

Estudo do polimorfismo -174G/C do gene da interleucina-6 em gestantes com diabetes mellitus gestacional

Ana Carolina Ballesteiros Paglioli¹, Vanessa de Souza Bizarro², Maria Eduarda Przybylski de Brum³, Carolina Dias⁴, Gian de Almeida Siebert⁵, Tamira Rempel da Rosa⁶, Camila Ferraz⁷, Malviluci Campos Pereira⁸, Ana Paula Menezes de Oliveira⁹, Rafael Tomoya Michita¹⁰, Andrea Regner¹¹, Daniel Simon¹²

¹Acadêmica do Curso de Medicina da ULBRA, bolsista CNPq, ²Laboratório de Genética Molecular Humana, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, ³Acadêmica do Curso de Medicina da ULBRA, ⁴Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, ⁵Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, ⁶Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, ⁷Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, ⁸Serviço de Gestação de Alto-Risco e Medicina Fetal do Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, ⁹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, Serviço de Gestação de Alto-Risco e Medicina Fetal do Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, ¹⁰Laboratório de Genética Molecular Humana, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, ¹¹Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, ¹²Professor orientador, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, daniel.simon@ulbra.br.

Resumo

A diabetes mellitus gestacional (DMG) aumenta consideravelmente os riscos de diversos problemas de curto e longo prazo na saúde da mãe e do recém-nascido. Acredita-se que polimorfismos nos genes de citocinas possam influenciar o risco de DMG. A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina inflamatória potente que medeia uma série de funções fisiológicas. Um polimorfismo de nucleotídeo único do promotor do gene IL-6 (-174G/C, rs1800795) tem sido amplamente avaliado com relação à sua associação com diversas condições patológicas. O presente estudo teve por objetivo analisar a associação entre o polimorfismo -174G/C e desfechos neonatais em gestações com DMG. O estudo foi composto por 80 gestantes com DMG, com idade média de 28,1 anos. Não foram observadas diferenças significativas entre genótipos maternos e os desfechos neonatais avaliados (peso do recém-nascido, APGAR de 1 minuto e de 5 minutos). Esses resultados sugerem que o polimorfismo não está associado a desfechos negativos em neonatos nascidos de gestantes brasileiras com DMG.

Palavras-chave: diabetes mellitus gestacional, interleucina-6, polimorfismo de nucleotídeo único, estudo de associação, desfechos neonatais

Abstract

Gestational diabetes mellitus (GDM) considerably increases the risks of several short- and long-term health problems for the mother and newborn. It is believed that polymorphisms in cytokine genes may influence the risk of GDM. Interleukin-6 (IL-6) is a potent inflammatory cytokine that mediates a number of physiological functions. A single nucleotide polymorphism of the promoter of the IL-6 gene (-174G/C, rs1800795) has been widely evaluated for its association with several pathological conditions. The present study aimed to analyze the association between -174G/C polymorphism and neonatal outcomes in pregnancies with GDM. The study consisted of 80 pregnant women with GDM, with a mean age of 28.1 years. No significant differences were observed between maternal genotypes and the assessed neonatal outcomes (newborn weight, 1-minute and 5-minute APGAR). These results suggest that the polymorphism is not associated with negative outcomes in neonates born to Brazilian pregnant women with GDM.

Keywords: gestational diabetes mellitus, interleukin-6, single nucleotide polymorphism, association study, neonatal outcomes

Introdução

A diabetes mellitus gestacional (DMG) configura-se quando a intolerância à glicose é identificada pela primeira vez durante a gestação, podendo ser transitória ou não. Essa doença é caracterizada por uma forma de diabetes induzida por resistência à insulina e pela disfunção das células β pancreáticas durante a gravidez (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013). Aproximadamente 9-25% das gestações em todo o mundo são afetadas pelas complicações de saúde decorrentes desta doença (ALEJANDRO et al., 2020), de modo que diagnósticos precoces e de tratamentos adequados são essenciais para evitar consequências graves tanto para a saúde do feto quanto para a da gestante.

A fisiopatologia da DMG envolve uma série de fatores, incluindo a resistência à insulina, o aumento da produção de hormônios placentários e o estresse fisiológico. Nesse sentido, a gestante portadora de DMG não tratada fica suscetível a sofrer diversas intercorrências durante a gestação, dentre as quais podemos citar o maior risco de rotura prematura de membranas, parto pré-termo e pré-eclâmpsia. Ademais, o feto corre o risco de apresentar diversas condições maléficas, tais como macrossomia, síndrome da angústia respiratória, hipoglicemia, cardiomiopatia e hipocalcemia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2008).

Estudos reportam que a citocina inflamatória interleucina-6 (IL-6) está envolvida na regulação da homeostase glicêmica e na patogênese da DMG, e indicam que, em gestantes portadoras de DMG, os níveis séricos dessa citocina são elevados (HASSIAKOS et al., 2016; SRIVASTAVA et al., 2023). Nesse sentido, existe a possibilidade de que os níveis elevados de IL-6 em mulheres com DMG possam agravar a resistência à insulina através de diversos mecanismos e, assim, participar da patogênese dessa enfermidade (NERGIZ et al., 2014).

Um polimorfismo na região promotora do gene IL-6 (-174C/G, rs1800795) tem sido amplamente estudado em relação aos níveis de IL-6 e diversas doenças. A associação entre o genótipo GG do polimorfismo e níveis mais elevados de IL-6 foi relatada em alguns estudos (FISHMAN et al., 1998; FERNANDES et al., 2015). Estudo examinando a associação entre polimorfismos genéticos no gene *IL-6* e a suscetibilidade ao diabetes gestacional mostrou que portadoras do alelo G do polimorfismo -174G/C apresentaram maior

suscetibilidade ao desenvolvimento de DMG (WEI et al., 2020). Entretanto, ainda há discrepâncias nos resultados encontrados nos estudos publicados sobre a associação entre o polimorfismo e o DMG, de modo que são necessárias mais pesquisas para elucidar a natureza dessa relação. O presente estudo tem por objetivo analisar a associação entre o polimorfismo -174G/C e desfechos neonatais em gestações com DMG

Materiais e Método

Descrição da amostra

A amostra foi composta por gestantes diabéticas em atendimento no Serviço de Pré-Natal de Alto Risco (PNAR) do Hospital Materno Infantil Presidente Vargas (HMIPV) durante o período de agosto de 2020 e julho de 2022. O HMIPV é um hospital especializado regional, da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 100% SUS, voltado para a área materno-infantil e saúde mental. Nele são desenvolvidos vários programas de referência regional. Entre eles, o atendimento de gestantes de alto risco, no PNAR, com o atendimento especializado de gestantes com diabetes, no Ambulatório de Diabetes na Gestação (ADG). Cabe ressaltar que, por representar uma referência regional, o HMIPV atende além de moradores de Porto Alegre, também pacientes de outros municípios gaúchos.

Os procedimentos envolvidos na participação da voluntária foram alinhados com as consultas e procedimentos de rotina no serviço e envolveram as seguintes etapas: realização de entrevista para obtenção de informações pessoais e sobre sua saúde e gestação; coleta de sangue para extração do DNA.

O diagnóstico de DMG foi realizado no HMIPV, bem como as análises laboratoriais de rotina. Para diagnosticar as pacientes com DMG é recomendado que na primeira consulta do pré-natal sejam encaminhadas para dosagem de glicemia em jejum. Todas as mulheres com glicemia de jejum ≥ 92 mg/dl inicial devem ser submetidas a teste de sobrecarga oral com 75 g de glicose entre 24 e 28 semanas de gestação, sendo o diagnóstico de diabetes gestacional estabelecido quando no mínimo um dos valores a seguir encontrou-se alterado: glicemia em jejum ≥ 92 mg/dl; glicemia 1 hora após sobrecarga ≥ 180 mg/dl; glicemia 2 horas após sobrecarga ≥ 153 mg/dl. Contudo, sempre que a paciente apresenta sintomas ou sinais de diabetes é recomendado um novo teste de glicose em jejum e caso apresente

um valor elevado os testes devem ser repetidos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019).

Além dos resultados de DMG, foram analisadas informações de cada gestante e recém-nascido no prontuário eletrônico do HMIPV, como idade gestacional, peso do recém-nascido e APGAR.

Aspectos éticos

O presente estudo faz parte de um estudo mais abrangente, denominado "Avaliação do valor preditivo de biomarcadores moleculares no desfecho da gestação de alto risco", aprovado no Comitê de Ética e Pesquisa do HMIPV (CAAE: 20441819.9.0000.5329). Todas as gestantes incluídas no estudo foram informadas sobre os objetivos do projeto e do que consistiria a sua participação. Após os esclarecimentos necessários, todas as participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Metodologia de análise do polimorfismo

Amostras de sangue das gestantes do HMIPV foram coletadas por punção venosa. O DNA total foi extraído usando o método descrito por Lahiri e Nurnberger (1991). O polimorfismo IL-6 -174G/C foi analisado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de digestão por enzima de restrição conforme descrito anteriormente (DALLA LIBERA et al., 2011). Resumidamente, a mistura de amplificação continha água destilada ultrapura (livre de DNase e RNase), Tris-HCl 10 mM, pH 8,5, KCl 50 mM, MgCl₂ 0,75 mM, 0,0625 mM de desoxinucleotídeos trifosfatados, 0,25 μM de cada primer (5'- GCGATGGAGTCAGAGGAAAC -3' e 5'- ATCTTGTGGAGGGTGAGG-3'), 1 U de *Taq* DNA polimerase e 20 ng de DNA. Todas as reações foram realizadas com os seguintes parâmetros de ciclo: 1 ciclo a 94°C por 3 min e 35 ciclos a 94°C por 10s, 60°C por 30s e 72°C por 30s, seguido de um ciclo de extensão final a 72°C por 3 min. O DNA amplificado foi analisado pela técnica de polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição (RFLP) usando a enzima de restrição *Nla*III. Os fragmentos digeridos foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata. O alelo G apresenta três fragmentos (com 208, 171 e 29 pb), enquanto o alelo C apresenta quatro fragmentos (com 171, 122, 86 e 29 pb).

Análises estatísticas

As variáveis categóricas foram comparadas por meio do teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme recomendado. As frequências alélicas foram determinadas por contagem direta dos alelos e os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram avaliados pelo teste de qui-quadrado. Todos os testes realizados foram

bicaudais e valores de P<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

A amostra do estudo foi composta por 80 gestantes com idades entre 18 e 42 anos, tendo uma média de 28,1 anos (Tabela 1). A maioria das participantes reportou ter oito ou mais anos de estudo. Nove gestantes relataram o consumo de drogas fumadas (11,2%) e cinco relataram o consumo de álcool (6,2%). Sobre o hábito de fumar, 22 (27,5%) gestantes eram ex-fumantes e 5 (6,2%) fumaram durante a gestação. Um total de 33 gestantes (41,3%) relataram histórico familiar de diabetes mellitus, sendo que 9 (11,2%) tinham histórico familiar de DMG. A doença que apresentou maior frequência de histórico familiar foi HAS, reportado por 39 gestantes (48,8%), sendo que 15 gestantes (18,8%) tinham diagnóstico de HAS. A maioria das mulheres (n=42, 52,5%) estava na sua primeira gestação, seguido de gestantes que já tinham tido uma gestação (n=18, 22,5%).

Tabela 1 - Caracterização da amostra de gestantes com DMG.

Variável	Total (n= 80)
Idade (anos)	28,1 ± 7,3
Escolaridade	
Até 8 anos de estudo	26 (32,5)
8 ou mais anos de estudo	54 (67,5)
Cor da Pele	
Branca	40 (50,0)
Negra	22 (27,5)
Mulata	18 (22,5)
Uso de drogas fumadas	9 (11,3)
Consumo de bebidas alcoólicas	5 (6,2)
Fumo	
Atual	5 (6,2)
Ex-fumante	22 (27,5)
Histórico familiar	
DM1	1 (1,2)
DM2	23 (28,8)
DMG	9 (11,3)
PE	5 (6,2)
HAS	39 (48,8)
Gemelaridade	7 (8,7)
Doença crônica	
Ansiedade	4 (5,0)
Asma	9 (11,3)
Depressão	5 (6,2)
HAS	15 (18,8)
Gestações prévias	
1	18 (22,5)
2	7 (8,7)
3 ou mais	13 (16,3)

HAS: hipertensão arterial sistêmica; PE: pré-eclâmpsia; DM: diabetes mellitus. Valores em frequências absolutas e porcentagens (entre parênteses).

As frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo -174G/C observadas na amostra de gestantes com DMG são mostradas na Tabela 2. O alelo G apresentou frequência de 76,3% e o

genótipo GG foi o mais frequentemente observado na amostra estudada (n=46, 57,5%). As frequências genóticas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A maior parte dos recém-nascidos apresentou peso normal ao nascer, porém três (4,1%) nasceram com baixo peso e dois (2,8%) apresentaram macrossomia. Na avaliação de APGAR 1 minuto, dois recém-nascidos (2,8%) tiveram pontuação abaixo de 5, enquanto 10 (14,1%) tiveram entre 5 e 7 pontos. No APGAR 5 minutos, dois recém-nascidos (2,8%) tiveram pontuação abaixo de 8, com o restante da amostra tendo valores de 8 ou mais pontos. A Tabela 3 mostra os desfechos neonatais estratificados pelos genótipos maternos do polimorfismo -174G/C. Considerando a frequência muito baixa de gestantes homocigotas CC, esse genótipo foi agrupado com o genótipo heterocigoto CG, em um modelo de dominância do alelo C. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para o peso do recém-nascido, APGAR de 1 minuto e APGAR de 5 minutos entre os genótipos.

Tabela 2 - Frequências alélicas e genóticas do polimorfismo -174G/C do gene IL-6 na amostra de gestantes com DMG.

Variável	Frequência
Alelos	
G	122 (76,3)
C	38 (23,7)
Genótipos	
GG	46 (57,5)
CG	30 (37,5)
CC	4 (5,0)

Valores em frequências absolutas e porcentagens (entre parênteses).

Tabela 3 - Desfechos dos recém-nascidos estratificados pelos genótipos maternos do polimorfismo -174G/C do gene IL-6.

Variável	Genótipos -174G/C		P
	GG	CG + CC	
Peso do RN			0,522
< 2500	3 (6,8)	-	
2500 – 2999	10 (22,7)	9 (31,0)	
3000 – 3999	30 (68,2)	19 (65,5)	
≥ 4000	1 (2,3)	1 (3,5)	
APGAR 1 min.			0,095
4	1 (2,3)	1 (3,4)	
5 - 7	3 (7,2)	7 (24,1)	
8 - 10	38 (90,5)	21 (72,5)	
APGAR 5 min.			>0,999
7	1 (2,4)	1 (3,5)	
8 - 10	41 (97,6)	28 (96,5)	

Discussão

No presente estudo analisamos 80 mulheres grávidas diagnosticadas com diabetes mellitus gestacional avaliando a relação do polimorfismo -174G/C com desfechos neonatais. Observamos que o alelo G apresentou frequência de 76,3%. O

alelo G é o alelo mais comum em diversas populações estudadas, como mostrado em estudos realizados no Japão, Malásia, China, Coreia e Estados Unidos (COX et al., 2001; PARK et al., 2003; OGNJANOVIC et al., 2010; PAN et al., 2011; GAN et al., 2016). A frequência dos alelos do polimorfismo -174G/C pode variar conforme os grupos étnicos populacionais. Por exemplo, Hassan et al. (2003) avaliando grávidas norte-americanas relataram que o genótipo CC foi observado em 2% das mulheres afro-americanas e 15% das mulheres caucasianas.

Gueuvoghlian-Silva et al. (2012) foram, até onde se sabe, os primeiros a investigar a associação deste polimorfismo com a DMG. O estudo de caso-controle avaliou 79 gestantes brasileiras com DMG e 169 gestantes sem DMG. Não foi observada associação do polimorfismo com DMG, pois os genótipos apresentaram frequências similares entre o grupo caso e o grupo controle. De forma similar, não foi observada diferença nos níveis de IL-6 quantificados nos dois grupos a partir do sobrenadante de células mononucleares periféricas das gestantes que foram colocadas em cultura. Além disso, não foi observada associação dos níveis de IL-6 com os genótipos do polimorfismo -174G/C.

Outro estudo, realizado na China, encontrou resultados semelhantes aos de Gueuvoghlian-Silva et al. (2012). O estudo de caso-controle analisou 140 mulheres com DMG e 140 grávidas saudáveis visando investigar as correlações e interações entre os polimorfismos de genes relacionados à resistência à insulina, incluindo o polimorfismo -174G/C, e fatores de risco ambientais e dietéticos no desenvolvimento do DMG. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências alélicas e genóticas do polimorfismo -174G/C entre gestantes com e sem DMG, bem como sua associação com fatores ambientais e dietéticos (FENG et al., 2019).

No presente estudo não encontramos diferenças na comparação entre genótipos para características dos recém-nascidos. Este resultado está em concordância com estudos anteriores. Stonek et al. (2008) não encontraram associação do polimorfismo com desfechos dos recém-nascidos e maternos, tais como morte fetal intrauterina, bebês pequenos para a idade gestacional, parto prematuro, pré-eclâmpsia e complicações na gravidez. Por outro lado, Simhan et al. (2003) associaram o genótipo GG a maior risco de parto prematuro, enquanto o genótipo CC foi associado a menor incidência de prematuridade. Similarmente, o genótipo GG foi mais frequente em bebês australianos com

síndrome de morte súbita infantil (SMSI) comparado ao grupo controle (MOSCOVIS et al., 2006). Porém, esses achados não foram confirmados em um estudo em uma amostra norueguesa envolvendo 175 casos de SMSI e 71 controles (OPDAL; ROGNUM, 2007). A discordância entre os estudos poderia estar relacionada a diferenças nos critérios diagnósticos de SMSI bem como a diferenças na distribuição do polimorfismo -174G/C em diferentes grupos étnicos.

Polimorfismos genéticos, incluindo o polimorfismo -174G/C, foram também associados ao tempo de internação em unidade de terapia intensiva neonatal. A associação poderia ser justificada por sua influência em processos de infecção e/ou inflamação que são prováveis determinantes biológicos do nascimento prematuro. A IL-6 é uma citocina pleiotrópica sendo difícil isolar individualmente seus efeitos, mas foi descrito que níveis mais elevados de IL-6 podem estar associados ao trabalho de parto prematuro (MALARSTIG et al., 2007; BAUMGARTEL et al., 2017). Genótipos maternos de interleucinas também foram associados às necessidades de oxigênio logo após o nascimento, e evidências sugerem que níveis elevados de IL-6 no cordão umbilical estão positivamente associados à síndrome do desconforto respiratório (Sorokin et al., 2014).

Os resultados discrepantes relativos ao polimorfismo -174G/C do gene IL-6 e desfechos da DMG podem ser, pelo menos em parte, explicados por questões dos delineamentos dos estudos, bem como de diferenças na estrutura e composição das populações estudadas. No presente estudo, não foram encontradas evidências que sugerem a associação do polimorfismo com desfechos obstétricos na amostra estudada. Uma possível explicação pode estar relacionada ao tamanho amostral analisado, que foi relativamente pequeno. Além disso, uma contribuição importante de um único gene é bastante improvável para uma doença como a DMG, onde um grande número de parâmetros bioquímicos e fisiológicos contribui para o resultado clínico. O modelo de análise comparando portadores do alelo C com homocigotos do genótipo GG também pode ter influenciado nos resultados observados. Em decorrência da baixa frequência do genótipo CC foi realizada a sua análise de forma conjunta com o genótipo CG, conforme realizado em estudo anterior (DALLA LIBERA et al., 2011)

Conclusões

Os dados do presente estudo não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre

genótipos do polimorfismo -174G/C do gene IL-6 e desfechos neonatais na amostra estudada. Entretanto, é necessário aumentar o tamanho amostral para ter um poder estatístico adequado para confirmar tais achados. A continuidade do estudo será fundamental para atingir uma maior compreensão sobre o papel do polimorfismo funcional do promotor do gene IL-6 em gestantes brasileiras com DMG.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado nas instalações do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), subvencionado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 – e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- ALEJANDRO, E. U.; MAMERTO, T. P.; CHUNG, G.; VILLAVIEJA, A.; GAUS, N. L.; MORGAN, E.; PINEDA-CORTEL, M. R. B. Gestational diabetes mellitus: a harbinger of the vicious cycle of diabetes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, p. 5003, 2020.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, n. 36(Suppl 1), p.S67-S74, 2013.
- BAUMGARTEL, K. L.; GROER, M. W.; COHEN, S. M.; REN, D.; SPATZ, D. L.; CONLEY, Y. P. Maternal interleukin genotypes are associated with NICU outcomes among low-birth-weight infants. **Biological Research for Nursing**, v. 19, p. 36-44, 2017.
- COX, E. D.; HOFFMANN, S. C.; DIMERCURIO, B. S.; WESLEY, R. A.; HARLAN, D. M.; KIRK, A. D.; BLAIR, P. J. Cytokine polymorphic analyses indicate ethnic differences in the allelic distribution of interleukin-2 and interleukin-6. **Transplantation**, v. 72, p.720-726, 2001.
- DALLA LIBERA, A. L.; REGNER, A.; DE PAOLI, J.; CENTENARO, L.; MARTINS, T. T.; SIMON, D. IL-6 polymorphism associated with fatal outcome in patients with severe traumatic brain injury. **Brain Injury**, v. 25, p. 365-369, 2011.
- FENG, Y.; JIANG, C. D.; CHANG, A.M.; SHI, Y.; GAO, J.; ZHU, L.; ZHANG, Z. Interactions among insulin resistance, inflammation factors, obesity-related gene polymorphisms, environmental risk factors, and diet in the development of gestational diabetes mellitus. **Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 32, p. 339-347, 2019.

- FERNANDES, M.T.; FERNANDES, K.B.; MARQUEZ, A.S.; CÓLUS, I.M.; SOUZA, M.F.; SANTOS, J.P.; POLI-FREDERICO, R.C. Association of interleukin-6 gene polymorphism (rs1800796) with severity and functional status of osteoarthritis in elderly individuals. **Cytokine**, v. 75, p. 316-320, 2015.
- FISHMAN, D.; FAULDS, G.; JEFFERY, R.; MOHAMED-ALI, V.; YUDKIN, J.S.; HUMPHRIES, S.; WOO, P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 102, p. 1369-1376, 1998.
- GAN, G. G.; LEONG, Y. C.; BEE, P. C.; CHIN, E. F.; ABDUL HALIM, H.; NADARAJAN, V. S.; THE, A. K. Influence of genetic polymorphisms of cytokine genes in the outcome of HLA-matched allogeneic stem cell transplantation in a South East Asian population. **Cytokine**, v. 78, p. 55-61, 2016.
- GUEUVOGHLANIAN-SILVA, B. Y.; TORLONI, M.R.; MATTAR, R.; DE OLIVEIRA, L. S.; SCOMPARINI, F. B.; NAKAMURA, M.U.; DAHER, S. Profile of inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus: phenotype and genotype. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 67, p. 241-250, 2012.
- HASSAN, M. I.; ASCHNER, Y.; MANNING, C. H.; XU, J.; ASCHNER, J. L. Racial differences in selected cytokine allelic and genotypic frequencies among healthy, pregnant women in North Carolina. **Cytokine**, v. 21, p. 10-16, 2003.
- HASSIAKOS, D.; ELEFThERIADES, M.; PAPAStEFANOU, I.; LAMBRINOUDAKI, I.; KAPPOU, D.; LAVRANOS, D.; AKALESTOS, A.; ARAVANTINOS, L.; PERVANIDOU, P.; CHROUSOS, G. Increased maternal serum interleukin-6 concentrations at 11 to 14 weeks of gestation in low risk pregnancies complicated with gestational diabetes mellitus: development of a prediction model. **Hormone and Metabolic Research**, v. 48, p. 35-41, 2016.
- LAHIRI, D. K.; NURNBERGER, J. I. JR. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**, v. 19, p. 5444, 1991.
- MÄLARSTIG, A.; WALLENTIN, L.; SIEGBAHN, A. Genetic variation in the interleukin-6 gene in relation to risk and outcomes in acute coronary syndrome. **Thrombosis Research**, v. 119, p. 467-473, 2007.
- MOSCOVIS, S. M.; GORDON, A. E.; AL MADANI, O. M.; GLEESON, M.; SCOTT, R. J.; ROBERTS-THOMSON, J.; HALL, S. T.; WEIR, D. M.; BUSUTTIL, A.; BLACKWELL, C. C. IL6 G-174C associated with sudden infant death syndrome in a Caucasian Australian cohort. **Human Immunology**, v. 67, p. 819-825, 2006.
- NERGIZ, S.; ALTINKAYA, Ö. S.; KÜÇÜK, M.; YÜKSEL, H.; SEZER, S. D.; KURT ÖMÜRLÜ, İ.; ODABAŞI, A. R. Circulating galanin and IL-6 concentrations in gestational diabetes mellitus. **Gynecological Endocrinology**, v. 30, p. 236-240, 2014.
- OGNJANOVIC, S.; YAMAMOTO, J.; SALTZMAN, B.; FRANKE, A.; OGNJANOVIC, M.; YOKOCHI, L.; VOGT, T.; DECKER, R.; LE MARCHAND, L. Serum CRP and IL-6, genetic variants and risk of colorectal adenoma in a multiethnic population. **Cancer Causes & Control**, v. 21, p. 1131-1138, 2010.
- OPDAL, S. H.; ROGNUM, T. O. The IL6 -174G/C polymorphism and sudden infant death syndrome. **Human Immunology**, v. 68, p. 541-543, 2007.
- PAN, M.; GAO, S. P.; JIANG, M. H.; GUO, J.; ZHENG, J. G.; ZHU, J. H. Interleukin 6 promoter polymorphisms in normal Han Chinese population: frequencies and effects on inflammatory markers. **Journal of Investigative Medicine**, v. 59, p. 272-276, 2011.
- PARK, B. L.; LEE, H. S.; KIM, Y. J.; KIM, J. Y.; JUNG, J. H.; KIM, L. H.; SHIN, H. D. Association between interleukin 6 promoter variants and chronic hepatitis B progression. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 35, p. 76-82, 2003.
- SRIVASTAVA, N.; SINGH, K.; SINGH, N.; MAHDI, A.A. Association between serum interleukin-6, leptin and insulin in gestational diabetes mellitus - a cross-sectional study. **Journal of Diabetes and Metabolic Disorders**, v. 22, p. 639-648, 2023.
- SIMHAN, H. N.; KROHN, M. A.; ROBERTS, J. M.; ZEEVI, A.; CARITIS, S. N. Interleukin-6 promoter - 174 polymorphism and spontaneous preterm birth. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, p. 915-918, 2003.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. São Paulo: Clannad; 2019.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Diabetes mellitus gestacional. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 54, p. 477-480, 2008.
- SOROKIN, Y.; ROMERO, R.; MELE, L.; IAMS, J.D.; PEACEMAN, A.M.; LEVENO, K.J.; HARPER, M.; CARITIS, S.N.; MERCER, B.M.; THORP, J.M.; O'SULLIVAN, M.J.; RAMIN, S.M.; CARPENTER, M.W.; ROUSE, D.J.; SIBAI, B. Umbilical cord serum interleukin-6, C-reactive protein, and myeloperoxidase concentrations at birth and

association with neonatal morbidities and long-term neurodevelopmental outcomes. **American Journal of Perinatology**, v. 31, p; 717-726, 2014.

STONEK, F.; METZENBAUER, M.; HAFNER, E.; PHILIPP, K.; TEMPFER, C. Interleukin 6-174 G/C promoter polymorphism and pregnancy complications: results of a prospective cohort study in 1626 pregnant women. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 59, p. 347-351, 2008.

WEI, Q.; CHEN, X.; CHEN, H. Association of single nucleotide polymorphisms of the IL-6, IL-10, and TNF- α genes with susceptibility to gestational diabetes mellitus. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 24, p. 390-398, 2020.