

LUCAS FARIA DE CASTRO

ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES DOS NÍVEIS NORMAIS DE PROLACTINA  
E O DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELITO DO TIPO 2: UMA REVISÃO E  
METANÁLISE.

BRASÍLIA, 2019

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

LUCAS FARIA DE CASTRO

ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES DOS NÍVEIS NORMAIS DE PROLACTINA  
E O DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELITO DO TIPO 2: UMA REVISÃO E  
METANÁLISE.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo  
programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da  
Universidade de Brasília

Orientador: Luiz Augusto Casulari Roxo da Motta

Co-Orientadora: Angélica Amato

BRASÍLIA

2019

LUCAS FARIA DE CASTRO

ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES DOS NÍVEIS NORMAIS DE PROLACTINA  
E O DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELITO DO TIPO 2: UMA REVISÃO E  
METANÁLISE.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo  
programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da  
Universidade de Brasília

Aprovado em: 29/11/2019

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Luiz Augusto Casulari Roxo da Motta – Presidente  
Universidade de Brasília

Profa. Dra. Luciana Ansaneli Naves  
Universidade de Brasília

Prof. Dr Carlos Henrique Reis Esselin Rassi  
Universidade de Brasília

## **AGRADECIMENTOS**

Meus sinceros agradecimentos a todos que, de alguma forma, contribuíram para o êxito da longa jornada que se encerra por aqui. Alguns estarão descritos nesta página, mas expando meus agradecimentos a todos que conviveram comigo nestes últimos anos.

Agradeço a Deus pelas novas oportunidades que me são oferecidas diariamente, muitas vezes mesmo sem meu merecimento. Agradeço por escutar as minhas orações e por me guiar em minhas escolhas diárias.

À minha amada esposa Álida, agradeço o companheirismo, a paciência e o eterno carinho. Você me faz melhor diariamente e me ajuda a crescer e a enfrentar as dificuldades do meu cotidiano. Obrigado por participar ativamente deste processo árduo.

Aos meus pais, Renato e Ulda, agradeço pelo carinho e amor. Vocês são, acima de tudo, meus grandes amigos.

Ao meu orientador Dr Luiz Augusto Casulari agradeço pela oportunidade de aprendizado. Me ensinou não somente como ser um endocrinologista, mas um ser humano capaz de ter empatia com as demandas dos nossos pacientes.

À Dra Luciana Naves agradeço as diversas oportunidades dadas ao longo da minha vida acadêmica. A senhora é um exemplo de médica, exemplo de ser humano.

Um agradecimento especial à Dra Angélica Amorim que aceitou prontamente a co-orientação de minha dissertação. A senhora me acompanhou durante todos os processos de execução do meu trabalho, me ensinando pacientemente todos os passos da redação de uma boa metanálise. Obrigado por dividir sua competência comigo.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO.** A hiperprolactinemia está associada a maior risco de Diabetes Melito, seja por efeito direto da prolactina, causando resistência a ação da insulina, seja por inibição do tônus dopaminérgico central. As concentrações mais elevadas de prolactina dentro do intervalo de normalidade causam, porém, efeito protetor ao risco de Diabetes Melito.

**Objetivos:** Realizar uma revisão sistemática e metanálise da literatura para avaliar se as concentrações séricas de prolactina no limite superior da normalidade atuam como fator protetor para diabetes se comparado com os níveis séricos no limite inferior da normalidade.

**Resultados:** Dos 1221 artigos identificados, quatro apresentaram critérios para avaliação na metanálise. Foram avaliados 2677 indivíduos de estudos transversais e 10125 de estudos longitudinais. Nos estudos transversais, houve significância estatística na avaliação da prevalência de DM2 no quarto quartil em comparação ao primeiro no sexo feminino (OR:0.43, IC: 0,3 – 0,63) e sexo masculino (OR:0.40, IC: 0,26-0,6), com menor prevalência de DM em pacientes no quarto quartil se comparados com pacientes no primeiro quartil. Nos estudos longitudinais, houve relevância estatística no sexo feminino (RR:0,69; IC:0,54-0,88), mas não se pôde definir sobre o risco no sexo masculino.

**Conclusão:** A prolactina no nível superior da normalidade parece ser fator protetor de diabetes se comparado aos indivíduos com prolactina no limite inferior da normalidade.

**Palavras Chave:** Hiperprolactinemia, Diabetes Melito, normoprolactinemia

## ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Hyperprolactinemia is associated with a higher risk of diabetes mellitus, even due to the direct effect of prolactin causing resistance to insulin action, or by inhibiting central dopaminergic tone. Higher prolactin concentrations within the normal range, however, have a protective effect on the risk of diabetes mellitus. **Objectives:** The aim of this study was to perform a systematic review and meta-analysis of the literature to assess whether serum prolactin concentrations at the upper limit of normality act as a protective factor for diabetes compared with serum levels at the lower limit of normality. **Results:** Of the 1221 articles identified, four presented criteria for meta-analysis evaluation. 2677 individuals from cross-sectional studies and 10125 from longitudinal studies were evaluated. In cross-sectional studies, both in females (OR:0.43, CI:0.3-0.63) and in males (OR:0.40, CI:0.26-0.6), there was lower prevalence of DM compared with patients in the first quartile with statistical relevance. In longitudinal studies, there was statistical significance in females (RR:0.69, CI:0.54-0.88) but it wasn't possible to define risk in male individuals. **Conclusion:** Prolactin in the upper normal range seems to be a protective factor in diabetes compared to individuals with prolactin in the lower limit of normal.

**Keywords:** Hyperprolactinemia, Diabetes Mellitus, normoprolactinemia

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Demonstração esquemática da relação entre as vias inibitórias e estimulatórias do eixo hipotálamo – hipofisário da prolactina

Figura 2: Demonstração esquemática da relação entre as vias inibitórias e estimulatórias do eixo hipotálamo – hipofisário da prolactina

Figura 3: Fluxograma PRISMA

Figura 4: Associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de DM2, analisada de forma global e de acordo com o sexo, em estudos de corte transversal.

Figura 5: Associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de DM2, analisada de forma global e de acordo com o sexo, em estudos longitudinais utilizando o modelo aleatório.

Figura 6: Associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de DM2, analisada de forma global e de acordo com o sexo, em estudos longitudinais.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios para definição da pergunta chave

Tabela 2: Características dos estudos de corte transversal que investigaram a associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de diabetes melito do tipo 2.

Tabela 3: Características dos estudos de coorte que investigaram a associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de diabetes melito do tipo 2

Tabela 4: Artigos excluídos e razões para a exclusão

Tabela 5: Lista de checagem do risco de viés para estudos longitudinais do Instituto *Joanna Briggs*.

Tabela 6: Lista de checagem do risco de viés para estudos transversais do Instituto *Joanna Briggs*.

Tabela 7: Medidas de associação entre a prolactina sérica e a presença de DM2 apresentadas pelos estudos de corte transversal incluídos na metanálise.

Tabela 8: Medidas de associação entre a prolactina sérica e a presença de DM2 apresentadas pelos estudos de coorte incluídos na metanálise.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AD – Agonista dopaminérgico
- AGL – Ácidos graxos livres
- alfa ER – Receptor estrogênico alfa
- CAPES – Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CNPQ – Conselho Nacional de Pesquisa
- CRD – *Center for Reviews and Dissemination*
- DM – Diabetes Melito
- EMAS – *European Male Ageing Study*
- FDA – *Food and Drug Administration*
- G-CSF – *Granulocyte-colony stimulating factor*
- GLUT – *Glucose transporter*
- GM-CSF – *Granulocyte/Monocyte-colony stimulating factor*
- HbA1C – Hemoglobina glicada
- HOMA-R - *Homeostatic Model Assessment*
- IAM – Infarto agudo do miocárdio
- IgG – Imunoglobulina G
- IP – *Internet protocol*
- KDa - KiloDaltons
- MAPK – *Mitogen activated protein kinases*
- NCBI – *National Center of Biotechnology Information*
- NHS - *Nurse's Health study*
- NHSII - *Nurse's Health study II*
- NIH – *National Institute of Health*
- PHDA - *Dopamine periventricular hypophyseal*
- PRISMA - *Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis*
- SHIP – *Study of Health in Pomerania*
- TGF-B1 – *Transforming Growth Factor – Beta1*
- THDA – *Dopamine tuberohypophyseal*
- TIDA– *Dopamine- tubuloinfundibular*
- TOTG 75g – Teste oral de tolerância a glicose com 75g de dextrose

TRH: Terapia de reposição hormonal

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>12</b>
<b>1.1</b>	<b>A PROLACTINA .....</b>	<b>12</b>
<b>1.2</b>	<b>FUNÇÕES EXTRA-MAMÁRIAS DA PROLACTINA .....</b>	<b>15</b>
<b>1.3</b>	<b>EFEITOS DA PROLACTINA NO METABOLISMO ENERGÉTICO ..</b>	<b>15</b>
<b>1.3.1</b>	<b>INFLUÊNCIA DA PROLACTINA NO METABOLISMO LIPÍDICO ....</b>	<b>16</b>
<b>1.4</b>	<b>DIABETES MELITO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.4.1</b>	<b>FATORES DE RISCO PARA DIABETES MELITO DO TIPO 2 .....</b>	<b>19</b>
<b>1.5</b>	<b>METANÁLISE NA EVOLUÇÃO DA CIÊNCIA MODERNA .....</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>HIPÓTESES .....</b>	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>PROBLEMAS DA PESQUISA .....</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
<b>5.1</b>	<b>REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE .....</b>	<b>25</b>
<b>5.2</b>	<b>PROTOCOLO E REGISTRO .....</b>	<b>25</b>
<b>5.2.1</b>	<b>ESTRATÉGIA PICOS .....</b>	<b>26</b>
<b>5.2.2</b>	<b>ESTRATÉGIA DE BUSCA .....</b>	<b>27</b>
<b>5.2.3</b>	<b>SELEÇÃO DOS ARTIGOS CIENTÍFICOS (FASE 1) .....</b>	<b>28</b>
<b>5.2.4</b>	<b>INCLUSÃO DOS ARTIGOS (FASE 2) .....</b>	<b>29</b>
<b>5.2.5</b>	<b>AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS .....</b>	<b>34</b>
<b>5.2.6</b>	<b>SÍNTESE DOS RESULTADOS (METANÁLISE) .....</b>	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
<b>6.1</b>	<b>BUSCA E SELEÇÃO E ESCANEAMENTO DOS ESTUDOS .....</b>	<b>37</b>
<b>6.2</b>	<b>ESTUDOS ELEGÍVEIS .....</b>	<b>37</b>
<b>6.2.1</b>	<b>CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS ELEGÍVEIS .....</b>	<b>38</b>
<b>6.3</b>	<b>AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS ELEGÍVEIS ....</b>	<b>41</b>
<b>6.4</b>	<b>SÍNTESE DOS RESULTADOS E INCLUSÃO (METANÁLISE) .....</b>	<b>43</b>
<b>6.4.1</b>	<b>ESTUDOS ELEGÍVEIS E NÃO INCLUIDOS NA METANÁLISE .....</b>	<b>43</b>
<b>6.4.2</b>	<b>ESTUDOS INCLUÍDOS NA METANÁLISE . .....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>56</b>

## 1 REVISÃO DE LITERATURA:

### 1.1 A PROLACTINA

A prolactina é um hormônio polipeptídico com aproximadamente 199 aminoácidos e peso molecular de 23,5KDa em sua forma bioativa no ser humano. Ela é produzida, em sua maior parte, por células especializadas chamadas de lactotrófos, localizadas na hipófise. (1,2)

O gene responsável pela transcrição da prolactina localiza-se no braço longo do cromossomo 6, mais especificamente no *locus* gênico 6p22.2-p21.3. Apresenta cinco *éxons* codificantes, um *éxon* não codificante e quatro *íntrons*. Após a tradução gênica, o polipeptídeo predecessor da prolactina sofre modificações pós translacionais que incluem glicosilações, dimerizações e fosforilações. Essas modificações são responsáveis pela geração de diferentes produtos gênicos chamados de isoformas de prolactina, as quais podem apresentar pesos moleculares diferentes da isoforma bioativa. Algumas isoformas podem, por exemplo, não apresentar funcionalidade biológica aparente e seu peso molecular pode variar de 16 a 170 KDa. (1,3,4)

A isoforma bioativa da prolactina é chamada de monomérica, tem peso molecular aproximado de 23KDa e é responsável por cerca de 90% de toda a prolactina produzida em indivíduos hígidos. Os cerca de 10 a 15% restantes são compostos por isoformas menos ativas, como é o caso das isoformas glicosiladas e daquelas com ligações dissulfídicas. A dimerização de duas cadeias monoméricas através de ligações dissulfídicas gera uma prolactina de tamanho molecular aumentado, com cerca de 45KDa, e, por isso, chamada de *big* prolactina. Há, também, uma isoforma que sofre dimerização entre um monômero de prolactina e um anticorpo IgG com peso molecular ainda maior, cerca de 160KDa, chamada *big-big* prolactina. Há, por fim, isoformas menores, de cerca de 21KDa, produzidas por tecidos extra hipofisários (linfócitos circulantes, miométrio, glândula lacrimal, baço, timo e outros). (3,4,5,6)

O receptor de prolactina faz parte da grande família de receptores de citocinas da classe 1, que inclui os receptores do Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF), Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF), eritropoietina, trombopoietina e diversos outros fatores inflamatórios e de

crescimento. Seu *locus* gênico localiza-se no braço longo do cromossomo 5, na região 5p13-14 e contém, pelo menos, 10 éxons o que explica a grande diversidade de isoformas de receptores produzidos. Apresenta um domínio extracelular de interação com o seu ligante, um domínio transmembrana em hélice e um domínio citoplasmático complexo que pode apresentar o dobro da extensão do tamanho dos dois domínios anteriores juntos, além de possuir uma miríade de sítios de ligação para diversas moléculas intracitoplasmáticas. (4,7)

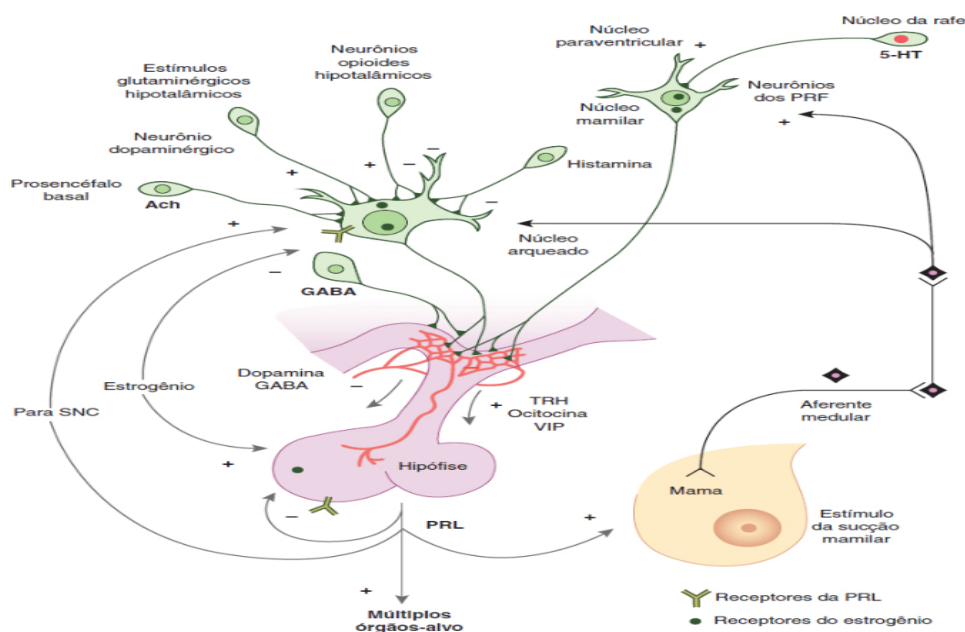
A ativação do receptor se dá pela união de dois monômeros de receptores com uma molécula de prolactina. Essa ligação provoca mudanças conformacionais no domínio intracelular e expõe vários sítios para a ativação de diversas moléculas intracitoplasmáticas possibilitando respostas celulares muito distintas. (4,7,8) As diferentes isoformas de prolactina podem se ligar aos seus receptores e transmitir respostas intracitoplasmáticas diferentes. Este fenômeno ocorre em virtude da diversidade de sítios de ligação no domínio intracitoplasmático do receptor. A atuação vascular antagônica entre as prolactinas de 23KDa e de 16KDa, estimulador e supressor potentes da angiogênese, respectivamente, são exemplos desta diversidade. (7,8,9)

A prolactina é produzida nos lactotrófos hipofisários e sofre um efeito inibitório hipotalâmico contínuo da dopamina. Essa é produzida por três grupos neuronais localizados no hipotálamo sendo, o primeiro, chamado TIDA (dopamina tuberoinfundibular), encontrado no núcleo arqueado com projeção para a eminência mediana), o segundo, chamado THDA (dopamina tuberohipofisário), que se projeta da parte rostral do núcleo arqueado para o lobo intermédio e neural da hipófise e o terceiro, chamado PHDA (dopamina periventricular hipofisária), que se origina do núcleo periventricular do hipotálamo com projeção para o lobo intermediário da hipófise. A dopamina liberada na eminência mediana segue para a adenohipófise por meio de uma circulação venosa chamada sistema porta hipofisário. Neste local, a dopamina se liga nos receptores D2 dos lactotrófos e inibe a produção de prolactina via inibição da adenilato ciclase. (10,11,12)

Outros possíveis fatores inibitórios como o ácido gama amino-butírico (GABA), somatostatina, calcitonina, endotelina e TGF-B1 parecem também influenciar a produção de prolactina. Além disso, a própria prolactina produzida pelos lactotrófos autorregula o eixo através de retroalimentação negativa nos núcleos

hipotalâmicos produtores de dopamina. A figura 1 mostra esquematicamente algumas das principais vias inibitórias da prolactina. (13,14)

Por outro lado, várias são as vias estimulatórias da produção de prolactina pelos lactotrófos. A serotonina, por exemplo, é produzida por um grupo de neurônios no núcleo da rafe e exerce ação estimulatória, seja por influência dos neurônios do núcleo paraventricular, seja por ação direta nos lactotrófos. O estradiol, por sua vez, possui receptores do tipo alfa nos neurônios TIDA e eminência mediana e a sua ativação inibe o tônus monoaminérgico do eixo hipotálamo hipofisário. Além disso, este esteróide inibe a tirosina hidroxilase no núcleo arqueado, enzima limitadora da produção de dopamina. Nos lactotrófos, o estímulo dos receptores alfa ER amplificam a transcrição do gene da prolactina e diminuem, na membrana celular, a presença dos receptores D2.(13-18)



**Figura1.** Demonstração esquemática da relação entre as vias inibitórias e estimulatórias do eixo hipotálamo – hipofisário da prolactina. Imagem autorizada pelo autor (13).

## 1.2 FUNÇÕES EXTRAMAMÁRIAS DA PROLACTINA

A prolactina tem como função principal estimular a produção de leite nos mamíferos, porém o aparecimento do seu gene na escala evolutiva, assim como o de seu receptor, precede, em muito, o surgimento dos primeiros indivíduos desta classe de vertebrados. Desta forma, deduz-se que a prolactina não surgiu com o objetivo de estimular o aleitamento dos primeiros organismos e que isso ocorreu somente ao longo da evolução das espécies. Acredita-se que, inicialmente, a prolactina apresentava importante função de controle hidroeletrolítico e do metabolismo energético. (1, 8, 19, 20)

Atualmente, entende-se que a prolactina é hormônio pleiotrópico com mais de 300 funções descritas, tais como: atuação no balanço do equilíbrio hidroeletrolítico e energético, neuroproteção, funções psiquiátricas e imunomodulatórias, antagonismos hormonais como nos glicocorticoides, crescimento celular, angiogênese, dentre outras. Estuda-se, nos dias de hoje, a influência da prolactina na gênese de diversas doenças autoimunes assim como a sua capacidade em mudar a evolução natural de certas enfermidades. Exemplo disto se encontra nos pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico com hiperprolactinemia que têm menor resposta ao tratamento da nefrite lúpica. (21-24)

## 1.3 EFEITOS DA PROLACTINA NO METABOLISMO ENERGÉTICO

Diversos estudos *in vivo* e *in vitro* foram realizados nas últimas décadas com a intenção de esclarecer alguns pontos fundamentais sobre a influencia da prolactina no metabolismo glicídico. Estudos clínicos demonstraram que pacientes com tumores hipofisários produtores de prolactina (prolactinomas) apresentavam maior risco de hiperglicemia e de piora da resistência insulínica. Esses mesmos estudos também mostraram melhora do perfil glicêmico após tratamento da hiperprolactinemia com a bromocriptina, um antigo agonista dopaminérgico derivado da ergotamina. A partir de então, estabeleceu-se uma relação causal direta entre prolactina e risco de diabetes. (25, 26, 27, 28)

A relação direta entre o valor sérico da prolactina e o risco de diabetes melito visto nestes trabalhos, contudo, não pôde ser projetada para pacientes com valores de prolactina dentro da normalidade. Estudos longitudinais e transversais

mostraram, ao contrário, diminuição do risco de diabetes em pacientes normoprolactinêmicos com prolactina no quartil superior da normalidade em comparação aos pacientes nos quartis inferiores. (27, 28, 29)

A prolactina pode influenciar o risco de diabetes melito por diversos mecanismos. Estudos *in vitro* mostraram aumento da sobrevivência das células beta pancreáticas, as células produtoras de insulina, em meios de cultura adicionados de prolactina. Estudos em ratos demonstraram aumento da massa de células beta pancreáticas induzido pelo uso de prolactina enquanto ratos *knockout* para o receptor deste hormônio apresentavam-se com importante redução dessas células. Além da maior proliferação das células beta a prolactina parece estar associada a menor nível de apoptose celular. (23, 30-34)

As hexoquinases e glicoquinases são sensores localizados nas células beta pancreáticas responsáveis pelo estímulo da produção de secreção insulínica induzida por glicose. Diversos estudos mostraram que a prolactina diminui o *set-point* de estímulo da insulina nas células beta pancreáticas pelo aumento da transcrição gênica desses sensores além do estímulo à produção do GLUT2. Nessas situações, uma menor concentração sérica de glicose seria capaz de deflagrar maior produção insulínica gerando um controle glicídico mais rigoroso. Outros estudos, por sua vez, demonstraram relação direta entre prolactina e a transcrição do gene da insulina induzida pela via da AKT2, além de aumento da transcrição de diversos genes associados ao ciclo celular e diminuição de outros associados à apoptose. (35, 36, 37, 38)

### **1.3.1 Influência da prolactina no metabolismo lipídico**

A adiponectina é um polipeptídeo de 244 aminoácidos, semelhante ao colágeno, da família das adipocitocinas produzida pelo tecido gorduroso branco e de fundamental importância na análise da influência da prolactina no metabolismo lipídico. Estudos *in vitro* e em ratos demonstraram que a adiponectina é responsável por aumentar a oxidação de ácidos graxos no tecido muscular, além de diminuir a captação hepática de ácidos graxos livres (AGL) diminuindo a gliconeogênese hepática e, por conseguinte, a glicemia sérica. Além disso, a adiponectina tem relação direta com a sensibilidade insulínica e é elencada como um protetor das doenças cardiovasculares e do diabetes melito. (27, 28, 39, 40)



Diversos estudos mostraram que a hiperprolactinemia suprime a produção de adiponectina pelos adipócitos levando ao aumento da massa de tecido adiposo visceral e, por conseguinte, à piora da dislipidemia, da resistência insulínica e da intolerância à glicose. O tratamento da hiperprolactinemia parece melhorar esses efeitos. Outros estudos, porém, mostraram não haver melhora destes fatores com o tratamento e defendem que o uso de agonistas dopaminérgicos pode estar associado ao ganho de peso nos pacientes com prolactinomas.( 40,41,42)

Estudos em ratos obesos tratados com prolactina recombinante, no entanto, mostraram melhora da sensibilidade à insulina, diminuição de hipertrofia do tecido adiposo além de aumento na produção de adiponectina. Por fim, foi demonstrado que a ativação de um elemento de resposta à prolactina, o PREB (elemento regulador da transcrição de proteínas dependente de prolactina), estava associado à diminuição da síntese da adiponectina. Nenhum desses estudos, entretanto, avaliou as variações séricas de prolactina dentro dos valores da normalidade. (40-48)

Há, portanto, evidências da participação da prolactina em diversas vias do metabolismo energético, tais como: efeitos no metabolismo lipídico, inibição da adiponectina, estímulo ao desenvolvimento e crescimento das células beta pancreáticas assim como inibição da sua apoptose, estímulo à produção de insulina e mudança do *set point* de produção de insulina nas células beta pancreáticas. (8, 37, 38, 40)

Pacientes com hiperprolactinemia possuem aumento do risco de diabetes e o tratamento com agonistas dopaminérgicos pode diminuí-lo. Estudos ainda são conflitantes em relação a indivíduos com prolactina normal, mas, ao que tudo indica, este hormônio funciona como um agente protetor à deflagração do diabetes nesses pacientes. Estudos recentes associaram valores de prolactina no limite superior da normalidade com melhora da sensibilidade à ação da insulina, melhora do controle lipídico e menor prevalência de diabetes no grupo de pacientes normoprolactinêmicos no quartil superior, comparados com o quartil inferior. (29,38,45,47,49,50). A figura 2 mostra, esquematicamente, as diversas possíveis vias de controle energético da prolactina.

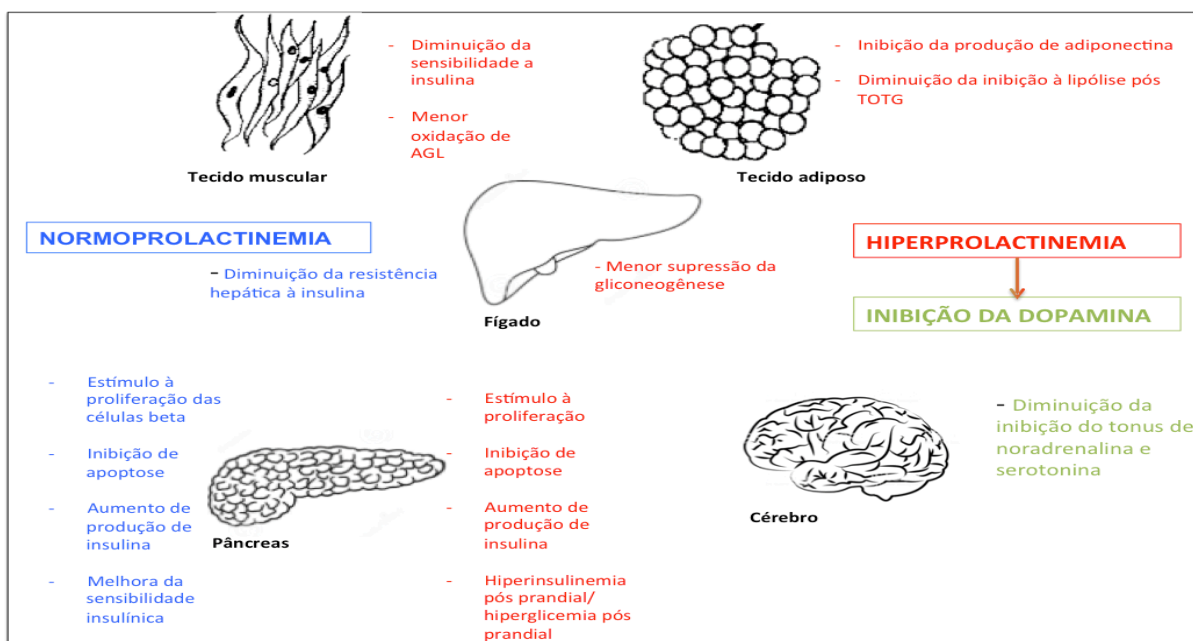


Figura 2: Ações tissulares da prolactina em concentrações fisiológicas e supra-fisiológicas.

#### 1.4 DIABETES MELITO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica com elevada prevalência mundial, sendo que cerca de 9% da população mundial entre 20 e 79 anos de idade possui o diagnóstico dessa doença. Há projeções de aumento de prevalência nos próximos anos, principalmente nos países em desenvolvimento, para cerca de 640 milhões de diabéticos no mundo. Na América Central e do Sul em 2017 havia 26 milhões de pessoas com DM2. A estimativa atual é de que hajam 42 milhões de casos em 2045. Atualmente o Brasil ocupa a quarta posição em prevalência de DM em 2015 com quase 15 milhões de diabéticos e com expectativa de prevalência de 40 milhões de diabéticos em 2040. (51, 52)

O DM apresenta grande impacto nas políticas públicas de saúde em todo o mundo, pois está associado ao aumento das demandas nos diversos serviços, desde a unidade básica até os hospitais quaternários. Pacientes diabéticos tem maior frequência de reinternações e maior tempo de internação hospitalar. Além disso, as complicações crônicas do DM estão relacionadas às morte prematura e, juntamente com hipertensão e tabagismo, fazem parte das principais causas de mortalidade prematura no mundo. (52, 53, 54)

Sua prevalência depende de diversos fatores dentre eles a condição econômica do país, sexo, idade, etnia, assim como a frequência de realização de

atividades físicas e padrão alimentar. Destaca-se o exemplo dos índios Pima no Arizona, pela qual cerca de 50% da população possui diabetes melito. Aqui no Brasil percebe-se aumento de frequência de DM2 (cerca de 30%) nos índios Xavante e em subpopulações japonesas (cerca de 34%).(54,55)

As complicações crônicas do DM2 estão associadas ao aumento não apenas da morbidade como amputação de membros, cegueira, doença renal crônica, hemodiálise, depressão, neuropatias, doenças ósteo-metabólicas, cardiovasculares, tromboembólicas e neoplásicas mas, também, da mortalidade. Sabe-se que essas complicações estão intimamente relacionadas ao controle dos níveis glicêmicos embora possam aparecer antes do diagnóstico. (52, 55, 56)

Diversos fatores como obesidade, dislipidemia e hipertensão arterial podem favorecer o aparecimento e dificultar o controle do DM. A hiperprolactinemia tem se mostrado como importante fator de piora do controle metabólico e seu tratamento parece diminuir o descontrole glicêmico. Pacientes normoprolactinêmicos, no entanto, parecem possuir relação entre diabetes e prolactina inversa à vista nos pacientes com hiperprolactinemia: prolactina no quartil superior podem ser fator protetor ao aparecimento do DM. (53-56)

#### **1.4.1 Fatores de risco para diabetes melito tipo 2**

Diversos fatores de risco estão fortemente associados ao aparecimento de DM2. Os mais significativos se relacionam às alterações comportamentais surgidas ou intensificadas com a urbanização e as novas relações de trabalho. O sedentarismo e as práticas alimentares não saudáveis são os principais responsáveis pelo aumento vertiginoso de pessoas com DM2 no mundo. O aumento da expectativa de vida também responde por importante parcela dos novos casos de DM2, estando a idade diretamente relacionada com o aparecimento desta enfermidade. (55,56)

Outros fatores de risco muito bem estabelecidos são estados pró inflamatórios, características étnicas, obesidade central, fatores genéticos, resistência insulínica, piora da tolerância a glicose, história prévia de diabetes gestacional e história familiar. (56)

## 1.5 METANÁLISE NA EVOLUÇÃO DA CIÊNCIA MODERNA

Com o desenvolvimento, nas últimas décadas, da ciência e tecnologia em educação e saúde a quantidade de publicações médicas cresceu vertiginosamente. Acompanhar as atualizações e novas publicações é fundamental para se tomar condutas baseadas em evidências que sejam, ao mesmo tempo, efetivas e não maléficas. Entretanto, o excesso de publicações expõe vieses capazes de atrapalhar o médico a escolher a melhor conduta em uma situação específica. Torna-se imperativo, portanto, a realização de busca científica através de um método previamente avaliado e eficaz. (57)

O resumo das informações apresenta-se como um mecanismo necessário frente ao excesso de dados criados pelas pesquisas científicas. A revisão sistemática é uma importante ferramenta de sumarização e deve ser realizada com critério e rigor científico para que se chegue a um resultado fidedigno. Ela é, basicamente, uma análise aprofundada de uma pergunta concisa, utilizando métodos explícitos durante a identificação, seleção e avaliação dos artigos científicos. (58)

Após a seleção dos artigos durante a elaboração de uma revisão sistemática usam-se métodos estatísticos para tratamento dos dados (a metanálise). Diversas fontes bibliográficas podem ser usadas para criação do protocolo de revisão, como o Manual de Colaboração da *Cochrane* e o Guia para Elaboração de Revisões Sistemáticas do CRD. (58,59,60)

Todas as fases da execução da revisão sistemática e metanálise são resumidas em um fluxograma denominado PRISMA<sup>4</sup> (ver abaixo). Nesse fluxograma expõe-se a quantidade de artigos encontrados na seleção inicial, *screening*, elegibilidade e inclusão.

A fase de seleção caracteriza-se pela necessidade da adoção de estratégia de alta sensibilidade focada nos critérios de inclusão da tabela PICOS. Na fase de *screening* buscam-se retirar os artigos irrelevantes para o presente trabalho. Na fase de elegibilidade, em que o foco é a busca por maior especificidade, utilizam-se os critérios de exclusão da tabela PICOS. Por fim, a fase de inclusão agrupa os trabalhos com metodologia específica para a realização da metanálise.

Em 2005, na cidade de Ottawa, foram criadas recomendações para realização criteriosa de metanálises usando uma lista de controle de 27 itens e um fluxograma

com quatro etapas, chamada PRISMA. Em 2015, criou-se um protocolo mais conciso, o PRISMAq, com uma lista de controle de 17 itens sendo utilizado amplamente em metanálises de diversos países. (58,59, 61).

## **2 HIPÓTESES**

- a. Pacientes expostos a valor sérico de prolactina no quarto quartil possuem menor risco de DM2 se comparados aos pacientes no primeiro quartil

### **3 PROBLEMAS DA PESQUISA**

O desenho de estudo mais adequado para se responder as hipóteses levantadas neste trabalho seria aquele capaz de promover a comparação da incidência de novos episódios de diabetes tipo 2 em cada quartil dentro dos valores normais de prolactina. No entanto, poucos são os artigos que utilizaram tal metodologia.

Não se conhece o tempo necessário para que os níveis de prolactina no primeiro ou quarto quartil possam estimular o aparecimento de diabetes

Não foram levadas em conta as variações étnicas nos diversos grupos estudados.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GERAL**

Realizar revisão sistemática e metanálise da literatura com o intuito de se analisar a associação entre as variações da concentração de prolactina sérica na faixa da normalidade e a prevalência e incidência de diabetes melito.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

a. Descrever qualitativamente os estudos transversais e longitudinais que investigaram a associação entre concentração sérica de prolactina na faixa de normalidade e a ocorrência de diabetes melito.

b. Sintetizar quantitativamente os resultados dos estudos transversais e longitudinais que investigaram a associação entre concentração sérica de prolactina na faixa de normalidade e a ocorrência de diabetes melito.

c. Proceder avaliação da qualidade metodológica dos estudos transversais e longitudinais que investigaram a associação entre concentração sérica de prolactina na faixa de normalidade e a ocorrência de diabetes melito.



## 5 MÉTODOS

### 5.1 REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Esta revisão sistemática e metanálise seguiu as diretrizes da “*Cochrane Handbook for Systematic Review of Interventions*” além da observação da lista de controle e tabelas do protocolo PRISMAq ( *Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis*).

### 5.2 PROTOCOLO E REGISTRO

Para garantir a originalidade da revisão sistemática, o texto foi protocolado na base de dados da PROSPERO ( Prospective Register of Systematic Reviews) com código 139967.

A primeira etapa do processo de construção da revisão sistemática foi a definição de uma pergunta chave composta por cinco elementos básicos determinados pelo anagrama PICOS: população, intervenção, comparação, desfecho (*outcome*) e tipo de estudo.

A partir da definição da pergunta chave, realizou-se busca abrangente de artigos em diversas bases de dados, com a utilização de palavras-chave definidas com base na pergunta de pesquisa .

Realizou-se, em seguida, a remoção dos artigos duplicados (encontrados em mais de uma base de dados) e leitura dos títulos e resumos dos demais sendo mantidos, nas próximas fases, aqueles que estivessem de acordo com a pergunta da pesquisa. Esta etapa foi realizada por dois revisores independentes e o resultado da seleção de cada um foi confrontado. As discordâncias foram resolvidas por um terceiro revisor.

Realizada leitura na íntegra dos artigos selecionados, de forma independente, por dois revisores e excluídos os artigos que não contemplaram os critérios de inclusão ou que apresentaram algum critério de exclusão (critérios de inclusão e exclusão previamente definidos). O resultado da inclusão/exclusão dos artigos por cada um dos revisores foi confrontado. As discordâncias foram resolvidas por um terceiro revisor.

Os próximos passos foram: a extração dos resultados de cada um dos artigos incluídos para análise qualitativa dos dados; avaliação do risco de viés de cada estudo incluído com a utilização de protocolo específico; análise quantitativa dos dados por meio da realização da metanálise.

### 5.2.1 Estratégia PICOS

A pergunta chave elaborada por meio da estratégia PICOS (Tabela 1) foi definida como: “Em indivíduos adultos, com 18 anos ou mais, há associação entre a concentração sérica de prolactina, dentro da faixa de referência de normalidade, e a ocorrência de diabetes melito?”.

Tabela 1 – Critérios para definição da pergunta chave.

	<b>SIGNIFICADO</b>	<b>CRITÉRIOS INCLUSÃO</b>	<b>CRITÉRIOS EXCLUSÃO</b>
<b>P</b>	POPULAÇÃO	- Adultos acima de 18 anos	- Usuários de medicações que influenciam o tônus dopaminérgico e a prolactina - Estudos em animais - Doença cardiovascular estabelecida
<b>I/E</b>	INCIDÊNCIA/ EXPOSIÇÃO	Concentração sérica de prolactina mais elevada dentro da faixa de referência de normalidade	- Pacientes com hiperprolactinemia; - Uso de medicações com efeito hiperprolactinemiantes
<b>C</b>	COMPARAÇÃO	Concentração sérica de prolactina mais baixa dentro da faixa de referência de normalidade	
<b>O</b>	DESFECHO ( <i>Outcome</i> )	Incidência (estudos longitudinais) ou prevalência/frequência (estudos transversais) de diabetes melito	Avaliação por meio de testes relacionados ao metabolismo da glicose, porém não considerados critérios diagnósticos de DM2
<b>S</b>	DESENHO DO ESTUDO	Longitudinais (coorte e caso-controle) ou transversais (corte transversal)	

### 5.2.2 Estratégia de busca

Após definição da pergunta chave por meio da estratégia PICOS, prosseguiu-se para a busca de publicações extraídas das bases de dados PUBMED, SCOPUS, WEB OF SCIENCE e COCHRANE por dois revisores distintos entre os dias 07/01/2019 e 14/01/2019. Os termos utilizados para cada base de dados estão dispostos no APÊNDICE A.

A biblioteca eletrônica PUBMED possui mais de 29 milhões de citações de literatura biomédica da base de dados MEDLINE por meio de revistas de ciências e livros *online*. As citações nessa biblioteca compreendem as áreas de biomedicina e saúde, ciência do comportamento, química e bioengenharia. A PUBMED foi desenvolvida e atualmente é mantida pelo *National Center for Biotechnology Informarmation* (NCBI) pertencente à *U.S. National Library of Medicine* (NLM) localizada no *National Institute of Health* (NIH). (62)

A biblioteca virtual SCOPUS faz parte do acervo da Editora Elsevier. É uma base não gratuita, mas disponibilizada por convênio com a CAPES/CNPQ. A SCOPUS é o maior banco de dados de resumos e citações revisados por especialistas possuindo periódicos científicos, livros e anais de congressos nas áreas da ciência, tecnologia, medicina, ciências sociais, artes e humanidade. (63)

A WEB OF SCIENCE possui base de dados multidisciplinar, com cerca de 18.000 revistas de alto impacto, 180.000 resumos de conferência e mais de 80.000 livros eletrônicos. Na área das ciências há mais de 8.850 revistas publicadas desde o ano de 1900. É, também, uma base de dados fechada com acesso pago, mas disponibilizada por convênio com a CAPES/CNPQ. (64)

A COCHRANE LIBRARY possui mais de 7.500 revisões sistemáticas voltadas para a tomada de decisões na prática clínica. Possui acesso aberto ao público com literatura disponibilizada para profissionais de saúde e leigos. (65)

### 5.2.3 Seleção dos artigos científicos (fase 1)

Dois revisores (L.F.C. e A.A.S.) procederam com a seleção das publicações extraídas das bases de dados após remoção das publicações duplicadas utilizando o programa de gerenciamento de referências bibliográficas *Endnote X9*. Esta seleção foi realizada de forma independente por cada revisor, com base no título e resumo do artigo, seguindo os critérios de inclusão definidos na estratégia PICO. Os resultados da seleção de cada revisor foram comparados e as divergências foram solucionadas por meio de discussão com um terceiro revisor (A.A.A.).

A fase de seleção é caracterizada pela escolha de artigos através dos uso dos critérios de inclusão identificados na estratégia PICOS. Neste momento, os critérios de exclusão não são avaliados tornando esta fase altamente sensível e permitindo, portanto, a seleção de artigos que serão, posteriormente, excluídos devido a não relevância para esta revisão sistemática.

A exclusão inicial dos artigos claramente irrelevantes não se baseia nos critérios de exclusão da estratégia PICOS mas simplesmente na identificação da clara irrelevância do estudo para a realização da presente metanálise e revisão sistemática. Esta etapa é identificada com *screening*.

A fase de elegibilidade se caracteriza por uso de estratégia de alta especificidade focada nos critérios de exclusão da tabela PICOS. Dois pesquisadores leram na íntegra os artigos escaneados e as divergências entre eles foram resolvidas por um terceiro autor.

Após identificação dos estudos elegíveis, fez-se uma avaliação qualitativa dos artigos para a inclusão na metanálise. Para esse objetivo avaliou-se o uso de critérios metodológicos de comparação da prevalência ou incidência de DM2 em pacientes no quarto quartil da normalidade de prolactina com pacientes no primeiro quartil de normalidade da prolactina. Estudos que utilizaram essa metodologia foram incluídos na etapa de avaliação quantitativa (metanálise).

Na base de dados PUBMED foram utilizados os termos MESH para “Prolactina” e “Diabetes”. O uso da aplicação MESH auxilia na captação de artigos da forma mais ampla, pois identifica os diversos termos possíveis utilizados para determinada palavra, além de permitir a combinação entre palavras diferentes.

Para procura dos artigos nas bibliotecas virtuais SCOPUS e WEB OF SCIENCE, por se tratarem de bases de dados pagas, foi necessário a utilização de

computadores institucionais localizados no HUB (Hospital Universitário de Brasília) cadastrados no convênio CAPES/CNPQ.

A pesquisa realizada pelos dois revisores na base de dados COCHRANE não encontrou nenhuma publicação.

Não houve restrição quanto à linguagem utilizada nos artigos científicos e os textos em português, inglês, espanhol ou francês foram lidos prontamente pelos revisores. Os artigos escritos nos demais idiomas foram traduzidos em uma plataforma aberta de tradução de textos, o Google tradutor.

Não houve restrição quanto à data de publicação dos artigos científicos selecionados nas bases de dados.

#### **5.2.4 Inclusão dos artigos científicos (fase 2)**

Os artigos selecionados na fase 1 foram lidos na íntegra pelos dois revisores (L.F.C. e A.A.S.), de forma independente, para determinar sua elegibilidade com base nos critérios de exclusão definidos. As divergências de exclusão foram solucionadas por meio de discussão com o terceiro revisor (A.A.A.). Dos artigos elegíveis ao final desta etapa, foram extraídas as seguintes informações (Tabelas 2 e 3): autores, ano de publicação, país de publicação, objetivo, população estudada, idade, número amostral, método de dosagem de prolactina, desfechos de interesse, fatores de confusão e principais achados.

Tabela 2 - Características dos estudos de corte transversal que investigaram a associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de diabetes melito do tipo 2 (n=5).

Continua

<b>Autor (ano), país</b>	<b>Objetivo</b>	<b>População estudada, idade</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>Método de dosagem da prolactina</b>	<b>Desfechos de interesse</b>	<b>Fatores de confusão</b>	<b>Principais achados</b>
Wang et al (2013), China	Determinar se as variações da prolactina se associam com DM2 ou IG	Mulheres na menopausa e homens, 54 – 70 anos	2.377	QS	DM2 e IG	Idade, IMC, tabagismo, uso de álcool, história familiar de DM2	Altos níveis de prolactina foram associados com um menor risco de prevalência de DM e IG em homens e mulheres na pós-menopausa.
Wagner et al (2013) Germany	Investigar a associação entre a PRL e a área sob a curva de glicose pós TOTG 75g e entre o índice HOMA-IR	População adulta de homens e mulheres participantes da Coorte de Tübingen para DM 2, 29-51 anos	1.683	QS	Valor de HbA1c, área sob a curva de glicose no TOTG 75g e sensibilidade a insulina medida por HOMA-IR e clamp euglicêmico hiperinsulinêmico	Idade, sexo	A prolactina foi negativamente associada à sensibilidade à insulina e positivamente associada à HbA1C e à glicose pós 120 minutos do TOTG-75g

## Conclusão

<b>Autor (ano), país</b>	<b>Objetivo</b>	<b>População estudada, idade</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>Método de dosagem da prolactina</b>	<b>Desfechos de interesse</b>	<b>Fatores de confusão</b>	<b>Principais achados</b>
Iranmanesh et al (1989) USA	Comparar o pulso e o padrão circadiano de liberação de PRL entre diabéticos e não-diabéticos	População adulta de homens e mulheres, 25-45 anos	11 DM2 12 não DM2	Dosagem Imunoradiométrica	Análise comparativa do pulso e ritmicidade circadiana da prolactina no DM2	Não houve	Diminuição significativa das concentrações séricas médias de PRL de 24h e diminuição da amplitude máxima de PRL e dos incrementos de pico em pacientes DM2
Chahar et al (2016), India	Investigar se os níveis de PRL dentro da faixa normal se associam a pré-diabetes e diabetes	População adulta de homens e mulheres, de 39 – 68 anos	300	HX	DM2 e pré diabetes	Idade, IMC, HDL, triglicerídeos, colesterol total, HbA1c	Prolactina no nível inferior da normalidade foi associada a diabetes e pré-diabetes
Balbach et al (2013), Germany	Investigar potencial associação de prolactina com síndrome metabólica e DM2	Participantes da Coorte SHIP de 1997 – 2001. 36 – 65 anos	3.993	QS	DM2 e síndrome metabólica	Idade, e carga tabágica	Associação inversa entre os níveis de prolactina no limite da normalidade e prevalência de DM2 em ambos os sexos

PRL: Prolactina; DM2: Diabetes Melito do tipo 2; IG: Intolerância a glicose; QS: Quimioiluminescência; IMC: Índice de massa corporal; TOTG-75: Teste oral de tolerância a glicose com 75g de dextrose; HOMA-IR: *Homeostatic model Assessment of insulin resistance*; HbA1c: Hemoglobina glicada; HX: Hexoquinase

Tabela 3 - Características dos estudos de coorte que investigaram a associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de diabetes melito do tipo 2 (n=4).

Continua							
<b>Autor (ano), país</b>	<b>Estudo, objetivo</b>	<b>População estudada, idade</b>	<b>Amostra</b>	<b>Medida de prolactina</b>	<b>Resultado de interesse</b>	<b>Fatores de confusão</b>	<b>Principais achados</b>
Wang et al (2016), China	Investigar a associação entre a concentração sérica de PRL e DM2	Adultos, homens e mulheres, Mais de 40 anos	1.510	QS	Incidência de DM2	Idade, IMC, tabagismo, história familiar, circunferência da cintura, triglicérides, LDL e HDL	Níveis elevados de PRL foram associados com menor incidência de DM2 em mulheres pós-menopáusicas
Therkelsen et al (2016), USA	Examinar a associação entre a concentração de PRL e a composição corporal, fator de risco para DCV incluindo DM2	População adulta geral, Estudo Framingham 2002 – 2011 Mulheres 40,2 anos (+/- 8,7) homens 40,7 anos (+/-8,6)	3.232	QS	Incidência de Riscos para DCV	Status de tabagismo, idade, estado menopausal e IMC	Nos homens, mas não em mulheres, um incremento de 5 mg / dl na prolactina foi associado a um aumento das probabilidades de ocorrência de DM.
Li et al (2018) EUA	Investigar a relação entre a concentração de PRL e o risco de DM2	Adultos participantes dos estudos NHS e NHSII 1976 – 2002, 25 a 55 anos	8.615	QS	DM2	Obesidade, carga tabágica, paridade, atividade física	Uma concentração de PRL no limite superior da normalidade foi associada a um risco menor de DM2 em 9 e 10 anos



## Conclusão

<b>Autor (ano), país</b>	<b>Estudo, objetivo</b>	<b>População estudada, idade</b>	<b>Amostra</b>	<b>Medida de prolactina</b>	<b>Resultado de interesse</b>	<b>Fatores de confusão</b>	<b>Principais achados</b>
Balbach et al (2013), Germany	Investigar possível associação de PRL sérica com SM e DM2	Participantes do estudo SHIP 1997-2001 36 – 65 anos	3.078	QS	DM 2 e SM	Idade	Ausência de associação longitudinal entre PRL como fator de risco para DM 2 e METs

PRL: Prolactina; DM: Diabetes melito; QS: Quimioiluminescência; DCV: Doença cardiovascular; SM: Síndrome Metabólica

### **5.2.5 Avaliação do risco de viés**

Para avaliação do risco de viés de cada estudo selecionado utilizou-se o protocolo “*Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Cohort Studies*” para os estudos longitudinais e o protocolo “*Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Case-Control Studies*” para os estudos transversais. Estudos que apresentassem componente transversal e longitudinal foram avaliados pelos dois instrumentos. (66)

Os protocolos citados baseiam-se em perguntas com respostas binárias dando-se uma pontuação unitária para cada resposta “sim”. Cada pergunta avalia um aspecto específico e busca identificar, de forma sensível, algum viés de publicação. Ao final da avaliação, calcula-se o percentual de respostas “sim” de cada estudo. Os estudos são considerados de alto risco para vieses quando o percentual de respostas “sim” for menor ou igual a 49%, de moderado risco quando o percentual de respostas “sim” for entre 50 e 69% e de baixo risco quando o percentual de respostas “sim” for de 70% ou mais.

As perguntas que compõe os protocolos para os estudos transversais e longitudinais e a escala de pontuação para cada pergunta estão localizados nos Anexos A e B, respectivamente.

A avaliação do risco de viés foi realizada pelos dois revisores (L.F.C. e A.A.S.), de forma independente. Os resultados foram confrontados e divergências foram solucionadas por meio de discussão com o terceiro revisor (A.A.A.).

### **5.2.6 Síntese dos resultados (metanálise)**

Foi realizada análise quantitativa (metanálise) dos estudos que obedeceram aos critérios de inclusão e exclusão. Utilizaram-se trabalhos de corte transversal ou longitudinal em que os grupos de comparação foram agrupados de acordo com os quartis das concentrações séricas de prolactina. Os estudos deveriam comparar a prevalência ou incidência de novos casos de diabetes melito no quarto quartil em relação ao primeiro quartil de concentração sérica de prolactina. Utilizou-se o programa RevMan 5.0 para gerenciamentos dos resultados e confecção das tabelas com os resultados finais.

Para avaliar a heterogeneidade metodológica dos estudos usou-se o teste Q de *Cochrane* ou a estatística  $I^2$  de *Higgins e Thompson*. Em ambos, considera-se como hipótese nula a total homogeneidade dos trabalhos e o valor de  $p$  indica se a heterogeneidade é significativamente diferente de zero ou não. Valores de  $p$  acima de 0,05 favorecem o teste da hipótese nula, ou seja, os trabalhos serão considerados homogêneos. Valores de  $p$  menores de 0,05 favorecem a hipótese alternativa e os estudos serão considerados heterogêneos. (67, 68)

O teste Q de *Cochrane*, entretanto, possui baixo poder estatístico quando se tem poucos estudos participando da metanálise ao mesmo tempo, se há muitos estudos, ele pode detectar uma falsa heterogeneidade. (79)

O teste estatístico  $I^2$  de *Higgins* utiliza o valor Q do teste de *Cochrane* e o número de artigos envolvidos. Está relacionado com a magnitude da heterogeneidade dos artigos selecionados, sendo que um valor de  $I^2$  próximo a 0% significa não heterogeneidade entre os estudos, próximo a 25% significa baixa heterogeneidade, próximo a 50% indica moderada heterogeneidade e próximo a 75% indica elevada heterogeneidade. Este teste estatístico é melhor aplicado em metanálises com número de artigos reduzidos. (70, 71)

Nos estudos com heterogeneidade maior que 50% realizou-se análise com modelo aleatório e para estudos com heterogeneidade menor que 50% o modelo fixo.

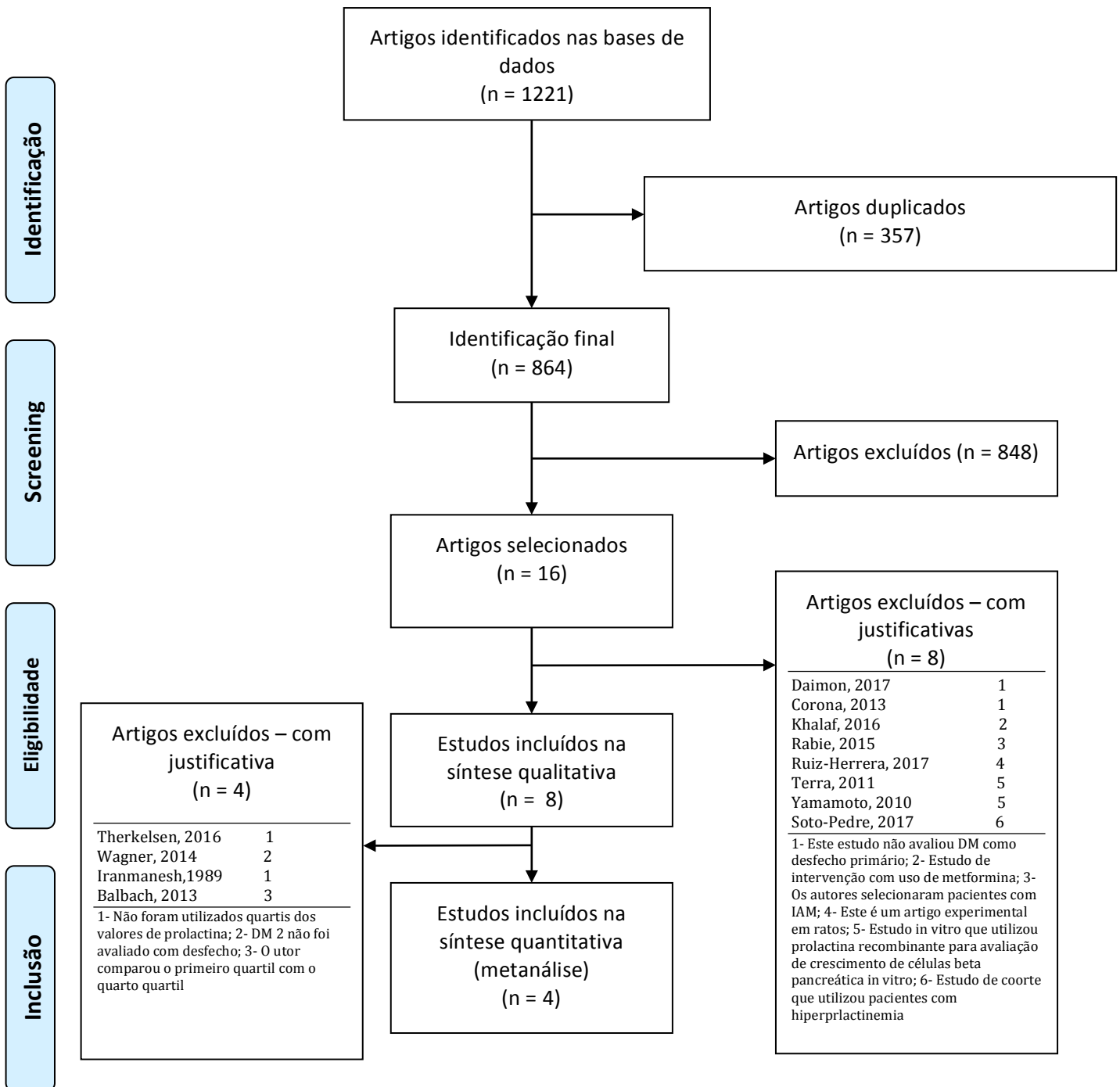


Figura 3: Fluxograma PRISMA

## 6 RESULTADOS

### 6.1 BUSCA, SELEÇÃO E ESCANEAMENTO DOS ESTUDOS

Foram extraídos um total de 1.221 artigos de todas as bases de dados, sendo 354 artigos do PUBMED, 776 do SCOPUS, 91 da WEB OF SCIENCE e nenhum artigo identificado na COCHRANE LIBRARY. Após exclusão de 357 artigos por duplicidade, restaram 864 artigos. Desses, 848 foram excluídos na etapa de *screening* por sua clara irrelevância para o presente estudo, restando 16 artigos inicialmente elegíveis.

### 6.2 ESTUDOS ELEGÍVEIS

Um total de 16 artigos foram lidos na íntegra pelo revisor principal e 8 deles foram excluídos na fase de elegibilidade. Os motivos da exclusão estão demonstrados na Tabela 4 abaixo:

Tabela 4 – Artigos excluídos e razões para a exclusão

<b>Autor, ano</b> <sup>ref</sup>	<b>Razão para a exclusão</b>
Daimon et al, 2017 <sup>45</sup>	DM2 não foi usado como desfecho final
Corona et al, 2013 <sup>72</sup>	DM2 não foi usado como desfecho final
Khalaf et al, 2016 <sup>73</sup>	Estudo de intervenção com uso de ADO
Rabie et al, 2015 <sup>48</sup>	Pacientes avaliados apresentavam IAM
Ruiz- Herrera et al, 2017 <sup>40</sup>	Estudo experimental em ratos
Terra et al, 2011 <sup>34</sup>	Estudo in vitro
Yamamoto et al, 2010 <sup>32</sup>	Estudo in vitro
Soto-Pedre et al, 2017 <sup>58</sup>	Pacientes avaliados apresentavam HPRL

DM2: Diabetes melito do tipo 2; ADO: Antidiabéticos orais; IAM: Infarto agudo do miocárdio; HPRL: hiperprolactinemia

Daimon et. al. (2017) conduziram um estudo transversal, composto por 370 indivíduos japoneses, que investigou a relação entre concentração sérica de prolactina e resistência insulínica avaliada através do índice HOMA-R (*Homeostatic Model Assessment*). O estudo, porém, não avaliou a associação entre concentração de prolactina e presença de DM2 sendo, por este motivo, excluído. (45)

Corona et. al. (2013) realizaram um estudo populacional envolvendo homens com os dados extraídos do estudo EMAS (*European Male Ageing Study*). Os autores avaliaram a associação dos valores séricos reduzidos de prolactina e a presença de desfechos cardiovasculares, dentre eles, o número de critérios clínicos para o diagnóstico de síndrome metabólica, como glicemia de jejum alterada. Entretanto, o diagnóstico de DM2 não foi avaliado como desfecho, motivo pelo qual o artigo foi excluído. (72)

Khalaf et. al. realizaram estudo prospectivo intervencionista com administração de metformina por 6 meses em 20 indivíduos do sexo feminino recém diagnosticadas com DM2. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do uso da metformina nas dosagens de prolactina e testosterona total e livre e correlacionar com a melhora do perfil glicêmico. O autor, porém não avaliou a associação das concentrações séricas de prolactina com incidência ou prevalência de diabetes melito. (73)

Rabie et. al. (2015) realizaram estudo com 89 indivíduos do sexo masculino para avaliar se os valores séricos de prolactina estariam associados a fatores de risco cardiovasculares em pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM). O estudo foi excluído por não avaliar incidência ou prevalência de DM. (48)

Ruiz-Herrera et. al. (2015) analisaram a sensibilidade insulínica no tecido adiposo de ratos. Os autores utilizaram bombas de infusão de prolactina em modelos de roedores obesos e mostraram melhora da sensibilidade à insulina nos animais que receberam prolactina em comparação com os do grupo controle. O artigo foi excluído por envolver modelo animal, além de ter avaliado desfecho incompatível com o objetivo da presente dissertação. (40)

Terra et. al. (2011) e Yamamoto et. al. (2010) avaliaram a influência da prolactina na sobrevivência de células beta pancreáticas com estudos *in vitro*. Os trabalhos foram excluídos por não serem estudos clínicos e não avaliarem desfechos ligados ao escopo do presente trabalho.<sup>32,34</sup>

### **6.2.1 Características dos estudos elegíveis**

Foram incluídos oito artigos para a síntese qualitativa e suas características estão descritas nas tabelas 2 e 3. Quatro estudos, Wang et. al. 2013 (49), Wagner et. al. 2014 (38), Iranmanesh et. al. 1989 (75) e Chahar 2016 (29) avaliaram a

associação entre as concentrações séricas de prolactina e a presença de diabetes melito em estudo de corte transversal com 4383 indivíduos,. Wang et. al 2013 (49), Chahar et. al. 2016 (29) e Iranmanesh et. al. 1989 (75) encontraram associação negativa entre as concentrações de prolactina no limite superior da normalidade e prevalência de diabetes. Wagner et. al. 2014 encontrou, por sua vez, relação positiva entre HbA1C e concentrações séricas de prolactina no limite superior da normalidade além de relação inversa com resistência insulínica.

Três autores, Wang et. al. 2016 (77), Therkelsen et. al 2016 (74) e Li et. al. 2018 (47) realizaram estudos longitudinais em um total de 13.357 indivíduos. Wang et. al. 2016 (77) e Li et. al. 2018 (47) encontraram relação inversa entre as concentrações séricas de prolactina no limite superior da normalidade e a incidência de novos casos de diabetes melito. Therkelsen et. al. 2016, no entanto, encontraram relação direta entre o incremento de 5mg/dL nas concentrações séricas de prolactina dentro dos limites da normalidade e a incidência de diabetes melito em homens, mas não nas mulheres.

Por fim, Balbach et al 2013 (76) fizeram análise transversal e longitudinal de 3993 e 3078 indivíduos respectivamente. Na avaliação transversal houve relação inversa entre as concentrações de prolactina no limite superior da normalidade e a prevalência de diabetes melito, evidência não encontrada na avaliação longitudinal.

Descreveremos agora, de maneira mais pormenorizada as características de cada artigo citado nos parágrafos anteriores.

Therkelsen et. al. 2016 (74) realizaram estudo com dados colhidos de 3232 indivíduos participantes do *Framingham Heart Study*. Foi avaliada a associação entre a concentração sérica de prolactina e diversos fatores relacionados ao aumento do risco cardiovascular, como a incidência de diabetes melito. Demonstrou-se que um incremento de 5mg/dL na concentração sérica de prolactina estava associado a aumento da razão de chance (*odds ratio*) de 1,7 na incidência de diabetes melito em homens. O intervalo de confiança variou entre 1.04 e 2.78 com  $p=0.03$ . (74)

Wagner et. al. 2014 (38) realizaram estudo de corte transversal com a convocação de 1.683 indivíduos participantes do estudo *Türbingen Family Study for Type 2 Diabetes Mellitus* realizado na cidade de Tübingen na Alemanha. Os indivíduos foram submetidos à coleta de sangue em jejum e realização de teste oral de tolerância a glicose com sobrecarga de 75g de dextrose (TOTG 75g). Os autores

mostraram que pacientes com concentrações de prolactina aumentada, porém dentro do intervalo da normalidade, apresentavam melhor controle glicêmico.

Iranmanesh et. al. 1989 (75) realizaram estudo prospectivo com 23 indivíduos, sendo onze diabéticos e doze não diabéticos, submetidos às dosagens repetidas de prolactina, a cada 10 minutos, durante 24 horas. Os autores plotaram os valores em gráficos e avaliaram as características de pulsatilidade da prolactina em cada grupo. Os pacientes diabéticos apresentaram concentrações menores de prolactina.

Chahar et. al. 2016 (29) realizaram estudo transversal com 300 indivíduos, diabéticos, pré-diabéticos e hígidos em proporções similares. Os pacientes foram divididos em quartis de acordo com as concentrações de prolactina e a prevalência de DM2 nos demais quartis foi comparada aos pacientes do primeiro quartil. Os indivíduos do quarto quartil apresentavam menor prevalência de DM se comparados aos indivíduos do primeiro quartil.

Balbach et. al. 2013 (76) analisaram longitudinal e transversalmente os dados de 3.993 indivíduos do estudo *Study of Health of Pomerania* (SHIP). Os autores avaliaram a prevalência e a incidência de novos casos de DM2 nos diferentes quartis de prolactina e mostraram que os indivíduos no primeiro quartil apresentavam maior risco de DM2 se comparados aos pacientes do quarto quartil.

Wang et. al. 2013 (49) avaliaram a prevalência de diabetes em 2.377 indivíduos hígidos residentes em Shangai. Os pacientes foram agrupados em quartis de prolactina e a prevalência de DM2 foi comparada entre os pacientes do segundo terceiro e quarto quartil com os do primeiro. Novamente, pacientes do quarto quartil apresentavam menor risco de DM2 se comparados aos pacientes do primeiro quartil.

Em 2016, Wang et al (77) avaliaram a incidência de novos casos de DM2 em cada quartil de prolactina de 1.510 indivíduos, homens ou mulheres na pós menopausa. Nesse estudo prospectivo os autores fizeram acompanhamento por quatro anos desses sujeitos e mostraram que os pacientes do primeiro quadrante de prolactina apresentavam maior incidência de DM2.

Para avaliar a relação entre as variações da prolactina nos limites da normalidade e a incidência de DM2, Li et al 2018 (47), realizaram estudo prospectivo utilizando participantes de dois grandes estudos, NHS (*Nurses Health Study*) e NHSII (*Nurses Health Study II*), acompanhados por 22 anos. As 8.615 mulheres foram avaliadas prospectivamente e a incidência de DM2 foi avaliada em cada quadrante dos valores normais de prolactina. Os autores observaram que as



mulheres com prolactina no primeiro quadrante apresentavam maior incidência de DM2 se comparado ao quarto quadrante.

### 6.3 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS ELEGÍVEIS

A tabela 5 mostra, resumidamente, as respostas a cada pergunta do protocolo de avaliação de viés do Instituto Joanna Briggs para estudos longitudinais, assim como a pontuação final dada para cada estudo. A tabela 6 contempla os estudos transversais.

Tabela 5 – Lista de checagem do risco de viés para estudos longitudinais do Instituto Joanna Briggs.

<b>Autor, ano</b>	<b>Q1</b>	<b>Q2</b>	<b>Q3</b>	<b>Q4</b>	<b>Q5</b>	<b>Q6</b>	<b>Q7</b>	<b>Q8</b>	<b>Q9</b>	<b>Q10</b>	<b>Q11</b>	<b>Total</b>	<b>Risco de viés</b>
Balbach, 2013(76)	S	S	S	S	S	N	S	N	S	S	S	9/11	Baixo
Li, 2018(47)	S	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S	10/11	Baixo
Therkelsen, 2016(74)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	11/11	Baixo
Wang, 2016 (77)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	11/11	Baixo

Tabela 6 – Lista de checagem do risco de viés para estudos transversais do Instituto Joanna Briggs.

<b>Autor, ano</b>	<b>Q1</b>	<b>Q2</b>	<b>Q3</b>	<b>Q4</b>	<b>Q5</b>	<b>Q6</b>	<b>Q7</b>	<b>Q8</b>	<b>Q9</b>	<b>Q10</b>	<b>Total</b>	<b>Risco de viés</b>
Balbach, 2013(76)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	10/10	Baixo
Chahar, 2017(29)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	10/10	Baixo
Iranmanesh, 1989 (75)	N	S	S	N	S	N	N	N	N	S	4/10	Alto
Wagner, 2014(38)	S	S	S	S	S	N	N	S	S	S	8/10	Baixo
Wang, 2013(49)	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S	10/10	Baixo

Todos os estudos longitudinais apresentaram risco baixo de viés. Os estudos de Wang et. al., 2016 (77) e Therkelsen et. al., 2016 (74) pontuaram para todas as perguntas.

O estudo de Li et. al., 2018 (47) não pontuou para a questão Q5 e por isso obteve uma pontuação final de 10/11. Os indivíduos no quarto quartil de concentração sérica de prolactina eram mais jovens, tinham menor carga tabágica, maior tempo de amamentação, usavam mais antidepressivos e terapia de reposição

hormonal se estivessem na menopausa. Apesar de realizada análise multivariada, levando-se em conta os fatores confundidores descritos, os autores, porém, não ser possível ajuste para outros fatores de confusão encontrados, como adiposidade e algumas dosagens hormonais e, por isso, o trabalho não pontuou para a questão Q5.

O estudo de Balbach et al 2013 (76), realizou análise longitudinal e transversal e por esse motivo foi avaliada em ambos os protocolos de risco de viés. Na avaliação longitudinal o estudo pontuou 9/11 e o risco de viés foi baixo. As questões não pontuadas foram a Q6 e Q8 . Os autores utilizaram pacientes que já possuíam diabetes ao começo da exposição e por isso o estudo não pontuou para a questão Q6. A questão Q8 não foi pontuada pois o *follow-up* foi de apenas cinco anos.

Dentre os estudos transversais Iranmanesh et. al. 1989 (75) obteve risco elevado de viés pois atingiu pontuação de 4/11. Na questão Q1 o estudo não pontuou pois alguns pacientes do grupo de casos apresentava comorbidades crônicas secundárias ao DM2 como doença microangiopática, o que os diferencia do grupo controle. Na questão Q4 o trabalho não pontuou pois realizou medida de prolactina em 24h a cada dez minutos. Apesar de também ter submetido os controles às mesmas medidas, trata-se de aferição não padronizada na literatura. As questões Q6 e Q7 não foram pontuadas pois os autores não identificaram os fatores confundidores entre os grupos e não realizaram análise multivariada. A questão Q8 não foi pontuada, também, por falta de padronização prévia na literatura sobre a interpretação de um gráfico de prolactina de 24h. A questão Q9, por fim, não foi pontuada pois os autores utilizaram método não padronizado para avaliação da prolactina.

O estudo Wang et al 2013 (49) não pontuou a questão Q1 pois os pacientes no quarto quartil apresentavam maior idade, menor exposição ao tabagismo e etilismo. Os autores porém realizaram correta identificação dos fatores confundidores e realizaram análise multivariada, pareando estes fatores. O estudo pontuou 10/11 e apresentou risco baixo de viés de publicação.

O estudo de Wagner et al 2014 (38) apresentou uma pontuação final de 8/10 com baixo risco de viés de publicação. O autor não pontuou para as questões Q6 e Q7 pois o mesmo identificou como fatores de confusão o uso de terapia de

reposição hormonal e hipotireoidismo, porém nada foi descrito acerca do peso corporal e idade. O restante dos trabalhos pontuou 10/10 com baixo risco de viés.

#### 6.4 SÍNTESE DOS RESULTADOS E INCLUSÃO (METANÁLISE)

Dos oito estudos elegíveis para a análise qualitativa, quatro apresentavam critérios para a inclusão na metanálise. Nos estudos incluídos para a metanálise a concentração sérica de prolactina dos indivíduos foi agrupada em quartis e a prevalência ou incidência de DM2 nos participantes com prolactina sérica no quarto quartil foi comparada à daqueles com prolactina sérica no primeiro quartil. Para avaliação da medida de força de associação entre variáveis, utilizou-se o Odds-ratio (OR) para os estudos de corte transversal e o Risco-relativo (RR) para os estudos longitudinais.

##### 6.4.1 Estudos elegíveis mas não incluídos na metanálise

O artigo de Therkelsen et. al. 2016 (74) foi excluído desta etapa por realizar uma avaliação da associação entre prolactina e DM2 com o uso de modelo de regressão multivariada em que foi avaliada a associação do incremento da prolactina sérica em 5mg/dL e o risco de DM2 nos paciente normoprolactinêmicos. Os valores de prolactina não foram agrupados em quartis para estudo da análise comparativa e, portanto, este trabalho foi excluído nesta fase.

O trabalho de Wagner et. al. 2013 (38) também foi excluído da metanálise porque, apesar de dividir os indivíduos em quartis de prolactina, o desfecho utilizado não foi DM2 mas a medida da área abaixo da curva do TOTG-75g e a medida da HbA1c.

Iranmanesh et. al.1989 (75) compararam as características gráficas da variação da prolactina sérica colhida a cada 10 minutos durante 24 horas de onze indivíduos diabéticos e doze não diabéticos tais como: frequência dos picos de onda, amplitude máxima do pico da prolactina, incremento e área dos picos e média dos vales interpulso. Como não houve avaliação interquartil da prolactina o trabalho foi excluído da metanálise.

O estudo de Balbach et al 2013 (76) não pôde ser incluído nesta etapa pois, apesar de dividir os grupos entre os quartis de prolactina, os autores fizeram uma comparação de todos os quartis em relação ao quarto quartil e não em relação ao primeiro. Por motivos de incompatibilidade de análise estatística não foi possível adaptar a comparação realizada pelos autores. Foi tentado contato com os mesmos para resolução do problema, porém sem sucesso. Por esse motivo, este artigo foi excluído da metanálise

#### **6.4.2 Estudos incluídos na metanálise**

Quatro artigos foram incluídos na metanálise - Wang et al 2013 (49), Wang 2016 et al (77), Chahar 2017 et al (29) e Li et al 2018 (47). Os dados extraídos dos trabalhos foram usados para montar os gráficos do tipo *Forest plot*. Os indivíduos foram separados de acordo com o sexo, feminino ou masculino, e entre os estudos avaliados, de corte transversal ou longitudinal. Para os estudos de corte transversal foram utilizados a razão de chances (*odds ratio*, OR) e o intervalo de confiança das amostras (IC). Para os estudos longitudinais foram utilizados o risco relativo (RR) e o IC. As Tabelas 7 e 8 abaixo mostram, resumidamente, as características dos estudos incluídos na metanálise.

Tabela 7: Medidas de associação entre a prolactina sérica e a presença de DM2 apresentadas pelos estudos de corte transversal incluídos na metanálise

<b>Autor (ano), país</b>	<b>Amostra</b>	<b>Desfecho de interesse</b>	<b>Ajustamentos para fatores confundidores</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Associação entre prolactina e DM2</b>
Chahar et al (2016), India	300	DM2 e pré - DM	Idade, IMC, HDL, triglicérides, colesterol total, HbA1C	PRL no quarto quartil da normalidade esta associada com menor prevalência DM e pré-DM se comparado com PRL no primeiro quartil	Mulheres q2: 0.4 (0.09; 1.62) q3: 0.18 (0.04; 0.72) q4: 0.13 (0.03;0.56)  Homens q2: 0.84 (0.30;2.36) q3: 0.65 (0.23; 1.83) q4: 0.55 ( 0.19; 1.57)
Wang et al (2013) China	2.377	DM e pré-DM	Idade, IMC, tabagismo, uso de alcool, e história familiar de DM	PRL no quarto quartil de normalidade esta associado com menor prevalência de DM e pré-DM em homem e em mulheres pós-menopáusicas	Mulheres q2: 0.58 (0.39; 0.85) q3: 0.41 ( 0.28; 0.62) q4: 0.47 (0.32; 0.70) p: <0.001  Homens q2: 0.64 (0.42; 0.98) q3: 0.35 (0.23; 0.54) q4: 0.38 (0.24; 0.59) p: <0.001

DM2: Diabetes melito tipo 2; IMC: Índice de massa corporal; HbA1C: Hemoglobina glicada; PRL: Prolactina; q2, q3 e q4: Quartis 2, 3 e 4 respectivamente

Tabela 8 - Medidas de associação entre a prolactina sérica e a presença de DM2 apresentadas pelos estudos de coorte incluídos na metanálise (n=2).

<b>Autor</b>	<b>Amostra</b>	<b>Desfecho de</b>	<b>Ajustamentos para</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Associação entre prolactina e DM2</b>
--------------	----------------	--------------------	--------------------------	---------------------------	--

<b>(ano), país</b>		<b>interesse</b>	<b>fatores confundidores</b>		
Wang et al (2016) China	1.510	Incidência e risco de DM	Idade, IMC, tabagismo, história familiar de DM, circunferência abdominal, triglicérides, HDL, LDL	PRL no quarto quartil esta associado a menor incidência de DM em mulheres mas não em homens	Mulheres q2: 0.65 (0.38; 1.11) q3: 0.58 (0.34; 1.0) q4: 0.49 (0.27; 0.87) p: 0.011  Homens q2: 1.28 (0.65; 2.49) q3: 1.23 (0.63; 2.43) q4: 1.11 (0.55; 2.21) p: 0.84
Li et al (2018) EUA	8.615	Incidência e risco de DM2	Obesidade, paridade, tabagismo e atividade física	A PRL no quarto quartil está associado a menor risco de DM 2 em 9 a 10 anos	Mulheres q2: 0.95 (0.76; 1.19) q3: 1.01 (0.8; 1.28) q4: 0.74 (0.57; 0.97) p: 0.03

DM: Diabetes Melito; IMC: Índice de massa corporal; HDL: *High density Lipoprotein*; LDL: *Low density lipoprotein*; PRL: Prolactina; Q2, Q3, Q4: Quartis 2, 3 e 4 respectivamente.

A heterogeneidade entre os estudos variou de 0 a 64%. Desta forma, selecionou-se o modelo aleatório (heterogeneidade > 50%) para análise dos dados.

Nos estudos de corte transversal foi encontrada menor razão de chances de ocorrência de DM2 nos indivíduos com prolactina no quarto quartil (OR 0,42, IC 0,32-0,55,  $p < 0,00001$ ). Esse resultado se manteve quando se analisou, separadamente, o sexo masculino (OR 0,40, IC 0,26-0,60,  $p < 0,0001$ ), mas não o sexo feminino (OR 0,30, IC 0,01-1,00  $p=0,05$ ) conforme apresentado na figura 4. Porém, ao se realizar correção metodológica para o modelo fixo, demonstrou-se relevância estatística neste subgrupo ( Apêndice B).

Na análise dos estudos longitudinais não foi possível avaliar o subgrupo masculino pois somente um trabalho estudou essa subpopulação. Na análise dos indivíduos do sexo feminino foi observada associação negativa entre prolactina no quarto quartil e risco de DM2 (RR 0,69, IC 0,54-0,88,  $p=0,03$ ) conforme apresentado na figura 5. Neste subgrupo a heterogeneidade entre os estudos foi de apenas 41%, enquanto a heterogeneidade do sexo masculino não pôde ser avaliada.

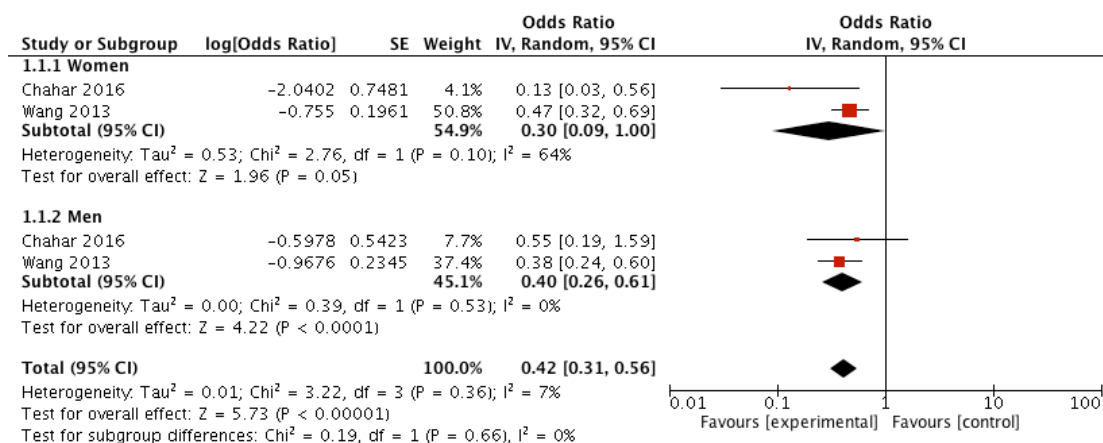


Figura 4: Associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de DM2, analisada de forma global e de acordo com o sexo, em estudos transversais utilizando o modelo aleatório.

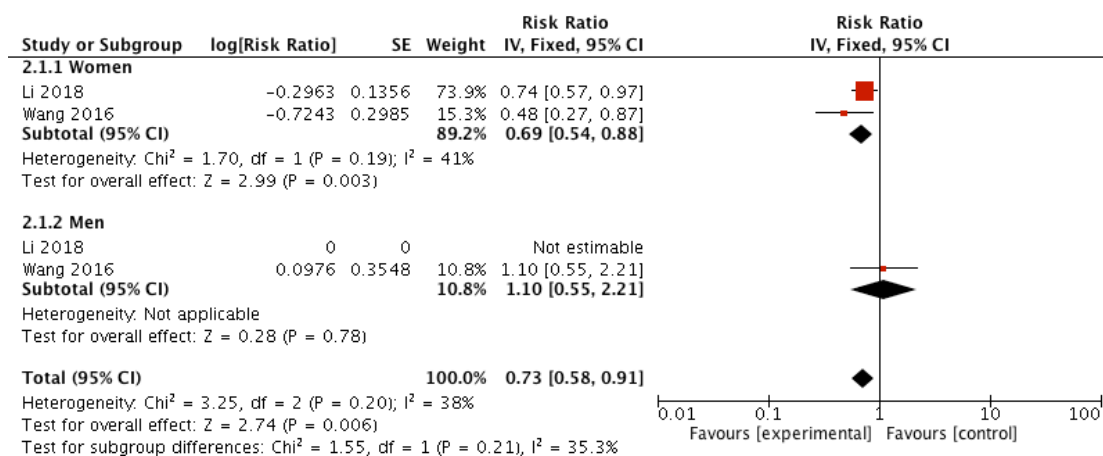


Figura 5 – Associação entre a concentração sérica de prolactina e a presença de DM2, analisada de forma global e de acordo com o sexo, em estudos longitudinais.



## 6 DISCUSSÃO

Os achados desta metanálise mostram que há relação estatisticamente significativa entre prolactina no quarto quadrante da normalidade e menor prevalência de DM2 no subgrupo do sexo masculino e feminino. Na análise longitudinal, por sua vez, somente o subgrupo feminino foi avaliado e houve associação entre a diminuição do risco de DM2 e as concentrações de prolactina no quarto quartil. Os dados longitudinais não foram avaliados no sexo masculino, pois somente um estudo foi identificado neste subgrupo. Ao que temos conhecimento, esta é a primeira metanálise da literatura médica sobre o assunto.

Foi utilizada uma estratégia de ampla procura de artigos na literatura médica utilizando protocolos de metanálise bem estabelecidos. (61,65) Apesar dos poucos trabalhos selecionados, ao total foram identificados 12.802 indivíduos em quatro artigos com boa qualidade de publicação e com baixo risco de viés, além de metodologias robustas.

O resultado da metanálise dos estudos longitudinais e transversais foi discordante, em um primeiro momento, para o subgrupo dos indivíduos do sexo feminino. No primeiro caso, houve diminuição do risco de DM2 nos indivíduos do quarto quadrante da normalidade de prolactina em relação ao primeiro quadrante. Já nos estudos transversais, indivíduos no quarto quartil não apresentaram menor prevalência de DM2 em relação aos indivíduos no primeiro quartil.

Os estudos transversais, por sua natureza atemporal, não avaliam a relação do tempo de exposição ao fator de risco e o desfecho em estudo (111,112). Indivíduos do sexo feminino expostos a concentrações elevadas de prolactina dentro da normalidade por um tempo não suficiente para gerar DM2 podem ter sido incorretamente associados a ausência do desfecho em questão. O estudo de Li et. al. 2018 (47), por exemplo, acompanhou 8.615 mulheres por cerca de 10 anos enquanto o estudo de Wang et. al. (77) acompanhou 2.377 mulheres durante cerca de 3,7 anos. Ambos demonstraram haver relação positiva entre as concentrações de prolactina no limite da normalidade e o risco de DM2. Estes estudos, com elevado tempo de acompanhamento, mostraram que, para haver um efeito antidiabetogênico da prolactina no limite superior da normalidade é necessário um tempo mínimo de exposição a este fator.

Outra crítica aos resultados encontrados para o subgrupo do sexo feminino nos estudos transversais refere-se à escolha do modelo de análise baseado no valor de  $X^2$ . Trabalhos com heterogeneidade acima de 50% devem usar o modelo aleatório e, abaixo deste valor, devem usar o modelo fixo. (68,69) Entretanto, vale ressaltar que este teste tem baixo poder estatístico quando há poucos estudos incluídos na metanálise, como é o caso da presente pesquisa. Além disso o uso do modelo aleatório equipara estudos com espaço amostral muito diferentes, valorizando estudos com  $n$  muito pequeno em relação aos estudos com  $n$  grande (78).

Nas situações descritas acima, em que poucos estudos compõem a metanálise, pode-se fazer uso do modelo de análise visual por meio da inspeção dos gráficos. (78) Neste caso, o uso do modelo fixo de análise (APÊNDICE B) poderia ser utilizado pois os valores do OR de ambos os artigos são próximos e habitam o mesmo lado do gráfico *forest plot*. Além disso, os limites do IC entre os estudos não tocam a linha de igualdade entre hipótese nula e hipótese experimental. O uso do modelo fixo permite a conclusão que, mesmo no subgrupo de pacientes do sexo feminino avaliados por estudos transversais há menor prevalência de pacientes com DM2 no quarto quadrante da normalidade em relação ao primeiro quadrante ( OR 0,43 IC 0,3-0,63  $p < 0,0001$ ).

Ao nosso ver, a análise estatística dos estudos transversais no subgrupo das mulheres não é capaz de excluir a relação positiva entre prolactina e prevalência de diabetes pois a heterogeneidade estatística não pode ser usada como método incontestável nessa situação. Por outro lado, percebe-se que há heterogeneidade clínica no subgrupo dos indivíduos do sexo feminino. No estudo de Wang et al 2013 (49), os autores utilizaram somente mulheres no pós menopausa e Chahar et al 2013 (49) avaliaram uma população feminina com idade entre 39 e 68 anos.

Mulheres na pós-menopausa possuem maior risco de DM2 independentemente da idade quando comparado com homens. O hipogonadismo parece ser o principal mecanismo e a diminuição da prevalência de DM2 em mulheres na pós menopausa em uso de terapia de reposição hormonal (TRH) comparado ao grupo de não usuárias de TRH reforça essa hipótese. Os possíveis mecanismos fisiopatológicos associados são o aumento da adiposidade, da resistência insulínica, diminuição da produção de insulina e aumento da glicemia. Entretanto sabe-se que o estradiol é um hormônio estimulador da prolactina através

da ligação ao receptor alfa ER intracitoplasmático e uma queda na produção pode vir acompanhada de diminuição de prolactina e piora do efeito protetores do DM2.(16, 56,79,80,81)

Os resultados encontrados nos estudos transversais para o sexo masculino, por sua vez, são concordantes com nossa hipótese e com diversos artigos que mostraram que as concentrações de prolactina no limite superior da normalidade podem apresentar efeitos metabólicos favoráveis ao metabolismo glicídico e lipídico em comparação aos indivíduos com prolactina no limite inferior da normalidade (38,40,48,75,82). Wagner et. al. (38), por exemplo, demonstraram relação inversa entre aumento de prolactina dentro dos valores de normalidade e glicemia de 2h pós TOTG, sensibilidade a insulina e HbA1C. Ruiz-Herrera et. al. (40) descreveram melhora da sensibilidade a insulina, diminuição da hipertrofia de adipócitos, além do aumento de produção de adiponectina em modelos de ratos obesos após a infusão de prolactina. Estes dados foram corroborados por estudos populacionais em humanos, como o feito por Balbach et. al. (76), que evidenciaram relação inversa entre a prolactina e a prevalência de DM2 em ambos os sexos em análise transversal.

A plausibilidade biológica é um critério fundamental para a definição de causalidade entre a associação de dois fatores.(113) A relação entre prolactina e DM2 é determinada pelas complexas vias metabólicas pelas quais este hormônio participa. Ainda hoje, há muita divergência na literatura a respeito das ações da prolactina no metabolismo glicídico e lipídico sendo diversas conclusões baseadas em estudos *in vitro* e em animais. Consequentemente, também são contraditórios os dados relacionados à influência da prolactina na fisiopatologia do DM. Além disso, diversos estudos são antigos e não usam metodologias adequadas.

Indivíduos com hiperprolactinemia secundária a adenomas hipofisários secretores de prolactina apresentam piora da sensibilidade insulínica, diminuição da tolerância à glicose, hiperinsulinemia e hiperglicemia pós prandial (83, 84, 85). Os pacientes hiperprolactinêmicos submetidos ao teste oral de tolerância a glicose (TOTG) apresentam maior produção de insulina, porém com uma diminuição da captação glicêmica periférica que suplanta o hiperinsulinismo, gerando um ambiente hiperinsulinêmico e hiperglicêmico (86). Nesses mesmos indivíduos, a piora da resistência periférica a ação da insulina também pode ser resultado da diminuição da inibição da lipólise insulino dependente após TOTG. Esse efeito gera aumento de

ácidos graxos livres secundários ao decréscimo da ação antilipolítica da insulina nos pacientes hiperprolactinêmicos, comparados aos indivíduos controles (86). A resistência insulínica está documentada em indivíduos obesos e não obesos com avaliação do índice HOMA-IR ou mesmo por meio de clamp euglicêmico hiperinsulinêmico. (25, 27, 28, 87, 88)

A adiponectina está associada à melhora da resistência insulínica pelo aumento da oxidação de ácidos graxos livres no tecido muscular, supressão da gliconeogênese hepática e conseqüentemente diminuição da glicemia sérica. (44, 39). Estudos mostraram diminuição da produção de adiponectina em cultura de tecido gorduroso humano adicionada de prolactina recombinante (44). A ligação da prolactina ao elemento ligador/regulador de prolactina (PREB) pode ser a chave para essa diminuição. Zhang et al. demonstraram redução da produção de adiponectina em cultura de adipócitos de ratos transgênicos com hiperativação do PREB. (41) Esse estudo sugere que o estímulo da prolactina em seu receptor PREB diminui a produção de adiponectina em cultura de adipócitos e esse mecanismo pode estar associado à resistência insulínica vista em pacientes com hiperprolactinemia. A medida da adiposidade, portanto, é um fator fundamental para se avaliar a influência da ação da prolactina no metabolismo glicídico. Os trabalhos incluídos na avaliação quantitativa realizaram análise multivariada com pareamento de IMC para evitar o viés de seleção.

A presença de receptores D2R de dopamina é encontrada difusamente nos adipócitos e nas células B pancreáticas e esse achado sugere ação dopaminérgica independente de prolactina nesses tecidos (89,90,91). Indivíduos diabéticos e obesos que usaram a bromocriptina de liberação rápida, um agonista dopaminérgico (AD's), por 16 semanas, apresentaram melhora de HbA1C e glicemia de jejum se comparados ao grupo placebo (92). O estudo prospectivo com tempo de seguimento maior e utilizando outro AD, a cabergolina, também demonstrou melhora da insulina basal e HOMA-R, dependente de prolactina (93). Outros estudos, contudo, demonstraram melhora do perfil glicêmico de maneira independente à diminuição da prolactina (94,95,96). A reposição de prolactina recombinante para manutenção dos valores séricos dentro da normalidade em ratos tratados com AD reverteu em parte, entretanto, o efeito de tolerância à glicose e intolerância insulinêmica dessa medicação (95,101,102).

Em 2010, o FDA liberou a bromocriptina de rápida liberação (BMCQR) para uso como droga antidiabética, após diversos ensaios mostrarem melhora de controle glicêmico (94,99). Ela possui ação agonista dopaminérgica nos receptores D2, além de alfa-2 agonista, alfa-1 antagonista e antagonista serotoninérgico. (92,95,100). O mecanismo de melhora do controle glicêmico pelo uso da bromocriptina ainda é incerto e não está relacionado apenas à diminuição das concentrações de prolactina, mas parece ocorrer por ação direta no SNC pela da ação no tônus de noradrenalina, serotonina e no pâncreas. (95,101,102)

Estudos mais recentes, contudo, mostraram que indivíduos com prolactina dentro do intervalo de referência para a normalidade porém, no quadrante superior (quarto quadrante de distribuição normal dos valores de prolactina), apresentam menor risco de diabetes se comparados a indivíduos com prolactina normal no quadrante inferior (primeiro quadrante). (29,47,49,50,76). Em um estudo transversal com avaliação de 1583 indivíduos foi demonstrado correlação positiva entre prolactina no limite superior da normalidade e sensibilidade à insulina e correlação negativa com concentrações glicêmicos e HOMA IR (38). Iranmanesh et al (75) comparou a curva de 24h de prolactina medida a cada 10 minutos de pacientes diabéticos e não diabéticos e demonstrou que, nos pacientes diabéticos, a amplitude dos picos de prolactina era menor, assim como os picos incrementais e a área sob o curva da prolactina (75).

Diversas publicações mostraram correlação direta entre o aumento da prolactina na gestação e a massa de células beta pancreáticas, levando, por consequência, a maior produção de insulina via estímulo Janus Kinase2/STAT5 (30,103,104,105,106,107). Esses achados dão força à teoria de que a prolactina possui ação antidiabetogênica. Além disso, outros estudos demonstraram que a prolactina está associada à otimização da produção de insulina dependente de glicose pelas células beta pancreáticas pelo aumento de hexoquinases e glicoquinases (35, 108), diminuição da apoptose de células beta pancreáticas via inibição da proteína menin e inibição da ativação de caspases e de citocinas indutoras de morte celular (33, 34, 109).

Outros autores porém, ainda sugerem não haver relação entre hiperprolactinemia e DM, como sugere o estudo populacional realizado por Soto-Pedre et al (82). Neste caso, realizou-se avaliação prospectiva entre os anos de 1988 e 2014, na Escócia, com acompanhamento de 7092 pacientes, sendo 1204

com hiperprolactinemia, e demonstrou-se não haver aumento do risco de diabetes em comparação à população normoprolactinêmica (82). Nenhuma correlação entre prolactina e alterações metabólicas também foram descritas por outros autores. (109, 110).

Conclui-se que os dados na literatura a respeito da ação da prolactina no metabolismo glicídico parecem ser contraditórios. Entretanto, supõe-se que as diferentes concentrações desse hormônio provoquem efeitos metabólicos distintos e que esta seja a chave para explicação destes dados contraditórios. Ratos submetidos a doses baixas e elevadas de prolactina apresentaram aumento da massa de células beta pancreáticas porém, somente ratos submetidos a doses baixas de prolactina apresentaram melhora da resistência hepática à ação da insulina, melhora da produção pancreática de insulina glicose dependente (104). Esses dados corroboram nossa hipótese de que pacientes com hiperprolactinemia apresentam aumento da massa de células beta porém, os efeitos de resistência a insulina e intolerância à glicose suplantam o possível hiperinsulinismo gerando um ambiente diabetogênico. Já nos indivíduos normoprolactinêmicos, o aumento deste hormônio, dentro dos níveis da normalidade, estimula a hipertrofia das células beta pancreáticas associado a melhora da resistência insulínica diminuindo o risco de diabetes. A variação no tônus dopaminérgico nessas diferentes situações pode responder pelas ações distintas da prolactina. Indivíduos hiperprolactinêmicos apresentam tônus dopaminérgico suprimido e pacientes normoprolactinêmicos apresentam tônus dopaminérgico funcionante.

Em resumo, prolactina é um hormônio multifuncional primordialmente associada ao estímulo e manutenção da amamentação. Suas ações no metabolismo glicídico e lipídico fazem desse hormônio um potencial alvo para futuras intervenções medicamentosas, com o intuito de diminuição de riscos cardiovasculares, mais especificamente dos riscos de DM.

Os indivíduos com hiperprolactinemia parecem ter risco aumentado de diabetes. O excesso de prolactina piora a resistência insulínica e a tolerância a glicose e, além disso, faz retroalimentação negativa nos neurônios hipotalâmicos diminuindo o tônus central da dopamina. Essa diminuição pode estar associada ao aumento do risco de DM seja por ação direta no tecido adiposo e pancreático ou por ação indireta, pela diminuição da inibição do tônus de noradrenalina e serotonina.

Os pacientes normoprolactinêmicos não possuem inibição central da dopamina e, portanto, pode-se avaliar os efeitos da variação de prolactina no metabolismo glicídico de forma independente do tônus dopaminérgico. Nesses indivíduos o aumento da prolactina está associado a menor risco de DM possivelmente por estímulo do crescimento das células beta pancreática, aumento de produção global de insulina, melhora do *set-point* de produção de insulina dependente de glicose através da maior expressão dos sensibilizadores de insulina como as hexoquinases e diminuição da resistência hepática a ação da insulina.

## CONCLUSÃO

Os dados da presente metanálise corroboram nossa hipótese de que os pacientes normoprolactinêmicos com prolactina nas concentrações superiores de normalidade apresentam proteção aos riscos de DM se comparado aos pacientes com prolactina no limite inferior da normalidade. Além disso, os pacientes com prolactina nas concentrações inferiores da normalidade apresentam maior risco de DM se comparado com os pacientes do limite superior. Esses dados são bem definidos para ambos os sexos.

As implicações práticas desses achados ainda merecem mais estudos, porém nosso resultado fortalece a hipótese de que deve-se evitar manter prolactina suprimida nos pacientes usuários de agonistas dopaminérgicos apesar de que o presente trabalho não foi desenhado para responder a essa questão.



## APÊNDICE A - TERMOS DE BUSCA

continua

BASE DE DADOS	TERMOS DE PESQUISA
PUBMED	<p>(((((((((Prolactin) OR "Mammotropic Hormone, Pituitary") OR "Hormone, Pituitary Mammotropic") OR PRL) OR "Lactogenic Hormone, Pituitary") OR "Pituitary Lactogenic Hormone") OR Mammotropin)) AND (((Adult) OR Adults) OR Population)) AND (((((((((((((((((((("Diabetes Mellitus") OR "Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent") OR "Diabetes Mellitus, Ketosis-Resistant") OR "Diabetes Mellitus, Ketosis Resistant") OR "Diabetes Mellitus, Non Insulin Dependent") OR "Diabetes Mellitus, Stable") OR "Diabetes Mellitus, Type II") OR NIDDM) OR "Diabetes Mellitus, Maturity-Onset") OR "Maturity Onset Diabetes Mellitus") OR MODY) OR "Diabetes Mellitus, Slow Onset") OR "Slow-Onset Diabetes Mellitus") OR "Type 2 Diabetes Mellitus") OR "Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus") OR "Maturity Onset Diabetes") OR "Type 2 Diabetes") OR "Diabetes, Type 2") OR "Diabetes Mellitus, Adult-Onset") OR "Adult-Onset Diabetes Mellitus")</p> <p style="text-align: center;">N= 354</p>
SCOPUS	<p>(prolactin OR "Mammotropic Hormone, Pituitary" OR "Hormone, Pituitary Mammotropic" OR prl OR "Lactogenic Hormone, Pituitary" OR "Pituitary Lactogenic Hormone" OR mammotropin AND adult OR adults OR population AND "Diabetes Mellitus" OR "Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent" OR "Diabetes Mellitus, Ketosis-Resistant" OR "Diabetes Mellitus, Ketosis</p>

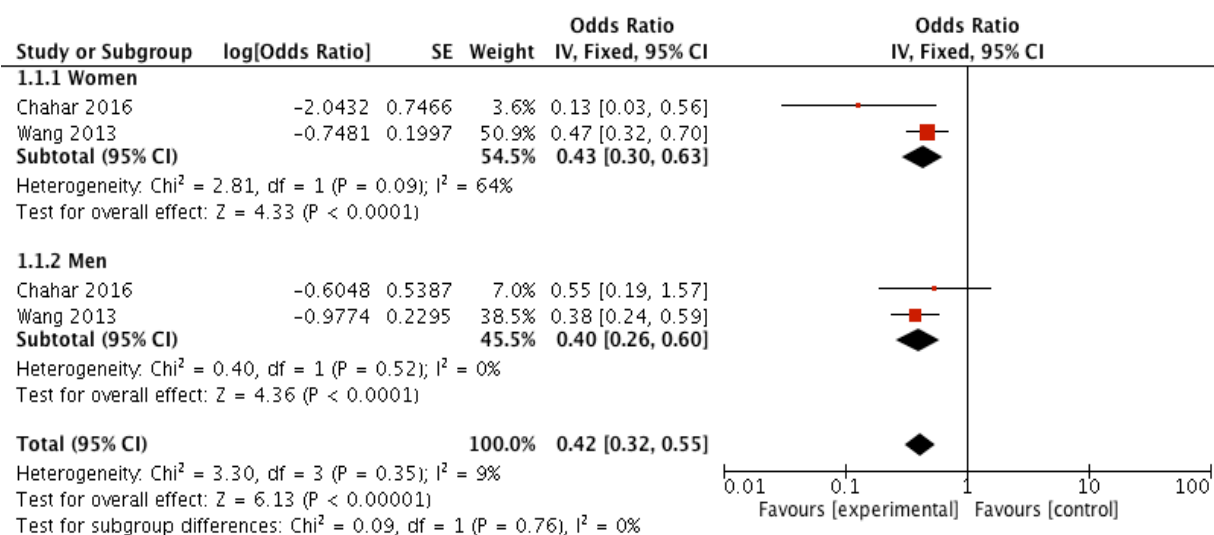
Continuação

BASE DE DADOS	TERMOS DE PESQUISA
SCOPUS	<p>Resistant" OR "Diabetes Mellitus, Non Insulin Dependent" OR "Diabetes Mellitus, Stable" OR "Diabetes Mellitus, Type II" OR niddm OR "Diabetes Mellitus, Maturity-Onset" OR "Maturity Onset Diabetes Mellitus" OR mody OR "Diabetes Mellitus, Slow Onset" OR "Slow-Onset Diabetes Mellitus" OR "Type 2 Diabetes Mellitus" OR "Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus" OR "Maturity Onset Diabetes" OR "Type 2 Diabetes" OR "Diabetes, Type 2" OR "Diabetes Mellitus, Adult-Onset" OR "Adult-Onset Diabetes Mellitus" )</p> <p>N=776</p>
WEB OF SCIENCE	<p>#3 AND #2 AND #1 N=91</p> <p>#3 TS=("Diabetes Mellitus" OR "Diabetes Mellitus, Noninsulin- Dependent" OR "Diabetes Mellitus, Ketosis-Resistant" OR "Diabetes Mellitus, Ketosis Resistant" OR "Diabetes Mellitus, Non Insulin Dependent" OR "Diabetes Mellitus, Stable" OR "Diabetes Mellitus, Type II" OR niddm OR "Diabetes Mellitus, Maturity-Onset" OR "Maturity Onset Diabetes Mellitus" OR</p>

## Conclusão

BASE DE DADOS	TERMOS DE PESQUISA
	<p>mody "Diabetes Mellitus, Slow Onset" OR "Slow-Onset Diabetes Mellitus" OR "Type 2 Diabetes Mellitus" OR "Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus" OR "Maturity Onset Diabetes" OR "Type 2 Diabetes" OR "Diabetes, Type 2" OR "Diabetes Mellitus, Adult-Onset" OR "Adult-Onset Diabetes Mellitus" ) N= 310.666</p>
WEB OF SCIENCE	<p>#2 TS=(adult OR adults OR population) N=3.375.140</p> <p>#1 TS=(prolactin OR "Mammotropic Hormone, Pituitary" OR "Hormone, Pituitary Mammotropic" OR prl OR "Lactogenic Hormone, Pituitary" OR "Pituitary Lactogenic Hormone" OR mammotropin) N=48.752</p>

## APÊNDICE B – EFEITO FIXO DE ANÁLISE



## ANEXOS

ANEXO A – Lista de checagem para avaliação do risco de vies realizada pelo instituto “*Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Case-Control Studies*”.

- 
- Q1 Os dois grupos foram similares e recrutados de uma mesma população?
  - Q2 A exposição foi medida de forma semelhante para determinar os grupos de expostos e não expostos?
  - Q3 A exposição foi medida por um método válido e confiável?
  - Q4 Os fatores confundidores foram identificados?
  - Q5 Foi realizada alguma estratégia para resolver os problemas advindos dos fatores de confusão?
  - Q6 Os indivíduos selecionados estavam sem o desfecho avaliado no começo do estudo?
  - Q7 Os resultados foram medidos por uma metodologia válida?
  - Q8 O tempo de seguimento foi reportado e longo o suficiente para ocorrer o resultado?
  - Q9 O seguimento foi completo, e se não, as razões para a perda foram descritas e exploradas?
  - Q10 Foram utilizadas estratégias para resolver o seguimento incompleto?
  - Q11 Foi utilizado método estatístico satisfatório?
-

ANEXO B - Lista de checagem para avaliação do risco de vies realizada pelo instituto “*Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Cohort Studies*”.

- 
- |     |   |
|-----|---|
| Q1  | Os grupos são semelhantes para as outras características que não a doença nos casos e a ausência de doença nos controles? |
| Q2  | Os casos e controles foram separados corretamente?  |
| Q3  | Os mesmos critérios foram usados para identificar casos e controles?  |
| Q4  | A exposição foi medida por método padronizado, válido e confiável?  |
| Q5  | A exposição foi medida da mesma forma nos casos e controles?  |
| Q6  | Os fatores confundidores foram identificados?   |
| Q7  | Foi realizada alguma estratégia para resolver os problemas advindos dos fatores de confusão?                              |
| Q8  | Os resultados foram avaliados por métodos padronizados, válidos e confiáveis nos casos e controles?                       |
| Q9  | O período de exposição foi longo o suficiente para se obter o resultado avaliado?   |
| Q10 | Foi usada análise estatística adequada?   |
-

## REFERÊNCIAS

1. Daza DO, Larhammar D. Evolution of the receptors for growth hormone, prolactin, erythropoietin and thrombopoietin in relation to the vertebrate tetraploidizations. *General and Comparative Endocrinology* 2018; 257(1):143-160.
2. Afzal E., Fida M. Association between variations in sella turcica dimensions and morphology and skeletal malocclusions. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2019;31(2): 172-177.
3. Guelho D., Gomes L., Paiva I., Carrilho F. Prolactina e Metabolismo uma perspectiva diferente de uma hormona multifuncional. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab* 2016;11(2):268-276.
- 4- Bole-Feysot C., Goffin V., Edery M., Binart N., Kelly PA. Prolactin (PRL) and Its Receptor: Actions, Signal Transduction Pathways and Phenotypes Observed in PRL Receptor Knockout Mice. *Endocrine Reviews* 1998;19(3): 225–268.
- 5- Villar L., Abucham J., Albuquerque JL., Araújo LA., Azevedo MF., Boguszewski CL., Casulari LA., Neto C., Czepiewleski MA., Duarte F., Faria M., Gadelha MR et cols. Controversial issues in the management of hyperprolactinemia and prolactinomas - An overview by the Neuroendocrinology Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. *Arch Endocrinol Metab* 2018;62(2):236-263.
- 6- Cabrera-Reyes E.A., Limón-Morales O., Rivero Segura N.A., Camacho-Arroyo I, Cerbón M. Prolactin function and putative expression in brain. *Endocrine* 2017;57(2); 209 -213.
- 7- Maeda H., Izumi S., KATO Y., Cai L., Suzuki T., Nakamura E., Sugiyama T., FUda T., Takahashi K., Kondo A., Matsumoto T., Ishimoto H. Gene expression of lymphocyte prolactina receptor was suppressed in lactating mothers. *Tokay J Exp Clin Med* 2010;35(2):62-5.
- 8- Bernard V., Young J., Binart N. *Prolactin - a pleiotropic factor in health and disease. Nat Rev Endocrinol* 2019;15:356-365.

- 9- Lkhider M., Seddiki T, Olivier-Bousquet M. La prolactine et son fragmente 16 kDa dans les tissus da mammifères. *Medecine/Science* 2010;26:1049-55.
- 10- Stagkourakis S., Dunevall J., Taleat Z., Ewing AG., Broberger C. Dopamine release dynamics in the tuberoinfundibular dompamine system. *Journal of Neuroscience* 2019;39(21):4009-4022.
- 11- Brown RSE., Kokay IC., Phillipps HR., Yip SH., Gustafson P., Larsen CM., Knowles P. et al. Conditional Deletion of the prolactin receptor reveals funcional subpopulations of dopamine neurons in the arcuate nucleus of the hypothalamus. *The Journal of Neuroscience* 2016;36(35):9137-9185.
- 12- DeMaria JE., Livingstone JD., Freeman ME. Ovarian steroids influence the activity of neuroendocrine dopaminergic neurons. *Brain research* 2000;879(1-2):139-147.
- 13- Vilar L. Endocrinologia Clínica. Quinta edição, 2013, Guanabara Koogan, página 31, capítulo 1.
- 14- Ribeiro AB., Leite CM., Kalil B., Franci CR., Ancelmo-Franci JA., Szawka RE. Kisspeptin regulates tuberoinfundibular dopaminergic neurones and prolactina secretion in an estradiol-dependent manner in male and female rats. *J Neuroendocrinol* 2015;27(2): 88-99.
- 15- Villegas-Gabutti C., Pennacchio GE., Jahn GA., Soaje M. Role of Estradiol in the Regulation of Prolactin Secretion During Late Pregnancy. *Neurochem Res* 2016; 41(12):3344-3355.
- 16- Aquino NSS, Araújo-Lopes R, Henriques PC, Lopes FEF, Gusmao DO, Coimbra CC, Franci CR, Reis AM Szawka RE. Alfa-estrogen and progesterone receptors modulate kisspeptini effects on prolactina: Role in estradio-induced prolactina surge in female rats. *Endocrinology* 2017;158(6):1812-1826.



17- Steyn FJ, Anderson GM, Grattan DR. Expression of ovarian steroid hormone receptors in tuberinfundibular dopaminergic neurones during pregnancy and lactation. *Journal of neuroendocrinology* 2007;19:788–793.

18- Balsa JA., Sánchez-Franco F., Pazos F., Lara JL., Lorenzo MJ., Maldonado G., Cacicedo L. Direct Action of Serotonin on Prolactin, Growth Hormone, Corticotropin and Luteinizing Hormone Release in Cocultures of Anterior and Posterior Pituitary Lobes: Autocrine and/or Paracrine Action of Vasoactive Intestinal Peptide. *Neuroendocrinology* 1998;68:326-333.

19- Grattan D.R., Kokay I.C. Prolactin: A pleiotropic neuroendocrine hormone. *J of Neuroendo* 2008;(20):752-763.

20- Chikanza C, Kozaci D, Chernajovsky Y. The molecular and cellular basis of corticosteroid resistance. *J of Endocrinol* 2003;179:301–310.

21- Chikanza C. Prolactin and Neuroimmunomodulation: In vitro and In vivo observations. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;876:119-30.

22- Walker S, Jara LJ et al. Endocrine manifestations of systemic autoimmune diseases. *Handbook of systemic autoimmune diseases*, vol. 9. Elsevier, Amsterdam, pp 29–43, 2008

23 - Borba VV, Goddard G, Shoenfeld Y. Prolactin and Autoimmunity. *Front Immunol* 2018;9(73):1-8.

24- Glezer, Paraiba DB., Carvalho JF. O papel da prolactina no lupus eritematoso sistêmico: aonde estamos. *Rev Bras Reumatol* 2009;49(2):153-163.

25 – Tuzcu A, Yalaki S, Gokalp D, Bahcec M, Tuzcu S Evaluation of insulin sensitivity in hyperprolactinemic subjects by euglycemic hyperinsulinemic clamp technique. *Pituitary* 2009;12:330-334.

- 26- Berinder K, Nystromm T, Hoybye C, Hall K, Hulting AL,. Insulin sensitivity and lipid profile in prolactinoma patients before and after normalization of prolactina by dopamine agonist therapy. *Pituitary* 2011;14:199-207.
- 27- Serri O, Li L, Mamputu JC, Maingrette F, Renier G. The influences of hyperprolactinemia and obesity on cardiovascular risk markers: effects os cabergoline therapy. *Clin Endocrinol* 2006;64:366-370.
- 28- dos Santos Silva DM, Barbosa FR, Lima GA, Warszawski L, Fontes R, Domingues RC. BMI and metabolic profile in patients with prolactinoma before and after treatment with dopamine agonists. *Obesity* 2011;19:800-5.
- 29- Chahar C, Chahar K, Ankit BS, Gadhwal A, Agrawal RP Association of Serum prolactina level with impaired glucose regulation and diabetes. *Journ associat physisc india* 2017 65:34-9.
- 30- Breij TC, Bhagroo NV, Stout Le, Sorenson RL. Prolactin and oleic acid synergistically stimulate b-cell prolaiferation and growth in rat islets. *Islets* 2017;9(4):49-62.
- 31- Goyvaerts L, LEmaire K, Atjs I, Auffret J, Granvik M, Van Lommel L, Binart N, Schult F, Schraenen A. Prolacin receptors and placental lactogen drive male mouse pancreatic islets to pregnancy relates mRNA changes. 2015;10(3):1-19.
- 32 – Yamamoto T, Ricordi C, Mita A, Miki A, Sakum Y, Molaano RD, Fornoni A, Pileggi A, Inverardi L, Ichii H. Beta cell specific cytoprotection by prolactina on human islet. *Transplant Proc* 2008;40(2):382–383.
- 33- Yamamoto T, Ricordi C, Mita A, Miki A, Sakum Y, Molaano RD, Fornoni A, Pileggi A, Inverardi L, Ichii H. Prolactin supplemetation to culture médium improves beta – cell survival. *Transplantation* 2015;89(11): 1328-1335.

- 34 – Terra LF, Malpartida HG, Wailemann RAM, Sogayar MC, Labriola L. Recombinant human prolactin promotes human beta cell survival via inhibition of extrinsic and intrinsic apoptosis pathways. *Diabetologia* 2011;54(6):1388-1397.
- 35- Weinhaus AJ, Stout Le, Sorenson RL. Glucokinase, hexokinase, glucose transporter 2, and glucose metabolism in islets during pregnancy and prolactin-treated islets in vitro: mechanisms for long term up-regulation of islets. *Endocrinology* 1996;137(5):1640-9.
- 36- Fleenor D, Freemark M. Prolactin induction of insulin gene transcription: roles of glucose and signal transducer and activator of transcription 5. *Endocrinology* 1996;137(5):1640-1649.
- 37- Bordin S, Amaral ME, Anhe GF, Delghingaro V, Cunha DA, Nicoletti JE, Boscheri AC. Prolactin modulate gene expression. Profiles in pancreatic islets from adult female rats. *Mol cell Endocrinol* 2004;220(1-2):41-50.
- 38 – Wagner, Heni M., Linder K., Ketterer C., Peter A., Bohm A., Hatzigeorgaki E., Stefan N., Staiger H., Haring HU., Fritsche A. Age-dependent association of serum prolactin with glycaemia and insulin sensitivity in humans. *Acta diabetol* 2014;51(1): 71-78.
- 39 - Nilsson L., Binart N., Bohlooly YM, Bramnert M., Egecioglu E., Kindblom J., Kelly PA., Kopchick JJ., Ormandy CJ., Ling C., Billig H. Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue. *Biochem and Biophys Res Com* 2005;331:1120-1126.
- 40- Ruiz-Herrera X., Rios EA., Diaz JM., Lerma-Alvarado RM., Escalera LM., Barrera FL., Lemini M., Arnold E., Escalera GM., Clapp C., Macotela Y. Prolactin promotes adipose tissue fitness and insulin sensitivity in obese males. *Endocrinology* 2017;158 (1):56-68.
- 41 – Zhang XZ, Imachi H., Lyu JY, Fukunaga K., Sato S, Iyata T., Kobayashi T., Yoshimoto T., Kikuchi F., Dong T., Murao K. Prolactin regulatory element-binding

protein is involved in suppression of the adiponectin gene in vivo. *J Endocrinol Invest* 2017;40(4):437-445.

42 – Greenman Y., Tordjman K., Stern N. Increased body weight associated with prolactina secreting pituitary adenomas: weight loss with normalization of prolactina levels. *Clinical Endocrinology* 1998;48:547-553.

43- Pala NA., Laway BA., Misgar RA., Dar RA. Metabolic abnormalities in patients with prolactinoma: response to treatment with cabergoline. *Diabetol Metab Syndr* 2015;14:7-99.

44- Pala NA, Laway BA., Misgar RA., Shah ZA., Gojwari TA., Dar TA. Profile of Leptin, adiponectin, and body fat in patients with hyperprolactinemia: Response to treatment with cabergoline. *Indian J Endocr Metabol* 2016;20:177-81.

45- Daimon M., Kamba A., Nurakami H., Mizushiri S., Osonoi S., Yanaihi M., Masuki K., Sato E., Tanabe J., Takayasu S., Matsushashi Y., Ynagimachi M., Terui K., Kageyama K., Tokuda I., Takahashi I., Nakaji S. Association between serum prolactina levels and insulin resistance in non-diabetic men. *Plos One* 2017;12(4):1-11.

46 – Glezer A., Paraiba DB., Carvalho JF. O papel da prolactina no Lúpus Eritematoso Sistêmico: onde estamos. *Rev Bras Reumat* 2009;49(2):153-63.

47- Li J., Rice MS., Huang T., Hankinson SE., Clevenger CV., Hu FB., Tworoger SS. Circulating prolactina concentrations and risk of type 2 diabetes in US women. *Diabetologia* 2018;12:2549-2560.

48- Rabie WA., El-Said NH., Mohammed AF., Sayed SG. Role of prolactina as a cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus patients: a case-control study in Egypt. *Int J Diabetes Dev Ctries* 2015;(35):4:565-69.

49- Wang T., Lu J., Xu Y., Li M., Zhang J., Xu B., XU M., Chen Y., Bi Y., Wang W., Ning G. Circulating Prolactin Associates with diabetes and impaired glucose regulation. *Diabetes Care* 2013;36:1974- 1980.

50- Xu Y., Xu M., Ning G., Lu J., Dai M., XU B., Sun J., Sun W., Lai S., Bi Y., Wang W. Circulating prolactina and risk of type 2 diabetes: a prospective study. *Am J Epidemiol*; 2016;184(4):295-301.

51- Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. Clannad Editora científica 2017. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>. [Acessado dia 02 de julho de 2019]

52 – Oliveira GF., OliveiraTR., Rodrigues FF., Corrêa LF., Arruda TB, Casulari LA. Prevalência de diabetes mellitus e tolerância diminuída à glicose nos indígenas da aldeia Jaguapiru, Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública* 2011;29:315-321.

53 – American Diabetes Association. Standarts of Medical care in diabetes – 2019. The Journal of Clinical and Applied Research and Education. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/Diretriz-2019-ADA.pdf>. [Assessado dia 06 de Julho de 2019]

54 - International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome. Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html>. [Acessado dia 06 de Julho de 2019].

55 – International Diabetes Federation. International Diabetes Atlas 8th edition, Bruxelas 2017 Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/134-idf-diabetes-atlas-8th-edition.html>. [Acessado dia 06 de Julho de 2019]

56 – International Diabetes Federation. What is diabetes type 2. Disponível em: <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/type-2-diabetes.html>.

2019. [Acessado dia 06 de Julho de 2019]

57- Guimarães JA. A pesquisa médica e biomedical no Brasil. Comparações com o desempenho científico brasileiro e mundial. *Ciência e saúde coletiva* 2004;9(2):303-327.

58 - Pereira MG, Galvão TF., Silva MT. Saúde baseada em evidências. Guanabara Koogan, 2016

59 – Prisma – Transparent reporting of systematic reviews and metanalyses. Disponível em <http://www.prisma-statement.org>. [Acessado em 12 de Julho de 2019]

60 – Galvão TF., Pansani TSA., Harrad. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: a recomendação PRISMA. *Epidemiol. Serv. Saúde* 2015;24(2).

61 - Higgins JPT, Green S. Cochrane Handbook for Systematic Review of Interventions. 2011 Disponível em: <http://handbook-5-1.cochrane.org>. [Acessado em 12 de Julho de 2019]

62 – Website do PUBMED. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. [Acessado em 13 de julho de 2019].

63 – Website da SCOPUS. Disponível em: <https://www.scopus.com/home.uri>. [Acessado em 13 de julho de 2019]

64 – Website da WEB OF SCIENCE. Disponível em: <https://login.webofknowledge.com/error/Error?Error=IPError&PathInfo=%2F&RouterURL=https%3A%2F%2Fwww.webofknowledge.com%2F&Domain=.webofknowledge.com&Src=IP&Alias=WOK5>. [Acessado em 13 de julho de 2019].

65 – Website da COCHRANE LIBRARY. Disponível em: <https://www.cochranelibrary.com>. [Acessado em 13 de julho de 2019]

66 – Website do instituto Joanna Briggs Institute. Disponível em: [https://joannabriggs.org/critical\\_appraisal\\_tools](https://joannabriggs.org/critical_appraisal_tools). [Acessado em 15 de julho de 2019]

67 – Pereira MG., Galvão TF. Heterogeneidade e vies de publicação em revisões sistemáticas. *Epidemiol. Serv. Saúde* 2014;23(4):775-778.

68 – Berwanger O., Suzumura EA., Buehler AM., Oliveira JB. Como avaliar criticamente revisões sistemáticas e metanálises. *Rev Bras de Terapia Intensiva* 2007;19(4).

69 – Rodrigues CL, Ziegelmann PK. Metanálise: um guia prático. *Rev HCPA* 2010 30(4):436-447.

70- Higgins. Commentary: Heterogeneity in meta-analysis should be expected and appropriately quantified. *Int Jou Epidemiol*; 2008;37(50):1158-1160.

71 – Borenstein M., Higgins JP, Hedges LV., Rostein HR. Basics of meta-analysis: I2 is not an absolute measure of heterogeneity. *Res Synth Methods* 2017;8(1):5-18.

72 – Corona G., Wu FC., Rastrelli G., Lee DM., Forti G., O'Connor DB., O'Neill TW., Pendleton N., Bartfai G., Boonen S., Casanueva FF., Finn JD., Hahtaniemi T., Kula K., Punab M., VAnderschueren D., Rutter MK., Maggi M., EMAS study group. Low Prolactin is Associated with sexual dysfunction and psychological or metabolic disturbance in middle-age and elderly men: the European male aging study ( EMAS). *J sex Med* 2014;11(1):240-253.

73 - Khalaf BH, Abduiridha MK., Kadhim KA., Najim HD. The correlation of insulin resistance with B cell function, metabolic, and hormonal parameters in type 2 diabetic women treated with metformin. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res* 2016; 41(1):43-48.

74 – Therkelsen KE., Abraham TM., Pedley A., Massaro JM., Sutherland P., Hoffman U., Fox CS. Association between prolactin and incidence of cardiovascular risk factors in the Framingham heart Study. *J Am Heart Assoc* 2016;5(2):1-10.

75 - Iranmanesh A., Veldhuis JD., Carlsen EC., Vaccaro VA., Booth RA., Lizarralde JG., Asplin CM., Evans WS. Attenuated Pulsatile Release of prolactin in men with insulin-dependent diabetes mellitus. *Jour of Clin Endoc Metabol*; 1989;71(1):73-78.

76 - Balbach L., Wallaschofski H., Völzke H., Nauck M., Dörr M., Haring R. Serum prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes?

*BMC Endocrine Disorder* 2013;13(12):1-8.

77 – Wang T., Xu Y., Xu M., Ning G., Lu J., Dai M., Xu B., Sun J., Sun W., Lai S., Bi Y., Wang W. Circulating prolactina and risk of type 2 diabetes: a prospective study. *Am J of Epidemiol* 2016;184(4):295-301.

78 – Santos E.J.F., Cunha M., Interpretação crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. 2013;44: 85-98.

79 - Heianza Y., Arase Y., Kodama S., Hsieh SD., Tsuji H., Saito K., Shimano H., Hara S., Sone H. Effect of postmenopausal status and age at menopause on type 2 diabetes and prediabetes in Japanese individuals: Toranomon Hospital Health Management Center Study 17 ( TOPISC17). *Diabetes Care* 2013;36:4007-4014.

80- Margolis KL., Bonds DE., Rodabough RJ., Tinker L., Phillips LS., Allen C., Bassford T., Burke G., Torrens J., Howard BV. Effect of oestrogen plus progestin on the incidence of diabetes in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative Hormone Trial. *Diabetologia* 2004;47:1175-1187.

81 - Paschou SA., Anagnostis P., Vrynidou A., Goulis DG, Lambrinoudaki I. Diabetes in menopause: Risks and Management. *Current vascular Pharmacology* 2019 *E-pu ahead of print*

82 - Soto-Pedre E., Newey PJ., Bevan JS., Leese GP. Morbity and Mortality in patients with hyperprolactinaemia: the PROLEARS study. *Endocrine Connections* 2017;6(580):580-588.

83 - Landgraf R., Landgra-Leurs MM., Weissmann A., Hörl R., von Werder K., Scriba PC., Prolactin: a diabetogenic hormone. *Diabetologia abril* 1977;13(2):99-104.

84 – Johnston DG., Alberti KGM., Ntrass m., Buring jm., Malpica b., Hall k. Hyperinsulinaemia in hyperprolactinaemic women. *Clinical endocrinology* 1980;13: 361- 368.

85 – Schernthaner G., Prager R, Punzengruber C., Luger A. Severe hyperprolactinaemia is associated with decreased insulin binding in vitro and insulin resistance in vivo. *Diabetologia* 1985;28(3):138-42.



- 86 - Foss MC., Paula FJ., Paccola GM., Piccinato CE. Peripheral glucose metabolism in human hyperprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 1995;43:721-726.
- 87 - Doknic M., Pekin S., Zarkovic M., Medic SM., Dieguez C., Casanueva F., Popovic V. Dopaminergic tone and obesity: an insight from prolactinomas treated with bromocriptine. *Eur j Endocrinol* 2002;147(1): 77-84.
- 88 - Arslan MS., Topaloglu O., Sahin M., Tural E, Ucan B., Glnis Z., Cakal E., Ozbek M., Delibasi T. Preclinical Atherosclerosis in patients with prolactinoma. *Endocrin Pract maio* 2014;20(5):447-51.
- 89 - Auriemma RS., Alcubierre D., Pirchio R., Pivonello R., Colao A. Glucose Abnormalities Associated to prolactin secreting pituitary adenomas. *Frontiers in endocrinology* 2019;10(327):1-5.
- 90 – Rubi B., Ljubicic S., Pournourmohammadi S., Carobbio S., Armanet M., Bartley C., Maechler P. Dopamina D2-like receptors are expressed in pancreatic beta cells and mediate inhibition of insulin secretion. *Journal of biological chemistry* 2005;(4)44; 36824-32.
- 91 – Borcharding DC., Hugo ER., Idelman G., Silva A., Richtand NW., Loftus J., Jonathan NB. DOpamna receptors in human adipocytes: expression and functions. *Plos one* 2005;6(9):1-10.
- 92 - Pijl H., Ohashi S., Matsuda M., Miyazaki Y., Mahankall A., Kumar V., Pipek R., Iozzo P., Lancaster J., Cincotta A., DeFronzo RA. Bromocriptine: a novel approach to the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000;(23):1154-161.
- 93 - Auriemma RS., Granieri L., Galdiero M., Simeoli C., Perone Y., Vitale P., Pivonello C., Negri M., MAnnarino T., Giordano C., Gasperi M., Colao AM., Pivonello R. Effect of cabergoline on metabolism in prolactinomas. *Neuroendocrinol* 2013; 98:299-310.
- 94 - Scranton RE EM, Gaziano JM, Cincotta A. Cycloset (bromocriptine mesylate accelerated absorbing) therapy improves glycemic control in type 2 diabetes (T2D) subjects failing thiazolidinedione (TZD) therapy. *American Diabetes Association 69th Annual Meeting* 2009 .

- 95 - Via MA., Chandra H., Araki., Potenza MV., Skamagas M. Bromocriptine approved as the first medication to target dopamine activity to improve glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: targets and therapy* 2010;(3):43-48.
- 96 - Bahar A., Kashi Z., Daneshpour E., Akha O., Ala S. Effects of cabergoline on blood glucose levels in type 2 diabetic patients. *Medicine* 2016;(95)40:1-5.
- 97 - Furigo IC., Suzuki MF., Oliveira JE., Ramos-Lobo AM., Teixeira PDS., Pedroso JA., Alencar A., Zampieri TT., Buonfiglio DC., Quaresma PGF., Prada PO., Bartolini P., Soares CRJ., Donato J. Suppression of prolactin secretion partially explains the antidiabetic effect of bromocriptine in ob/ob mice. *Endocrinology* 2019;160(1):193-204.
- 98 - Auriemma RS., AlCubierre DD., Pirchio R., Pivonello R., Colao A. The effect of hyperprolactinemia and its control on metabolic diseases. *Expert review of endocrinology e metabolism* 2018;13(2):99-106.
- 99 - Scranton RE, Gaziano JM, Ruttly D, Ezrokhi M, Cincotta A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess safety and tolerability during treatment of type 2 diabetes with usual diabetes therapy and either Cycloset or placebo. *BMC Endocr Disord* 2007;7(3):1-7.
- 100 - Mikhail N. Quick-release bromocriptine for treatment of type 2 diabetes. *Current drug delivery* 2011;8:511-516.
- 101 - Jonathan NB., Christopher R., E.W. LaPeense What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocrine Reviews* 2008;29(1);1-41.
- 102 - Sauve´ D, Woodside B. Neuroanatomical specificity of prolactin-induced hyperphagia in virgin female rats. *Brain Res* 2000;868:306–14.
- 103 - Brelje TC., Stout LE., Bhagroo NV., Sorenson RL. Distinctive roles for prolactin and growth hormone in the activation of signal transducer and activator of transcription 5 in pancreatic islets of Langerhans. *Endocrinology* 2004;145(9):4162-4175.

- 104 - Freemark M., Avril I., Fleenor D., Driscoll P., Petro A., Opara E., Kendall W., Oden J., Bridges S., Binart N., Breant B., Kelly PA., Targeted deletion of the PRL receptor: effects on islet development, insulin production, and glucose tolerance. *Endocrinology* 2002;143(4):1378-1385, 2002.
- 105 - Nteeba J., Kubota K., Wang W., Zhu H., Vivian J., Dai G., Soares M. Pancreatic prolactin receptor signaling regulates maternal glucose homeostasis. *Journal of endocrinology* 2019;241(1):71-83.
- 106 - Retnakaran R., Ye C., Kramer CK., Conelly PW., Hanley AJ., Sermer M., Zinman B. Maternal Serum prolactin and prediction of postpartum Beta cell function and risk of prediabetes/diabetes. *Diabetes Care* 2016;39(7):1250-8.
- 107 - Pepin ME., Bickerton HH., Bethea M., Hunter CS., Wende AR., Benerjee RR. Prolactin receptor signaling regulates a pregnancy-specific transcriptional program in mouse islet. *Endocrinology* 2019;160(5):1150-1163.
- 108 - Weinhaus AJ., Stout LE., Bhagroo NV., Brelje TC., Sorenson RL. Regulation of glucokinase in pancreatic islets by prolactin: a mechanism for increasing glucose-stimulated insulin secretion during pregnancy. *Journal of endocrinology*;2007;193, 367-381.
- 109 - Ernst B., Thurnheer M., Schultes B. Basal serum prolactin levels in obesity – unrelated to parameters of the metabolic syndrome and unchanged after massive weight loss. *Obesity surgery*;2009;19:1159-1162.
- 110 - Creemers LB., Zelissen PMJ., Verlaat W., Koppeschaar HPF. Prolactinoma and body weight: a retrospective study. *Acta endocrinologic*;1991;125:392-396.
- 111 – Pereira MG. Epidemiologia: Teoria e prática. Editora Guanabara Koogan, 1995.
- 112 – Pereira MG., Galvão TF., Silva MT. Saúde baseada em evidências, Guanabara Koogan, 2016.
- 113 - Bradford-Hill, Austin (1965). "The Environment and Disease: Association or Causation?". *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 58: 295–300.