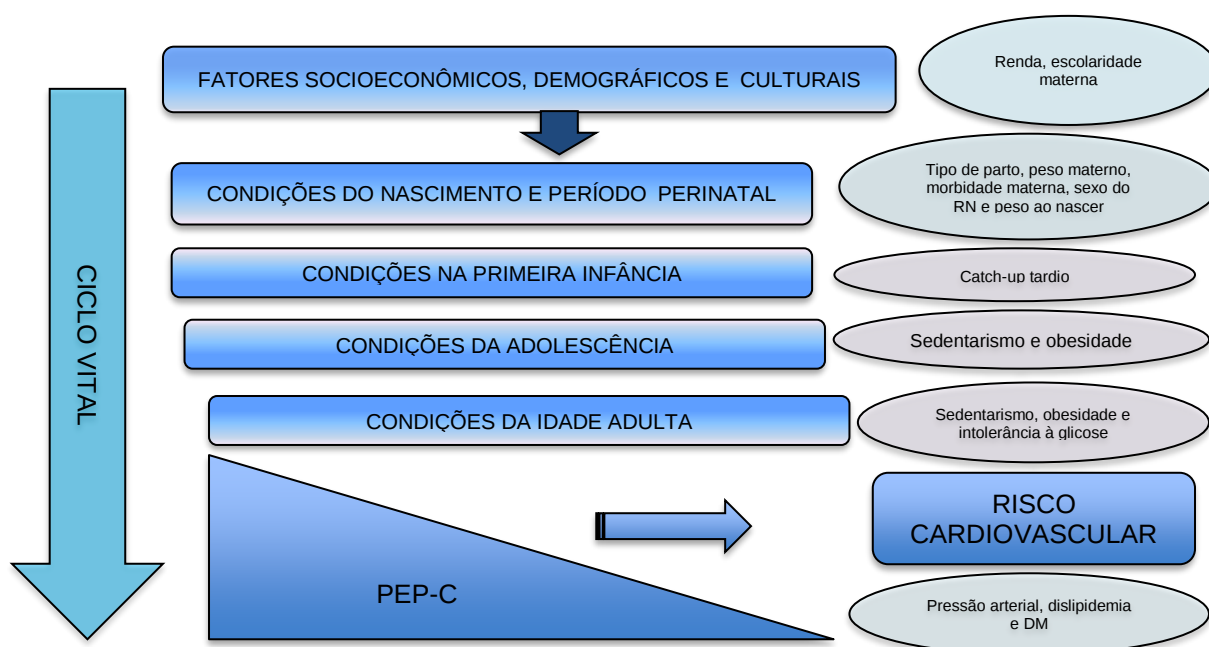
Determinantes distais relacionados às condições de gestação, parto e infância, tais como o peso materno e o peso ao nascimento podem contribuir para a determinação das condições de risco na idade adulta em especial as condições cardiometabólicas tais como os níveis séricos do Pep-C na vida

adulta. (BARKER DJ, et al 1989. BARKER DJ, et al 1993; ERIKSSON et al 1989).

Fatores intermediários como o sedentarismo e a obesidade na adolescência, podem estar associados às variáveis relacionadas à gestação e infância e que também teriam efeitos sobre o Pep-C na idade adulta. Embora nem todas essas condições/fatores sejam objeto de interesse do presente projeto, encontram-se aqui apresentados para que possam ser considerados nas análises como prováveis fatores de confundimento, modificadores ou ainda mediadores do efeito das variáveis independentes sobre o desfecho.

A Figura 7 apresenta o modelo teórico proposto tendo por base a literatura revisada e na perspectiva do ciclo de vida dos indivíduos considerando os níveis hierárquicos a partir do entendimento das condições envolvidas na determinação dos níveis séricos do Pep-C na idade adulta.

Figura 7. Modelo teórico proposto para avaliar os níveis séricos do Pep-C e condições associadas ao ciclo de vida.



MÉTODOS

Delineamento

Coorte de nascimento.

Metodologia da Coorte de Nascimento de Pelotas de 1982

Em 1982, entre 1º de janeiro a 31 de dezembro, as maternidades da cidade de Pelotas foram visitadas diariamente e os recém-nascidos identificados. Todos os nascidos vivos cuja família residia na zona urbana de Pelotas, Rio Grande do Sul, foram examinados e suas mães entrevistadas, por uma equipe treinada para a pesquisa. Os questionários aplicados foram padronizados, validados, e continham informações sobre fatores socioeconômicos, demográficos e relacionados à saúde da mãe e do recém-nascido. Ademais, foram aferidas medidas antropométricas da mãe e da criança (VICTORA; BARROS, 2006; BARROS et al., 2008).

Até o presente momento, a Coorte de 1982 realizou nove visitas de acompanhamento em todos os indivíduos elegíveis (n= 5.914) ou em amostras aos 1, 2, 4, 13, 15, 18, 19, 22 e 30 anos de idade (Quadro 2).

Entre agosto de 2004 e fevereiro de 2005, foi realizado censo na zona urbana da cidade e 4297 indivíduos pertencentes à coorte foram entrevistados. Destes, 3.832 doaram amostra de sangue para formação de um banco de DNA, além de amostras de sangue da polpa digital em papel filtro (71% da coorte original e 91,1% dos entrevistados). Além disso, o soro também foi armazenado para dosagens posteriores. Os entrevistados responderam um

questionário padronizado, e foram realizadas medidas de pressão arterial, glicemia capilar, peso, altura, circunferência abdominal e espirometria (VICTORA; BARROS, 2006; BARROS et al., 2008).

População Alvo

Nascidos vivos cujas famílias residam na zona urbana de Pelotas e no Bairro Jardim América, em 1982.

CrITÉRIOS de inclusão

Participantes da coorte com informações completas das variáveis em estudo.

Quadro 2. Visitas de acompanhamento da Coorte de Nascimentos de Pelotas – RS, 1982.

Ano	Idade	Estratégia amostral	Indivíduos elegíveis (N)	Indivíduos acompanhados (N)	Taxa de acompanhamento (%)
1982	Nascimento	Todos os nascimentos das 5 maternidades	5914	5914	-
1983	1 ano	Todas as crianças nascidas entre janeiro e abril	1916	1457	79,3
1984	2 anos	Todos os participantes da coorte original	5914	4934	87,2
1986	3 ½ anos	Todos os participantes da coorte original	5914	4742	84,1
1995	13 anos	20% dos	1100	715	69,9

		participantes da coorte original			
1997	15 anos	27% dos participantes da coorte original	1597	1076	71,8
2000	18 anos	Todos os participantes do sexo masculino	3037	2250	78,9
2001	19 anos	27% dos participantes da coorte original	1597	1031	69,0
2004	22 anos	Todos os participantes da coorte original	5914	4297	77,4
2012	30 anos	Todos os participantes da coorte original	5914	3701	68,1

Fonte: VICTORA; BARROS, 2006; BARROS et al., 2008.

Variáveis utilizadas nos artigos

Artigo 1: Condições da gestação e da infância associadas ao Peptídeo-C em adultos jovens na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.

Variáveis de exposição:

As variáveis de exposição incluídas neste artigo referem-se às situações/condições expostas no Modelo Hierárquico-Conceitual (figura 7). Tendo como nível distal as condições socioeconômicas da família expressas pela renda e o nível de escolaridade materno. Em um segundo nível hierárquico se encontram as variáveis relacionadas às condições de gestação, do nascimento e primeiro ano de vida, detalhadas a seguir e no quadro 3.

Primeiro nível hierárquico

- Renda familiar ao nascer em salários mínimos

- Escolaridade materna: em anos completos de escolaridade, coletada no estudo perinatal.

Segundo nível hierárquico

- Diabetes materna na gestação: dicotômica (sim ou não), no acompanhamento perinatal 1982.
- Hipertensão materna na gestação: dicotômica (sim ou não), no acompanhamento perinatal 1982.
- Estado nutricional materno no início da gestação: categórica (baixo peso, normal, sobrepeso/obeso), no acompanhamento perinatal de 1982.

Terceiro nível hierárquico

- Tipo de parto: variável dicotômica (normal ou cesárea), coletada no acompanhamento perinatal em 1982.
- Peso ao nascer: em gramas, coletado no acompanhamento perinatal em 1982.
- Sexo: dicotômica; masculino e feminino.
- Retardo de crescimento intrauterino: peso ao nascer abaixo do percentil 10 para a idade gestacional e sexo da população de referência de Williams (1982).

Quarto nível hierárquico

- Amamentação: tempo de aleitamento materno em meses, referido pela mãe nos acompanhamentos aos dois e quatro anos (1984).
- Catch-up (recuperação ponderal acelerada): mudança no escore z de peso para a idade maior de 0,67 entre 0 e 2 anos e entre 2 e 4 anos (acompanhamento de 1982, 1984, 1986).

Quadro 3. Descrição das variáveis de exposição relacionadas à gestação, nascimento e primeiro ano de vida.

Nível de determinação	Variável	Acompanhamento	Descrição (categorias)	Classificação
1º nível hierárquico	Renda familiar	Perinatal	Salário Mínimo	Categórica
	Escolaridade materna	Perinatal	Anos de estudo	Numérica contínua e Categórica
2º nível hierárquico	Diabetes materna	Perinatal	Presente/Ausente Sim e não	Dicotômica
	Hipertensão materna	Perinatal	Presente/Ausente. Sim e não	Dicotômica
	Estado nutricional materno ²	Perinatal	Agrupado segundo classificação da OMS	Categórica ordinal
3º nível hierárquico	Tipo de parto	Perinatal	Normal e Cesárea	Dicotômica
	Peso de nascimento	Perinatal	Gramas	Numérica contínua
			<2500g e ≥2500g	Dicotômica
	Retardo de crescimento intra-uterino ¹	Perinatal	Sim/Não	Categórica
4º nível hierárquico	Sexo	Perinatal	Masculino/Feminino	Categórica
	Amamentação	2 anos	Duração em meses	Categórica ordinal
	Catch-Up ³	2 e 4 anos	Presente/Ausente	Numérica contínua

1- Peso ao nascer abaixo do percentil 10 para idade gestacional e sexo (WILLIAMS, 1982).

2- O estado nutricional materno será classificado em cinco categorias, como proposto pela OMS. Para o cálculo do IMC será utilizado o peso pré-gestacional e a altura autoreferidos. 3- Esta fase é caracterizada por um aumento rápido do peso, comprimento e PC com sua velocidade de crescimento acelerada, acarretando mudança do escore Z de peso para idade >0,67 entre 0 e 1 ano.

Variável dependente

Os níveis séricos do Pep-C serão medidos em ng/ml (nanogramas por mililitro) a partir de amostras coletadas no acompanhamento aos 22 anos.

A técnica de dosagem in vitro foi desenvolvida com empregos de kits IMMULITE para Peptídeo-C N° LKPEP1 e LKPEP5, de testes imunométricos de quimiluminescência com ciclos de incubação 1/30 minutos. As amostras obtidas a partir de coleta ocasional de sangue foram devidamente processadas de acordo com as recomendações do fabricante tendo considerados os valores de referência de normalidade a faixa compreendida entre 0,9-7,1ng/ml. Durante a coleta foi registrada a hora da última refeição, permitindo estimar o tempo decorrido entre esta e a coleta propriamente dita.

Análise estatística

Primeiramente será realizada a análise descritiva e serão obtidas as frequências absoluta e relativa para cada variável independente. A comparação entre as médias para cada categoria das variáveis utilizará a Teste *T* para amostras independentes, Teste do X^2 quadrado e quando necessário a análise de variância. As análises bruta e ajustada, estratificadas pelo nível sérico de Pep-C, de acordo com o modelo hierárquico.

A variável de desfecho (nível sérico do Pep-C) será analisada de forma contínua numa análise de regressão linear e como variável dicotômica (> e < 7,1ng/ml) utilizando-se a regressão de Poisson. Serão analisados os pressupostos de cada teste estatístico, e caso não preencham os critérios de sua utilização iremos utilizar um teste não paramétrico ou usar transformação logarítmica. Uma vez que o tempo de jejum está associado com o Pep-C, todas as análises serão ajustadas para o tempo de jejum de cada indivíduo.

Artigo 2: Peptídeo-C e fatores metabólicos do risco cardiovascular em adultos jovens na Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.

Variável independente:

Peptídeo-C avaliada como uma variável dicotômica ($>$ e $< 7,1$ ng/ml) e/ou contínua.

Variáveis dependentes

As variáveis relacionadas aos componentes do risco cardiovascular avaliados no acompanhamento da coorte, encontram-se listadas abaixo e no Quadro 6:

- Pressão arterial: realizada em duas medidas, no início e no final da entrevista, com esfigmomanômetro de pulso digital (Omron modelo HEM 629). Será usada a média de duas medidas da pressão arterial.
- Glicemia capilar: medida a partir do sangue da polpa digital, utilizando um glicosímetro portátil modelo Accu-Check Advantage – Roche.
- Colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicerídeos foram dosados por método enzimático colorimétrico automatizado no analisador químico BS-380, Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China).
- Hemoglobina glicosilada (HbA1c) foi avaliada em amostra de sangue total coletado em papel de filtro 903 Whatman (Whatman Inc., USA) por meio da técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) associada à cromatografia de troca iônica usando o programa Hemoglobina A1c VARIANTTM II (BIO-RAD, USA).
- Proteína-C reativa ultrassensível foi medida pela técnica de turbidimetria automatizada em analisador químico BS-380, Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China).
- Circunferência abdominal: medida em pé, com os braços relaxados ao lado do corpo e os pés juntos, a fita foi colocada no plano horizontal ao nível da

cintura natural, parte mais estreita do tronco, entre a última costela e a crista ilíaca, ao final de uma expiração normal, sem comprimir a pele, registrada com precisão de 0,1cm.

Covariáveis:

As variáveis que serão consideradas como possíveis fatores de confusão encontram-se listadas no quadro 5.

Quadro 4. Descrição das variáveis do componente do risco cardiovascular.

Variável	Acompanhamento	Descrição (categorias)	Classificação
Pressão arterial sistólica	Aos 22 e 30 anos	mmHg	Contínua
Pressão arterial diastólica	Aos 22 e 30 anos	mmHg	Contínua
Glicemia	Aos 22 e 30 anos	mg/dl	Contínua
Hba1c	Aos 22 e 30 anos	mg/dl	Contínua
Colesterol total	Aos 22 e 30 anos	mg/dl	Contínua
HDL ¹	Aos 22 e 30 anos	mg/dl	Contínua
Triglicerídeo	Aos 22 e 30 anos	mg/dl	Contínua
Circunferência abdominal	Aos 22 e aos 30 anos	cm	Dicotômica

1- Lipoproteína de alta densidade

2- Considerada elevada: homem >102cm e mulher >88cm (NCEP, 2001).

Quadro 5. Descrição das covariáveis da relação do Pep-C com os componentes do risco cardiovascular.

Variável	Acompanhamento	Descrição (categorias)	Classificação
Sexo	Perinatal	Masculino/Feminino	Categórica
Idade	Aos 22 anos	Anos	Contínua
Renda Familiar	Ao nascimento	>e < 3 SM	Dicotômica
Peso ao Nascer	Ao nascimento	>e< 2.500gr	Dicotômica
Tabagismo materno	Ao nascimento	Sim ou não	Dicotômica

Caso sejam identificadas variáveis no artigo 1 que possam estar associadas ao Pep-C na idade adulta, estas poderão ser incluídas no modelo como possíveis variáveis de confusão (artigo 2).

Análise estatística

O referido artigo realizará análise bruta entre as variáveis, considerando o Pep-C como exposição e as condições de risco cardiovascular como desfechos. Para tal, serão empregados os testes de regressão linear para as variáveis contínuas e Regressão de Poisson com variância robusta para variáveis dicotômicas.

Poder Amostral

Uma vez que os dados necessários para o presente projeto foram coletados previamente, não foi realizado o cálculo do tamanho da amostra tradicional. Foi estimado o poder amostral considerando as médias das variáveis de desfecho, empregando-se um alfa (α) de 5% e o valor da variável de exposição (média do Pep-C) de 1,096 nmol/l (desvio padrão $\pm 1,002$) para as condições de risco cardiovascular, cujos resultados são apresentados na tabela 1.

Instrumentos

As informações coletadas nos acompanhamentos da coorte de 1982 foram registradas em questionários padronizados e validados. Os questionários encontram-se disponíveis no site do estudo: http://www.epidemiologia.ufpel.org.br/site/content/coorte_1982/index.php

Aspectos Éticos

Os seguimentos realizados com os participantes da coorte de nascimento de 1982 acompanhados ao longo dos anos tiveram recolhidos seus Termos de Consentimento Livre e Esclarecido para as realizações das entrevistas e coleta dos parâmetros antropométricos e bioquímicos, e contou com a aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Medicina/UFPeL.

Tabela 1. Estimativa de poder da amostra para a relação entre o Pep-C e condições de risco Cardiovascular

Desfechos	N (g1 e g2)*	Média	Desvio padrão	Diferença Estimada	Alfa (%)	Poder (%)
Pressão arterial sistólica (mmHg)	4291 (3433-858)	117,5	15,04	± 2	5	93,6
				± 3	5	99,9
				± 5	5	100
Pressão arterial diastólica (mmHg)	4291 (3433-858)	73,6	11,45	± 2	5	99,5
				± 3	5	100
				± 5	5	100
Colesterol-HDL (mg/dl)	3824 (3059-765)	55	1,29	± 2	5	100
				± 3	5	100
				± 5	5	100
Triglicerídeos (mg/dl)	3824 (3059-765)	107	6,96	± 2	5	100
				± 3	5	100
				± 5	5	100
Glicemia ¹	3682 (2946-736)	97,3	3,5	± 2	5	100
				± 3	5	100
				± 5	5	100
Circ. Quadril ¹	3682 (2946-736)	78,25	3,7	± 2	5	100
				± 3	5	100
				± 5	5	100

*G1: nível sérico do Pep-C normal. G2: Pep-C alterado (20% da amostra).

1-Extraídos de HAAK, Ricardo Lanzetta. Cintura hipertrigliceridêmica em adultos jovens pertencentes a uma coorte de nascimentos no sul do Brasil. 2013. 175 f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013

CRONOGRAMA

As atividades a serem desenvolvidas encontram-se sumarizadas na Tabela 2.

Tabela 2. Programação das atividades a serem conduzidas nos anos de 2014-2016.

Tabela 2.17 Programação das atividades a serem conduzidas nos anos de 2014-2016.																								
ETAPAS DE DESENVOLVIMENTO	2015												2016											
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Aprovação do projeto	X	X																						
Análise dados			X	X																				
Redação artigos				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									
Submissão á periódicos														X	X	X	X	X	X	X				
Divulgação de resultados																				X	X	X		

DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS

A divulgação dos resultados consistirá na elaboração dos artigos citados anteriormente com a pretensão de que um deles venha ser indexado á publicação de internacional.

Outras formas de divulgação estarão sendo preparadas oportunamente como apresentações em eventos nacionais como Congressos Científicos nas áreas ligadas ao tema da Epidemiologia, Cardiologia e Endocrinologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDULLAH, A.; HASAN, H.; RAIGANGAR, V.; BANI-ISSA, W. C-Peptide versus insulin: relationships with risk biomarkers of cardiovascular disease in metabolic syndrome in young arab females. *International Journal of Endocrinology*, v. 2012, p. 420792, 2012.
2. ALWAN, A. Global status report on noncommunicable diseases 2010. World Health Organization, 2011.
3. ALWAN, A; ARMSTRONG, T; COWAN, M; RILEY, L. Noncommunicable diseases country profiles 2011. Geneva: World Health Organization, 2011.
4. BAIRD, J.; FISHER, D.; LUCAS, P.; KLEIJNEN, J.; ROBERTS, H.; LAW, C. Being big or growing fast: systematic review of size and growth in infancy and later obesity. *BMJ*, v. 331, n. 7522, p. 929, 2005.
5. BAL, T. A. C-peptide: roles in diabetes, insulinoma and hypoglycemia. *Diagnostic Trends. Perspectives*. Winter/Spring, 2009.
6. BARROS, F. C.; VICTORA, C. G.; HORTA, B. L.; GIGANTE, D. P. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. *Revista de Saúde Pública*, v. 42, supl. 2, p. 7-15, 2008.
7. BELIAKIN, S. A.; SEREBRENNIKOV, V. N.; SHKLOVSKII, B. L.; PATSENKO, M. B. C-Peptide level as an early diagnostic marker of metabolic syndrome and predictor of cardiovascular disease in patients with diabetes mellitus type 2. *Voenno-meditsinskii zhurnal*, v. 335, n. 10, p. 46-9, 2014.
8. BARKER DJ, OSMOND C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1(8489):1077-1081, 1986.
9. BARKER DJ. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*; 311(6998):171-174, 1995.
10. BARKER DJ. The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutri* 23(6 suppl 588S-95S; 2004.

11. BARKER DJ, WINTER PD, OSMOND C, MARGETTS B, SIMMONDS SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*; 2(8663):577-580 1989.
12. BARKER DJ, OSMOND C, SIMMONDS SJ, WIELD GA. The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life. *BMJ*;306(6875):422-426, 1993.
13. BOYKO, E. J.; KEANE, E. M.; MARSHALL, J. A.; HAMMAN, R. F. Higher insulin and C-Peptide concentrations in Hispanic population at high risk for NIDDM. *Diabetes*, v. 40, n. 4, p. 509-15, 1991.
14. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância à Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Diretrizes e recomendações para o cuidado integral de doenças crônicas não transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
15. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
16. BRASIL. Vigitel: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico /Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.120p.
17. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigitel Brasil 2013: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
18. CABRERA DE LEON, A.; OLIVA GARCIA, J. G.; MARCELINO RODRIGUEZ, I.; ALMEIDA GONZALEZ, D.; ALEMAN SANCHEZ, J. J.; BRITO DIAZ, B. et al. C-Peptide as a risk factor of coronary artery disease in the general population. *Diabetes & vascular disease research: official journal of the International Society of Diabetes and Vascular Disease*. 2015.
19. CASPERSEN, C. J.; PEREIRA, M. A.; CURRAN, K. M. Changes in physical activity patterns in the United States, by sex and cross-sectional age. *Med Sci Sports Exerc*, v. 32, n. 9, p. 1601-9, Sep 2000.

20. DAMSGAARD, E. M.; FABER, O. K.; FROLAND, A.; GREEN, A.; HAUGE, M.; HOLM, N. V.; IVERSEN, S. Prevalence of fasting hyperglycemia and known non-insulin-dependent diabetes mellitus classified by plasma C-peptide: Fredericia survey of subjects 60-74 yr old. *Diabetes Care*, v. 10, n. 1, p. 26-32, 1987.

21. DONATELLI, M.; SCARPINATO, A.; BUCALO, M. L.; RUSSO, V.; IRACI, T.; VASSALLO, G. Stepwise increase in plasma insulin and C-Peptide concentrations in obese, in obese hypertensive, and in obese hypertensive diabetic subjects. *Diabetes research (Edinburgh, Scotland)*, v. 17, n. 3, p. 125-9, 1991.

22. DUNCAN, B. B.; SCHMIDT, M. I.; POLANCZYK, C. A.; HOMRICH, C. S.; ROSA, R. S.; ACHUTTI, A. C. Fatores de risco para doenças não-transmissíveis em área metropolitana na região sul do Brasil. Prevalência e simultaneidade. *Revista de Saúde Pública*, v. 27, n. 1, p. 143-8, 1993.

23. ERIKSSON J, FORSEN T, TUOMILEHTO J, OSMOND C, BARKER D. Fetal and childhood growth and hypertension in adult life. *Hypertension*; 36(5):790-794, 2000.

24. ERIKSSON, J. G.; FORSEN, T.; TUOMILEHTO, J.; WINTER, P. D.; OSMOND, C.; BARKER, D. J. Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. *BMJ*, v. 13, n. 318(7181), p. 427-31, 1999.

25. EVERY, N. R.; BOYKO, E. J.; KEANE, E. M.; MARSHALL, J. A.; REWERS, M.; HAMMAN, R. F. Blood pressure, insulin, and C-Peptide levels in San Luis Valley, Colorado. *Diabetes Care*, v. 16, n. 12, p. 1543-50, 1993.

26. FORST, T.; HACH, T.; KUNT, T.; WEBER, M. M.; PFUTZNER, A. Molecular effects of C-Peptide in microvascular blood flow regulation. *The Review of Diabetic Studies*, v. 6, n. 3, p. 159-67, 2009.

27. GARCIA-WEBB, P.; ZIMMET, P.; BONSER, A.; KING, H.; BOTTOMLEY, S. Factors affecting fasting serum C-Peptide levels in Micronesians: comparison with a Caucasoid population. *Diabetologia*, v. 27, n. 1, p. 23-6, 1984.

28. HABAN, P.; SIMONCIC, R.; ZIDEKOVA, E.; OZDIN, L. Role of fasting serum C-Peptide as a predictor of cardiovascular risk associated with the metabolic X-syndrome. *Medical Science Monitor*, v. 8, n. 3, p. 175-9, 2002.
29. HALLAL, P. C. et al. Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls, and prospects. *The Lancet*, 2012.
30. HERMANN, L. S.; RANSTAM, J.; VAALER, S.; MELANDER, A. Effects of antihyperglycaemic therapies on proinsulin and relation between proinsulin and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes. *Diabetes, obesity & metabolism*, v. 1, n. 4, p. 227-32, 1999.
31. Horta BL, Victora CG, Lima RC, Post P. Weight gain in childhood and blood lipids in adolescence. *Acta Paediatrica*. 2009;98(6):1024-8
32. HU, F. B. et al. Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med*, v. 351, n. 26, p. 2694-703, Dec 23 2004.
33. INUKAI, T.; MATSUTOMO, R.; TAYAMA, K.; ASO, Y.; TAKEMURA, Y. Relation between the serum level of C-Peptide and risk factors for coronary heart disease and diabetic microangiopathy in patients with type-2 diabetes mellitus. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology and German Diabetes Association*, v. 107, n. 1, p. 40-5, 1999.
34. JOHANSSON, B. L.; BORG, K.; FERNQVIST-FORBES, E.; KERNELL, A.; ODERGREN, T.; WAHREN, J. Beneficial effects of C-Peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet. Med.*, v. 17, n. 3, p. 181-9, 2000.
35. KAMIYA, H.; ZHANG, W.; SIMA, A. A. C-Peptide prevents nociceptive sensory neuropathy in type 1 diabetes. *Ann. Neurol.*, v. 56, n. 6, p. 827-35, 2004.
36. KATO, H.; TAKASHIMA, T.; OHMORI, K.; SUNAGA, T. Urine C-Peptide and atherogenic risk factors in diabetes mellitus: relevance to "syndrome X". *Angiology*, v. 46, n. 10, p. 915-21, 1995.

37. LAURENTI, R.; BUCHALLA, C. M. Mitos a respeito das doenças cardiovasculares. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v. 76, n. 2, p. 99-104, 2001.
38. LI, Y.; MENG, L.; LI, Y.; SATO, Y. Associations of serum C-Peptide level with body fat distribution and ever stroke in nondiabetic subjects. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases: the official journal of National Stroke Association*, v. 23, n. 3, p. e163-9, 2014.
39. LI, Y.; LI, Y.; MENG, L.; ZHENG, L. Association between Serum C-Peptide as a Risk Factor for Cardiovascular Disease and High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Nondiabetic Individuals. *PloS one*, v. 10, n. 1, p. e112281, 2015.
40. LITTLE, R. R.; ROHLFING, C. L.; TENNILL, A. L.; MADSEN, R. W.; POLONSKY, K. S.; MYERS, G. L.; *et al.* Standardization of C-Peptide measurements. *Clinical Chemistry*, v. 54, n. 6, p. 1023-6, 2008.
41. LUPPI, P.; CIFARELLI, V.; TSE, H.; PIGANELLI, J.; TRUCCO, M. Human C-Peptide antagonises high glucose-induced endothelial dysfunction through the nuclear factor-kappaB pathway. *Diabetologia*, v. 51, n. 8, p. 1534-43.
42. MARQUES, R. G.; FONTAINE, M. J.; ROGERS, J. C-peptide: much more than a by product of insulin biosynthesis. *Pancreas*, v. 29, n. 3, p. 231-8, 2004.
43. MARX N.; WALCHER, D.; RAICHLE, C.; *et al.* C-Peptide colocalizes with macrophages in early atherosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocytes chemotaxis in vitro. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 24, n. 3, p. 540-545, 2004.
44. MARX, N.; SILBERNAGEL, G.; BRANDENBURG, V.; BURGMAIER, M.; KLEBER, M. E.; GRAMMER, T. B. *et al.* C-Peptide levels are associated with mortality and cardiovascular mortality in patients undergoing angiography: the LURIC study. *Diabetes care*, v. 36, n. 3, p. 708-14, 2013.
45. MENDES, M. J. F. L.; ALVES, J. G. B.; ALVES, A. V.; SIQUEIRA, P. P.; FREIRE, E. F. C. Associação de fatores de risco para doenças cardiovasculares em adolescentes e seus pais. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, v. 6, sup.1, s49-s54, 2006.

46. MIN, J. Y.; MIN, K. B. Serum C-Peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus. *CMAJ*, v. 185, n. 9, p. e402-8, 2013.
47. MONTEIRO, P. O.; VICTORA, C. G.; BARROS, F. C.; MONTEIRO, L. M. Birth size, early childhood growth, and adolescent obesity in a Brazilian birth cohort. *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 27, n. 10, p. 1274-82, 2003.
48. MUGHAL, R. S.; SCRAGG, J. L.; LISTER, P.; WARBURTON, P.; RICHES, K.; O'REGAN, D. J. et al. Cellular mechanisms by which proinsulin C-Peptide prevents insulin-induced neointima formation in human saphenous vein. *Diabetologia*, v. 53, n. 8, p. 1761-71, 2010.
49. NORDQUIST, L.; MOE, E.; SJÖQVIST, M. The C-Peptide fragment EVARQ reduces glomerular hyperfiltration in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, v. 23, n. 5, p. 400-405, 2007.
50. NORDQUIST, L.; BROWN, R.; FASCHING, A.; PERSSON, P.; PALM, F. Proinsulin C-Peptide reduces diabetes-induced glomerular via efferent arteriole dilation and inhibition of tubular sodium reabsorption. *Am J Physiol Renal Physiol*, v. 297, n. 5, p. 1265-72, 2009.
51. NORDQUIST, L.; WAHREN, J. C-Peptide: the missing link in diabetic nephropathy? *Rev Diabet Stud*, v. 6, n. 3, p. 203-10, 2009.
52. OHTOMO Y.; BERGMAN T.; JOHANSSON B.L.; JÖRNVALL H.; WAHREN J. Differential effects of proinsulin C-Peptide fragments on Na⁺, K⁺ -ATPase. *Diabetologia* v 41; 287-91, 1998.
53. PANERO, F.; NOVELLI, G.; ZUCCO, C.; FORNENGO, P.; PEROTTO, M.; SEGRE, O. et al. Fasting plasma C-Peptide and micro- and macrovascular complications in a large clinic-based cohort of type 1 diabetic patients. *Diabetes care*, v. 32, n. 2, p. 301-5, 2009.
54. PATEL, N.; TAVEIRA, T. H.; CHOUDHARY, G.; WHITLATCH, H.; WU, W. C. Fasting serum C-Peptide levels predict cardiovascular and overall death in nondiabetic adults. *Journal of the American Heart Association*, v. 1, n. 6, p. e003152, 2012.

55. PITTHAN, E.; MARTINS, O. M. O.; BARBISAN, J. N. Novos biomarcadores inflamatórios e de disfunção endotelial predição de risco cardiovascular. *Revista da AMRIGS*, v. 58, n. 1, p. 69-77, 2014.
56. PUROHIT, P. Estimation of serum insulin, Homeostasis model assessment-insulin resistance and C-Peptide can help identify possible cardiovascular disease risk in thyroid disorder patients. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, v. 16, Ssuppl 1, p. s97-s103, 2012.
57. PUROHIT, P.; MATHUR, R. Hypertension association with serum lipoproteins, insulin, insulin resistance and C-Peptide: unexplored forte of cardiovascular risk in hypothyroidism. *North American journal of medical sciences*, v. 5, n. 3, p. 195-201, 2013.
58. RONNEMAA T, LAAKSO M, PUUKKA P, KALLIO V, PYORALA K. Atherosclerotic vascular disease in middle-aged, insulin-treated, diabetic patients. Association with endogenous insulin secretion capacity. *Arteriosclerosis*. 1988;8(3):237-44
59. RODACKI, M.; MILECH, A.; OLIVEIRA, J. E. P. A secreção residual do peptídeo C faz diferença no tratamento do diabetes melito tipo 1? *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, v. 52, n. 2, p. 322-33, 2008.
60. RUBENSTEIN, A. H.; CLARK, J. L.; MELANI, F.; STEINER, D. F. Secretion of proinsulin C-Peptide by pancreatic β cells and its circulation in blood. *Nature*, v. 224, n. 5220, p. 697-699, 1969.
61. SAMNEGARD, B.; JACOBSON, S. H.; JAREMKO, G.; JOHANSSON, B. L.; SJÖQUIST, M. Effects of C-Peptide on glomerular and renal size and renal function in diabetic rats. *Kidney Int*, v. 60, n. 4, p. 1258-65, 2001.
62. SAMNEGARD, B.; JACOBSON, S. H.; JOHANSSON, B. L.; *et al.* C-Peptide and captopril are equally effective in lowering glomerular hyperfiltration in diabetic rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 19, n. 6, p. 1385-1391, 2004.
63. SAMNEGÅRD, B.; JACOBSON, S. H.; JAREMKO, G.; *et al.* C-Peptide prevents glomerular hypertrophy and mesangial matrix expansion in diabetic rats. *Nephrol Dial Transplant*, v. 20, n. 3, p. 532-8, 2005.
64. SARI, R.; BALCI, M. K. Relationship between C-Peptide and chronic

- complications in type-2 diabetes mellitus. *Journal of the National Medical Association*, v. 97, n. 8, p. 1113-8, 2005.
65. SCHMIDT, M. I.; DUNCAN, B. B.; SILVA, G. A.; MENEZES, A. M.; MONTEIRO, C. A.; BARRETO, S. M.; CHOR, D.; MENEZES, P. R. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *The Lancet*, v. 377, n. 9781, p. 1949-61, 2011.
 66. SIMA, A. A.; ZHANG, W.; SUGIMOTO, K.; *et al.* C-Peptide prevents and improves chronic Type I diabetic polyneuropathy in the BB/Wor rat. *Diabetologia*, v. 44, n. 7, p. 889-97, 2001.
 67. Siervo M, Horta BL, Stephan BC, Victora CG, Wells JC. First-borns carry a higher metabolic risk in early adulthood: evidence from a prospective cohort study. *PLoS One*. 2010;5(11):e13907
 68. STEINER, D. F.; CUNNINGHAM, D.; SPIGELMAN, L.; ATEN, B. Insulin Biosynthesis: Evidence for a Precursor. *Science*, v. 157, n. 3789, p. 697-700, 1967.
 69. STEINER, G. B.; TAGER, H. S. Chemistry and biosynthesis of pancreatic protein hormones. *Endocrinology*, pp. 1296-1328, 1995.
 70. STRONG, K. *et al.* Preventing chronic diseases: how many lives can we save? *Lancet*, v. 4, n. 366(9496), p. 1578-1782, 2005.
 71. VASIC, D.; MARX, N.; SUKHOVA, G.; BACH, H.; DURST, R.; GRUB, M.; *et al.* C-Peptide promotes lesion development in a mouse model of arteriosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 16, n. 4, p. 927-35, 2012.
 72. VASIC, D.; WALCHER, D. C-peptide: a new mediator of atherosclerosis in diabetes. *Mediators of Inflammation*, v. 2012, p. 1-8, 2012.
 73. VICTORA, C. G.; BARROS, F. C. Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *The International Journal of Epidemiology*, v. 35, n. 2, p. 237-242, 2006.
 74. VON ECKARDSTEIN, A.; FISCHER, F.; SCHULTE, H.; TATARU, M.; KOHLER, E.; ASSMANN, G. Association of serum apolipoprotein A-I (but not high-density lipoprotein cholesterol) with healed myocardial infarction in men independent of serum insulin and C-peptide. *The American*

- journal of cardiology, v. 88, n. 7, p. 723-6, 2001.
75. WAHREN J. C-peptide: new findings and therapeutic implications in diabetes. Clin Physiol Funct Imaging, v. 24, n. 4, p. 180-9, 2004.
 76. WAHREN, J.; EKBERG, K.; SAMNEGÅRD, B.; JOHANSSON, B. L. C-peptide: a new potential in the treatment of diabetic nephropathy. Curr Diab Rep, v. 1, n. 3, p. 261-6, 2001.
 77. WAHREN, J.; SHAFQAT, J.; JOHANSSON, J.; CHIBALIN, A.; EKBERG, K.; JÖRNVALL, H. Molecular and cellular effects of C-Peptide- new perspectives on an old peptide. Experimental Diabetes Research, v. 5, n. 1, p. 15-23, 2004.
 78. WALCHER, D.; ALEKSIC, M.; JERG, V.; HOMBACH, V.; ZIESKE, A.; HOMMA, S.; *et al.* C-Peptide induces chemotaxis of human CD4-positive cells- involvement of pertussis toxin-sensitive G-proteins and phosphoinositide 3-kinase. Diabetes, v. 53, n. 7, p. 1664-70, 2004.
 79. WALCHER, D.; BABIAK, C.; POLETEK, P.; ROSENKRANZ, S.; BACH, H.; BETZ, S.; *et al.* C-Peptide induces vascular smooth muscle cell proliferation involvement of SRC-kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and extracellular signal-regulated kinase 1/2. Circulation Research, v. 99, n. 11, p. 1181-7, 2006.
 80. WALCHER, D.; MARX, N. Advanced glycation end products and C-peptide-modulators in diabetic vasculopathy and atherogenesis. Seminars Immunopathology, v. 31, n. 1, p. 103-11, 2009.
 81. WANG, L.; LOVEJOY, N. F.; FAUSTMAN, D. L. Persistence of prolonged C-Peptide production in type1 diabetes as measured with an ultrasensitive C-Peptide assay. Diabetes Care, v. 35, n. 3, p. 465-70, 2012.
 82. WILLIAMS, R. L.; CREASY, R. K.; CUNNINGHAM, C. G.; HAWES, W. E.; NORRIS, F. D.; TACHIRO, M. Fetal growth and perinatal viability in California. Obstet Gynecol., v. 59, n.5, p. 624-32, 1982.
 83. ZHONG, Z.; KOTOVA, O.; DAVIDESCU, A.; *et al.* C-Peptide stimulates Na⁺, K⁺-ATPase via activation of ERK1/2 MAP kinases in human renal tubular cells. Cellular

84. SUZUKI Y, OKA Y, TANIYAMA M, MURATA C, ATSUMI Y, MATSUOKA K. A case of type 2 diabetes with high levels of plasma and urinary C-peptide. *Diabetes Res Clin Pract.* 2004;66 Suppl 1:S125-8.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS

Figura 1	Mortalidade proporcional segundo grupo de causas no Brasil, no período de 1996 a 2012.....	08
Figura 2	Modelo esquemático sequencial do papel do Pep-C na aterogênese.....	10
Figura 3	Fluxograma da busca de artigos sobre as condições precoces e o Pep-C.....	11
Figura 4	Fluxograma da busca de artigos sobre as condições precoces e o Pep-C.....	15
Figura 5	Modelo teórico proposto para avaliar os níveis séricos do PEP-C e condições associadas ao ciclo de vida.....	16
Quadro 1	Descrição dos artigos selecionados na revisão da literatura da relação do Pep-C com o risco cardiovascular.....	20
Quadro 2	Visitas de acompanhamento da Coorte de Nascimentos de Pelotas – RS, 1982.....	27
Quadro 3	Descrição das variáveis de exposição relacionadas à gestação, nascimento e primeiro ano de vida.....	29
Quadro 4	Descrição das variáveis do componente do risco cardiovascular.....	33
Quadro 5	Descrição das covariáveis da relação do Pep-C com os fatores de risco cardiovascular.....	33
Tabela 1	Estimativa de poder da amostra para a relação entre o Pep-C e fatores de risco.....	35
Tabela 2	Programação das atividades a serem conduzidas nos anos de 2015-2016.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APO A	Apolipoproteína A
APO B	Apolipoproteína B
AVE	Acidente Vascular Encefálico
β	Coeficiente de Regressão
DAC	Doença Aterosclerótica Coronariana
DM-I	Diabetes Mellitus Tipo I
DM-II	Diabetes Mellitus Tipo II
DNT	Doenças Não Transmissíveis
DP	Desvio padrão
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HBA	Hemoglobina A
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HZ	Hazard Ratio
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NHANES III	Third Nutrition and Health Examination Survey
p	Valor de p
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PEP-C	Peptídeo-C
r	Coeficiente de correlação
RO	Razão de chances
SM	Síndrome Metabólica
$t^{1/2}$	Meia vida
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
μ	Média

MODIFICAÇÕES NO PROJETO ORIGINAL

Nesta seção, são detalhadas as mudanças realizadas em cada artigo proposto no projeto original ao longo do desenvolvimento da pesquisa.

ARTIGO 1

Título proposto: Condições da gestação, nascimento e infância associada ao Peptídeo-C em adultos jovens da Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.

Titulo desenvolvido: Conditions of gestation, childbirth and childhood associated with C

Peptidein young adults in the 1982 Birth Cohort in Pelotas-RS; Brazil

Este artigo foi inicialmente proposto com a finalidade de identificar possíveis condições precoces durante gestação parto e nascimento que estivessem associados ao Peptídeo-C na idade adulta a partir da coorte de nascimentos de Pelotas de 1982 (análise principal). Além disso, pretendia-se realizar análises complementares para avaliar a potencial interação de diferentes condições e fatores inter-relacionados para avaliar a possível mediação da associação entre condições de comorbidade durante a gestação e os níveis sérios da molécula na idade adulta. Na versão desenvolvida detivemos como objetivo a identificação das condições precoces associadas ao Peptídeo-C em adultos jovens aos 23 anos.

ARTIGO 2:

Título proposto: Peptídeo-C e fatores metabólicos do risco cardiovascular em adultos jovens da Coorte de Nascimentos de 1982, Pelotas; RS.

Título desenvolvido: C-Peptide and cardiovascular risk factors among young adults in a southern Brazilian cohort

Esse artigo pretendia-se investigar a associação entre os níveis séricos do Pep-C com fatores metabólicos do risco cardiovascular nos participantes da Coorte de Nascimento de 1982, Pelotas, RS, Brasil. No que tange aos fatores metabólicos associados ao nível sérico do Pep-C foram investigados, glicemia, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicerídeos, hemoglobina glicosilada, proteína-C reativa sendo ainda acrescentados os componentes hemodinâmicos da pressão arterial e as características antropométricas da circunferência abdominal e do IMC.

ARTIGO 3:

Título proposto: Revisão sistemática: Peptídeo-C associado a condições de risco cardiovascular em adultos jovens.

Título desenvolvido: C-Peptide and cardiovascular risk: Systematic review and Meta-Analysis.

Pretendia-se realizar uma revisão sistemática acerca das evidências do Peptídeo-C e o risco cardiovascular. Alcançou-se a realização de meta-análise da exposição dos níveis séricos do Peptídeo-C e a mortalidade cardiovascular e geral

RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO

RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO

Universidade Federal de Pelotas

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia

Doutorando

ROMILDO LUIZ MONTEIRO ANDRADE,

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o período de desenvolvimento das tarefas do estágio de campo, compreendendo os anos de 2014-2015, foram realizados os estágios presenciais na cidade de Pelotas no Centro de Pesquisa Amílcar Gigante-CPE; UFPEL.

No período de março a junho de 2014 e março a junho de 2015, foram desenvolvidas as atividades acadêmicas e as atividades de pesquisa vinculadas ao programa de pós-graduação em Epidemiologia.

As atividades acadêmicas consistiram do cumprimento das disciplinas do programa que se encontram listadas na tabela I (anexo I).

Informo que foram desempenhadas tarefas outras inerentes ao programa de pós-graduação em epidemiologia tais como:

- Realizada apresentação com a aprovação do projeto de qualificação. Dez/2014
- Cumpridas as atividades de campo junto à nova coorte/2015 em desenvolvimento CPE-UFPEL com acompanhamento e monitoramento dos nascimentos ocorrido no período no ano de 2015. Supervisão dos registros nos hospitais participantes. (Anexo II)
- Realizado o estágio docência orientado-EDO com o acompanhamento das atividades os alunos do curso de graduação em medicina, nas aulas de estudo dirigido em Epidemiologia (anexo III)

Outras atividades desempenhadas tiveram por base o cumprimento de disciplinas optativas de outros centros de formação acadêmica:

- Curso de Atualização em Análise de Regressão Múltipla do Programa de Verão da USP-2014.

TAREFA DE CONTROLE DE QUALIDADE

Seguindo orientação de que o andamento das tarefas do projeto de pesquisa da coorte de 2015 seja acompanhado dos relatórios contendo a atividades desenvolvidas nas tarefas de campo procedeu-se a elaboração do presente.

Identificação da tarefa: Checagem dos bancos de dados do Perinatal e Pré-natal.

Objetivo: Verificar possíveis casos do acompanhamento perinatal que não dispunham de identificação do respectivo cartão SUS e CPF na investigação pré-natal.

Métodos: Procedeu-se a checagem automatizada com auxílio do desempenho de comandos macros do EXCEL seguido de posterior checagem individual dos bancos a fim de identificar possíveis falhas nas buscas automatizadas como variações de nomes e/ou erros de digitação que pudessem comprometer a identificação nos bancos pesquisados.

Foram identificados 14 participantes comuns aos bancos do Perinatal presentes no banco pré-natal tais listas identificadas contribuíram para o controle de qualidade dos participantes e seus familiares. Por questões éticas fundadas nos princípios de sigilo os participantes identificados na busca automatizada como mesmo nome têm nomes de mães diferentes e as demais informações têm seus demais campos coincidentes não foram divulgados.

Relatório de Avaliação do Estágio Docência Orientado

1. Objetividade e organização (plano e cumprimento):

Nas atividades do estágio de Docência Orientado, buscamos nos inserir nas atividades em andamento de forma a não assegurar a continuidade das mesmas.

As atividades desenvolvidas consistiram em:

- 1- Seleção de trabalhos científicos a serem abordados nas aulas de estudo dirigido
- 2- Elaboração dos exercícios de estudo dirigido em dupla com os demais doutorandos: Garry Joseph, Andrea Wendt Bohm e Elma Izze da Silva Magalhães.
- 3- Participação na aula de estudo dirigido para graduação do curso da faculdade de medicina com orientação colaborando na resolução dos exercícios com a supervisão da prof^a Andréa Homsí Dâmaso
- 4- Correção e revisão das respostas em duplas com os coautores dos trabalhos: Garry Joseph, Andrea Wendt Bohm e Elma Izze da Silva Magalhães.
- 5- Orientação para elaboração do trabalho do grupo de Hipertensão Arterial no RS em companhia de Garry Joseph: com tabulação dos dados no Stata e disponibilização ao grupo na própria plataforma Moodle.
- 6- Com intuito de contribuir com o estágio propriamente dito promovi a circulação de temas abordados nas provas de residência médica sugerindo explorar temas povoados nas mesmas no sentido de despertar interesse por parte dos estudantes através de mails encaminhados as Prof^{as} Andréa Homsí Dâmaso e a Elaine Tomasi.

Relação Ensino-Aprendizado

Estivemos atentos as solicitações e orientações da Prof^a Andreia no sentido de adequar as questões do estudo dirigido ao conteúdo ministrado nas aulas teóricas.

Buscamos colaborar na condução dos trabalhos de forma respeitosa estimulando o raciocínio e o pensamento crítico junto aos estudantes.

Fui assíduo com os compromissos das aulas e pontual em minha presença

Aproveitamento do estágio

Busquei exercitar a prática de ensino estimulando ao exercício do pensamento crítico considerando os fundamentos epidemiológicos básicos e o estágio de aprendizado que se encontram os alunos da graduação.

A forma de produção de tarefas (elaboração dos exercícios de estudo dirigidos) a meu ver propicia pouca integração entre professor e doutorando. Ainda assim estivemos em contato frequente por via eletrônica e pessoalmente nos períodos de aula.

ARTIGOS

ARTIGO 1

Conditions of gestation, childbirth and childhood associated with C-Peptide in young adults in the 1982 Birth Cohort in Pelotas-RS; Brazil

Romildo Luiz Monteiro Andrade^{1,2}- rlmandrade@hotmail.com

Denise Pertuce Gigante² - denisepgigante@gmail.com

Isabel Oliveira de Oliveira²- isabel.ufpel@gmail.com

Bernardo Lessa Horta²- blhorta@gmail.com

1. Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES); Av. Mal. Campos, 1355 - Santa Cecília, Vitória - ES, Brasil. 29043-260
2. Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL). Centro de Epidemiologia Dr. Amilcar Gigante, R. Mal. Deodoro, 1160 - Centro, Pelotas - RS, Brasil. 96020-220

ABSTRACT

Background: The connecting peptide in insulin has been associated with cardiovascular risk and overall mortality in the adult population. However, its early determinants are unknown. **Objective:** Assess the association of exposures during pregnancy, delivery, and childhood with C-Peptide among 22-23 years old individuals prospectively followed since birth, in a southern Brazilian city. **Methods:** In 1982, all hospital births in the city were identified and those livebirths whose families lived in the urban area were evaluated (n=5914). The 1982 Pelotas Birth Cohort was prospectively followed these subjects at different moments. In this study, we evaluated the association of C-Peptide with exposures occurring during pregnancy, delivery and childhood. In the 22-23 years follow-up visit, we tried to follow the whole cohort and the subjects were interviewed, examined and donated a blood sample. C-Peptide was measured using the chemiluminescence immunoassay technique (Immulite®–Siemens, Germany). **Results:** In the 22-23 years visit, 4297 subjects were interviewed and the C-Peptide was measured in 3807. The geometric mean of C-Peptide was 0.83 ng/mL and the mean was higher among women. In the adjusted analysis, C-Peptide was positively associated with family income at birth, lower among children of non-white mothers (0.90; CI95% 0.84-0.96), higher among females (1.22; CI95% 1.16-1.28), and positively associated with rapid weight gain between two and four years of age (1.18; CI95% 1.05-1.32). **Conclusion:** Family income at birth, non-white maternal skin color, and rapid weight gain between two and four years of age were associated with high levels of C-Peptide.

Sort title: C-Peptide in Young Adults

Keywords: Pregnancy; Parturition; Growth; C-Peptide; Young Adults.

Introduction

In 2012, cardiovascular diseases were the main cause of death worldwide¹, accounting for 17.5 million deaths or 46.2% of the deaths due to non-communicable diseases^{2,3}. It is estimated that, by 2020, the higher prevalence of risk factors, such as obesity, diabetes, and dyslipidemia⁴ will lead to an increase in ischemic heart disease by up to 30% among women and 60% among men in high-income countries and by 120% and 137% in mid-and low-income countries, respectively⁵.

Secreted by β -cells from isles of Langerhans, the connecting peptide, called C-Peptide, is released at equimolar amounts as insulin⁶. It was initially considered an inert substance in the pro-insulin molecular chain. But, evidence suggests that C-Peptide may play a role at the cell-membrane level, including the endothelium and kidney cells⁷⁻¹⁰.

Vasic et al. pointed that the C-Peptide would have pro-inflammatory effects on different tissues, such as blood vessels and kidney glomeruli¹¹. Moreover, Ronnema et al. found that coronary artery disease in insulin-dependent diabetics was associated with high C-Peptide levels (≥ 0.20 nmol/L) compared with non-diabetics¹². Donatelli et al. reported higher C-Peptide levels among obese hypertensive diabetics compared to obese and obese-hypertensive individuals¹³. Cabrera de Leon et al. reported that among persons with insulin resistance, C-Peptide would be positively associated with the risk of myocardial infarction (RR 2.8; CI95% 1.1–6.9) and coronary artery disease (RR 2.4; CI95% 1.3–4.6)¹⁴. These studies have not been able to evaluate whether

C-Peptide is a marker of insulin resistance or an independent cardiovascular risk factor.

Studies on life cycle epidemiology have reported that exposures during gestation or in the first years of life would be associated with human capital and the development of non-communicable chronic diseases in adulthood¹⁵⁻²⁰. To our knowledge, the association of early exposures with C-Peptide has not been evaluated. The present study was aimed at assessing the association of exposures during pregnancy, delivery, and childhood with C-Peptide among 22-23 years old individuals who have been prospectively followed since birth, in a southern Brazilian city.

Methods

In 1982, the maternity hospitals in Pelotas, RS, Brazil, were visited daily and all births were identified. The live births whose families lived in the urban area of the city (n=5914) were examined and their mothers interviewed. The 1982 Pelotas Birth Cohort was prospectively followed these individuals at different ages^{21,22}. Between October 2004 and August 2005, an attempt was made to follow all cohort members, who were interviewed at home and invited to visit the laboratory for collection of blood samples. In the present study, we included all subjects who donated a blood sample.

The association of the following exposures related to gestation, delivery, and childhood with the outcome (C-Peptide at 22-23 years) was evaluated:

- family income at birth in multiples of minimum wage;
- maternal education at birth in completed years of schooling;
- sex;

- maternal age at birth;
- maternal skin color;
- maternal weight gain during pregnancy (estimated from the pregestational weight and weight at childbirth), categorized as adequate or inadequate according to the parameters of the Institute of Medicine²³;
- maternal smoking during pregnancy;
- maternal morbidity during pregnancy (gestational diabetes and hypertension);
- type of delivery (vaginal and cesarean section);
- birthweight, measured by the hospital staff with pediatric scales calibrated weekly by the research team;
- breastfeeding duration, assessed in the visits at two and four years of age. The present study used the information closest to the age at weaning;
- weight gain rate between 0-2 and 2-4 years old, assessed based on changes in weight for age Z-score. An increase equal to or above 0.67 standards deviations (SD) was employed to define the occurrence of rapid weight gain²⁴.

C-Peptide was measured using the chemiluminescence immunoassay technique (Immulin®—Siemens, Germany)^{25,26}.

The statistical analysis was performed in the software Stata version 13.1. Since the C-Peptide distribution was asymmetrical, the variable was transformed into logarithm and the geometric mean was obtained from the inverse transformation of its logarithm. The multiple linear regression followed a conceptual model with five hierarchical levels. The **first level** features the sociodemographic variables: family income, maternal education, maternal age,

maternal skin color, and sex. The **second level** included maternal smoking and weight gain during pregnancy, the **third level** included the occurrence of diabetes and hypertension during pregnancy, and the **fourth level** included the variables related to delivery and birth conditions, type of delivery, birthweight, and intrauterine growth restriction. The **fifth level** included weight gain between birth and two years and between two and four years of age. At each hierarchical level, backward selection was carried out and the variables with $p < 0.20$ were maintained in the model. As the blood samples were collected at random and because the time of fasting is associated with C-Peptide, all analyses were adjusted to time of fasting of each participant. Later, residual analyses were performed in order to check for normality, homoscedasticity, and independence of terms.

The study was approved by the Research Ethics Committee of the Medical School of the Federal University of Pelotas (UFPel) under protocol no. OF. 16/12 and the interviews and blood collections were carried out after the participants provided written consent.

Results

In the 2004-5 visit, 4297 individuals were interviewed, which added to the 282 deaths identified among the participants of the cohort, represented a follow-up rate of 77.4% of the original cohort. C-Peptide was assessed in 3807 subjects. Table 1 describes the population studied according to its socioeconomic characteristics and conditions related to gestation and childhood, 50.4% of the families earned between 1.1 and 3.0 minimum wage, 43.3% of the mothers had between five and eight years of schooling, 82% reported being white, 35% smoked during pregnancy, 0.3% had diabetes and

5.4% had hypertension during pregnancy. With respect to birthweight, 7% were low birthweight. About one third of the participants had rapid weight gain in the first two years of life and 5%, between two and four years of age.

Table 2 shows the geometric mean of C-Peptide according to the exposure variables. Because sex did not modify the associations, the analyses were not stratified by sex. The geometric mean of C-Peptide was positively associated with family income ($p < 0.001$). Regarding maternal education, the mean C-Peptide values increased until the group with nine to 11 years of schooling (0.89; CI95% 0.83-0.96) and was lower among the children of non-white mothers (0.73; CI95% 0.69-0.77).

Table 3 shows the adjusted analyses. In the first hierarchical level, family income at birth, skin color and sex remained in the model. Family income was positively associated with C-peptide. Children of non-white mothers had lower C-peptide levels (0.90; CI95% 0.84-0.96), while females had higher C-Peptide mean (1.22; CI95% 1.16-1.28).

The variables in the second (maternal smoking and maternal weight gain during pregnancy), third (maternal diabetes and hypertension during pregnancy), and fourth (type of delivery, intrauterine growth restriction, birthweight) levels did not reach the significance level ($p < 0.20$) to remain in the model. After adjusting for the variables at a higher hierarchical level, rapid weight gain between two and four years was positively associated with C-Peptide (1.18; CI95% 1.05-1.32), while birthweight and weight gain in the first two years of life were not associated with C-Peptide (Figure1).

Discussion

In a cohort followed since birth in a southern Brazilian city, family income at birth was directly associated with C-Peptide at 22-23 years of age. C-Peptide was also higher among women, and children of white mothers. Rapid weight gain between two and four years of age was also positively associated with serum C-Peptide levels, while birthweight and weight gain in the first two years of life were not associated.

It stands out as the strength of our work that given the long follow-up, the low percentages of losses of follow-up, and the fact there were no great differences in the follow-up rates according to socioeconomic status or gestation and birth characteristics, selection bias is unlikely (Table S1). Moreover, the information on the exposures was collected in childhood, close to the events, reducing the possibility of classification error and non-differential classification.

With respect to the limitations, C-Peptide was measured in randomly collected blood samples. In order to avoid an association between fasting time and the exposures of interest from introducing bias into the measures of association, the analyses were adjusted for fasting time.

C-Peptide levels were positively associated with family income at birth, suggesting that exposure to higher socioeconomic level during gestation is related to higher C-Peptide levels in adulthood. This association can be explained by differences in exposure to contemporary risk factors, such as diet. Another study on this same cohort observed that the consumption of ultra-processed foods was higher among individuals with higher socioeconomic level, which, in turn, would be associated with higher risk of obesity²⁷. Berg found

higher values of C-Peptide ($\beta = 0.07$; 95% CI 0.04 - 0.09) among 5-6 years of age children whose mother had low schoolings²⁸.

The children of non-white mothers had lower C-Peptide levels. Such findings may derive from the lower socioeconomic level among non-white individuals²⁹. Aiming to investigate the possibility of confounding by income in the association between maternal skin color and C-peptide, the analyses were adjusted for family income. However, even after adjustment for socioeconomic status, C-Peptide levels were lower among the children of non-white mothers (0.90; CI95% 0.85-0.96), which suggests that skin color, independently of family income, influence C-Peptide levels.

Women had higher C-Peptide means in adulthood, contrasting with findings of Li et al., who reported similar means between the sexes³⁰ and Min et al. who found higher values among men³¹.

Rapid weight gain between two and four years of age was associated with higher serum C-Peptide levels in adulthood. A study on the same cohort showed that rapid weight gain in the first years of life reduced morbidity-mortality among small-for-the-gestational-age (SGA) children³². On the other hand, other authors have reported that rapid growth may increase the risk of developing cardiometabolic diseases in adulthood³⁴⁻³⁵. However, a study based on data from five cohorts in developing countries observed that the relative weight gain in the first four years of life was associated with higher risk of overweight and high blood pressure in adulthood, but not with glycemia³⁶. This association of obesity with later weight gain could be a possible mechanism for the relationship between rapid weight later in childhood and c-peptide. The present findings, however, indicate that early growth would not be associated

with C-Peptide in adulthood, while rapid growth between two and four years old would increase C-Peptide at 22-23 years old, which suggests that rapid weight gain in late childhood would impact the glucose-insulin metabolism in adulthood.

In regard of glycemic homeostasis and its determinants, especially in low- and middle-income countries, we detect an existence of an inverse relationship between morbidity and mortality indicators and socioeconomic conditions such as schooling and income³⁷⁻³⁹. Regarding to the biological components, it is known the condition of greater age determines lower limits of sensitivity of insulin and consequent increase of the own resistance⁴⁰. In our study, the findings point to an inverse condition that we postulate that the income condition would favor greater access to processed foods, which in turn would favor obesity and insulin resistance. Regarding the conditions and age and insulin sensitivity, we found conditions of insulin resistance already manifest which Pep-C in the age of young adults at 23 years.

Conclusion

The present study suggests that family income, children of white mothers, and those who had rapid weight gain between the 2 and 4 years of age had higher serum C-Peptide levels at 22-23 years old. But given the scarcity of studies on these subject further studies are needed.

References

1. World Health Organization. Noncommunicable diseases progress monitor, 2015. Geneva: WHO; 2015. ISBN 978 92 4 150945 9.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/184688/1/9789241509459_eng.pdf. Accessed 12 Set 2016.
2. World Health Organization. Noncommunicable diseases country profile 2014. Geneva: WHO; 2014. ISBN 978 92 4 150750 9.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/128038/1/9789241507509_eng.pdf?ua=1. Accessed 12 Set 2016.
3. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva: WHO; 2014. ISBN 978 92 4 156485 4.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf. Accessed 12 Set 2016.
4. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001 Nov 27;104(22):2746:53. PMID: 11723030.
<http://circ.ahajournals.org/content/104/22/2746.long>. Accessed 12 Set 2016.
5. Avezum A, Maia LN, Nakazone M. Cenário das doenças cardiovasculares no mundo moderno. In: Timerman A, Bertolami MC, Ferreira JFM. Manual de cardiologia. São Paulo: Atheneu; 2012. p. 1-5.
http://www.manualdecardiologia.com.br/cap.1-de-MANUAL_CARDIOLOGIA_TIMERMAN.pdf. Accessed 12 Set 2016.
6. Steiner DF, Cunningham D, Spigelman L, et al. Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science*. 1967;157(3789):697-700. CMAJ 185(9):E402–408.
<http://science.sciencemag.org/content/157/3789/697.long>
7. Marques RG, Fontaine MJ, Rogers J. C-peptide: much more than a byproduct of insulin biosynthesis. *Pancreas*. 2004;29(3):231-8. PMID:15367890

8. Wahren J, Ekberg K, Jornvall H. C-Peptide is a bioactive peptide. *Diabetologia*. 2007;50(3):503-9. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00125-006-0559-y>
9. Marx N. C-Peptide as a mediator of lesion development in early diabetes: a novel hypothesis. *Trends Cardiovasc Med*. 2007;18(2):67-71. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050173808000030>
10. Walcher D, Nikolaus M. C-Peptide in the vessel wall. *Rev Diabet Stud*. 2009;6(3):180-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2827270/>
11. Vasic D, Marx N, Sukhova G, et al. C-Peptide promotes lesion development in a mouse model of arteriosclerosis. *J Cell Mol Med*. 2012;16(4):927-35. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3822861/>
12. Ronnema T, Laakso M, Puukka P, et al. Atherosclerotic vascular disease in middle-aged, insulin-treated, diabetic patients. Association with endogenous insulin secretion capacity. *Arteriosclerosis*. 1988;8(3):237-44. <http://atvb.ahajournals.org/content/8/3/237>
13. Donatelli M, Scarpinato A, Bucalo ML, et al. Stepwise increase in plasma insulin and C-Peptide concentrations in obese, in obese hypertensive, and in obese hypertensive diabetic subjects. *Diabetes Res*. 1991;17(3):125-9. <http://europepmc.org/abstract/med/1841027>. Accessed 12 Set 2016.
14. Cabrera De Leon A, Oliva Garcia JG, Marcelino Rodriguez I, et al. C-Peptide as a risk factor of coronary artery disease in the general population. *Diab Vasc Dis Res*. 2015;12(3):199-207. http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1479164114564900?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed
15. Victora CG, Horta BL, Loret de Mola C, Quevedo L, Pinheiro RT, Gigante DP, et al. Association between breastfeeding and intelligence, educational attainment, and income at 30 years of age: a prospective birth cohort study from Brazil. *Lancet Glob Health*. 2015;3(4):e199-205 [http://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(15\)70002-1/abstract](http://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(15)70002-1/abstract)
16. Da Silveira VMF, Horta BL. Birth weight and metabolic syndrome in adults: meta-analysis. *Rev Saude Publica*. 2008;42(1):10-18. <http://www.revistas.usp.br/rsp/article/view/32375/34581>. Accessed 12 Set 2016.

17. Restrepo MC, Horta BL, Gigante DP. Perfil lipídico na adolescência: efeito de exposições intra-uterinas. *Cadernos Saude Publica*. 2009; 25(11):2345-53.
<http://www.scielo.br/pdf/csp/v25n11/05.pdf>
18. Parlee SD, MacDougald OA. Maternal nutrition and risk of obesity in offspring: the trojan horse of developmental plasticity. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(3):495-506.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3855628/>
19. Adair LS, Fall CH, Osmond C, et al. Associations of linear growth and relative weight gain during early life with adult health and human capital in countries of low and middle income: findings from five birth cohort studies. *Lancet*. 2013;382(9891):525-534.
[http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(13\)60103-8/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(13)60103-8/abstract)
20. Ong KKL, Ahmed ML, Emmertt PM, Preece MA, Dunger DB. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *BMJ*. 2000; 320: 967-71.
<http://www.bmj.com/content/320/7240/967>
21. Barros FC, Victora CG, Horta BL, et al. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. *Rev Saude Publica*. 008;42(Supl2):7-15. http://www.scielo.br/pdf/rsp/v42s2/en_7000.pdf. Accessed 12 Set 2016.
22. Victora CG, Barros FC. Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol*. 2006;35(2):237-42.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18420730>. Accessed 12 Set 2016.
23. Institute of Medicine. Nutrition during pregnancy. Washington: National Academy Press, 1990. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK235235/>. Accessed 12 Set 2016.
24. De Onis M, Onyango AW. WHO child growth standards. *Lancet*. 08;371(9608):204. [http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736\(08\)60131-2.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736(08)60131-2.pdf). Accessed 12 Set 2016.
25. C-Peptide assay Specifications; Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd LL 55 4EL United Kingdom, www.siemens.com/diagnostics.
http://labmed.ucsf.edu/labmanual/db/resource/proc-Centaur_C-Peptide_Rev_F.pdf. Accessed 12 Set 2016.

26. Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, et al. Standardization of C-Peptide measurements. *Clin Chem*. 2008;54(6):1023-6.
27. Bielemann RM, Motta JS, Minten G, et al. Consumption of ultra-processed foods and their impact on the diet of young adults. *Rev Saúde Publica*. 2015;49(28):1-10. <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v49/0034-8910-rsp-S0034-89102015049005572.pdf>. Accessed 12 Set 2016.
28. van den Berg G, van Eijdsen M, Vrijkotte TG, Gemke RJ. Socioeconomic inequalities in lipid and glucose metabolism in early childhood in a population-based cohort: the ABCD-Study. *BMC Public Health*. 2012 Aug 1; 12:591. doi: 10.1186/1471-2458-12-591. PubMed PMID: 22852830; PubMed Central PMCID: PMC3490773. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/22852830/>
29. Araujo EM, Costa MCN, Hoga VK, et al. A utilização da variável raça/cor em saúde pública: possibilidades e limites. *Interface (Botucatu)*. 2009;13(31):383-94. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-32832009000400012
30. Li Y, Li Y, Meng L, Zheng L. Association between serum C-Peptide as a risk factor for cardiovascular disease and high-density lipoprotein cholesterol levels in nondiabetic individuals. *PLoS One*. 2015;10(1): e112281.
31. Min J, Min K. Serum C-Peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*. 2013;185(9): E402-E408. doi:10.1503/cmaj.121950. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4283961/>
32. Victora CG, Barros FC, Horta BL, et al. Short-term benefits of catch-up growth for small-for-gestational-age infants. *Int J Epidemiol*. 2001;30(6):1325-30. <https://academic.oup.com/ije/article/30/6/1325/651783/Short-term-benefits-of-catch-up-growth-for-small>
33. Boersma B, Wit JM. Catch-up growth. *Endocr Rev*. 1997;18(5):646-61. <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/edrv.18.5.0313>
34. Dulloo AG, Jacquet J, Seydoux J, et al. The thrifty 'catch-up fat' phenotype: its impact on insulin sensitivity during growth trajectories to obesity and metabolic syndrome. *Int J Obes (London)*. 2006; 30(Suppl4): S23–S35. <http://www.nature.com/ijo/journal/v30/n4s/full/0803516a.html>

35. Wells JCK, Dumith SC, Ekelund U, et al. Associations of intrauterine and postnatal weight and length gains with adolescent body composition: prospective birth cohort study from Brazil. *J Adolesc Health*. 2012;51(Suppl6), S58-S64.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3508414/>
36. Ekelund U, Ong K, Linné Y, Neovius M, Brage S, Dunger DB, et al. Upward weight percentile crossing in infancy and early childhood independently predicts fat mass in young adults: the Stockholm Weight Development Study (SWEDES). *Am J Clin Nutr*. 2006; 83: 324-30.
<http://ajcn.nutrition.org/content/83/2/324.long>. Accessed 12 Set 2016.

Table 1. Participants' characteristics

Variables studied	Study participants	
	n	%
Sociodemographic conditions		
Income (multiples of minimum wage)		
<1	769	20.3
1.1-3.0	1,908	50.4
3.1-6.0	714	18.8
>6.0	39	10.5
Mother's education (years)		
0-4	1,266	33.3
5-8	1,645	43.3
9-11	410	10.7
≥ 12	481	12.7
Gestation conditions		
Mother's age (years)		
< 20	549	27.9
20-29	2,213	48.9
≥ 30	1,045	23.2
Mother's skin color		

White	3,114	81.8
Non-white	692	18.2
Maternal smoking		
Yes	1,347	35.4
No	2,460	64.6
Maternal diabetes		
Yes	13	0.3
No	3,794	99.7
Maternal hypertension		
Yes	216	5.4
No	3,588	94.6
Maternal weight gain		
Insufficient	960	29.8
Adequate	1,188	36.9
Excessive	1,070	33.3
Childbirth conditions		
Type of childbirth		
Vaginal	2,756	72.4
Cesarean section	1,051	27.6
Birthweight (grams)		
< 2,500	267	7.0
2,500-2,999	917	24.1
3,000-3,499	1,449	38.1
≥ 3,500	1,173	30.8
Intrauterine growth restriction		
AGA	2,590	85.2
SGA	448	14.8
Childhood conditions		
Breastfeeding (months)		
<1	801	21.8
1-2.9	958	26.0
3-5.9	834	22.6
≥ 6	1,091	29.6
Increased weight gain rate (0-2 years old)		
Yes	973	34.5
No	1,845	65.5
Increased weight gain rate (2-4 years old)		
Yes	157	4.8
No	3,104	95.2

SGA: Small for the gestational age; AGA: Adequate for the gestational age

Table 2. Geometric mean of C-peptide according to the exposure variables

Variables	C-peptide geometric mean	CI95%	p value
Sex			< 0.001
Male	0.76	0.73-0.78	
Female	1.19	1.13-1.25	
Income (multiples of minimum wage)			< 0.001*
< 1	0.76	0.72-0.80	
1.1-3.0	0.81	0.86-0.84	
3.1- 6.0	0.90	0.85-0.95	
> 6.0	0.88	0.81-0.95	
Mother's education (years)			0.024
0-4	0.79	0.76-0.82	
5-8	0.83	0.79-0.85	
9-11	0.89	0.83-0.96	
≥ 12	0.85	0.79-0.91	
Mother's age (years)			0.872
< 20	0.81	0.77-0.87	
20- 29	0.82	0.80-0.85	
≥ 30	0.83	0.80-0.87	
Mother's skin color			< 0.001

White	0.85	0.83-0.87	
Non-white	0.73	0.69-0.77	
Maternal smoking			0.925
Yes	0.83	0.79-0.86	
No	0.83	0.80-0.85	
Maternal diabetes			0.503
Yes	0.72	0.40-0.77	
No	0.83	0.81-0.85	
Maternal hypertension			0.909
Yes	0.83	0.75-0.91	
No	0.82	0.80-0.84	
Maternal weight gain during pregnancy			0.349
Insufficient	0.83	0.77-0.84	
Adequate	0.82	0.74-0.87	
Excessive	0.86	0.80-0.88	
Type of childbirth			0.616
Vaginal	0.82	0.80-0.84	
Cesarean section	0.83	0.79-0.87	
Birthweight (grams)			0.897
< 2,500	0.81	0.74-0.89	
2,500-2,999	0.82	0.78-0.86	
3,000-3,499	0.83	0.80-0.86	
≥ 3,500	0.82	0.78-0.85	
Intrauterine growth restriction			0.135
Yes	0.80	0.74-0.85	
No	0.84	0.81-0.86	
Breastfeeding (months)			0.557
< 1	0.81	0.76-0.85	
1-2.9	0.84	0.80-0.88	
3-5.9	0.81	0.77-0.85	
≥ 6	0.83	0.79-0.87	
Rapid growth (0-2 years old)			0.238
Yes	0.82	0.79-0.85	
No	0.85	0.81-0.89	
Increased weight gain rate (2-4 years old)			0.124
Yes	0.83	0.81-0.85	
No	0.91	0.80-1.03	

* Kruskal-Wallis.

Table 3. Analysis of the independent variables and C-peptide adjusted for fasting time

Hierarchical level	Variables	Analysis 1			Analysis 2		
		n	β	CI95%	n	β	CI95%
HL I	Income (multiples of minimum wage)	3,660			3139		
	< 1		1.00			1.00	
	1.1-3.0		1.04	0.98 1.10		1.03	0.96 1.09
	3.1- 6.0		1.14	1.06 1.23		1.12	1.03 1.22
	> 6.0		1.12	1.03 1.23		1.07	0.98 1.19
	Mother's education (years)	3,673					
	< 4		1.00				
	5-8		1.03	0.97 1.09			
	9-11		1.09	1.00 1.18			
	≥ 12		1.05	0.97 1.13			
	Mother's age (years)	3,678					
	< 20		1.00				
	20-29		1.00	0.93 1.07			
	≥ 30		1.01	0.94 1.09			
	Mother's skin color	3,677					
	White		1.00			1.00	
	Non-white		0.88	0.83 0.94		0.90	0.84 0.96

	Neonate sex	3,678						
	Male		1.00			1.00		
	Female		1.20	1.14	1.25	1.22	1.16	1.28
HL II	Maternal smoking	3,678						
	No		1.00					
	Yes		1.01	0.96	1.06			
	Maternal weight gain during pregnancy	3,109						
	Adequate		1.00					
	Insufficient		0.99	0.93	1.05			
	Excessive		1.02	0.96	1.09			
HL III	Maternal diabetes	3,678						
	No		1.00					
	Yes		0.84	0.57	1.24			
	Maternal hypertension	3,675						
	No		1.00					
	Yes		1.00	0.91	1.11			
HL IV	Type of childbirth	3,678						
	Vaginal		1.00					
	Cesarean section		1.01	0.96	1.06			
	Intrauterine growth restriction	3,678						
	No		1.00					
	Yes		0.98	0.91	1.06			
	Birthweight (grams)	3,677						
	< 2,500		1.00					
	2,500-2,999		0.99	0.90	1.10			
	3,000-3,499		0.99	0.91	1.10			
	≥ 3,500		0.97	0.88	1.07			
HL V	Breastfeeding (months)	3,560						
	< 1		1.00					
	1-2.9		1.02	0.95	1.09			
	3-5.9		0.99	0.92	1.08			
	≥ 6		1.03	0.97	1.10			
	Increased weight gain rate (0-2 years old)	2,718						
	No		1.00					
	Yes		1.04	0.98	1.10			
	Increased weight gain rate (2-4 years old)	3,152						
	No		1.00			1.00		
	Yes		1.13	1.01	1.27	1.18	1.05	1.32

Multiple linear regression. **Analysis 1:** independent variable; C-peptide and fasting time. **Analysis 2:** Hierarchical level I (HL I): adjusted for sociodemographic variables and fasting time; HL II to V: hierarchically adjusted for variables selected from the previous level and other variables of subsequent levels and fasting time.

Table S1. Characteristics of the participants in the 1982 cohort and sample of individuals analyzed in the study.

	Participants in 1982 n (%)	Study participants n (%)
Sociodemographic conditions		
Income (multiples of minimum wage) *	5,885	3,788
< 1	1,288 (21.9)	769 (20.3)
1.1-3.0	2,789 (47.4)	1,908 (50.4)
3.1-6.0	1,091 (18.5)	714 (18.80)
> 6.0	717 (12.2)	397 (10.5)
Mother's education (years)	5,907	3,802
0-4	1,960 (33.2)	1,266 (33.3)
5-8	2,454 (41.5)	1,645 (43.0)
9-11	654 (11.1)	410 (10.78)
≥ 12	839 (14.2)	481 (12.6)
Gestation conditions		
Mother's age (years)	4,254	3,807

< 20	912 (15.4)	549 (27.9)
20-29	3,342 (58.2)	2,213 (48.9)
≥ 30	1,559 (26.4)	1,045 (23.1)
Mother's skin color	5,911	3,804
White	4,851 (82.1)	3,114 (81.8)
Non-white	1,060 (17.9)	692 (18.2)
Maternal smoking	5,914	3,807
Yes	2,103 (35.6)	1,347 (35.4)
No	3,811 (64.4)	2,460 (64.6)
Maternal diabetes	5914	3,807
Yes	18 (0.3)	13 (0.3)
No	5,896 (99.7)	3,794 (99.7)
Maternal hypertension	5,910	4,010
Yes	315 (5.3)	216 (5.39)
No	5,595 (94.7)	3,794 (94.61)
Maternal weight gain†	4,976	3,218
Insufficient	1,787 (35.9)	960 (29.8)
Adequate	1,515 (30.5)	1,188 (36.9)
Excessive	1,674 (33.6)	1,070 (33.3)
Childbirth conditions		
Type of childbirth	5,914	3,807
Vaginal	4,282 (72.4)	2,756 (72.39)
Cesarean section	1,632 (27.6)	1,051 (27.61)
Birthweight (grams)	5,909	3,806
< 2,500	534 (9.0)	267 (7.0)
2,500-2,999	1,393 (23.6)	917 (24.1)
3,000-3,499	2,220 (37.6)	1,449 (38.1)
≥ 3,500	1,762 (29.8)	1,173 (30.8)
Intrauterine growth restriction‡	4,670	3,038
AGA	3,977 (67.2)	2,590 (68.0)
SGA	693 (11.7)	448 (11.8)
Childhood conditions		
Breastfeeding (months)	5,332	3,684
< 1	1,171 (22.0)	801 (21.7)
1-2.9	1,405 (26.3)	958 (26.0)
3-5.9	1,212 (22.7)	834 (22.6)
≥ 6	1,544 (29.0)	1,091(29.6)
Increased weight gain rate (0-2 years old)§	3,916	2,818
Yes	1,336 (34.0)	973 (34.5)
No	2,580 (66.0)	1,845 (65.5)
Increased weight gain rate (2-4 years old)¶	4,513	3,261
Yes	209 (5.0)	157 (4.8)
No	4,304 (95.0)	3,104 (95.2)

Missing information - *19; †589; ‡1244; §989; ¶546

SGA: Small for the gestational age; AGA: Adequate for the gestational age

Figure 1. Hierarchical model for C-Peptide.

Income		Mother's skin color		Sex	
< 1	Reference	White	Reference	Male	Reference
1.1– 3.0	1.03 (0.96 – 1.09)	Non-White	0.90 (0.84 – 0.96)	Female	1.22 (1.16 – 1.28)
3.1 – 6	1.12 (1.05 – 1.22)				
> 6	1.07 (0.98 – 1.19)				

Rapid weight gain 2 – 4 years
 No Reference
 Yes 1.18 (1.05 – 1.32)

Declarations

Ethics Approval and Consente to Participate

OF. 16/12

lima Sr^a

Prof Denise Petrucci Gigante

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

FACULDADE DE MEDICINA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Pelotas, 08 de março 2012.

Projeto: Acompanhamento aos 30 anos de idade dos adultos jovens pertencentes à coorte de nascimentos de 1982: influências precoces e contemporâneas sobre a composição corporal, capital humano, saúde mental e precursores de doenças crônicas complexas.

Pelotas, RS

Prezada Pesquisadora;

Vimos, por meio deste informá-lo que o projeto supracitado foi analisado e

APROVADO

por esse Comitê, quanto às questões éticas e metodológicas, de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Patrícia Abrantes Duval

Coordenadora do CEP/FAMED/UFPEL

Ps: Original document attached in Supplementary Material

Availability of data and materials

The datasets generated and analyzed during the current study are available in the Postgraduate Program in Epidemiology - UFPel Center for Epidemiological Research Rua Marechal Deodoro, 1160 - 3 ° Floor Downtown - Pelotas, RS Cep: 96020-220 - PO Box 464 Tel / fax +55 (53) 3284-1300 <http://epidemio-ufpel.org.br/site/content/contato/index.php>

The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests: The authors declare having no competing interest.

Potential Conflict of Interest: The authors declare having no conflict of interest.

FUNDING

Sources of Funding: The 1982 birth cohort study was funded by the Wellcome Trust initiative titled Major Awards for Latin America on Health Consequences of Population Change. The doctorate was funded by CAPES, an institution of the Brazilian government for the improvement of human resources through DINTER – Inter-institution doctorate between the Federal University of Pelotas (UFPel) and the Federal University of Espírito Santo (UFES)

AUTHORS' CONTRIBUTION

Romildo L. M. Andrade - first author participated in the conception and design of the study, data analysis, interpretation of study findings, the drafting and review.

Denise P. Gigante - participated in the analysis of the data, the interpretation of the study findings.

Isabel Oliveira de Oliveira - participated in the processing of laboratory tests and the study's findings, the drafting and review.

Bernardo L. Horta - participated in the design and study design, data collection, interpretation of the review findings of the study and writing of the article.

ACKNOWLEDGEMENTS

The Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), for an incentive that made possible the accomplishment of the doctorate in epidemiology.

To all the professors and employees of the Program of Epidemiology of the UFPel who provided us with conditions to carry out the work our recognition and gratefulness. Special thanks to Prof./PhD Bernardo L Horta who brightened the present work.

ARTIGO 2

**C-Peptide and cardiovascular risk factors among young adults in a
southern Brazilian Cohort**

Romildo Luiz Monteiro Andrade^{1, 2}- rlmandrade@hotmail.com

Denise P Gigante²- denisepgigante@gmail.com

Isabel Oliveira de Oliveira²- isabel.ufpel@gmail.com

Bernardo Lessa Horta²- blhorta@gmail.com

1. University Hospital Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) of the Federal University of Espírito Santo (UFES);
2. Post-Graduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas (UFPel).

Short Title: C-Peptide and Cardiovascular Risk among Young Adults

Keywords: C-Peptide; Cardiovascular disease; Risk; Young adults.

Responsible author: Romildo Luiz Monteiro Andrade
Av. Dante Micheline 2431, apt. 303 Mata da Praia
Vitória; ES; Brasil. 29.066-430

ABSTRACT

Background: Proinsulin connecting peptide (C-Peptide) has been considered a marker of insulin resistance, evidence suggests that C-Peptide is associated with cardiovascular mortality. On the other hand, it has been reported that the therapeutic use of C-Peptide decreases morbidity and mortality among type I diabetes patients. Our study aims to evaluate the association of C-Peptide with metabolic cardiovascular risk factors among young adults followed since birth in southern Brazil. **Methods:** In 1982, maternity hospital in Pelotas, a southern Brazilian city, were visited daily and all births were identified. Live births whose family lived in the urban area of the city were identified, their mothers interviewed, and these subjects have been prospectively followed. C-Peptide was assessed at 23 years. We analyzed the association of C-Peptide with metabolic cardiovascular risk factors and hemodynamic variables at 23 and 30 years of age. **Results:** At age 23, 4,297 individuals were evaluated and C-Peptide was measured in 3,807. In a cross-sectional analysis, C-Peptide was positively associated with waist circumference, body mass index, glycaemia, triglycerides, and C-reactive protein at 23 years of age. The association with HDL cholesterol was negative. In the longitudinal analysis at 30 years, C-Peptide remained associated with BMI, waist circumference, glycated hemoglobin, triglycerides, and C-reactive protein, whereas the association was negative for HDL. **Conclusion:** In the Pelotas birth cohort, the C-Peptide was associated with obesity indicators (waist circumference and

BMI) cross-sectional (23 years) and longitudinal (30 years). We also observed cross-sectional and longitudinal associations of C-Peptide with cardiometabolic and inflammatory risk factors.

INTRODUCTION

In 2012, cardiovascular diseases were the main cause of death, accounting for 17.5 million deaths¹. And three quarters of these deaths, occurred in low and medium-income countries². In face of population ageing and the increase in the prevalence of diabetes and obesity, cardiovascular mortality is estimated to rise over the next decades^{3,4}.

Proinsulin connecting peptide-(C-Peptide) is considered a marker of insulin resistance, epidemiological studies suggest its performance as a cardiovascular risk factor⁵⁻⁷. Secreted by β cells in the pancreas at amounts equimolar to insulin⁸, C-Peptide is associated with overall and cardiovascular mortality risk,⁹ increasing vascular permeability to monocytes, stimulating the differentiation into macrophages and promoting phagocytosis of oxidized lipoprotein molecules, such as low-density lipoprotein (LDL), and differentiating into foam cells, the classic cellular substrate of atherosclerotic lesions¹⁰. C-Peptide would also act in subsequent phases of the atherogenic process, inducing the proliferation of smooth muscle cells and the cascade of release of pro-atherogenic components such as cytokines, metalloproteinases,

and oxidative molecules, besides clotting factors such as the tissue plasminogen activator (tPA)^{11,12}.

Cabrera et al observed that individuals in the upper tercile of C-Peptide were at higher risk of coronary artery disease (RR 2.4; CI95% 1.3–4.6) and myocardial infarction (RR 2.8; CI95% 1.1–6.9)¹³. Marx et al reported that serum levels of C-Peptide in patients subjected to coronary angiography were associated with overall (HR 1.46 CI95% 1.15–1.85) and cardiovascular (HR 1.58 CI95% 1.15–2.18) mortality¹⁴. Patel et al evaluated individuals with fasting glycaemia ≥ 70 mg/dL and found that C-Peptide was associated with cardiovascular (HR 1.60, CI95% 1.07–2.39) and overall (HR 1.72, CI95% 1.34–2.21) mortality¹⁵. Min et al also found an association with cardiovascular (HR 3.20 CI95% 2.07–4.93) and overall (HR 1.80 CI95% 1.33–2.43) mortality¹⁶.

On the other hand, Bo et al found no association between C-Peptide and cardiovascular mortality after adjusting for age, sex, body mass index, smoking, time on insulin therapy, glycated hemoglobin, systolic blood pressure, HDL cholesterol, triglycerides, and previous vascular complications¹⁷. However, the control for other metabolic cardiovascular risk factors may have blocked causal pathways between C-Peptide and mortality, underestimating the association.

Other studies have reported beneficial effects of C-Peptide therapy among patients with type-I diabetes, reducing complications such as peripheral neuropathy and preserving neuronal function and endoneural flow when administered along with insulin therapy^{18–20}. A systematic review and meta-analysis that identified four clinical trials of subjects with type-I diabetes,

and normal kidney function or incipient nephropathy, observed beneficial effects of C-Peptide therapy, decreasing glomerular hyperfiltration and albuminuria however, no difference in glomerular filtration rate was found^{21,22}.

Given the small number of studies assessing the association of C-Peptide with metabolic cardiovascular risk factors, it is important to investigate such association. The present study aimed to evaluate the association between C-Peptide and cardiovascular risk factors among young adults followed from birth in a southern Brazilian city.

METHODS

In 1982, the maternity hospital in Pelotas, a southern Brazilian city, were visited daily and all births were identified. The neonates whose families lived in the urban area were examined and the mothers interviewed soon after birth (n=5,914). These individuals have been prospectively followed at different moments of their life cycles.

In 2004, an attempt was made to locate all participants of the cohort, using multiple strategies. The subjects were interviewed at home and invited to visit the research laboratory to donate a blood sample²³. At 30 ages, a new attempt was made to locate all cohort members, who were invited to visit the research clinic, where they were interviewed, examined, and blood samples were collected²⁴.

Weight, was measured at 23 years, using Seca (Uniscale[®], Germany) portable electronic scales with 100 g precision. Aluminum anthropometers with 1 mm precision were used to measure height according to Lohman et al²⁵. At 30 years, weight was measured with a scale connected to Bod Pod (Cosmed[®], USA) device and height with an aluminum vertical stadiometer with 1 mm

precision. Waist circumference was measured while the subjects were standing upright with feet together and arms relaxed along the body. The measuring tape was extended on the horizontal plane at waist height (narrowest portion of the trunk) between the last rib and the iliac crest at the end of a regular exhaling and without compressing the skin, and the value was recorded with 0.1 cm precision. Body mass index (BMI) was calculated by dividing the weight in kilograms (kg) by the square of the height in meters (m).

The following cardiometabolic variables were measured at 23 years: capillary glycaemia (mg / dL), total cholesterol (mg / dL), HDL cholesterol (mg / dL), triglycerides (mg / dL), C-reactive protein (mg / dL). At age 30, serum glycaemia (mg / dL), total cholesterol (mg / dL); HDL cholesterol (mg / dL); LDL cholesterol (mg / dL), triglycerides (mg / dL); C-reactive protein (mg / dL); glycated hemoglobin (%) were measured. At 23 years, glycaemia was measured using an Accu-Chek Advantage (Roche®) portable glucometer, total cholesterol, HDL, and triglycerides were measured using a Selectra 2 (Merck®, Darmstadt, Germany). C-Peptide was measured in the blood samples collected at 23 years, using the chemiluminescence technique (Immulite – Siemens)²⁶, because the analyses were performed on samples collected at random, the estimates were adjusted for fasting time.

At 30 years, serum glucose was measured using the colorimetric enzyme assay with K082 -Glicose Monoreagente kits (Bioclin®, Brazil), LDL cholesterol was measured with K088 (Bioclin®, Brazil) kits and glycated hemoglobin (HbA_{1c}), with K09 - HbA_{1c} Bi-reagent (Bio-Rad®, Berkeley, California, USA) kits. High-sensitivity C-reactive protein (Hs-CRP) was measured using the automated turbidimetry technique with a BS 380 (Shenzhen-Mindray Bio-

Medical Electronics Co.; Ltd[®], China) chemical analyzer. Those measures with values below the lower limit of detection of 0.1 mg/L were converted to 0.05 mg/L. Measures with values above 10 mg/L were excluded from the analyses because expressed acute inflammatory conditions²⁷.

Blood pressure was measured at 23 years, using an Omron[®] wrist monitor at the beginning and at the end of the interview, about 60 minutes apart, with the respondent sited with the arm on a support. At 30 years, blood pressure was measured twice with an HEM-705 CPINT (Omron[®]) automated device coupled to an arm cuff, which was replaced by a proper model for obese subjects. The mean of two measurements was used in the analyses.

The following variables were considered as confounding factors: physical activity was measured at 23 and 30 years of age using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)²⁸ maternal skin color (assessed by the interviewer in the perinatal study), monthly family income in minimum wage, tobacco use (those subjects who reported smoking at least one cigarette a day at 23 years were considered as smokers), alcohol consumption (daily intake in mg/L), family history of hypertension (father and/or mother), birthweight (grams), and rapid weight gain between 2 and 4 years (change in Z score above 0.67 standard deviation)²⁹. Paternal and maternal history of dyslipidemia, hypertension, myocardial infarction, and/or stroke was also considered.

Analysis of variance was used to compare the means of the variables according to C-Peptide quartiles, due to the asymmetric distribution, C-reactive protein and triglycerides were transformed into logarithm. Multiple linear regression was used to evaluate the association between C-Peptide and cardiovascular risk factors, estimates were adjusted for confounding variables,

fasting time (estimated as the time between the last meal and blood sample collection).

The analyses were carried out using the software STATA version 13.1. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Medical School of the Federal University of Pelotas under protocol OF. 16/12. All interviews and blood collections were performed after written consent was obtained from the participants.

RESULTS

In 2004, 4,297 individuals were interviewed, which – added to the 282 deaths identified in the cohort – represented a follow-up rate of 77.4%. In 2012, 3,701 individuals were interviewed, which – given the 325 identified in the cohort – represented a follow-up rate of 68.1%.

Table 1 shows the distribution of the studied population according to the outcomes. C-Peptide was measured in 3,807 subjects and the geometric mean was 0.83 ng/mL (interquartile range: 0.9 ng/mL). From 23 to 30 years, the mean total cholesterol increased from 155.9 to 191.1 mg/dL, HDL from 55.5 to 58.6 mg/dL, the geometric mean of triglycerides from 91.4 to 101.0 mg/dL, and Hs-CRP from 1.18 to 1.47 mg/dL. Concerning the anthropometric measures, mean waist circumference increased from 78.3 to 84.8 cm and BMI from 23.6 to 26.8 kg/m². Systolic blood pressure increased from 117.5 to 121.1 mmHg and diastolic from 73.5 to 75.3 mmHg.

Table 1. Participant characteristics at 23 and 30 years old

Variables	23 years		30 years	
	n	μ (CI95%)	n	μ (CI95%)
Anthropometric				
Weight (kg)	4,289	66.6 (66.1; 66.9)	3,551	75.8 (75.2; 76.4)
Height (m)	4,289	167.4 (167.1; 167.7)	3,607	167.7 (167.4; 168.0)
Waist circumference (cm)	4,286	78.3 (77.9; 78.6)	3,567	84.8 (84.4; 85.2)
Body mass index	4,162	23.6 (23.5; 23.7)	3,534	26.8 (26.6; 27.0)
Metabolic				
Serum glycaemia (mg/dL)	3,732	97.3 (96.8; 97.8)	3,533	89.5 (88.7; 90.4)
Total cholesterol (mg/dL)	2,432	155.9 (154.5; 157.4)	3,533	191.1 (189.8; 192.3)
HDL cholesterol (mg/dL)	3,824	55.5 (55.0; 55.8)	3,533	58.6 (58.2; 59.2)
LDL cholesterol (mg/dL)			3,533	109.3 (108.4; 110.3)
Triglycerides (mg/dL)	3,824	91.4 (89.9; 93.0)	3,533	101.0 (99.2; 102.9)
C-reactive protein (mg/dL) #	3,449	1.18 (1.14; 1.23)	3,210	1.47 (1.40; 1.53)
Glycated hemoglobin (mg/dL)			3,543	5.1 (5.1; 5.1)
C-Peptide * (ng/mL)	3,807	0.83 (0.80; 0.85)		
Hemodynamic				
Systolic arterial pressure (mmHg)	4,291	117.5 (117.0; 117.9)	3,620	121.1 (120.7; 121.6)
Diastolic arterial pressure (mmHg)	4,291	73.5 (73.2; 73.9)	3,620	75.3 (75.0; 75.6)
Heart rate (bpm)	4,291	74.5 (74.1; 74.8)	1,576	70.9 (70.2; 71.3)
Behavioral				
Prevalence of sedentary lifestyle	4,295	445.7 (429.2; 462.1)	3,606	295.5 (283.3; 307.7)

μ: arithmetic mean; # *: Geometric mean

At 23 years, C-Peptide was positively associated with waist circumference, BMI, glycaemia, total cholesterol, triglycerides, and Hs-CRP, whereas a negative association was observed with HDL. Longitudinally, C-Peptide remained associated with waist circumference and BMI at 30 years. Concerning the metabolic risk factors, only triglycerides and Hs-CRP at 30 years were associated with C-Peptide. At 23 and 30 years, only diastolic blood pressure was associated with C-Peptide, but this association did not show a linear pattern. (Table 2)

Table 2. Cardiovascular risk factors according to C-Peptide quartiles at 23 and 30 years old

Cardiovascular risk factors	C-Peptide				P value
	1st quartile	2nd quartile	3rd quartile	4th quartile	
	μ (CI95%) n=968	μ (CI95%) n=958	μ (CI95%) n=1015	μ (CI95%) n=865	
23 years					
Anthropometric					
Waist circumference (cm)	76.6 (76.0; 77.1)	77.3 (76.7; 78.0)	78.5 (77.8; 79.1)	81.0 (80.1; 81.8)	<0.001**
Body mass index	23.0 (22.5; 23.0)	23.3 (23.1; 23.6)	23.7 (23.4; 24.0)	25.0 (24.4; 25.1)	<0.001**
Metabolic					
Capillary glycaemia (mg/dL)	92.1 (91.4; 92.9)	94.5 (93.7; 95.4)	97.9 (97.0; 98.8)	105.1 (104.0; 106.3)	<0.001**
Total cholesterol (mg/dL)	155.1 (152.3; 157.9)	154.6 (151.9; 157.2)	156.4 (153.5; 159.3)	158.1 (155.0; 161.1)	0.351**
HDL cholesterol (mg/dL)	56.2 (55.4; 57.0)	55.5 (54.8; 56.3)	55.1 (54.3; 55.9)	54.8 (54.0; 55.7)	0.108**
Triglycerides (mg/dL)	76.5 (74.1; 78.9)	88.0 (85.3; 90.8)	96.7 (93.6; 99.9)	108.7 (104.7; 112.8)	<0.001**
C-reactive protein (mg/dL)	1.00 (0.93; 1.3)	1.08 (1.00; 1.16)	1.29 (1.20; 1.39)	1.44 (1.34; 1.56)	<0.001
Hemodynamic					
Systolic arterial pressure (mmHg)	118.2 (117.2; 119.1)	116.7 (115.8; 117.6)	116.8 (115.8; 117.7)	117.7 (116.7; 118.7)	0.098
Diastolic arterial pressure (mmHg)	73.9 (73.2; 74.6)	72.7 (72.0; 73.4)	73.0 (72.3; 73.7)	73.9 (73.1; 74.7)	0.035
Heart rate (bpm)	73.0 (72.2; 74.0)	73.2 (72.6; 74.0)	75.9 (75.2; 76.7)	76.2 (75.4; 77.0)	<0.001
30 years					
Anthropometric					
Waist circumference (cm)	83.0 (82.1; 83.7)	84.2 (83.4; 85.1)	85.2 (84.3; 86.1)	88.0 (86.8; 89.0)	<0.001**
Body mass index	25.8 (25.4; 26.1)	26.6 (26.2; 27.0)	27.1 (26.7; 27.5)	28.3 (27.9; 28.8)	<0.001**
Metabolic					
Serum glycaemia (mg/dL)	89.0 (87.4; 90.3)	88.4 (86.7; 90.2)	90.1 (88.2; 92.0)	90.7 (88.4; 92.9)	0.981**
Total cholesterol (mg/dL)	189.9 (187.3; 192.6)	191.0 (188.3; 193.7)	192.0 (189.1; 195.0)	192.7 (189.8; 195.6)	0.291**
HDL cholesterol (mg/dL)	59.1 (58.2; 65.1)	58.7 (57.7; 59.6)	58.3 (57.4; 59.3)	58.4 (57.3; 59.5)	0.682
LDL cholesterol (mg/dL)	109.4 (107.2; 111.5)	109.3 (107.1; 111.3)	109.7 (107.6; 111.7)	110.2 (108.1; 112.4)	0.913
Triglycerides (mg/dL)	94.42 (90.9; 98.0)	100.8 (96.88; 105.0)	103.3 (99.2; 107.2)	106.4 (101.9; 111.1)	<0.001
C-reactive protein (mg/dL)	1.17 (1.07; 1.29)	1.43 (1.31; 1.57)	1.64 (1.50; 1.79)	1.83 (1.67; 2.01)	<0.001**
Glycated hemoglobin (%)	5.06 (5.03; 5.09)	5.11 (5.07; 5.14)	5.11 (5.08; 5.15)	5.10 (5.06; 5.14)	0.061**
Hemodynamic					
Systolic arterial pressure (mmHg)	122.0 (120.8; 122.7)	120.4 (119.5; 121.4)	121.0 (120.0; 122.0)	121 (120.1; 122.3)	0.381**
Diastolic arterial pressure (mmHg)	75.1 (74.4; 75.8)	74.8 (74.1; 75.4)	75.6 (75.0; 76.2)	76.4 (74.0; 75.4)	0.008**
Heart rate (bpm)	70.0 (68.5; 71.0)	70.5 (69.3; 72.0)	72.3 (71.0; 73.6)	71.2 (70.0; 72.5)	0.024

μ Geometric mean (CI95%); *ANOVA, ** Kruskal-Wallis

Table 3 shows that, even after adjusting for confounding factors, C-Peptide remained associated with waist circumference and BMI at 23 and 30 years of age. Among the metabolic variables at 23 years, C-Peptide was positively associated with glycaemia, triglycerides, and Hs-CRP and negatively with HDL cholesterol. In the longitudinal analysis at 30 years, C-Peptide was positively associated with glycated hemoglobin, triglycerides, and HS-CRP,

and negatively with HDL cholesterol. Regarding hemodynamic variables, C-Peptide was not associated with systolic blood pressure, whereas diastolic blood pressure at 30 years was higher among those subjects in the upper quartile of C-Peptide.

Table 3. Multivariate regression of cardiovascular risk factors and C-Peptide at 23 and 30 years old*

Cardiovascular risk factors	1st quartile	2nd quartile	3rd quartile	4th quartile
	μ (CI95%)	β (CI95%)	β (CI95%)	β (CI95%)
23 years				
Anthropometric				
Waist circumference (cm)	Reference	0.91 (-0.44; 2.26)	1.92 (0.54; 3.29)	5.05 (3.58; 6.51)
Body mass index	Reference	0.50 (-0.03; 1.03)	1.03 (0.49; 1.57)	2.20 (1.62; 2.78)
Metabolic				
Serum glycaemia (mg/dL)	Reference	2.64 (0.73; 4.55)	5.60 (3.65; 7.54)	12.0 (10.0; 14.14)
Total cholesterol (mg/dL)	Reference	-0.25 (-4.93; 4.42)	1.34 (-3.42; 6.10)	2.05 (-3.01; 7.11)
HDL cholesterol (mg/dL)	Reference	-2.09 (-3.78; -0.41)	-2.40 (-4.11; -0.68)	-2.11 (-3.93; -0.29)
Triglycerides (mg/dL)	Reference	1.12 (1.04; 1.20)	1.21 (1.12; 1.30)	1.28 (1.18; 1.38)
C-reactive protein (mg/dL)	Reference	0.94 (0.81; 1.09)	1.26 (1.08; 1.47)	1.42 (1.20; 1.67)
Hemodynamic				
Systolic pressure (mmHg)	Reference	-1.30 (-3.39; 0.78)	-1.80 (-3.92; 0.31)	-0.21 (-2.47; 2.04)
Diastolic pressure (mmHg)	Reference	-1.92 (-3.48; -0.37)	-1.85 (-3.44; -0.27)	-0.29 (-1.98; 1.38)
30 years				
Anthropometric				
Waist circumference (cm)	Reference	1.02 (-0.38; 2.44)	1.92 (0.48; 3.36)	4.42 (2.89; 5.95)
Body mass index	Reference	0.74 (0.14; 1.34)	1.32 (0.71; 1.94)	2.34 (1.69; 2.99)
Metabolic				
Serum glycaemia (mg/dL)	Reference	-1.74 (-4.38; 0.89)	0.90 (-1.77; 3.59)	0.44 (-2.41; 3.30)
Glycated hemoglobin (%)	Reference	0.06 (0.00; 0.12)	0.07 (0.02; 0.13)	0.07 (0.01; 0.13)
Total cholesterol (mg/dL)	Reference	-0.57 (-5.16; 4.01)	0.42 (-4.25; 5.10)	-1.27 (-6.24; 3.70)
HDL cholesterol (mg/dL)	Reference	-0.81 (-2.45; 0.82)	-1.33 (-3.00; 0.34)	-1.96 (-3.73; -0.18)
LDL cholesterol (mg/dL)	Reference	-0.72 (-4.19; 2.74)	-0.74 (-4.27; 2.79)	-0.96 (-4.72; 2.79)
Triglycerides (mg/dL)	Reference	1.06 (0.99; 1.13)	1.08 (1.01; 1.16)	1.08 (1.00; 1.16)
C-reactive protein (mg/dL)	Reference	1.23 (1.06; 1.42)	1.50 (1.29; 1.74)	1.56 (1.33; 1.82)
Hemodynamic				
Systolic pressure (mmHg)	Reference	-0.86 (-2.45; 0.73)	-0.05 (-1.67; 1.56)	0.16 (-1.56; 1.87)
Diastolic pressure (mmHg)	Reference	-0.40 (-1.49; 0.68)	0.58 (-0.52; 1.70)	1.18 (0.00; 2.37)

μ geometric mean; * adjusted for: time of fasting, physical activity practice per week (minutes), family income, mother's skin color, birthweight, rapid growth between 2 and 4 years old, smoking at 23 years, alcohol consumption, family history of dyslipidemia, arterial hypertension and stroke, myocardial infarction,

DISCUSSION

In the present study, the cross-sectional analysis at 23 years showed that C-Peptide was positively associated with waist circumference, BMI, glycaemia, triglycerides, and C-reactive protein, whereas the association with HDL cholesterol was in the opposite direction. In the longitudinal analysis, C-Peptide remained positively associated with waist circumference, BMI,

glycated hemoglobin, triglycerides, and C-reactive protein and negatively with HDL cholesterol. The direction of the association with diastolic blood pressure changed, i.e., at 23 years' diastolic blood pressure was higher among those in the first quartile of C-Peptide whereas the opposite was observed at 30 years.

Studies on the effect of C-Peptide on glycaemia have yielded conflicting evidence. Whereas Hoogwerf et al found no association³⁰, Oskarsson et al reported that C-Peptide enhances insulin-induced hypoglycemia among diabetic patients³¹. Nordquist et al showed that C-Peptide infusion in patients with type-I diabetes improves glucose use by about 25%³². In the present study, C-Peptide was positively associated with glycaemia at 23 years, but no association was observed at 30 years. That may be due to the increase in insulin resistance, which would be the result of the rise in the prevalence of overweight – from 28.3 to 57.6% – from 23 to 30 years³³, increasing the peripheral resistance to insulin, which, along with hyperinsulinemia, would result in a temporary reduction in glycemic status.

C-Peptide was associated with triglycerides at 23 and 30 years. Although they cannot be considered a marker of atherogenic risk by themselves, triglycerides in association with other components such as obesity, diabetes, or hypertension are a marker of cardiovascular risk^{34,35}. In addition to this condition, the negative relation with HDL cholesterol at 23 and 30 years old stands out. Suggesting that C-Peptide is associated with metabolic factors related to cardiovascular risk.

C-reactive protein, a marker of systemic inflammatory process, was considered a cardiovascular risk factor³⁶⁻³⁹. Danesh (2004), in a meta-analysis of observational studies, observed that those in the highest tercile of C-

reactive protein were at higher risk of cardiovascular events (OR 1.45; CI95% 1.25–1.68)⁴⁰. However, a Mendelian randomization study showed that Hs-CRP was not independently associated with cardiovascular risk and that it could be a marker of risk⁴¹. In the present study, C-Peptide remained associated with Hs-CRP at 23 and 30 years old, which suggests that C-Peptide is associated with the systemic inflammatory process.

Diastolic blood pressure was positively associated with C-Peptide at 30 years, but, unlike Chen and Every^{42,43} systolic blood pressure was not associated with C-Peptide.

A strength of this study is its population-based design and the large proportion of the sample successfully followed, which minimized the likelihood of selection bias. Among the limitations, it could be pointed that the biochemical tests were carried out in non-fasting samples. On the other hand, more recent evidence indicates that casual exams allow better risk estimate⁴⁴ and, furthermore, the analyses were adjusted for time of fasting.

CONCLUSION

In a population that has been prospectively followed since birth, we observed a positive relationship between C-Peptide and obesity indicators such as waist circumference and BMI at 23 years and 30 years of age. C-Peptide was also associated with the systemic inflammatory process and the higher level of metabolic cardiovascular risk factors.

REFERENCES

1. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control. Mendis S, Puska P, Norrving. B editors. World Health Organization, Geneva 2011. ISBN 978 92 4 156437 3
http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/atlas_cvd/en/
2. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. 1.Chronic diseases. 2.Cardiovascular diseases. 3.Neoplasms. 4.Respiratory tract diseases. 5.Diabetes mellitus. 6.Health planning. 7.International cooperation. I.World Health Organization. ISBN 978 92 4 1506236
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236_eng.pdf
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236_eng.pdf?ua=1
3. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. European Heart Journal. 2016;37(29):2315
<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehw106>
4. Ordunez P, Prieto-Lara E, Pinheiro Gawryszewski V, Hennis AJM, Cooper RS. Premature Mortality from Cardiovascular Disease in the Americas – Will the Goal of a Decline of “25% by 2025” be Met? PLOS ONE. 2015;10(10):e0141685 <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0141685>
5. Younk LM, Lamos EM, Davis SN. The cardiovascular effects of insulin. Expert Opin Drug Saf. 2014 Jul;13(7):955-66. doi: 10.1517/14740338.2014.919256. Epub 2014 Jun 5. Review. PubMed PMID: 24899093.
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14740338.2014.919256?journalCode=ieds20>
6. Li Y, Li Y, Meng L, Zheng L. Association between serum C-Peptide as a risk factor for cardiovascular disease and high-density lipoprotein cholesterol levels in nondiabetic individuals. PLoS One. 2015 Jan 5;10(1):e112281. doi:10.1371/journal.pone.0112281. eCollection 2015. PubMed PMID: 25559358; PubMed Central PMCID: PMC4283961.
<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0112281>
7. Min JY, Min KB. Serum C-Peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus. CMAJ. 2013 Jun 11;185(9):E402-8. doi: 10.1503/cmaj.121950. Epub 2013 Apr 15. PubMed PMID: 23589428; PubMed Central PMCID: PMC3680586. <http://www.cmaj.ca/content/185/9/E402.long>

8. Steiner DF, Cunningham D, Spigelman L, et al. Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science*. 1967;157(3789):697-700.
<http://science.sciencemag.org/content/157/3789/697.long>
9. Hirai FE, Moss SE, Klein BE, Klein R. Relationship of glycemic control, exogenous insulin, and C-Peptide levels to ischemic heart disease mortality over a 16-year period in people with older-onset diabetes: the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR). *Diabetes Care*. 2008;31(3):493-7 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2773445/>
10. WAHREN, J.; SHAFQAT, J.; JOHANSSON, J.; CHIBALIN, A.; EKBERG, K.; JÖRNVALL, H. Molecular and cellular effects of C-Peptide- new perspectives on an old peptide. *Experimental Diabetes Research*, v. 5, n. 1, p. 15-23, 2004
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2892072/pdf/125_2010_Article1736.pdf
11. Walcher D, Babiak C, Poletsek P, Rosenkranz S, Bach H, Betz S, Durst R, Grüb M, Hombach V, Strong J, Marx N. C-Peptide induces vascular smooth muscle cell proliferation: involvement of SRC-kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and extracellular signal-regulated kinase 1/2. *Circ Res*. 2006 Nov 24;99(11):1181-7. PubMed PMID: 17068290
<http://circres.ahajournals.org/content/99/11/1181.long>
12. Nikolaus Marx and Daniel Walcher, "C-Peptide and Atherogenesis: C-Peptide as a Mediator of Lesion Development in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus?," *Experimental Diabetes Research*, vol. 2008, Article ID 385108, 5 pages, 2008. doi:10.1155/2008/385108
<https://www.hindawi.com/journals/jdr/2008/385108/>
13. Cabrera de Leon A, Oliva Garcia JG, Marcelino Rodriguez I, Almeida Gonzalez D, Aleman Sanchez JJ, Brito Diaz B, et al. C-Peptide as a risk factor of coronary artery disease in the general population. *Diab Vasc Dis Res*. 2015;12(3):199-207 <http://dvr.sagepub.com/content/12/3/199.long>
14. Marx N, Silbernagel G, Brandenburg V, Burgmaier M, Kleber ME, Grammer TB, et al. C-Peptide levels are associated with mortality and cardiovascular mortality in patients undergoing angiography: the LURIC study. *Diabetes Care*. 2013;36(3):708-14
<http://care.diabetesjournals.org/content/36/3/708>
15. Patel N, Taveira TH, Choudhary G, Whitlatch H, Wu WC. Fasting serum C-Peptide levels predict cardiovascular and overall death in nondiabetic adults. *J*

- Am Heart Assoc. 2012 Dec;1(6): e003152. doi:10.1161/JAHA.112.003152. PubMed PMID: 23316320; PubMed Central PMCID: PMC3540682 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540682/>
16. Min J.Y; Min KB. Serum C-Peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus. CMAJ. 2013;185(9): E402-8 <http://www.cmaj.ca/content/185/9/E402.long>
 17. Bo S, Gentile L, Castiglione A, Prandi V, Canil S, Ghigo E, et al. C-Peptide and the risk for incident complications and mortality in type 2 diabetic patients: a retrospective cohort study after a 14-year follow-up. Eur J Endocrinol. 2012;167(2):173-80 <http://www.eje-online.org/content/167/2/173.full.pdf+html>
 18. Johansson, B.L., Borg, K., Fernqvist-Forbes, E., Kernell, A., Odergren, T. and Wahren, J. (2000), Beneficial effects of C-Peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with Type 1 diabetes mellitus. Diabetic Medicine, 17: 181–189. doi:10.1046/j.1464-5491.2000.00274.x <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1464-5491.2000.00274.x/full>
 19. Wahren J, Johansson BL, Wallberg-Henriksson H, Linde B, Fernqvist-Forbes E, Zierath JR. C-Peptide revisited--new physiological effects and therapeutic implications. J Intern Med. 1996;240(3):115-24 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.13652796.1996.19841000.x/full>
 20. Nordquist L, Stridh S. Effects of proinsulin C-Peptide on oxygen transport, uptake and utilization in insulinopenic diabetic subjects--a review. Adv Exp Med Biol. 2009; 645:193-8. doi: 10.1007/978-0-387-85998-9_30. Review. PubMed PMID:19227471 http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-85998-9_30
 21. Hills, Claire E., Nigel J. Brunskill, and Paul E. Squires. "C-Peptide as a therapeutic tool in diabetic nephropathy." *American journal of nephrology* 31.5 (2010): 389-397. <http://www.karger.com/Article/Pdf/289864>
 22. Shaw JA, Shetty P, Burns KD, Fergusson D, Knoll GA. C-Peptide as a Therapy for Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2015 May20;10(5): e0127439. doi: 10.1371/journal.pone.0127439. Review. PubMed PMID:25993479; PubMed Central PMCID: PMC4439165 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4439165/>
 23. Cesar G Victora and Fernando C Barros Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study Int. J. Epidemiol. (April 2006) 35 (2): 237-242 first

published online December 22, 2005 doi:10.1093/ije/dyi290
<http://ije.oxfordjournals.org/content/35/2/237.long>

24. Horta BL, Gigante DP, Goncalves H, dos Santos Motta J, Loret de Mola C, Oliveira IO, et al. Cohort Profile Update:
<http://ije.oxfordjournals.org/content/44/2/441.full>

25. Lohman T.G, Roche AF, Martorell R, eds. Anthropometric Standardization Reference Manual. Champaign IL: Human Kinetics Books; 1988:5570.

26. C-Peptide assay Specifications The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. Int J Epidemiol. 2015;44(2):441; Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd LL 55 4EL United Kingdom,
www.siemens.com/diagnostics

27. Nazmi A, Oliveira IO, Horta BL, Gigante DP, Victora CG. Lifecourse socioeconomic trajectories and C-reactive protein levels in young adults: findings from a Brazilian birth cohort. Soc Sci Med. 2010 Apr;70(8):1229-36. doi: 10.1016/j.socscimed.2009.12.014. PubMed PMID: 20137842; PubMed Central PMCID: PMC2877874.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2877874/>

28. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. Med Sci Sports Exerc. 2003;35(8):1381 - 95. DOI: [10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB](http://www.gac-usp.com.br/resources/International%20physical%20activity%20questionnaire-%2012-country%20reliability%20and%20validity%20-%20CRAIG%20-%202003.pdf).
<http://www.gac-usp.com.br/resources/International%20physical%20activity%20questionnaire-%2012-country%20reliability%20and%20validity%20-%20CRAIG%20-%202003.pdf>

29. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Atenção ao pré-natal de baixo risco / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012. 318 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica, n° 32) ISBN978-85-334-1936-0.
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cadernos_atencao_basica_32_pre_natal.pdf

30. Hoogwerf BJ, Bantle JP, Gaenslen HE, Greenberg BZ, Senske BJ, Francis R, Goetz FC. Infusion of synthetic human C-Peptide does not affect plasma glucose, serum insulin, or plasma glucagon in healthy subjects. Metabolism. 1986 Feb;35(2):122-5. PubMed PMID: 3511350

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049586901113?via%3Dihub>

31. Oskarsson P, Johansson BL, Adamson U, Lins PE. Effects of C-Peptide on insulin-induced hypoglycaemia and its counterregulatory responses in IDDM patients. *Diabet Med*. 1997 Aug;14(8):655-9. PubMed PMID: 9272591.
[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199708\)14:8%3C655::AID-DIA435%3E3.0.CO;2-G/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1096-9136(199708)14:8%3C655::AID-DIA435%3E3.0.CO;2-G/epdf)
32. Nordquist L, Johansson M. Proinsulin C-Peptide: friend or foe in the development of diabetes-associated complications? *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(6):1283-8. Review. PubMed PMID: 19337542; PubMed Central PMCID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663462/>
33. Lima, Natália Peixoto, Horta, Bernardo L., Motta, Janaína Vieira dos Santos, Valença, Marina S., Oliveira, Vânia, Santos, Thaíssa Vieira dos, Gigante, Denise Petrucci, & Barros, Fernando Celso. (2015). Evolução do excesso de peso e obesidade até a idade adulta, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, 1982-2012. *Cadernos de Saúde Pública*, 31(9), 2017-2025. <https://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00173814>
34. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, Goldberg AC, Howard WJ, Jacobson MS, Kris-Etherton PM, Lennie TA, Levi M, Mazzone T, Pennathur S; American Heart Association Clinical Lipidology, Thrombosis, and Prevention Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism.; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.; Council on Cardiovascular Nursing.; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2011 May 24;123(20):2292-333. doi: 10.1161/CIR.0b013e3182160726. PubMed PMID: 21502576. <http://circ.ahajournals.org/content/123/20/2292>
35. Harchaoui KE., Visser M., Kastelein JJ., Stroes E., Dallinga-Thie G. Triglycerides and Cardiovascular Risk. *Current Cardiology Reviews*. 2009;5(3):216-222. doi:10.2174/157340309788970315.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2822144/pdf/CCR-5-216.pdf>
36. Galper BZ, Wang YC, Einstein AJ. Strategies for Primary Prevention of Coronary Heart Disease Based on Risk Stratification by the ACC/AHA Lipid Guidelines, ATP III Guidelines, Coronary Calcium Scoring, and C-Reactive Protein, and a Global Treat-All Strategy: A Comparative--Effectiveness Modeling Study. *PLoS One*. 2015 Sep 30;10(9): e0138092. doi: 10.1371/journal.pone.0138092. PubMed PMID: 26422204; PubMed Central PMCID:

PMC4589241. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4589241/pdf/pon_e.0138092.pdf

37. Kearney P.M., Whelton M., Reynolds K., Muntner P., Whelton P.K., He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365(9455):217–223
http://ac.els-cdn.com/0033062074900346/1-s2.0-0033062074900346-main.pdf?_tid=3dc5ad96-bb06-11e6-ad24-00000aacb35d&acdnat=1480954796_7106afebd4ac17bb4aae6a91d44d4815
38. Ridker PM, Cook N. Clinical usefulness of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham Risk Scores. *Circulation*. 2004 Apr 27;109(16):1955-9. PubMed PMID: 15051634
<http://circ.ahajournals.org/content/109/16/1955.long>
39. Blaha MJ, Budoff MJ, DeFilippis AP, Blankstein R, Rivera JJ, Agatston A, et al. (2011) Associations between C-reactive protein, coronary artery calcium, and cardiovascular events: implications for the JUPITER population from MESA, a population-based cohort study. *Lancet* 2011; 378:684–692. doi: [10.1016/S0140-6736\(11\)60784-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60784-8)
40. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004 Apr 1;350(14):1387-97. PubMed PMID: 15070788.
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa032804>
41. C Reactive Protein Coronary Heart Disease Genetics Collaboration (CCGC); Wensley F, Gao P, Burgess S, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Shah T, Engert JC, Clarke R, Davey-Smith G, Nordestgaard BG, Saleheen D, Samani NJ, Sandhu M, Anand S, Pepys MB, Smeeth L, Whittaker J, Casas JP, Thompson SG, Hingorani AD, Danesh J. Association between C reactive protein and coronary heart disease: mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ*. 2011 Feb 15;342: d548. doi: 10.1136/bmj. d548.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3039696/>
42. Chen CH, Tsai ST, Chuang JH, Chang MS, Wang SP, Chou P. Population-based study of insulin, C-Peptide, and blood pressure in Chinese with normal glucose tolerance. *Am J Cardiol*. 1995;76(8):585-8
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000291499980160X?via%3Dihub>
43. Every NR, Boyko EJ, Keane EM, Marshall JA, Rewers M, Hamman RF. Blood pressure, insulin, and C-Peptide levels in San Luis Valley, Colorado. *Diabetes*

Care. 1993 Dec;16(12):1543-50. PubMed PMID: 8299449.
<http://circ.ahajournals.org/content/111/9/1121.long>

44. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, Watts GF, Sypniewska G, Wiklund O, Borén J, Chapman MJ, Cobbaert C, Descamps OS, von Eckardstein A, Kamstrup PR, Pulkki K, Kronenberg F, Remaley AT, Rifai N, Ros E, Langlois M; European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Eur Heart J.* 2016 Jul 1;37(25):1944-58. doi: 10.1093/eurheartj/ehw152. Review. PubMed PMID:27122601; PubMed Central PMCID: PMC4929379.
<https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehw152>

ABBREVIATIONS

1. cm: centimeters
2. HbA_{1c}: glycated hemoglobin
3. *HDL*: High-density lipoprotein – HDL cholesterol
4. HR: hazard ratio
5. BMI: body mass index
6. IPAQ: International Physical Activity Questionnaire
7. kg: kilograms
8. LDL: Low-density lipoprotein – LDL cholesterol
9. μ : geometric mean
10. mg/dL: milligrams per deciliter
11. mm: millimeters
12. mmHg: millimeters of mercury
13. ng/mL: nanogram per milliliter
14. C-Peptide: insulin-binding peptide
15. HS-CRP: high-sensitivity C-reactive protein
16. RR: relative risk
17. tPA: tissue plasminogen activator

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

Approval by the Ethics Committee

OF. 16/12

Dear Mrs.

Professor Denise Petrucci Gigante

FEDERAL UNIVERSITY OF PELOTAS
MEDICAL SCHOOL
RESEARCH ETHICS COMMITTEE

Pelotas, March 8th, 2012.

Project: Follow-up at 30 years old of young adults participating in the 1982 birth cohort: Early and current influences on body composition, human capital, mental health, and precursors of complex chronic diseases. Pelotas, RS, Brazil.

Dear researcher:

We hereby inform you that the aforementioned project was analyzed and APPROVED by this Committee regarding ethical and methodological matters according to Resolution 196/96 of the National Health Council.

Patrícia Abrantes Duval

Coordinator of CEP/FAMED/UFPEL

All the participants provided signed the free and informed participation agreement

Ps: Original document attached to the supplementary material

Consent for publication

Romildo Monteiro Luiz Andrade and the other authors provide consent for publication of the paper entitled: C-Peptide and cardiovascular risk factors among young adults in a southern Brazilian cohort

I declare being the corresponding author.

Availability of data and material

The dataset will be available at the Graduate Program in Epidemiology – UFPel Center of epidemiologic Research.

Rua Marechal Deodoro, 1160 - 3 ° Andar

Centro - Pelotas, RS;

Brazil

Postal code: 96020-220 - PO Box 464

Tel / fax +55 (53) 3284-1300

[Http://epidemio-ufpel.org.br/site/content/contato/index.php](http://epidemio-ufpel.org.br/site/content/contato/index.php)

It's use for analysis will be available after evaluation of the purpose of the request and condition of acceptance the reliability of such data.

Competing interests

The authors declare no conflicts of interest regarding the content and disclosure of this article.

All authors have approved the final version to be submitted and agree to be responsible authors for the aspects of the work in order to ensure that issues related to the accuracy or completeness of any part of the work are properly investigated and resolved.

Funding

This work was supported by the Institutional Doctorate program of CAPES-DINTER: UFPel / UFES. He used data from the 1982 Pelotas Birth Cohort, developed by the UFPel Graduate Program in Epidemiology, funded by the Wellcome Trust initiative titled Major Awards for Latin America on Health

Consequences of Population Change. Earlier stages were funded by the International Development Research Center, the World Health Organization, the Overseas Development Administration, the European Union, the National Nucleus of Excellence Program (PRONEX) and the National Research Council and the Brazilian Ministry of Health.

Authors' Participation

1. **Romildo Luiz Monteiro Andrade** designed the study, performed the statistical analysis and prepared the initial manuscript.
2. **Denise P Gigante**- Interpreted the analyzed results and revised the manuscript.
3. **Isabel Oliveira de Oliveira**-Interpreted the results and revised and revised the manuscript.
4. **Bernardo Lessa Horta**- Contributed to the design of the study, supervised the statistical analysis, interpreted the results analyzed and revised the manuscript.

ARTIGO 3

**Peptídeo-C e Mortalidade Cardiovascular : Revisão sistemática e
Meta-análise**

**C-peptide and Cardiovascular Mortality: Systematic review and Meta-
analysis**

Romildo Luiz Monteiro Andrade^{1, 2}- rlmandrade@hotmail.com

Gabriela Callo³ - gavizon7@hotmail.com

Bernardo Lessa Horta²- blhorta@gmail.com

1. Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES);
2. Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel)
3. Doutora em epidemiologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Título abreviado: Peptídeo-C e a mortalidade cardiovascular e Geral.

Palavras chaves: Peptídeo-C, Mortalidade Cardiovascular e Geral.

Short Title: C-peptide, cardiovascular and general mortality.

Keywords: C-Peptide, Cardiovascular and General Mortality.

Autor responsável: Romildo Luiz Monteiro Andrade
Av. Dante Micheline 2431, apt. 303 Mata da Praia
Vitória; ES; Brasil. 29.066-430
rlmandrade@hotmail.com

RESUMO

O Peptídeo-C é considerado um marcador de resistência à insulina, estudos epidemiológicos sugerem sua atuação como um fator de risco cardiovascular. Revisão sistemática foi realizada para avaliar as evidências sobre a associação do Peptídeo-C com mortalidade cardiovascular e geral. **MÉTODOS:** Inicialmente foram realizadas duas buscas independentes nas bases de dados MEDLINE e EMBASE. Foi realizada metanálise de estudos observacionais sobre a associação entre Peptídeo-C e mortalidade cardiovascular e geral, os estudos foram combinados utilizando efeito randômico. Estudos em populações específicas por exemplo renais crônicos, portadores de artrite reumatoide e pacientes submetidos a alguma forma de intervenção terapêutica foram excluídos da revisão. **RESULTADOS:** Foram encontrados 109 estudos e ao final do processo de triagem foram incluídos 18 que apresentavam dados sobre a associação entre Peptídeo-C e risco cardiovascular. Cinco estudos forneceram dados sobre a relação entre o Pep-C e mortalidade cardiovascular. O Peptídeo-C esteve associado com a mortalidade cardiovascular [RR 1,62 (IC 95% 0,99-2,66)] e geral [RR 1,39 (IC 95% 1,04-1,84)]. **CONCLUSÕES:** Os níveis séricos do Peptídeo-C estão associados a mortalidade geral em todos indivíduos e a mortalidade cardiovascular em pessoas sem comorbidades.

INTRODUÇÃO

Em 1967, Steiner e Oyer descreveram a síntese da insulina humana, identificando a molécula da pró-insulina como seu precursor¹. O Peptídeo de Conexão da Insulina- Pep-C, foi demonstrado como a molécula de ligação entre as cadeias A e B da insulina e durante décadas foi considerado como um subproduto da clivagem da pró-insulina, organicamente inerte sem propriedades fisiológicas. Porém, estudos em animais e humanos⁵⁻⁷, observaram que o Pep-C pouco influenciava o controle glicêmico, mas prevenia complicações microangiopáticas como nefropatia diabética em portadores de DM-I⁸⁻¹⁰. O estudo The Diabetes Control and Complications Trial apontou benefícios na diminuição da incidência de complicações microvasculares e da homeostase metabólica em indivíduos com níveis séricos e secreção preservada do Pep-C¹¹. Cai e colaboradores relataram que menores níveis de peptídeo-C pós-prandial, e idade de diagnóstico estariam associados a maior prevalência de retinopatia diabética¹².

Por outro lado, outros estudos identificaram que o Pep-C está associado a atividade inflamatória vascular e ao processo aterosclerótico¹³, aumentando a permeabilidade vascular para os monócitos, estimulando a diferenciação em macrófagos, promovendo a fagocitose de moléculas como lipoproteína de baixa densidade (LDL), e diferenciação em células espumosas, substrato celular clássico das lesões ateroscleróticas. Em fases subsequentes do processo aterogênico, induziria a proliferação das células musculares na cascata pró-aterogênica liberando citocinas, metaloproteínas e moléculas oxidativas, além de fatores estimulantes da coagulação, como o ativador do plasminogênio tecidual (tPA)^{14,15}. Von Eckardstein e colaboradores estudaram

o papel do Pep-C como fator de risco cardiovascular em homens coronariopatas não diabéticos observando associação com doença aterosclerótica coronariana (DAC)¹⁶. Cabrera e colaboradores na população geral relataram que o Pep-C aumentava a incidência de infarto do miocárdio e doença arterial coronariana (DAC)¹⁷.

Com o propósito de revisar as evidências a respeito da associação entre o Pep-C e mortalidade cardiovascular e geral realizamos a presente revisão sistemática e metanálise.

MÉTODOS

A revisão sistemática foi desenvolvida segundo as recomendações propostas pelo *Guidelines for Meta-Analyses and Systematic Reviews of Observational Studies*¹⁸. O processo de seleção dos artigos foi realizado de maneira independente por dois pesquisadores. A busca inicial foi realizada nas bases de dados eletrônica do MEDLINE, e na base bibliográfica da EMBASE compreendendo livros, jornais e páginas da rede.

A revisão foi ampliada através de buscas em outras fontes, como publicações da World Health Organization, tópico de “*Health*”, “*Cardiovascular diseases*”, “*Technical information*”, “*Global Hearts Initiative*”, “*Technical package for cardiovascular disease*”¹⁹. Outros sítios/sites foram pesquisados como Sociedade Brasileira de Cardiologia-SBC, da American Heart Association-AHA e da Sociedade Europeia de Cardiologia-ESC. As referências bibliográficas dos artigos selecionados também foram consideradas em busca de estudos que não haviam sido localizados na pesquisa eletrônica.

Estratégia de pesquisa

A seleção cobriu bases de dados desde a sua origem, a partir de 1900 para MEDLINE via PubMed e da EMBASE de 1988 até dias atuais acessada pela ScienceDirect. Foram aceitos estudos publicados em inglês, português ou espanhol, que avaliaram a associação entre peptídeo-C e a mortalidade cardiovascular. Empregou-se os descritores em ciências da saúde referentes a (((("cardiovascular system" ou ("cardiovascular" e "system") e/ou ("mortality") e/ou ("c-peptide", "c peptide"))). À seleção inicial aplicou-se filtros adicionais dos sítios bibliográficos de pesquisa aplicada aos seres humanos com emprego do termo "*humans*".

Os artigos em duplicidade foram excluídos, sendo incluídos estudos observacionais que contemplasse os critérios de elegibilidade de avaliar a associação do Peptídeo-C com eventos cardiovasculares fatais e mortalidade geral. Foram selecionados estudos conduzidos sem restrições geográficas ou limitações demográficas de raça ou cor. Eventuais discordâncias entre os pesquisadores foram solucionadas por um terceiro avaliador.

Critérios de inclusão:

1. Estudos observacionais que investigaram a associação entre o Peptídeo-C e a mortalidade cardiovascular e geral.
2. Estudos sobre a ocorrência de desfechos cardiovasculares incluindo eventos cardiovasculares como Síndromes Coronarianas Agudas compreendendo as formas de *Angina Pectoris*, e Infarto Agudo do Miocárdio- IAM.

Crêterios de exclusão:

1. Ensaios clínicos não controlados— ECNR que avaliaram indivíduos submetidos a terapias dietéticas e acompanhados antes e depois.
2. Estudos que avaliaram subgrupos específicos de patologias não vinculadas ao recorte cardiovascular ou grupos de indivíduos como renais cr nicos, portadores de artrite reumatoide, hipotireoidismo ou obesidade investigada a condição de resistência insulina.

Exposição e desfecho

O Pep-C como variável de exposição foi avaliado seja em quartis, tercis ou na forma de variável contínua. Os desfechos principais foram mortalidade cardiovascular e geral. Também avaliamos a associação entre Pep-C e fatores metabólicos de risco cardiovascular como Triglicerídeos, Glicose; HDL colesterol Proteína C Reativa, hemodinâmicos: Pressão Sistólica, Pressão Diastólica e antropométricos: Circunferência abdominal,  ndice de Massa Corpórea.

Qualidade metodológica

Foram avaliados os seguintes itens relativos ao desenho e condução do estudo²⁰:

1. Representatividade amostral nos grupos de expostos: correspondendo a descrição do grupo ao qual deu-se a extração dos indivíduos expostos seu acompanhamento e sua forma de seleção.

2. Representatividade amostral nos grupos de não expostos: correspondendo a descrição do grupo ao qual deu-se a extração dos indivíduos não expostos seu acompanhamento e sua forma de seleção.
Sendo considerado atendido os critérios para os itens 1 e 2, caso as coortes tenham sido extraídas respeitados princípios da representatividade e da equiprobabilidade amostral mediante descrição do processo de seleção.
3. Definição dos critérios de exposição: se a determinação do Pep-C ocorreu a partir da realização de exames ou auto-relato ou ausência da descrição.
4. Demonstração de que o resultado de interesse não estava presente no início do estudo:
5. Controle para confundidores:
6. Avaliação do resultado: a avaliação do desfecho foi cega ou mediante referência do participante (auto-relato) ou não foi descrito.
7. Tempo de acompanhamento condizente para ocorrência dos resultados: tempo de seguimento para a ocorrência do desfecho investigado de pelo menos 5 anos (sim ou não).
8. Taxa de acompanhamento? As perdas foram descritas (Sim/Não)

Análise estatística

Inicialmente os estudos foram combinados usando modelo fixo, e a heterogeneidade entre os estudos foi avaliada usando o teste Q^2 de Cochran e a medida do I^2 . Como a heterogeneidade foi elevada, combinamos os estudos

usando modelo randômico. Todas as análises foram conduzidas utilizando o *software* Stata/IC v13.

RESULTADOS

A partir da pesquisa eletrônica identificamos 3461 estudos, 1414 oriundos da ScienceDirect e 2047 provenientes do PUBMED. A Figura 1 apresenta o processo de seleção dos estudos, após aplicação dos critérios de elegibilidade, foram selecionados 107 estudos. Ao final da leitura dos artigos identificamos 32 estudos que abordavam o Pep-C como condição de exposição, associado a desfechos cardiovasculares fatais e não fatais e mortalidade geral.

Destes (32), seis foram excluídos por serem estudos de revisão, um por investigar subgrupos com comorbidades específicas de hipotireoidismo, dois por investigarem a obesidade em crianças submetidas a intervenção dietética e cinco estudos investigaram a associação do Peptídeo-C a receptores de membrana, a cafeína e outras condições patológicas como câncer de cólon e pulmão. Totalizando dezoito (18) estudos foram selecionados para a presente revisão. A síntese das principais características dos estudos e seus achados estão representados na Tabela 1.

Um estudo avaliou o efeito protetor da função residual das células β através do Pep-C, no desenvolvimento de complicações microvasculares em diabéticos tipo I. Dois estudos investigaram a associação do Pep-C com o índice de massa corpórea - IMC, um estudo com a gordura corporal, três estudos com o HDL-Colesterol, quatro estudos examinaram a associação entre o Pep-C e a pressão arterial sistólica, cinco com a pressão arterial diastólica. Finalmente oito estudos investigaram o Pep-C com a mortalidade geral, cinco com a mortalidade cardiovascular.

Pep-c e as condições de risco cardiovascular

Chen et al, 1999²¹, demonstrou em chineses com tolerância normal à glicose, que o Pep-C em jejum está associado ao índice de massa corporal ($p < 0,001$), e a associação foi mais forte entre as mulheres. Chan et al²² em 521 pacientes diabéticos acompanhados em Hong Kong, também identificou que o Pep-C está linearmente associado ao índice de massa corporal ($p < 0,001$), mesmo após ajuste para condição de resistência à insulina. Todavia a disponibilidade dos dados em diferentes categorias de Pep-C não permitiu agregar os estudos em uma metanálise.

No que se refere à lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), Abdullah e colaboradores²³, em mulheres árabes, encontraram associação inversa entre o Pep-C e o HDL-colesterol ($\beta -9.46$, $P = 0.01$). Chen e colaboradores²¹ também observaram associação inversa entre o HDL colesterol e o Pep-C ($\beta - 0.04$ $p = 0.0001$). Li e colaboradores²⁴, em 13185 participantes do National Health and Nutrition Examination Survey III- NHANES III, também identificaram associação negativa entre o Pep-C e HDL-C ($p = 0,001$). Em homens, o risco relativo foi de 1,75 (1º vs 4ºquartil), e 1,60, nas mulheres.

Pep-c e a mortalidade cardiovascular

A associação entre Pep-C e mortalidade cardiovascular foi estudada em onze (11) estudos. Pontiroli e colaboradores²⁵ em 1998 numa coorte de portadores de doença cardiovascular demonstraram que os marcadores de resistência a insulina estavam associados a mortalidade. Bo e colaboradores²⁶

em 2002 acompanharam 931 pacientes diabéticos durante 14 anos e verificaram que níveis mais elevados do Pep-C reduziam o risco de complicações microvasculares sem, contudo, apresentar melhoria na sobrevida dos pacientes, não sendo observada associação, entre os tercís do Pep-C e a mortalidade geral ou por câncer, diabetes ou doenças cardiovasculares. Hirai e colaboradores²⁷ na coorte multicêntrica de Wisconsin-EUA acompanharam por 16 anos, 1007 diabéticos e investigaram a associação entre o Pep-C e mortalidade por doença cardíaca isquêmica (β 1,19; IC 95% 1,02-1,39) e doença cerebrovascular em homens (β 1,19; CI 95% 1,02-1,39). Patel e colaboradores²⁸ numa coorte retrospectiva de 51353 participantes com glicemia normal identificou associação entre Pep-C e mortalidade cardiovascular (HR = 1,72, IC 95% 1,34 a 2,21). Marx e colaboradores²⁹, em pacientes encaminhados a angiografia na Alemanha após ajuste para sexo, idade, IMC, hipertensão, tabagismo, taxa de filtração glomerular, triglicérides, colesterol LDL e colesterol HDL encontrou HR de 1,55 (IC 95% 1,07-2,24) nos tercís mais elevados de Pep-C. Pikkemaat e colaboradores³⁰, após ajuste para fatores de confusão, mostrou que pacientes com quartis de Pep-C mais elevados apresentaram mortalidade geral mais elevada (2.75 vezes) em comparação com aqueles no quartil mais baixo (CI 1.17 - 6.47).

Min e colaboradores³¹ encontraram associação entre os níveis séricos e mortalidade cardiovascular e geral em adultos não diabéticos sugerindo o papel do Pep-C como um preditor de eventos fatais. Cardellini e colaboradores³² após identificar a HR :1,29 (IC 95%: 1,02-1,65) associada à mortalidade cardiovascular, sugere uma abordagem de reclassificação para considerar o Pep-C como biomarcador para doenças cardiovasculares

A partir dos estudos analisados extraiu-se dados para compor a metanálise com seis estudos, com um total combinado de 15665 pacientes e a razão de risco combinada para a mortalidade cardiovascular foi de 1,75; (IC 95% 1,142-2,686), Figura 2.

Análise de subgrupos:

Ao analisarmos os subgrupos, segundo a presença de comorbidade do diabetes (Bo²⁶) e de potenciais portadores de doença cardíaca isquêmica (Marx²⁹), observamos um risco relativo de 1.358 (IC 95% 0.912-2.020) para grupo com comorbidade e de 2.303 (IC 95% 1.45-3.657) para o grupo sem comorbidade conforme mostra a Figura 3.

Pep-c e a mortalidade geral

Quatro estudos avaliaram a associação do peptídeo C com a mortalidade geral. Dois deles foram realizados em populações diabéticas e outros dois em população livre de comorbidades. Somente três artigos disponibilizavam dados que permitiam a inclusão nas análises desenvolvidas (Figura 4). O efeito combinado foi de 2,92 (IC 95% 2,02- 4,21). A estimativa ajustada apresentou diminuição da medida de efeito [RR 1,39 (IC 95% 1,04- 1,84)] mas o intervalo de confiança não incluiu a unidade.

DISCUSSÃO

Na revisão sistemática, encontramos que o Pep-C está associado a diferentes fatores de risco cardiovascular. No entanto, o pequeno número de estudos e os diferentes critérios utilizados para definir a exposição,

impossibilitou a realização de metanálise para os componentes de risco cardiovascular.

Por outro lado, observamos associação positiva entre o Pep-C e a mortalidade cardiovascular com amostra de pouco mais de 15000 participantes, investigados ao longo do período médio de 10,9 anos de acompanhamento em estudos de base populacionais. O Pep-C aumentou o risco de mortalidade cardiovascular na análise do subgrupo em populações livres de comorbidade.

A associação entre Pep-C e risco de morte cardiovascular sugere que a resistência à insulina inferida pelos níveis de Pep-C favoreceria o desenvolvimento de eventos macrovasculares fatais como DIC, IAM e DCbVc³⁰⁻³¹. Os mecanismos causais da associação do Pep-C e demais fatores de risco CVCs como pressão sistólica e a componentes bioquímicos como triglicerídeos, podem contribuir para o agravamento da disfunção endotelial favorecendo os desfechos estudados³²⁻³⁴.

Na presente revisão evitamos o viés de múltipla publicação pois excluimos das análises o estudo que empregava a mesma população do NHANES III³⁴.

Na metanálise foram empregadas as estimativas brutas e ajustadas evitando assim que as medidas de efeito pudessem estar afetadas pelos fatores de confusão. Para o estudo da mortalidade CVC, após o ajuste para os fatores de confusão, a estimativa de efeito incluiu a unidade. Portanto, não podemos excluir que a associação observada tenha sido decorrente do acaso. Cabe destacar que a análise dos subgrupos, em que na ausência de comorbidades a associação entre Pep-C e mortalidade cardiovascular e geral

persistiu, demonstrando a inexistência de efeito de interação na análise combinada com essa condição.

Limitações devem ser apontadas no sentido de considerar os achados com cautela especialmente no que refere a diversidade dos fatores de confusão, e não utilização de todo o elenco de fatores de confusão por todos os estudos arrolados, particularmente entre os estudos que acompanharam pacientes com comorbidades, o que pode ter favorecido a subestimativa da medida de efeito na estimativa ajustada. Outro aspecto diz respeito ao pequeno número de estudos acerca do tema, condição que aponta para importância de realização de novas investigações que contribuam com evidências válidas para investigação da associação entre Pep-C e a mortalidade cardiovascular e geral.

Em conclusão, os resultados da presente meta-análise, a primeira sobre o assunto, apontam para a condição de risco do Peptídeo-C associado a mortalidade geral para todos os indivíduos e a mortalidade cardiovascular em pessoas sem comorbidades.

LISTA DE ABREVIATURAS

DCI:	Doença Cardíaca Isquêmica
DCbVc:	Doença Cérebro Vascular
ECNR:	Ensaio Clínico Não Randomizado
HbA _{1c} :	Hemoglobina glicada
HDL:	Lipoproteínas de alta densidade – HDL colesterol
HR:	Hazard Ratio
IMC:	Índice de massa corporal
LDL:	Lipoproteína de baixa densidade – LDL colesterol
MOOSE:	Meta-analysis of observational studies in epidemiology
Pep-C:	Peptídeo de conexão da insulina
PCR-US:	Proteína-C reativa ultrasensível
RR:	Risco Relativo

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

%	Percentual
cm:	centímetros
Kg:	Quilogramas
mm:	Milímetros
mmHg:	Milímetros de mercúrio
nmol:	Nanomol
Qtil:	Quartil
Trcil:	Tercil

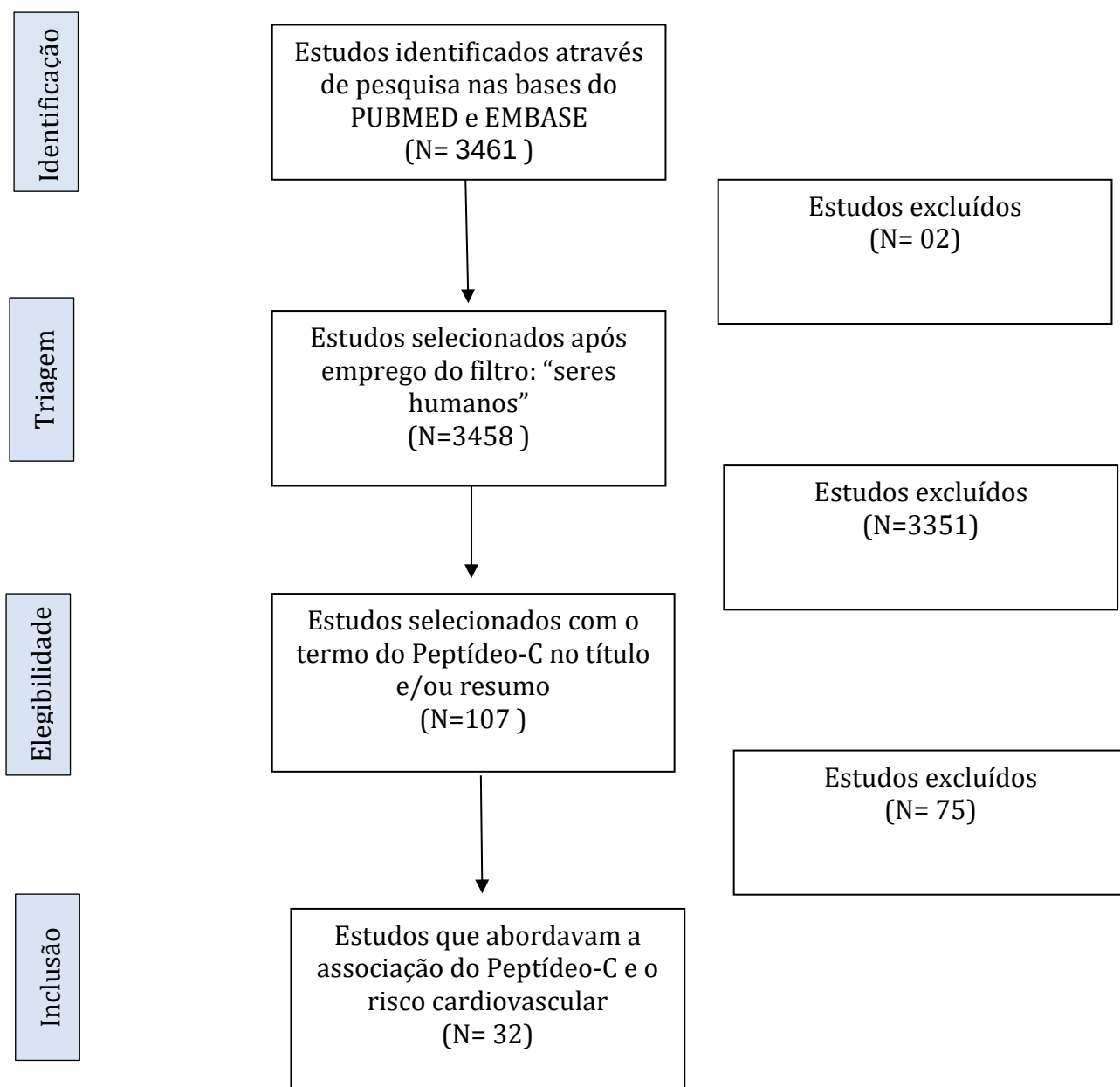
Figura 1: Fluxograma de busca e seleção dos estudos

Tabela 1: Elenco de estudos ordenados cronologicamente avaliados na revisão sistemática

Autor, Ano, País	Título	Publicação	População em Estudo	Desenho do estudo	Emprego do Peptídeo-C	Associação estudada	Medida de associação empregada	Fatores de confusão	Resultados encontrados	Score de qualidade
Donatelli M;1991; Itália	Stepwise increase in plasma insulin and C-peptide concentrations in obese, in obese hypertensive, and in obese hypertensive diabetic subjects	Diabetes Reserch	Hab. Casteldacia, Palermo (7030 participantes)	Transversal	Exposição	BMI e Acidente Vascular Encefálico	OR e coeficiente de regressão	Idade, sexo, etnia, altura, peso, nível de educação, atividade física, tabagismo, uso de álcool, colesterol de lipoproteína de alta densidade, colesterol de lipoproteína de baixa densidade, triglicerídeos	OR Pep-C 3,71 para AVE, e β 0.066 em diabéticos e 0,061 Não diabéticos para obesidade	5
Pontioli A. E; 1997, Itália	Markers of insulin resistance are associated with cardiovascular morbidity and predict overall mortality in long-standing non-insulin-dependent diabetes mellitus	Acta Diabetol	94 pacientes portdores de cardiovascular	Cohort de 5 anos	Desfecho	complicações cardiovasculares e mortalidade com marcadores bioquímicos associados	Coeficiente de regressão (b)	Não relatado	Como condição associada ao óbito CVC foram identificados níveis séricos de triglicerídeos e creatinina. E na regressão foram identificados a dose de insulina, e a creatinina	3
Chen CH;1999; China	Correlation of fasting serum C-peptide and insulin with markers of metabolic syndrome-X in a homogenous Chinese population with normal glucose tolerance.	American Journal of Cardiology	Hab.de Kinmen; China (3247 participantes)	Transversal	Exposição	Peptídeo C e insulina e Síndrome Metabólica (BMI, WC, Pressão arterial média)	Coeficiente de correlação e coeficiente de regressão	Idade, sexo, tabagismo, altura, BMI, Relação cintura quadril colesterol total triglicerídeos HDL Ácido úrico glicemia e pressão arterial	Pep-C está associado com SBP (r 0,023 p 0,0001) e DBP (r 0,032 p 0,0001) em chineses hipertensos e normotensos	5
Haban P;2002; Polonia	Role of fasting serum C-peptide as a predictor of cardiovascular risk associated with the metabolic X-syndrome	Medical Science Monitor Basic Research	Pacientes diabéticos tipo II (29 participantes)	Transversal	Exposição (nmol/l)	BMI, leptina; triglicerídeos e HDL colesterol	Coeficiente de correlação	Não relatado	Leptina: r=0,492; p=0,007. -BMI: r=0,519; p=0,004. - Triglicerídeos: r=0,474; p=0,009. - HDL: r=-0,567; p=0,001 - índice aterogênico: r =0,599; p=0,0006 - triglicerídeo/HDL: r=0,587; p=0,0008.	2

Chan WB;2004; China	The associations of body mass index, C-peptide and metabolic status in Chinese Type 2 diabetic patients	Diabet Med.	Pacientes diabéticos tipo II (521 participantes)	Transversal	Desfecho	BMI e peptideo-C e Hb-glicada	Coefficiente de correlação	Tempo de duração do Diabetes	Concentrações séricas do Pep-C estão linearmente associadas ao BMI Baixo peso: 0,63 peso normal: 1,16 e sobrepeso:1,66	
Hirai F. E; 2008; EUA	Relationship of glycemic control, exogenous insulin, and C-peptide levels to ischemic heart disease mortality over a 16-year period in people with older-onset diabetes: the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR)	Diabetes Care	Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (1007 participantes)	Coohort (16 anos)	Exposição (nmol/l)	Mortalidade Geral e por doença cardíaca isquêmica	Hazard ratios (HR)	Idade, duração do diabetes, Hemoglobina glicada BMI, história de DCVC e retinopatia diabética	Níveis séricos mais elevados de Pep-C estão associados a mortalidade por acidente vascular encefálico em homens	8
Panero F; 2009; Italia	Fasting plasma C-peptide and micro- and macrovascular complications in a large clinic-based cohort of type 1 diabetic patients.	Diabetes Care	Pacientes diabéticos Tipo I -573	Coohort (15,8 anos)	Exposição (tercis)	Complicações Micro e Macrovasculares (Retinopatia, micro e macroalbuminúria e neuropatia diabética)	Coefficiente de correlação e coeficiente de regressão	Não relatado	Maiores valores de Pep-C estão associados a menor prevalência de complicações microvasculares.	5
Abdullah A;2012; Emirados Árabes Unidos	C-Peptide versus insulin: relationships with risk biomarkers of cardiovascular disease in metabolic syndrome in young arab females.	International Journal of Endocrinology	Mulheres Árabes (80 participantes)	Transversal	Exposição	CRP- hs, SBP, DBP, Leptina, HDL-C, Ácido Úrico, WC	Coefficiente de regressão	Não relatado	Ácido úrico: β 1,15; $p < 0,001$ - Circunferência abdominal: β 5,28; $p = 0,02$ - HDL: β - 9,46; $p = 0,01$ Não encontrou correlação do Pep-C : sobrepeso/obeso: Pressão sistólica ($p = 0,10$), proteína C reativa ($p = 0,66$). E do Pep-C em sobrepeso/obeso: Leptina (β 0,57; $p = 0,91$), pressão diastólica (β 4,2; $p = 0,06$)	4

Bo S;2012; Italy	C-peptide and the risk for incident complications and mortality in type 2 diabetic patients: a retrospective cohort study after a 14-year follow-up	European Journal Endocrinology	Pacientes diabéticos tipo II (931 participantes)	Cohort (período médio de 14 anos)	Exposição (tercís)	Causas de Morte: ICD- Doença Cardiovascular (ICD 410–414, 430–438, 440), Câncer (140–239) e Diabetes (250)	Hazard ratios (HR)	Sexo, BMI, tabagismo, tempo de diagnóstico de diabetes, tempo de insulino terapia, HbA1c, SBP, HDL-colesterol, triglicerídeos, presença de retinopatia, neuropatia e doença cardiovascular	Complicações microvasculares apresentaram relação inversa aos tercís de Pep-C. Incidência de doença cardiovascular não apresentou associação. Complicações macrovasculares: retinopatia (HR) 0,33, (IC 95% 0,23-0,47), nefropatia (HR,27; IC 95%: 0,18-0,38) e neuropatia (HR 0,39; IC 95% 0,25-0,61) apresentaram associação negativa com o peptídeo-C. Não foram observadas associação entre o peptídeo-C e a mortalidade por todas as causas ou Câncer, diabetes ou DCV.	6
Patel N,2012; EUA	Fasting Serum C-Peptide Levels Predict Cardiovascular and Overall Death in Nondiabetic Adults	Journal of the American Heart Association	Hab. dos EUA (5153 não-diabéticos)	Cohort (período médio de 14,4 anos)	Exposição (quartis)	Causas de Morte: ICD- Doença Cardiovascular (ICD 410–414, 430–438, 440),	Hazard ratios (HR)	Idade, sexo, etnia (branco, preto, mexicano e outro) e nível de educação uso de álcool, atividades físicas, glicemia plasmática jejum, hemoglobina glicosilada (A1c), índice de massa corporal, taxa de filtração glomerular, relação albumina urinária / creatinina, PCR, tabagismo, Hipertensão, colesterol total, (HDL) e LDL colesterol total.	Mortalidade Cardiovascular: HR 2ºQuartil 1,20 (0,80 - 1,80); 3º Quartil 1,42 (0,90-2,26) 4º Quartil 1,60 (1,07 -2,39). Mortalidade geral HR 2º Quartil 1,22 (0,94 - 1,57); 3ºQuartil 1,77 (1,42 -2,18) 4º Quartil 2,31 (1,77 - 2,99)	8

Jin-young Min;2013; EUA	Serum C-peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus	Canadian Medical Association Journal	Hab. dos EUA (5902 participantes)	Cohort (período médio de 9 anos)	Exposição (quartis)	Mortalidade geral, cardiovascular e Doença cardíaca isquêmica	Hazard ratios (HR), Kaplan-Meier	Idade, sexo, origem étnica, educação, tabagismo, estado de consumo de álcool, hora da última refeição, história pregressa de Hipertensão arterial, hipercolesterolemia, Hemoglobina e níveis séricos de glicose em jejum, ataque cardíaco e índice de massa corporal, proteína C reativa, colesterol total, triglicerídeos, insulina sérica, glicada	A razão de risco entre 4º e 1º quartil foi 1,80 (IC 95% 1,33-2,43) para mortalidade geral, 3,20 (IC 95% 2,07-4,93) para mortalidade cardiovascular e 2,73 (IC 95% 1,55-4,82) doença cardíaca isquêmica	8
Marx N. 2013; Alemanha	C-Peptide Levels Are Associated with Mortality and Cardiovascular Mortality in Patients Undergoing Angiography: The LURIC study	Diabetes Care	Hab. da Alemanha (3316 participantes)	Cohorte (7,6 anos)	Exposição em (tercis)	Mortalidade geral, cardiovascular e Doença cardíaca isquêmica	Hazard ratios (HR), Kaplan-Meier	Sexo e idade, IMC, hipertensão, tabagismo, taxa de filtração glomerular, triglicérides, colesterol LDL e colesterol HDL, glicemia de jejum, insulina de jejum, HbA 1c, diabetes de início recente, pró-insulina, ácidos graxos livres, glicerol livre, e proteína C reativa)	Após o ajuste completo, o valor prognóstico do peptídeo C no maior comparado com o tercil mais baixo foi significativo, com uma HRs de 1,55 (1,07-2,24; P = 0,022)	6
Li Y;2014; EUA	Associations of serum C-peptide level with body fat distribution and ever stroke in nondiabetic subjects	Journal of stroke and cerebrovascular diseases	Hab. dos EUA (7030 participantes)	Cross-sectional	Exposição (nmol/l)	BMI e AVC : (Peso (kg), Altura (cm), Índice de massa corporal (kg / cm ²), WC (cm), Peptídeo-C sérico (nmol / L), insulina sérica (mU / mL) Mg / dL), colesterol total (mmol / L), triglicerídeos (mmol / L), HDL-C (mmol / L), LDL-C (mmol / L), PAS (mmHg))	Para o BMI empregou-se os coeficientes de regressão e p/ AVC: Odds ratio	Idade, sexo, etnia, altura, peso, Nível de educação, atividade física, tabagismo, consumo de álcool, HDL-C, LDL-C e triglicérides, insulinemia e glicemia para avc: Sexo, idade, etnia, nível de instrução, atividade física, Tabagismo, consumo de álcool, IMC, insulina sérica, glicemia, Colesterol total, triglicerídeos, HDL-C, LDL-C e hipertensão	C-peptídeo está associado a eventos de acidente vascular cerebral e positivamente associado a distribuição de gordura corporal	8

Cai X;2014; China	Age at diagnosis and C-peptide level are associated with diabetic retinopathy in Chinese.	Open Access journal, PLOS ONE	Pacientes diabéticos tipo II (5210 participantes)	Cross-seccional	Desfecho	Retinopatia diabética e Peptídeo C	Coefficiente de regressão	Modelo 1: ajustado para gênero e idade. Modelo 2: gênero, idade, BMI e HbA1c. Modelo 3: idade, BMI, HbA1c, duração do diabetes, SBP, ACR, creatinina tempo de insulino terapia	Não foi observado associação entre o peptídeo C em jejum ou o peptídeo C pós-prandial e retinopatia diabética após ajuste para variáveis de confusão	3
Pikkemaat M; 2014	C-peptide concentration, mortality and vascular complications in people with Type 2 diabetes. The Skaraborg Diabetes Register	DIABETIC Medicine	399 pacientes acompanhados no Skaraborg Diabetes Register	Coohort de 45 anos	Exposição (quartis)	Mortalidade Cardiovascular e Geral	Hazard ratios (hr)	idade, sexo, tabagismo, IMC, pressão arterial sistólica, tratamento anti-hipertensivo, HbA1c, PCR, taxa de filtração glomerular e história de doença cardiovascular prévia (miocárdio infarto, angina instável ou acidente vascular cerebral	Análise de regressão de Cox para Quartis de péptido C: 2º Q-HR 0.61 (0.05 7.79); 3ºQ -HR 1.06 (0.13 8.65); 4ºQ-HR 2.67 (0.40 17.75)	8
Cabrera de Leon A;2015; Espanha	C-peptide as a risk factor of coronary artery disease in the general population	Diabetes & vascular disease research	Hab. das Ilhas Canárias (6630 participantes)	Coohort (3,5 anos)	Exposição (tercis)	Infarto do miocárdio e Doença coronariana	Risco Relativo	Resistencia insulina combinada ao Pep-C e a glicemia	O peptídeo C elevado está associado com a incidência de enfarte do miocárdio e doença arterial coronária na população em geral	8
Li Y;2015; EUA	Association between serum C-peptide as a risk factor for cardiovascular disease and high-density lipoprotein cholesterol levels in nondiabetic individuals	Open Access journal, PLOS ONE	Hab. Dos EUA (13185 participantes)	Coohort (período médio de 15 anos)	Exposição (quartis)	HDL e mortalidade Cardiovascular	Hazard ratios (hr)	Idade, raça-etnia, níveis de educação, atividade física, tabagismo, uso de álcool, pressão arterial sistólica, nível sérico de insulina, nível sérico de triglicerídeos e nível de colesterol sérico	Homens: - 2o quartil Pep-C: OR 1,75; p<0,001 - 3o quartil Pep-C: OR 2,79; p<0,001 - 4o quartil Pep-C: OR 3,07; p<0,001 mulheres: - 2o quartil Pep-C: OR 1,60; p<0,001 - 3o quartil Pep-C: OR 2,61; p<0,001 - 4o quartil Pep-C: OR 3,67; p<0,001	8
Cardellini M; 2017, Italia	C-peptide: A predictor of cardiovascular mortality in subjects with established atherosclerotic disease	Diabetes & Vascular Disease Research	431 pacientes portadores de DAC	Coohort de 56 meses	Exposição (nmol/l)	Mortalidade Cardiovascular e Geral	Hazard ratios (hr)	após ajuste para idade, sexo, terapia antidiabética	análise multivariada de Cox: péptido C [HR: 1,38 (95% IC 1.057-1.801, p = 0.018)]	8

Nota: Hab- Habitantes; BMI- Índice de massa corpórea; WC- circunferência abdominal, SBP: Pressão sistólica; DBP-Pressão diastólica; OR- Odds Ratio

Figura 2: Metanálise da Mortalidade Cardiovascular associada ao Peptídeo-C

Autor do Estudo	Ano de Publicação	Óbitos < Pep-C	Nº Participantes	Óbitos > Pep-C	Nº Participantes	RR	IC 95%	Peso (%)
Pontioli A. E.	1997	0	19	4	12	10.588	0.61-183,0	0.09
BO	2012	244	529	251	535	1.012	0.87-1.17	47.76
Patel N.	2012	49	1284	157	1283	2.966	2.17-4.05	9.88
Marx N	2013	61	735	102	756	1.551	1.14-2.09	12.29
Ying Li	2013	146	1475	295	1475	1.850	1.38-1.69	29.59
Pikkemaat M.	2014	2	100	6	100	2.887	1.53-13.97	0.40
Efeito Combinado		502	4142	815	4161	1.82	1.17-2.82	100

Teste de heterogeneidade $\pi^2 = 54.89$; $P < 0,000$

$I^2 = 90.9$; Variância entre estudos $\text{Tau}^2 = 0,2025$, $\text{RR}=1$ $z= 2,67$ $p = 0.08$

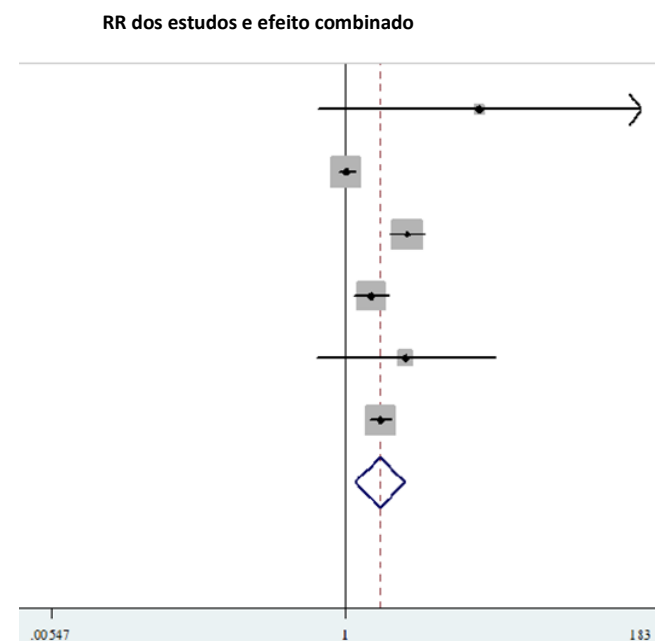


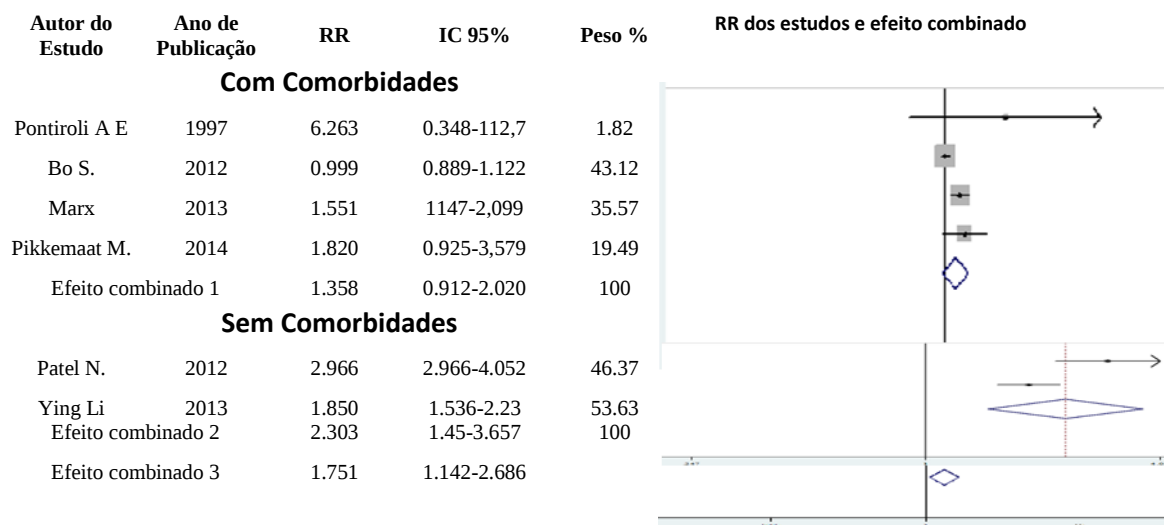
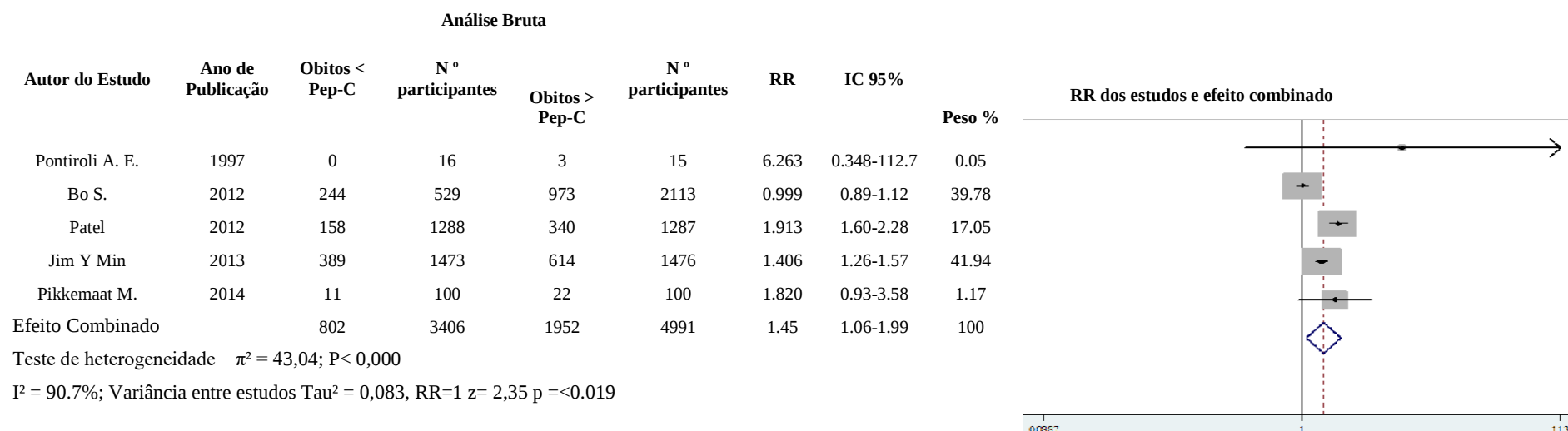
Figura 3: Metanálise da Mortalidade Cardiovascular segundo subgrupos de comorbidades

Figura 4: Metanálise da Mortalidade Geral associada ao Peptídeo-C

PARTICIPAÇÃO DOS AUTORES:

1. **Romildo Luiz Monteiro Andrade:** Projetou o estudo, realizou a busca seleção e leitura dos estudos elencados na revisão sistemática, análise estatística da metanálise e elaborou o manuscrito final.
2. **Gabriela Callo** - Realizou a busca seleção e leitura dos estudos elencados na revisão sistemática, análise estatística da metanálise e elaboração do manuscrito
3. **Bernardo Lessa Horta-** Contribuiu para o desenho do estudo, supervisionou a análise estatística, interpretou os resultados analisados e revisão do manuscrito.

Todos os autores aprovaram a versão final a ser apresentada e concordam em serem autores responsabilizando-se pelos aspectos do trabalho no sentido de garantir que as questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho são devidamente investigadas e resolvidas.

Interesses concorrentes: Os autores declaram não ter interesse concorrente.

FINANCIAMENTO

Este trabalho contou com apoio do programa de Doutorado Institucional da Coordenação De Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES - DINTER: UFPel/UFES, desenvolvido pelo Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da UFPel.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram ausência de conflitos de interesse para com o teor e a divulgação deste artigo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o espírito de colaboração científica das Dr^a Simona Bo, Dr^a Mirian Pikkemaat e Dr Antonio Pontiroli, autores dos artigos selecionados para compor a metanálise, por sua presteza no atendimento no fornecimento dos dados que permitiram a estimativas metanálíticas do estudo. Nossos honrosos agradecimentos!

Tabela Suplementar: Avaliação da qualidade dos estudos elencados na revisão sistemática

Autor, Ano, País	Representatividade amostral nos grupos de expostos	Representatividade amostral nos grupos não expostos	Definição dos critérios de exposição	Demonstração de que o resultado de interesse não estava presente no início do estudo	Subtotal	Controle para confundidores	Subtotal	Avaliação do resultado	Tempo de acompanhamento foi suficiente para que os resultados ocorressem	Adequação do acompanhamento das coortes	Subtotal	Score alcançado
Panero F; 2009; Italia	0	0	1	1	2	0	0	1	1	1	2	5
Donatelli M; 1991; Itália	1	1	1	0	3	1	1	1	0	0	1	5
Chen CH; 1999; China	1	1	1	0	3	1	1	1	0	0	1	5
Haban P; 2002; Polônia	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	2
Chan WB; 2004; China	1	1	1	0	3	1	1	1	0	0	1	5
Hirai F. E; 2008; EUA	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	3	8
Panero F; 2009; Itália	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	3	8
Abdullah A; 2012; Emirados Árabes Unidos	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	3	4
Bo S; 2012; Italy	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	3	8

Patel N; 2012; EUA	0	0	1	1	2	1	1	1	1	0	2	5
Jin- young Min; 2013; EUA	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	3	8
Li Y; 2014; EUA	1	1	1	0	3	1	1	1	0	0	1	5
Cai X;2014; China	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	3
Cabrera de Leon A; 2015; Espanha	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	3	8
Li Y; 2015; EUA	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	3	8

Referência Bibliográfica:

1. Steiner D.F.; Cunningham D.; Spigelman L.; Aten B. (1967). "Insulin Biosynthesis: Evidence for a Precursor". *Science*. 157 (3789): 697 700. doi:10.1126/science.157.3789.697. PMID 4291105. <http://science.sciencemag.org/content/157/3789/697/tab-pdf>
2. Horwitz DL, Rubenstein AH, Steiner DF. Proinsulin and C-peptide in diabetes. *Med Clin North Am*. 1978 Jul;62(4):723-33. Review. PubMed PMID: 98676 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC301883/pdf/jcinvest00170-0152.pdf>
3. Clark PM (1999). "Assays for insulin, proinsulin and C-peptide". *Ann Clin Biochem*. 36: 541–564 <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/000456329903600501>
4. Kitabchi AE. Proinsulin and C-peptide: a review. *Metabolism*. 1977 May;26(5):547-87. Review. PubMed PMID: 403392. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0026049577900993?via%3Dihub>
5. Hills CE, Brunskill NJ (2008). "Intracellular signalling by C-peptide". *Exp Diabetes Res*. 2008: 635158. doi:10.1155/2008/635158. PMC 2276616 . PMID 18382618. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2276616/pdf/EDR2008-635158.pdf>
6. Rodacki Melanie, Zajdenverg Lenita, Milech Adolpho, Oliveira José Egídio Paulo de. Dosagem do peptídeo C sérico ao acaso em adultos com diagnóstico clínico de diabetes mellitus tipo 1. *Rev. Assoc. Med. Bras.* [Internet]. 2008 June [cited 2017 Feb 23] ; 54(3): 238-241. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302008000300017>
7. Brandenburg D. History and diagnostic significance of C-peptide. *Exp Diabetes Res*. 2008; 2008:576862. doi: 10.1155/2008/576862. Review. PubMed PMID: 18509495; PubMed Central PMCID: PMC2396242 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2396242/pdf/EDR2008-576862.pdf>
8. Jones AG, Hattersley AT (Jul 2013). "The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes". *Diabetic Medicine*. 30 (7): 803–17. doi:10.1111/dme.12159. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3748788/pdf/dme0030-0803.pdf>
9. Sima AA, Zhang W, Sugimoto K, et al. (July 2001). "C-peptide prevents and improves chronic Type I diabetic polyneuropathy in the BB/Wor rat". *Diabetologia*. 44 (7): 889–97. doi:10.1007/s001250100570. PMID 11508275. <http://download.springer.com/static/pdf/298/art%253A10.1007%252Fs001250100570.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Flink.springer.com%2Farticle%2F10.1007%2Fs001250100570&token2=exp=1493749455~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F298%2Fart%25253A10.1007%25252Fs001250100570.pdf%3ForiginUrl%3Dhttp%253A%252F%252Flink.springer.com%252Farti>

[cle%252F10.1007%252Fs001250100570~hmac=6053d9c33076ea53e9fdcd2a8eee83c80c54b47db0dcc432288f848e17f08eeb](https://doi.org/10.1007%252Fs001250100570~hmac=6053d9c33076ea53e9fdcd2a8eee83c80c54b47db0dcc432288f848e17f08eeb)

10. Samnegård B, Jacobson SH, Jaremko G, et al. (March 2005). "C-peptide prevents glomerular hypertrophy and mesangial matrix expansion in diabetic rats". *Nephrol. Dial. Transplant.* 20 (3): 532–8. doi:10.1093/ndt/gfh683. PMID 15665028.
<https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfh683>
11. Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W: função das células β e o desenvolvimento de complicações relacionadas com diabetes no Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 26: 832-836, 2003. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2628697/>
12. Cai X, Han X, Zhang S, Luo Y, Chen Y, Ji L. Age at diagnosis and C-peptide level are associated with diabetic retinopathy in Chinese. *PLoS One.* 2014;9(3):e91174
<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0091174>
13. Marx N, Walcher D, Raichle C, et al. C-peptide colocalizes with macrophages in early arteriosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocyte chemotaxis in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:540-5 <http://atvb.ahajournals.org/content/24/3/540.long>
14. Vasic DW, D. C-peptide: a new mediator of atherosclerosis in diabetes. *Mediators Inflamm.* 2012; 2012:858692
<https://www.hindawi.com/journals/mi/2012/858692/>
15. Haban P, Simoncic R, Zidekova E, et al. Role of fasting serum C-peptide as a predictor of cardiovascular risk associated with the metabolic X-syndrome. *Med Sci Monit* 2002;8:CR175-9.
<http://www.medscimonit.com/download/index/idArt/420907>
16. Von Eckardstein A, Fischer F, Schulte H, Tataru M, Kohler E, Assmann G. Association of serum apolipoprotein A-I (but not high-density lipoprotein cholesterol) with healed myocardial infarction in men independent of serum insulin and C-peptide. *Am J Cardiol.* 2001;88(7):723-6
http://ac.els-cdn.com/S0002914901018409/1-s2.0-S0002914901018409-main.pdf?_tid=1db08a50-2f5d-11e7-a570-00000aabb0f26&acdnat=1493746443_b7db76eb0ad950e8d82d11f1157658df
17. Cabrera de Leon A, Oliva Garcia JG, Marcelino Rodriguez I, Almeida Gonzalez D, Aleman Sanchez JJ, Brito Diaz B, et al. C-peptide as a risk factor of coronary artery disease in the general population. *Diab Vasc Dis Res.* 2015;12(3):199-207
<http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1479164114564900>

18. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, Moher D, Becker BJ, Sipe TA, Thacker SB. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. JAMA. 2000 Apr 19;283(15):2008-12. Review. PubMed PMID: 10789670.
<https://www.editorialmanager.com/jognn/account/MOOSE.pdf>
19. Technical package for cardiovascular disease management in primary health care. 1. Myocardial Infarction – prevention and control. 2. Cardiovascular Diseases. 3. Primary Health Care. World Health Organization. ISBN 978 92 4 151137 7 (NLM classification: WG 310) © World Health Organization 2016
http://www.who.int/cardiovascular_diseases/hearts/en/
20. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, Tugwell P, The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses
http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp
21. Chen CH, Tsai ST, Chou P. Correlation of fasting serum C-peptide and insulin with markers of metabolic syndrome-X in a homogenous Chinese population with normal glucose tolerance. Int J Cardiol. 1999;68(2):179-86. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10189006>
22. Chan WB, Tong PC, Chow CC, So WY, Ng MC, Ma RC, et al. The associations of body mass index, C-peptide and metabolic status in Chinese Type 2 diabetic patients. Diabet Med. 2004;21(4):349-53
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15049937>
23. Abdullah A, Hasan H, Raigangar V, Bani-Issa W. C-Peptide versus insulin: relationships with risk biomarkers of cardiovascular disease in metabolic syndrome in young arab females. Int J Endocrinol. 2012;2012:420792
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3415197/>
24. Li Y, Meng L, Zheng L. Association between serum C-peptide as a risk factor for cardiovascular disease and high-density lipoprotein cholesterol levels in nondiabetic individuals. PLoS One. 2015;10(1):e112281
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4283961/>
25. Pontiroli AE, Pacchioni M, Camisasca R, Lattanzio R. Markers of insulin resistance are associated with cardiovascular morbidity and predict overall mortality in long-standing non-insulin-dependent diabetes mellitus. Acta Diabetol. 1998 Apr;35(1):52-6. PubMed PMID: 9625290 DOI <https://doi.org/10.1007/s005920050>

26. Bo S, Gentile L, Castiglione A, Prandi V, Canil S, Ghigo E, et al. C-peptide and the risk for incident complications and mortality in type 2 diabetic patients: a retrospective cohort study after a 14-year follow-up. *Eur J Endocrinol.* 2012;167(2):173-80.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22577110>
27. Hirai FE, Moss SE, Klein BE, Klein R. Relationship of glycemic control, exogenous insulin, and C-peptide levels to ischemic heart disease mortality over a 16-year period in people with older-onset diabetes: the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR). *Diabetes Care.* 2008;31(3):493-7.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2773445/>
28. Patel N, Taveira TH, Choudhary G, Whitlatch H, Wu WC. Fasting serum C-peptide levels predict cardiovascular and overall death in nondiabetic adults. *J Am Heart Assoc.* 2012;1(6):e003152
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540682/>
29. Marx N, Silbernagel G, Brandenburg V, Burgmaier M, Kleber ME, Grammer TB, Winkelmann BR, Boehm BO, März W. C-peptide levels are associated with mortality and cardiovascular mortality in patients undergoing angiography: the LURIC study. *Diabetes Care.* 2013 Mar;36(3):708-14. doi: 10.2337/dc12-1211. Epub 2012 Nov 30. PubMed PMID: 23204248; PubMed Central PMCID: PMC3579368.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23204248>
30. Pikkemaat M, Melander O, Mölsted S, Garberg G, Boström KB. C-peptide concentration, mortality and vascular complications in people with Type diabetes. The Skaraborg Diabetes Register. *Diabet Med.* 2015 Jan;32(1):85-9. doi: 10.1111/dme.12608. Epub 2014 Oct 29. PubMed PMID: 25354243
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dme.12608/pdf>
31. Jin-young Min PhD K-bMMP. Serum C-peptide levels and risk of death.pdf. *CMAJ.* 2013;185, June 11,(9).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3680586/>
32. Cardellini M, Farcomeni A, Ballanti M, Morelli M, Davato F, Cardolini I, Grappasonni G, Rizza S, Guglielmi V, Porzio O, Pecchioli C, Menghini R, Ippoliti A, Federici M. C-peptide: A predictor of cardiovascular mortality in subjects with established atherosclerotic disease. *Diab Vasc Dis Res.* 2017 Sep;14(5):395-399. doi: 10.1177/1479164117710446. Epub 2017 May 31. PubMed PMID: 28565926.
<http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1479164117710446>
33. Panero F, Novelli G, Zucco C, Fornengo P, Perotto M, Segre O, et al. Fasting plasma C-peptide and micro- and macrovascular complications in a large clinic-based cohort of type 1 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2009;32(2):301-5.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2628697/>

34. Nordquist L, Nordquist L, Johansson M. Proinsulin C-peptide: friend or foe in the development of diabetes-associated complications? *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4(6):1283-8. Review. PubMed PMID: 19337542; PubMed Central PMCID: PMC2663462.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663462/>
35. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988 Dec;37(12):1595-607. Review. PubMed PMID: 3056758 <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/37/12/1595.long>
36. Donatelli M, Scarpinato A, Bucalo ML, Russo V, Iraci T, Vassallo G. Diabetes Res. 1991;17(3):125-9. Stepwise increase in plasma insulin and C-peptide concentrations in obese, in obese hypertensive, and in obese hypertensive diabetic subjects. *Diabetes Res.* 1991 Jul;17(3):125-9. PubMed PMID: 1841027.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1841027>
37. Li Y, Meng L, Sato Y. Associations of serum C-peptide level with body fat distribution and ever stroke in nondiabetic subjects. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014;23(3):e163-9
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105230571300387X>

NOTA À IMPRENSA

Nosso estudo investigou o Peptídeo de conexão da insulina, também denominado Peptídeo-C. Esta substância era tida como uma molécula organicamente inerte desde sua descoberta em 1967. Porém novos estudos no início do século XXI demonstraram sua atuação na promoção de fenômenos aterogênicos e inflamatórios associados a mortalidade cardiovascular.

O estudo foi conduzido a partir da coorte de 1982 em Pelotas, e demonstrou a associação entre a molécula e as condições de risco como obesidade, diabetes e hipertensão em indivíduos jovens, já aos 23 anos.

Um destaque no trabalho desenvolvido foi, foi o estudo de metanálise, (estimativas a partir de “todos” estudos já publicados sobre o tema) em que foi demonstrado pela primeira vez nesta modalidade que o Pep-C esta associado ao aumento da mortalidade cardiovascular e geral.

O presente trabalho foi conduzido pelo médico sanitaria-cardiologista Dr Romildo L M Andrade sob orientação do Prof. Doutor Bernardo Lessa Horta e contou com a participação na equipe da:

Prof^a **Denise P Gigante** - denisepgigante@gmail.com

Prof^a **Isabel Oliveira de Oliveira**²- isabel.ufpel@gmail.com

Epidemiologista: **Gabriela Callo** - gavizon7@hotmail.com

Prof. Doutor **Bernardo Lessa Horta** - blhorta@gmail.com