

# AValiação dos Níveis da Citocina Pró-Inflamatória Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ em Pacientes com Diabetes Tipo 2 e sua Relação com Variações Genéticas de Enzimas Antioxidantes e Obesidade

## EVALUATION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE TUMOR NECROSIS FACTOR- $\alpha$ LEVELS IN OBESE VS NONOBESE PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES AND THEIR RELATIONSHIP TO CAT C-262T POLYMORPHISM

Natália Marrane Delucca<sup>1</sup>, Mariana Farias Rodrigues<sup>1</sup>, Sara de Alvarenga Fontes Quadros<sup>1</sup>, Caio Loureiro Salgado<sup>2</sup>, Daniel Cláudio de Oliveira Gomes<sup>3</sup>, Melissa de Freitas Cordeiro-Silva<sup>1</sup>

### RESUMO

Clin Biomed Res. 2022;42(3):210-217

1 Centro Universitário Salesiano.  
Vitória, ES, Brasil.

2 Universidade de São Paulo.  
São Paulo, SP, Brasil.

3 Universidade Federal do Espírito Santo.  
Santo. Vitória, ES, Brasil.

#### Autor correspondente:

Melissa de Freitas Cordeiro-Silva  
mcordeiro@salesiano.br  
Centro Universitário Salesiano  
Av. Vitória, 950  
29017-950, Vitória, ES, Brasil.

**Introdução:** Diabetes tipo 2 (DM2) é um distúrbio multifatorial caracterizado pelo aumento dos níveis de radicais livres. Tanto o estresse oxidativo quanto a obesidade contribuem para um estado inflamatório da doença, principalmente pelo aumento da citocina TNF- $\alpha$ . Sabendo-se que a genética individual pode contribuir para o estresse oxidativo, o estudo avaliou o impacto das variações genéticas de enzimas antioxidantes C262T no gene *CAT* e polimorfismos nulos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* nos níveis de TNF- $\alpha$ , assim como, avaliou se as variantes genéticas atuavam sinergicamente com a obesidade aumentando os níveis da citocina em diabéticos da Grande Vitória/ES, Brasil.

**Métodos:** O polimorfismo no gene *CAT* foi avaliado pela técnica PCR/RFLP e nos genes *GSTM1* e *GSTT1* por PCR multiplex, em 56 pacientes, sendo 28 obesos e 28 não obesos. Níveis de TNF- $\alpha$  foram medidos pela técnica de ELISA sanduíche.

**Resultados:** Frequências das variantes nulas de *GSTM1* e *GSTT1* foram 44,6% e 17,9%, respectivamente. As frequências genotípicas C262T-CAT foram 73,2%, 25% e 1,8% para homocigoto normal, heterocigoto e homocigoto polimórfico, respectivamente. Não houve associação entre genótipos polimórficos e aumento dos níveis de TNF- $\alpha$ , assim como, não foi demonstrado aumento significativo da citocina quando avaliado o sinergismo entre obesidade e genética individual do paciente.

**Conclusão:** Níveis de TNF- $\alpha$  não se elevam em diabéticos tipo 2 na presença dos polimorfismos nos genes *CAT*, *GSTM1* e *GSTT1*, e a obesidade não atua no aumento dessa citocina na população estudada, separadamente ou em conjunto com a genética individual de variantes nos genes *CAT*, *GSTM1* e *GSTT1*.

**Palavras-chave:** Diabetes tipo 2; estresse oxidativo; obesidade; catalase; glutathione S-transferase M1; glutathione S-transferase T1; citocina; fator de necrose tumoral  $\alpha$

### ABSTRACT

**Introduction:** Type 2 diabetes is a multifactorial disorder characterized by increased levels of free radicals. Both oxidative stress and obesity contribute to an inflammatory state of the disease, mainly by increasing the levels of the proinflammatory cytokine tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Considering that personal genetics may contribute to oxidative stress, this study assessed the impact of *CAT* C-262T polymorphism and *GSTM1* and *GSTT1* null polymorphisms on TNF- $\alpha$  levels in patients with type 2

diabetes. The study also evaluated whether the genetic variants act synergistically with obesity to increase TNF- $\alpha$  levels in patients with diabetes from Grande Vitória, Brazil.

**Methods:** Fifty-six patients were included, of whom 28 were obese and 28 were nonobese. The *CAT* gene polymorphism was assessed using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method, whereas *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms were assessed using multiplex PCR. TNF- $\alpha$  levels were measured using the sandwich ELISA technique.

**Results:** Frequencies of *GSTM1* and *GSTT1* null polymorphisms were 44.6% and 17.9%, respectively. The genotype frequencies of *CAT* C-262T polymorphism were 73.2%, 25.0%, and 1.8% for normal homozygote, heterozygote, and polymorphic homozygote, respectively. Polymorphic genotypes were not associated with increased TNF- $\alpha$  levels, and there was no significant increase in TNF- $\alpha$  levels when evaluating the synergism between obesity and personal genetics.

**Conclusion:** The presence of *CAT*, *GSTM1*, and *GSTT1* gene polymorphisms was not associated with increased TNF- $\alpha$  levels in patients with type 2 diabetes. Obesity alone or combined with personal genetics of *CAT*, *GSTM1*, and *GSTT1* gene polymorphisms did not promote increased TNF- $\alpha$  levels in the study population.

**Keywords:** Diabetes; oxidative stress; obesity; catalase; glutathione S-transferase M1; glutathione S-transferase T1; cytokine; tumor necrosis factor alpha

## INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma afecção multifatorial relacionada a fatores genéticos e ambientais, caracterizada por uma produção insuficiente de insulina ou resistência a ação desse hormônio, 90 a 95% dos casos de diabetes no mundo corresponde ao tipo 2 da doença<sup>1</sup>, sendo que o Brasil ocupa a quarta posição em número de casos no mundo<sup>2</sup>, e no Espírito Santo acomete aproximadamente 10% da população<sup>3</sup>.

O estresse oxidativo compreende um importante fenômeno para a manifestação e prognóstico da DM2 caracterizado por um estado de desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a sua remoção através da defesa antioxidante, seja ela endógena ou exógena<sup>4</sup>. Esse estado disfuncional interfere na homeostase, ativando vias de sinalizações pró-inflamatórias que promovem um quadro de disfunção de células beta-pancreáticas e hiperglicemia, além de elevar o risco vascular<sup>5</sup>.

O Fator de Necrose Tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ) é uma das principais citocinas que promovem a inflamação no corpo humano, e está fortemente envolvida no desenvolvimento da resistência insulínica e patogênese da DM2. Essa citocina tem uma relação direta com a obesidade, já que TNF- $\alpha$  assim como outras adipocinas são liberadas pelo tecido adiposo caracterizando a obesidade como uma doença inflamatória<sup>6</sup>. A elevação do nível de massa gorda e, conseqüentemente de TNF- $\alpha$ , pode acarretar o estado de resistência insulínica mediada por inflamação levando a hiperglicemia<sup>7</sup>.

Com isso torna-se evidente que a obesidade associada ao estresse oxidativo acentua o desenvolvimento do quadro inflamatório<sup>8</sup>, contribuindo

para o surgimento da DM2 e de suas complicações, principalmente os problemas cardiovasculares, que são responsáveis por 75% de óbitos dos pacientes portadores do DM2<sup>9</sup>.

Polimorfismos em genes antioxidantes podem contribuir para a patogênese e avanço da DM2 através do estresse oxidativo, uma vez que essas variações podem afetar as atividades catalíticas dessas enzimas que atuam bloqueando o efeito danoso dos radicais livres<sup>10</sup>. As *Glutathione S-transferases* (*GSTs*) são enzimas metabólicas responsáveis pela detoxificação de produtos endógenos e exógenos. Dois genes pertencentes à família das *GSTs*, o *GSTM1* e o *GSTT1*, apresentam polimorfismos de deleção sendo que pessoas homocigotas para o polimorfismo (genótipo nulo) tanto no gene *GSTM1* quanto no gene *GSTT1* não possuem a respectiva enzima funcional<sup>11,12</sup>. A catalase também é uma enzima antioxidante que atua catalisando a decomposição de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio e também na oxidação de compostos hidrogenados<sup>13</sup>. O polimorfismo C262T no gene *Catalase* (*CAT*) tem sido associado com baixa atividade enzimática e aumento nos níveis de radicais livres<sup>14</sup>. A disfunção, ausência ou diminuição de enzimas antioxidantes podem ser responsáveis pelo estresse oxidativo, sendo assim, mutações nos genes codificadores poderiam atuar como fator prognóstico da DM2 por contribuir com o estresse oxidativo e, conseqüentemente, com a ação inflamatória e risco vascular<sup>10</sup>.

O presente estudo teve o propósito de avaliar se polimorfismos em genes antioxidantes (*GSTM1*, *GSTT1* e *CAT*) influenciam no aumento dos níveis de TNF- $\alpha$  em diabéticos tipo 2 residentes na Grande Vitória/ES. Também investigou se a obesidade

associada a genótipos polimórficos atua sinergicamente aumentando os níveis de TNF- $\alpha$  plasmáticos na DM2.

## MÉTODOS

### Grupo Amostral

Trata-se de um estudo Caso-Control, no qual foram incluídos indivíduos diagnosticados com Diabetes tipo 2 obesos e não obesos, atendidos entre março de 2017 a setembro de 2019, na Associação de Diabéticos de Vila Velha/ES, no Centro Integrado de Atenção à Saúde da Católica (CIASC) e na Unidade de Saúde Dr Bolívar de Abreu, Forte São João, Vitória/ES, Brasil.

O grupo foi composto por 56 pacientes, sendo 28 obesos e 28 não obesos, classificados de acordo com o Índice de Massa Corporal (Kg/m<sup>2</sup>). Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Salesiano – UniSales, sob o número do parecer: 2.353.462. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

### Análise Molecular

Após a coleta de sangue periférico, o plasma foi removido do tubo contendo ativador de coágulo, transferido para tubo criogênico e armazenado em freezer -80°C para análise imunológica. A extração de DNA, para a análise genética, foi realizada a partir de 1ml do sangue coletado em tubo EDTA. O DNA foi extraído de leucócitos do sangue periférico. A extração do DNA foi realizada pelo método orgânico utilizando-se Fenol/Clorofórmio. Os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram investigados através da técnica de PCR multiplex como descrito por Bid et al.<sup>15</sup>, utilizando um fragmento de 340pb do gene *CYP1A1* como controle interno de amplificação. O polimorfismo no gene *CAT* foi detectado pela técnica de PCR-RFLP como descrito por Suzen et al.<sup>16</sup>. As sequências dos oligonucleotídeos iniciadores (*primers* 5'–3') para a amplificação da região de interesse do gene *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1*, respectivamente, foram: F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC e R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG, F: TTCCTTACTGGTCCTCCTCACATCTC e R: TCACCGGATCATGGCCAGCA, F: TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT e R: CAGTGAAGAGTGTAGCCGCT. Os *primers* para detecção da variante no gene *CAT* foram: F: AGAGCCTCGCCCCGCCGGACCG; R: TAAGAGCTGAGAAAGCATAGCT, e a enzima de restrição utilizada na técnica PCR-RFLP foi a *SmaI*. Os tamanhos dos fragmentos de DNA obtidos foram: *GSTM1* 215 pares de base (pb), *GSTT1* 480 pb, *CYP1A1* 340 pb, *CAT* – alelo normal: 155 pb e 30 pb; alelo variante: 185 pb.

Os fragmentos obtidos foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 2%.

### Análise dos Níveis de TNF- $\alpha$

A análise imunológica foi realizada em parceria com o departamento de Imunologia e Patologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). As dosagens de TNF- $\alpha$  foram realizadas pela técnica de ELISA sanduíche, utilizando pares de anticorpos monoclonais de captura e de revelação biotinilados da eBioscience®, seguindo a recomendação do fabricante. Em síntese, placas de 96 poços de alta absorção (Costar®) foram sensibilizadas com o anticorpo de captura (18 horas/25°C). Posteriormente, as placas foram lavadas com PBS/Tween 20 (0,05%) e as amostras de plasma foram adicionadas a elas e incubadas por 2 horas/25°C. As placas foram lavadas novamente e incubadas com o anticorpo biotinilado por 1 hora/25°C. As placas foram lavadas, seguido de adição e incubação com estreptoavidina marcada com peroxidase (eBioscience®) por 30 min/25°C. As amostras se revelaram com adição de solução tampão citrato de fosfato com 5% de ABTS e 0,005% de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30 vol e a reação interrompida com dodecil sulfato de sódio (Gibco®) 1%. A absorbância foi determinada sob comprimento de onda de 405 nm (SpectraMax, Molecular Devices).

### Análise Estatística

As comparações das variáveis contínuas entre os grupos foram realizadas por meio do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney. As comparações entre os grupos em variáveis categóricas foram realizadas utilizando o teste exato de Fisher ou o teste do qui-quadrado. Foi considerado significante P-valor < 0,05.

## RESULTADOS

### Análise Genética

As análises imunológicas e genéticas foram realizadas em amostras de 56 indivíduos diabéticos tipo 2 da população da Grande Vitória/ES, sendo 28 obesos e 28 não obesos. Os grupos não foram diferentes ( $p > 0,05$ ) em relação ao gênero e idades.

Em relação ao polimorfismo do gene *GSTM1* as frequências do genótipo selvagem (*GSTM1+*) e genótipo nulo (*GSTM1-*) no grupo amostral foram de 55,4 e 44,6%, respectivamente. Já as frequências do genótipo selvagem (*GSTT1+*) e genótipo nulo (*GSTT1-*) para o gene *GSTT1* foram de 82,1 e 17,9%, respectivamente. Em relação ao polimorfismo C262T no gene *CAT* a frequência do genótipo homocigoto normal (CC) foi de 73,2%, o heterocigoto (CT) foi de 25% e o homocigoto polimórfico (TT) de 1,8%. As frequências alélicas do polimorfismo C262T-CAT no grupo amostral foram de 85,7% para o alelo normal

(C) e 14,3% para o alelo variante (T). Não houve diferenças significativas das frequências genóticas e alélicas no grupo

**Análise dos Níveis de TNF- $\alpha$**

Não se observou diferenças estatisticamente significantes entre os níveis de TNF- $\alpha$  plasmático

dos pacientes de acordo com seus genótipos, tanto quando analisados separadamente ou analisados em combinado, como mostrado nas figuras 1 e 2 (genótipos combinados que não constam na Figura 2 não foram avaliados por não apresentarmos quantidade mínima para análise estatística).

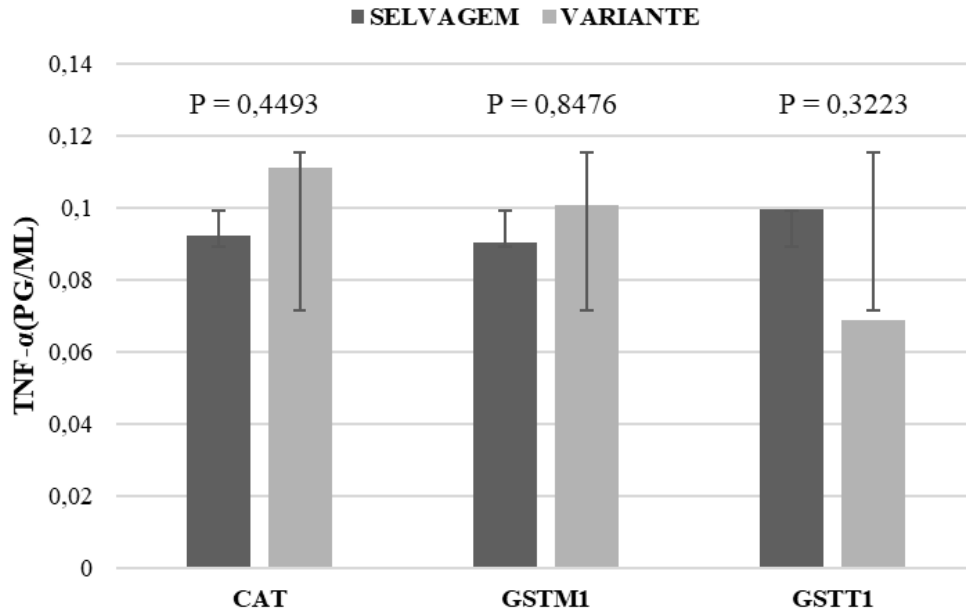


Figura 1: Níveis de TNF- $\alpha$  (apresentados como médias em unidades pg/mL) de acordo com os genótipos, separadamente. Genótipo variante CAT = CT + TT.

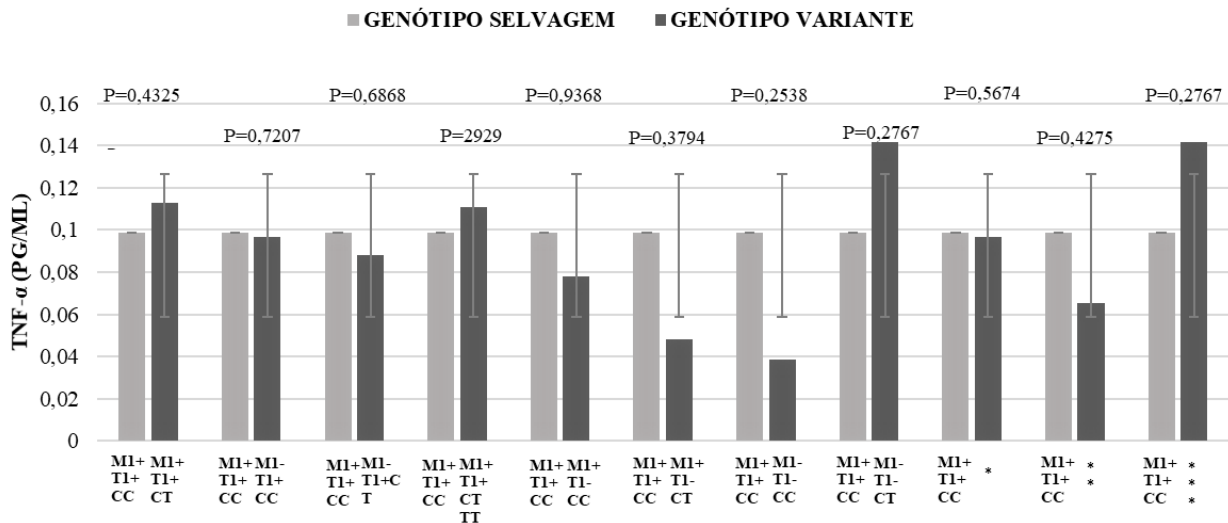


Figura 2: Níveis de TNF- $\alpha$  (apresentados como médias em unidades pg/mL) de acordo com os genótipos combinados.

Na avaliação da influência da obesidade nos níveis da citocina, não se observou diferença entre os níveis de TNF- $\alpha$  nos grupos de pacientes obesos e não obesos tanto na análise separada quanto na análise incluindo a mesma constituição genética entre os grupos (Figura 3). Quando comparado os níveis de TNF- $\alpha$  em indivíduos obesos (TNF- $\alpha$  = 0,08309) e

não obesos (TNF- $\alpha$  = 0,1192), independente dos seus genótipos, não se encontrou diferença significativa (P = 0,4712).

A Figura 4 mostra a avaliação do papel dos polimorfismos juntamente com a obesidade nos níveis de TNF- $\alpha$  em diabéticos tipo 2, demonstrando que não houve relação entre esses parâmetros (p > 0,05).

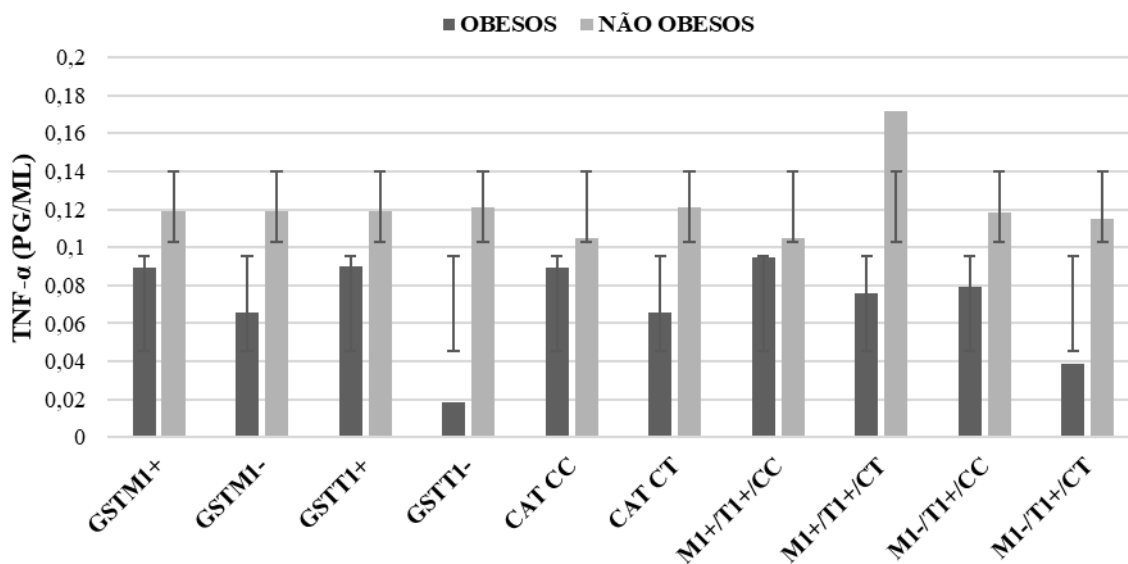


Figura 3: Níveis de TNF- $\alpha$  em pacientes obesos e não obesos de acordo com seus genótipos.

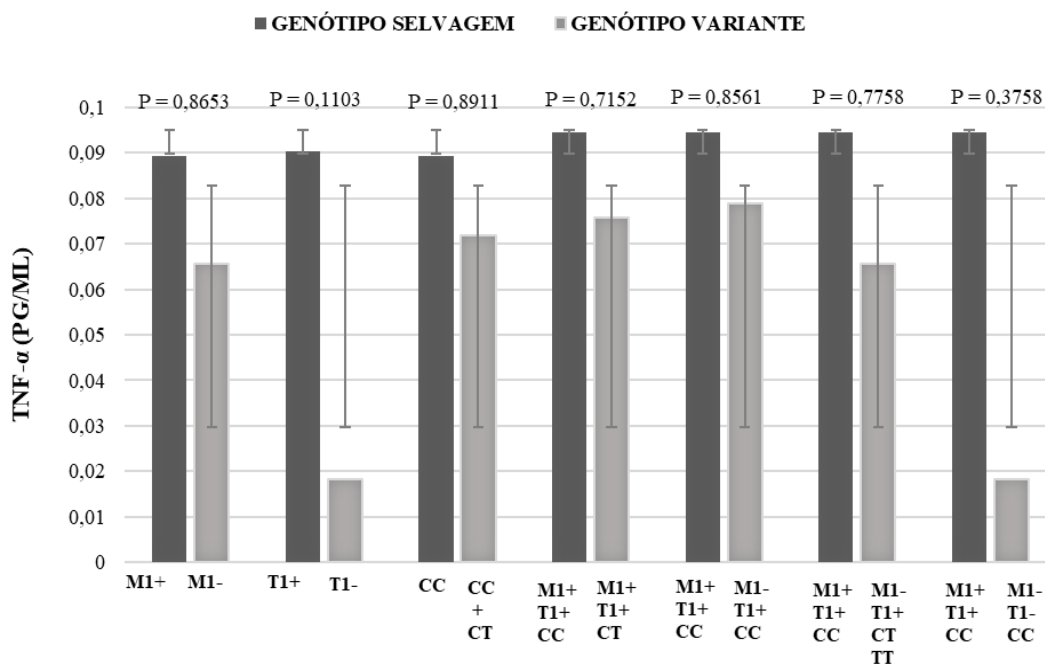


Figura 4: Níveis de TNF- $\alpha$  em pacientes obesos de acordo com seus genótipos.

## DISCUSSÃO

A doença DM2 é acompanhada do estresse oxidativo, que é considerado um mecanismo subjacente para inflamação e disfunção endotelial<sup>17</sup>. Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) induzem a ativação de algumas vias moleculares importantes como a de produção de produtos finais da glicação avançada (AGEs [do inglês, *Advanced Glycation End-Products*]). Um dos mecanismos de ação dos AGEs é a modificação de proteínas ou lipídeos sanguíneos que se ligam a receptores específicos levando a produção de citocinas inflamatórias que contribuem com as complicações vasculares da doença<sup>18</sup>.

Um dos fatores responsáveis pelo estresse oxidativo é a genética individual. Variações em genes codificadores de enzimas antioxidantes podem acarretar em defesa antioxidante prejudicada conduzindo ao estresse oxidativo. Estudos mostram que os níveis de atividade de enzimas antioxidantes estão diminuídos em diabéticos tipo 2 comparados a indivíduos saudáveis<sup>19</sup>.

O presente estudo investigou se o polimorfismo C262T no gene *CAT* e os polimorfismos de deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* poderiam estar relacionados com o aumento de TNF- $\alpha$ , uma vez que a deficiência das atividades enzimáticas causadas pelas variações genéticas poderia contribuir para o estresse oxidativo induzindo a produção de citocinas inflamatórias crônica nos pacientes. Entretanto, nosso estudo não observou tal relação (figura 1 e 2). Esse foi o primeiro estudo que avaliou variações genéticas antioxidantes e níveis de citocinas TNF- $\alpha$  em diabéticos tipo 2.

Assim como o aumento nos níveis de TNF- $\alpha$  já foi observado na DM2<sup>20</sup>, também já foram relatados em indivíduos obesos<sup>21,22</sup>. O presente estudo avaliou o papel da obesidade na quantidade de TNF- $\alpha$  em diabéticos. A análise ocorreu de forma geral (sem ponderar o genótipo do paciente) e também considerando a genética individual, excluindo a possibilidade de variações nos níveis devido ao genótipo do indivíduo e não somente pela obesidade, entretanto não observamos diferença entre os grupos (Figura 3). Rajkovic et al.<sup>23</sup> observaram altos níveis de TNF- $\alpha$  em diabéticos obesos, sobrepesos e também em magros embora tenha observado que os níveis nos obesos e sobrepesos eram mais altos em comparação com os pacientes magros. O mesmo estudo também mostrou que diabéticos magros possuíam níveis mais elevados em relação aos magros sem diabetes, corroborando a relação entre diabetes e citocina TNF- $\alpha$ , independente de obesidade. Li et al.<sup>24</sup> também relataram altas concentrações de TNF- $\alpha$  em diabéticos tipo 2. Em 2012, Olson et al.<sup>25</sup> confirmaram que o aumento de

TNF- $\alpha$  na DM2 foi associado à resistência insulínica independentemente da adiposidade. Entretanto alguns estudos apontam um aumento significativo dos níveis TNF- $\alpha$  em pacientes obesos, mas não em magros<sup>26</sup>.

Polimorfismos em genes codificadores de enzimas antioxidantes podem levar a um aumento dos níveis de radicais livres uma vez que as variações genéticas podem diminuir a atividade da enzima ou até mesmo impedir a sua produção. A enzima catalase catalisa a decomposição do peróxido de Hidrogênio em água e oxigênio e a deficiência dessa enzima já foi associada à DM2<sup>27,28</sup>. O polimorfismo funcional 262C/T no éxon 9 do gene *CAT* já foi associado ao desenvolvimento de DM2 e suas complicações<sup>29,30</sup>. A *Glutationa S-transferase (GST)* é uma família de genes responsáveis pela remoção de produtos reativos ao oxigênio e de xenobióticos capazes de trazer toxicidade ao organismo. Os genes *GSTM1* e *GSTT1* fazem parte dessa família e quando encontrados sobre polimorfismo de deleção, são associados a disfunção das células B-pancreáticas e deficiência na produção de insulina<sup>31</sup>.

O estresse oxidativo está envolvido nos processos patológicos de doenças como a obesidade e DM2<sup>32</sup>, estudos mostram que a obesidade, assim como alterações genéticas de enzimas antioxidantes podem aumentar os níveis de radicais livres<sup>33</sup>, contribuindo para um aumento dos níveis inflamatórios<sup>34</sup> que poderiam aumentar o risco de eventos vasculares, entretanto, o presente estudo não revelou associação sinérgica entre as variantes dos genes *CAT*, *GSTM1* e *GSTT1* e obesidade nos níveis da citocina pró-inflamatória no grupo estudado (Figura 4).

Embora o pequeno tamanho amostral possa ter contribuído para a falta de sinergia entre as variantes dos genes analisados, obesidade e o TNF- $\alpha$ , o presente trabalho mostrou que os polimorfismos C262T no gene *Catalase* e as variantes nulas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* não influenciaram no aumento dos níveis da citocina pró inflamatória TNF- $\alpha$  em diabéticos tipo 2 residentes na Grande Vitória, e que a obesidade não atua sinergicamente com a genética antioxidante individual no aumento dos níveis da citocina pró-inflamatória em diabéticos tipo 2 do grupo amostral avaliado. Entretanto, estudos adicionais são necessários.

### Agradecimentos

Agradecemos ao Centro Integrado de Atenção à Saúde da Católica (CIASC), a Associação de Diabéticos de Vila Velha/ES e a Unidade de saúde Dr Bolívar de Abreu. Aos voluntários que participaram desse estudo. A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES).

## REFÊRENCIAS

1. Sociedade Brasileira de Diabetes. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes* [Internet]. São Paulo: SBD; 2019 [citado em 12 dez 2022]. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/02/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-2020.pdf>
2. Pereira PF, Santos JC, Cortez DN, Reis IA, Torres HC. Avaliação das estratégias de educação em grupo e intervenção telefônica para o diabetes tipo 2. *Rev Esc Enferm USP*. 2021;55:e03746.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. *Vigitel Brasil 2015: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2015*. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2016.
4. Rosa ECC, Santos RRC, Gris EF, Ferreira EA, Neves FAR, Coelho MS, et al. Avaliação do estresse oxidativo e lipoperoxidação (LPO) em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) tratados no Hospital Universitário de Brasília (HUB). *Brazilian Journal of Health Review*. 2019;2(5):4236-56.
5. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010;107(9):1058-70.
6. Guedes JM, Pieri BLS, Luciano TF, Marques SO, Guglielmo LGA, Souza CT. Exercícios físicos de resistência, hipertrofia e força muscular reduzem igualmente adiposidade, inflamação e resistência à insulina em camundongos obesos por dieta hiperlipídica. *Einstein (Sao Paulo)*. 2019;18:eAO4784.
7. Silveira MGG. *Prevenção da obesidade e de doenças do adulto na infância*. Petrópolis: Vozes; 2017.
8. Duncan BB, Duncan MS, Schmidt MI. Inflamação subclínica, obesidade, diabetes e doenças relacionadas. *Rev HCPA & Fac Med Univ Fed Rio Gd do Sul*. 2005;25(3):5-16.
9. Azevedo S, Victor EG, Oliveira DC. Diabetes mellitus e aterosclerose: noções básicas da fisiopatologia para o clínico geral. *Rev Soc Bras Clin Med*. 2010;8(6):520-6.
10. Garcia YDO. *Associação de polimorfismos nos genes GSTM1 e GSTT1 com a susceptibilidade ao diabetes mellitus tipo 2* [dissertação]. Teresina: Universidade Federal do Piauí; 2017.
11. Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review Prostate. *Prostate*. 2009;69(6):662-88.
12. Rafiee L, Saadat I, Saadat M. Glutathione S-transferase genetic polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTO2) in three Iranian populations. *Mol Biol Rep*. 2010;37(1):155-8.
13. Glorieux C, Calderon PB. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biol Chem*. 2017;398(10):1095-108.
14. Minghua J, Tang J, Zhao J, Xu B, Qin J, Lu J. Polymorphisms in genes involved in drug detoxification and clinical outcomes of anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy in Chinese Han breast cancer patients. *Cancer Biol Ther*. 2012;13(5):264-71.
15. Bid HK, Konwar R, Saxena M, Chaudhari P, Agrawal CG, Banerjee M. Association of glutathione S-transferase (GSTM1, T1 and P1) gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in north Indian population. *J Postgrad Med*. 2010;56(3):176-81.
16. Suzen S, Gucyener E, Sakalli O, Uckun Z, Kose G, Ustel D, et al. CAT C-262T and GPX1 Pro198Leu polymorphisms in a Turkish population. *Mol Biol Rep*. 2010;37(1):87-92.
17. Golbidi S, Ebadi SA, Laher I. Antioxidants in the treatment of diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2011;7(2):106-25.
18. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-25.
19. Verma S, Sagar N, Vats P, Shukla KN, Abbas M, Banerjee M. Antioxidant enzyme levels as markers for type 2 diabetes mellitus. *Int J Bioassays*. 2013;2(4):685-90.
20. Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev*. 2001;22(1):36-52.
21. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1111-9.
22. Dandona P, Weinstock R, Thusu K, Abdel-Rahman E, Aljada A, Wadden T. Tumor necrosis factor-alpha in sera of obese patients: fall with weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(8):2907-10.
23. Rajkovic N, Zamaklar M, Lalic K, Jotic A, Lukic L, Milicic T, et al. Relationship between obesity, adipocytokines and inflammatory markers in type 2 diabetes: relevance for cardiovascular risk prevention. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11(4):4049-65.
24. Li J, Zhao Q, Zhang D. Clinical significance of determination of the levels of serum IL-6, TNF- $\alpha$  and hs-CRP in patients with DM2 complicated with coronary heart disease (CHD). *Journal of Radioimmunology*. 2007;20(6):538-40.
25. Olson CN, Callas PW, Hanley AJG, Festa A, Haffner SM, Wagenknecht LE, et al. Circulating levels of TNF- $\alpha$  are associated with impaired glucose tolerance, increased insulin resistance, and ethnicity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(3):1032-40.
26. Katsuki A, Sumida Y, Murashima S, Murata K, Takarada Y, Ito K, et al. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha are increased in obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(3):859-62.
27. Góth L, Lenkey A, Bigler WN. Blood catalase deficiency and diabetes in Hungary. *Diabetes Care*. 2001;24(10):1839-40.
28. Góth L. Catalase deficiency and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2008;31(12):e93.

29. Santos KG, Canani LH, Gross JL, Tschiedel B, Souto KE, Roisenberg I. The catalase -262C/T promoter polymorphism and diabetic complications in Caucasians with type 2 diabetes. *Dis Markers*. 2006;22(5-6):355-9.
30. Tarnai I, Csordás M, Sükei E, Shemirani AH, Káplár M, Góth L. Effect of C111T polymorphism in exon 9 of the catalase gene on blood catalase activity in different types of diabetes mellitus. *Free Radic Res*. 2007;41(7):806-11.
31. Pinheiro DS, Rocha Filho CR, Mundim CA, Ulhoa CJ, Ghendini PC, Reis AAS. Avaliação do polimorfismo de deleção de GSTM1 na susceptibilidade ao diabetes mellitus tipo 2. *Estudos Vida e Saúde*. 2012;39(3):331-6.
32. Rodrigues MS, Pieri BLS, Silveira GB, Zaccaron RP, Venturini LM, Comin VH, et al. Redução do estresse oxidativo melhora a sinalização da insulina em tecido cardíaco de camundongos obesos. *Einstein (Sao Paulo)*. 2020;18:eAO5022.
33. Chielle EO, Fortuna PC, Maziero JS. Association between the glutathione S-transferase P1 (GSTP1) Ile105Val gene polymorphism in obese and overweight patients over 60 years. *J Bras Patol Med Lab*. 2016;52(4):211-6.
34. Gaspar DIM. *Caracterização de fatores de risco para a doença cardiovascular, em pré-diabéticos e diabéticos, numa amostra populacional da Cova da Beira* [dissertação]. Covilhã: Universidade da Beira Interior; 2013.

Recebido: 05 fev, 2021

Aceito: 02 mai, 2022