# PAINÉIS DE PESQUISA



#### ADESÃO AO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2: DIFERENÇAS DE GÊNERO

Oliveira REM<sup>1</sup>, Franco LJ<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP)

Introdução: A elevada taxa de não adesão ao tratamento de doenças crônicas não transmissíveis é um problema de saúde pública<sup>1</sup>. A adesão ao tratamento medicamentoso por pessoas com DM2 é fundamental para reduzir complicações e a morbimortalidade por esta doença<sup>2</sup>. É um desafio para o indivíduo, família e equipe de saúde. Sabe-se que há diferenças entre os gêneros e o cuidado com a saúde<sup>1,3</sup>. Assim, objetivo deste estudo foi avaliar a adesão ao tratamento medicamentoso de pessoas com DM2 cadastradas em Unidades de Saúde da Família (USFs) de Ribeirão Preto, São Paulo com ênfase nas diferenças entre homens e mulheres. Métodos: Trata-se de um estudo transversal descritivo realizado por meio de entrevista estruturada com amostra calculada de 100 mulheres e 100 homens com DM2 cadastrados em USFs vinculadas à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. As variáveis de interesse foram sociodemográficas, econômicas, estilo de vida e relacionadas à adesão ao tratamento medicamentoso por meio do Brief Medication Questionnaire (BMQ), dentre outras. Resultados: A potencial adesão ao tratamento medicamentoso foi estimada em 71,0% dos homens e 62,0% entre as mulheres. Não houve associações entre adesão e variáveis sociodemográficas e econômicas. Associações com adesão foram evidenciadas em homens que auto perceberam sua saúde como muito boa/boa, usam apenas um medicamento para o tratamento do DM2, usam antidiabético oral, não apresentam reações adversas e adquirem a totalidade ou parte dos medicamentos por meio do Programa Farmácia Popular – PFP (p<0,01). Já entre as mulheres, verificou-se associação entre adesão e uso de apenas um medicamento para tratamento do DM2 (p<0,01), adquirir a totalidade ou parte dos medicamentos por meio do PFP (p<0,04) e não apresentam reações adversas aos antidiabéticos (p<0,01). Discussão: Conforme descrito em outros estudos as variáveis socidemográficas e econômicas são fracos preditores para adesão ao tratamento do DM2<sup>4</sup>. Contudo, o esquema terapêutico e acesso aos medicamentos podem favorecer ou não a adesão. O tratamento mais adequado deve ser personalizado conforme as necessidades individuais e baseado em evidências. A adesão à terapêutica medicamentosa deve ser centrada no indivíduo<sup>3</sup>. Neste estudo, verificamos que os homens apresentaram melhor adesão e mais fatores influenciam neste processo. Uma das possíveis razões está relacionada às características socioculturais de masculinidade, a expressão de não fragilidade e domínio da saúde. As singularidades dos gêneros devem ser analisadas nas ações dos profissionais de saúde que cuidam de pessoas com DM2 e estratégias eficazes fazem-se necessárias. Estimular a adesão, conscientizar sobre os problemas relacionados a não adesão, os custos e o impacto para o sistema público são ações importantes para a Estratégia Saúde da Família, cujo atributo é coordenar o cuidado e a assistência das pessoas com DM2. Referências Bibliográficas: 1. World Health Organization. Adherence to long-term therapies: evidence for action, 2003. 2. World Health Organization. Global report on diabetes, 2016. 3. Remondi et al. Não adesão à terapia medicamentosa: da teoria a prática clínica. Rev Ciênc Farm Básica Apl., 35(2), 177, 2014. 4. Faria et al. Fatores associados à adesão ao tratamento de pacientes com diabetes mellitus. Acta Paul Enferm., 26(3), 231, 2013.



A prática do autocuidado em diabetes: o papel da Equipe Estratégia de Saúde da Família com ênfase no agente comunitário na região oeste de São Paulo

Nascimento TMRV<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Diabetes mellitus é uma doença que demanda para seu tratamento um grande número de cuidados, por vezes de difícil execução. Este motivo, entre outros, torna o controle desta doença inadequado na maior parte dos serviços. Intervenções feitas com pares utilizando métodos de comunicação eficazes têm-se mostrado úteis para auxiliar os pacientes a realizar os passos necessários para sua melhora clínica. O presente estudo realizou uma intervenção para auxiliar a prática do autocuidado em diabetes utilizando a técnica de entrevista motivacional (EM) em uma Unidade Básica de Saúde da Estratégia de Saúde da Família. O objetivo principal consistiu em verificar o impacto da intervenção sobre dados clínicos e laboratoriais dos pacientes, bem como no comportamento relacionado ao autocuidado em diabetes. Secundariamente, o estudo visou avaliar como os profissionais de saúde da Estratégia Saúde da Família, em especial os agentes comunitários, aceitaram e realizaram a mudança do método de trabalho. Como metodologia o projeto orientou a aplicação, nas visitas mensais que os agentes comunitários de saúde (ACS) fazem às pessoas com diabetes, da técnica de entrevista motivacional como forma de desenvolver o suporte por pares e a realização de planos de ação para melhora do autocuidado. Para tanto anteriormente proporcionou diversos treinamentos das Equipes de Saúde da Família em diabetes e entrevista motivacional. A avaliação foi feita por questionários comportamentais, avaliação clínica e laboratorial no início e após 6 meses da intervenção. A viabilidade do projeto foi avaliada por meio da observação sistemática do trabalho das agentes e por entrevistas feitas com eles ao final do estudo. Não houve diferença nas variáveis clínicas (IMC, circunferência abdominal, pressão arterial sistólica e diastólica) com a intervenção. Houve diminuição significativa das concentrações plasmáticas de colesterol total, do LDL colesterol e de triglicérides. A concentração de hemoglobina glicada melhorou nos pacientes que fizeram mais de 3 planos de ação quando comparada aos que fizeram menos de 3; por outro lado no grupo com maior número de planos foi observado aumento da pressão sistólica. Quanto a práticas de autocuidado: houve melhora no aumento da ingestão de vegetais, diminuição de carne vermelha, aumento na atividade física, diminuição da baixa adesão medicamentosa. No entanto foi observada piora na adesão a insulina. Houve uma significativa melhora na avaliação que os pacientes fazem dos agentes de saúde, assim como na sua capacidade de enfrentar melhor os problemas acarretados pela doença. Por sua vez, na opinião dos ACS a intervenção melhorou o cuidado oferecido aos pacientes e o treinamento em entrevista motivacional mudou a sua interação com os pacientes. A viabilidade da intervenção foi avaliada como positiva, pois os ACS foram capazes de aprender a técnica e se propõem a continuar a usar os planos de ação. Em conclusão aplicar a técnica de EM por agentes comunitários de saúde é possível e viável, tendo como resultado melhora em algumas medidas de comportamento importantes para o controle do diabetes assim como, em curto prazo, em alguns parâmetros laboratoriais.

**Descritores:** Diabetes mellitus; Autocuidado; Entrevista motivacional; Agentes comunitários de saúde; Educação em saúde; Estratégia saúde da família; Atenção primária à saúde.



Avaliação da Eficácia do Controle Glicêmico e Perfil de Segurança do Uso de Insulina Glargina versus Insulina NPH em portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 e Doença Renal Crônica classes 3 e 4: ensaio clínico controlado e randomizado.

Betônico CCR<sup>1</sup>, Titan SM<sup>1</sup>, Corrêa-Gianella ML<sup>1</sup>, Nery M<sup>1</sup>, Queiroz MS<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo

Diabetes mellitus (DM) é uma das principais causas de doença renal crônica terminal. Após o diagnóstico da doença renal diabética (DRD), durante sua progressão são necessárias freqüentes alterações do tratamento medicamentoso do DM, e constantes ajustes de dose para otimizar o controle glicêmico e minimizar os riscos hipoglicemias que são elevados nesta população. Não existem estudos com análogos de insulina em pacientes portadores de doença renal (DR), além disso, não existe consenso quanto a definição da dose apropriada destes nos pacientes portadores da DRD. O objetivo deste ensaio randomizado, cruzado, controlado, é comparar o controle glicêmico do tratamento com insulina NPH com a terapia utilizando insulina glargina em uma população de pacientes portadores de DM2 e DRD estágios 3 e 4. Trinta e quatro pacientes foram randomizados para receber insulina glargina uma vez ao dia ou insulina NPH em três aplicações diárias. Insulina lispro foi prescrita três vezes ao dia, em aplicações pré-prandiais nos dois grupos. Após 24 semanas de terapia, os pacientes tiveram seu esquema de insulina trocado para terapia insulínica oposta. Testes laboratoriais foram realizados após 12, 24, 36 e 48 semanas de estudo. O sistema de monitorização continua de glicose (CGMS) foi instalado ao término de cada terapia. Resultados: Dos 34 pacientes incluídos, 29 completaram as 48 semanas propostas, 2 pacientes deixaram o estudo por má adesão, e 3 pacientes não completaram o estudo em decorrência a eventos adversos (1 óbito, 1 ingresso em hemodiálise e 1 evento cardiovascular, todos em uso de insulina NPH). Após 24 semanas, o grupo glargina teve uma redução estatisticamente significante da média de HbA1c (8,85 para 7,95%) (p<0.05), porém esta diferença não foi observada no grupo NPH. O grupo glargina mostrou uma menor tendência à hipoglicemias noturnas comparada ao grupo NPH (P<0.05), além disso episódios de hipoglicemia grave ocorreram apenas no grupo NPH. Conclusão: Insulina glargina mostrou melhor controle glicêmico e com menor tendência a hipoglicemias noturnas em uma população de portadores DRD estágios 3 e 4.

Descritores: Diabetes mellitus, Doença renal, Insulina glargina



#### Controle glicêmico durante hospitalização por meio de aplicativo utilizando insulinas humanas

Nery M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>FMUSP

A hiperglicemia hospitalar, especialmente em pessoas sem diagnóstico prévio de diabetes, aumenta o risco de inúmeros eventos adversos associados à doença que motivou a internação, incluindo maior tempo de hospitalização, frequência de infecções, maior custo hospitalar, além de maior mortalidade.

Emboraeste conceito seja bastante conhecido, o controle glicêmico de pessoas com diabetes nos hospitais gerais continua sendo feito de modo inadequado, com frequência inaceitável, por meio de insulina de demanda (*sliding scale*). Tal método já foi claramente demonstrado como ineficaz.

Por outro lado, a aplicação de insulinoterapia tipo basal-bolus, indicada para pessoas com diabetes durante internação hospitalar é considerado de prescrição e execução difíceis para a maior parte de generalistas e cirurgiões.

Por esse motivo desenvolvemos um *software* chamado InsulinAPP (disponível no site: <a href="http://www.insulinapp.com.br">http://www.insulinapp.com.br</a>): um protocolo de controle glicêmico para ser um método amigável, acessível e de fácil compreensão, de modo que médicos generalistas e especialistas possam ter como base para o tratamento da hiperglicemia hospitalar, utilizando as insulinas disponíveis em qualquer lugar do país.

O aplicativo foi desenvolvido conforme as recomendações dos consensos da *American College of Endocrinology, American Diabetes Association* e Sociedade Brasileira de Diabetes e está disponível para centrais de trabalho (*desktops*), tablets e smartphones.

As doses de insulina são baseadas em dados clínicos que possam sugerir maior ou menor necessidade de insulina: idade, índice de massa corporal, medicação prévia, função renal, entre outros. O principal esquema de insulina utilizado é o basal-bolus, em que 50% da dose total diária de insulina corresponde ao componente basal e é fornecido através de três aplicações diárias de insulina NPH (ou dose única de insulinas planas). O componente bolus do esquema é feito com insulina humana de ação rápida (ou ultrarrápida).

A dose padrão inicial (modificado segundo os critérios clínicos já apontados) é de 0,4 UI/kg de insulina total. O controle subsequente sugerido pelo software se baseia na média glicêmica pré-prandial e eventual modificação do quadro clínico. O aplicativo contempla todas as etapas da hospitalização, desde a internação até a prescrição de alta. Além disso, também disponibiliza lembretes e orientações para as emergências hipo ou hiperglicêmicas.

Agradecimentos:

Marcos Tadashi Kakitani Toyoshima, Alexandre Barbosa C. de Souza e Comissão de controle glicêmico hospitalar do Hospital das Clínicas da FMUSP: Sharon N. Admoni, Priscila Cukier, Simão A. Lottenberg, Ana Claudia Latronico

Referência: <u>Toyoshima MT</u>, <u>de Souza AB</u>, <u>Admoni SN</u>, <u>Cukier P</u>, <u>Lottenberg SA</u>, <u>Latronico AC</u>, <u>Nery M</u>.

New digital tool to facilitate subcutaneous insulin therapy orders: an inpatient insulin dose calculator. <u>Diabetol Metab Syndr.</u> 2015 Dec 21;7:114. doi: 10.1186/s13098-015-0111-7.



#### Marcadores de doença cardiovascular no diabetes tipo MODY

Franco LF<sup>1</sup>, Giuffrida FM<sup>2</sup>, Szarf G<sup>1</sup>, Dotto RP<sup>1</sup>, Kunii IS<sup>1</sup>, Moises RCS<sup>1</sup>, Dias-Da-Silva MR<sup>1</sup>, Reis AF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP, <sup>2</sup>Universidade do Estado da Bahia - UNEB

#### CARDIOVASCULAR RISK ASSESSED BY CORONARY CALCIUM SCORE IN GCK-MODY SUBJECTS

Introduction: Monogenic diabetes due to glucokinase mutations (GCK-MODY) is characterized by mild non-progressive hyperglycemia. This can be potentially associated with lower cardiovascular (CV) risk, but solid data are lacking in the literature. These individuals are exposed to lifelong hyperglycemia. Coronary artery calcium (CAC) score has shown good predictive value for coronary artery disease (CAD).

Objectives: assess CV risk by CAC score in GCK-MODY.

Methods: Forty-four individuals without CAD have been assessed for cardiovascular risk factors, and CAC score with multi-slice computed tomography (Agatston score): 14 individuals with GCK-MODY (GCK) from 7 families (diagnosed by Sanger sequencing), 10 normoglycemic controls (C) (age- and BMI-matched spouses or non-affected relatives of MODY patients), and 20 with type 2 diabetes (T2D).

Results: Patients with GCK, compared to C and T2D, respectively, were more often female (92.9 vs 10 vs 70%, p<0.001); were younger (age 39.9+14.5 vs 43.6+6.5 vs 54.7+6.7 y.o., p 0.02 for C vs T2D and p<0.001 GCK vs T2D); had lower BMI (23.3+2.5 vs 26.8+2.7 vs 30.5+5.4 kg/m2, p<0.001 GCK vs T2D); and HbA1c (6.0+0.6 vs 6.0+0.4 vs 8.7+2. %, p=0.025 C vs T2D and p=0.002 GCK vs T2D). CAC score was lower in GCK (0 [0-0] vs 0 [0-5.29] vs 6.2 [0-161.4], p=0.011, Kruskal-Wallis [KW] test), as well as frequency of CAC score above 10 (7.7 vs 10 vs 47.1%, p=0.021). Framingham risk scores were 1 [1-5] vs 5 [1.75-8] vs 4 [2-8] (p=0.04, KW). The following cardiovascular risk factors showed significant differences among GCK, N, and T2D: total cholesterol 172.5+35.3 vs 227.8+24.6 vs 175.2+40.2 mg/dL (p=0.026 C vs T2D and p=0.02 GCK vs C); HDL 58.7+15.7 vs 47.3+12.9 vs 44.1+9.2 mg/dL (p=0.012 GCK vs T2D); LDL 101.3+29.9 vs 149.7+33.3 vs 99.3+34.3 mg/dL (p=0.01 C vs T2D and p=0.024 GCK vs C); triglycerides 54 [48-73] vs 111 [69.75-575.75] vs 161 mg/dL [128-193] (p=0.001, KW); Conclusions: Our data suggest GCK-MODY to have a better cardiovascular risk factor profile than T2D, bearing a low long-term risk for CAD, despite having lifelong hyperglycemia. This is probably related to the small magnitude of hyperglycemia and low frequency of other classical risk factors. These data could have potential implications in the clinical management of this subtype of diabetes



Níveis de IGF-1 são inversamente associados com síndrome metabólica na apneia obstrutiva do sono Izumi  $S^1$  -  $^1$ Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

OBJETIVO: Este estudo avaliou a produção de Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) e sua associação com a síndrome metabólica (SM) em homens portadores de apneia obstrutiva do sono (AOS). MÉTODOS: No total, 47 homens com sobrepeso e obesos que tinham sido encaminhados por suspeita de AOS foram submetidos à polissonografia e classificados de acordo com o índice apneia-hipopneia (IAH) em três grupos: sem AOS, < 5 eventos/h (n=11); AOS leve, ≥ 5 a < 15 eventos/h (n=8); e AOS moderada a grave, ≥ 15 eventos/h (n=28). A avaliação funcional do eixo somatotrófico incluiu a dosagem de IGF-1. SM foi diagnosticada de acordo com as diretrizes do Programa Educacional Nacional de Colesterol. RESULTADOS: IGF-1 sérico no grupo AOS moderada a grave foi inferior ao do grupo sem AOS (156,8  $\pm$  54,3  $\mu$ g /L versus 225,5  $\pm$  80,5  $\mu$ g /L; p=0,013). IGF-1 foi negativamente correlacionado com índice de massa corporal, circunferência da cintura (CC), IAH e duração do sono com saturação de oxigênio (O<sub>2</sub>) < 90% e positivamente correlacionado com saturação média e mínima de O<sub>2</sub> (p=0,027). Em uma regressão linear múltipla, considerando CC e saturação mínima de O2 como variáveis independentes, somente a saturação mínima de O2 foi, de forma independente, associada aos níveis de IGF-1. A prevalência de pacientes com SM foi diferente entre os três grupos (18,2% no grupo sem AOS, 25% no grupo com AOS leve e 57,1% no grupo com AOS moderada a grave; p=0,047). Além disso, no grupo que apresentava menores tercis de IGF-1, 66,7% dos pacientes eram portadores de SM (p=0,049). Hemoglobina (Hb) A1c foi negativamente correlacionada com a saturação mínima de O2 e com os níveis de IGF-1. No entanto, durante regressão linear múltipla apenas IGF-1 foi independentemente associado aos níveis de HbA1c. CONCLUSÃO: A ocorrência de AOS está associado com uma redução nos níveis de IGF-1. Alterações do IGF-1 na AOS também parecem estar associadas a uma maior prevalência de SM.



#### Tratamento Racional e Escalonado da Neuropatia Diabética Dolorosa: Uma Mudança De Paradigma?

Rlim LC¹ - ¹Setor de Neuropatias e Pé Diabético do Centro de Diabetes da UNIFESP - EPM

Diabetic Neuropathy (DN) is a polymorphic disease and, in most cases, remains asymptomatic for years; because of this, it is the most underdiagnosed and undertreated chronic complication of diabetes mellitus (DM). On the other hand, about 20% of all diabetic patients present symptomatic DN, which manifests itself as chronic neuropathic pain (CNP), also known as Painful Diabetic Neuropathy (PDN). PDN and its related comorbidities (depression, anxiety, and insomnia) have high negative impact on patients' quality of life (QOL) and daily life activities (DLA).

Pharmacological treatment of chronic neuropathic pain continues to be a challenge to physicians: although there are several first and second-line drugs recommended for PDN therapy, most of them trigger adverse reactions that limit their clinical use. Therefore, both the effectiveness of treatment and individual tolerability remain major factors to be taken into consideration in any therapeutic decision.

In this critical and evidence based review, we have analyzed the main clinical studies carried out during the last five years, published in English, regarding the treatment of *chronic neuropathic* pain in *diabetic neuropathy* from the perspective of two different approaches: *a) treatment based on pain phenotype; b) treatment based on PDN comorbidities*.

Current evidence has shown that PDN treatment decisions based on pain phenotype are advantageous and more effective. However, multiple comorbidities are the rule rather than the exception in these patients, and current scientific evidence for the PDN treatment based just on comorbidities is weak and even contradictory.

In conclusion, personalized approach in the choice of first-line drug for PDN treatment, stratified by both pain phenotype and comorbidities, is desirable, rational and seems promising, in spite of current scientific evidence being incipient and its implementation in clinical practice still limited.



#### Expressão de microRNAS séricos no diabetes tipo 1 autoimune

Santos AS¹, Fukui RT², Gonfinetti NV³, Cunha-Neto E⁴, Silva MER¹ - ¹Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina - Lab Carboidratos e Radioimunoensaios-LIM18, ²Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina - Lab.Carboidratos e Radioimunoensaios-LIM18, ³Universidade de São Paulo - Hospital das Clinicas- ambulatório do diabetes, ⁴Instituto do Coração - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo-Lab. Imunologia

## INCREASED CIRCULATING LEVELS OF MIR-204 MIR-101 AND MIR-425 IN RECENT ONSET TYPE 1 DIABETES CAN BE A MARKER OF BETA-CELL DESTRUCTION AND DYSREGULATION OF INSULIN SIGNALING

Introduction: Type 1 diabetes (T1D) is an autoimmune disease characterized by genetic heterogeneity and low penetrance in familial transmission. Recently, a new mechanism of post-transcriptional regulation of genes, played by noncoding small RNA molecules of 21-25 nucleotides called microRNAs, has been implicated in many biological processes and diseases. **Methods:** We analyzed the differential expression of serum miRNAs that could be related to the immune response and beta-cell function in T1D. The expression of 384 circulating miRNAs from 8 new onset T1D patients (less than 6 months of disease), 5M/3F, who tested positive for anti-GAD65, anti-IA2 and anti-ZnT8 autoantibodies, was compared with 8 health controls, 3M/5F. T1D patients had similar age (14.7 $\pm$ 2.4 x 17, 3 $\pm$ 2.6 years; p=0, 08), but higher (p<0.05) HbA1c (8.1 $\pm$ 1.4 x 5.2 $\pm$ 0.4%) and glucose levels (140 $\pm$ 58 x 76 $\pm$ 9 mg/dL) than controls. miRNeasy Serum/Plasma kit Qiagen was used for serum RNA extraction. Real-time PCR was performed in QuantStudio 12K equipment- Applied Biosystems TaqMan Low Density Array. **Results:** Four serum miRNAs were upregulated in T1D patients: miR-101 (9,0x; p=0.03); miR-204(5.8x; p=0.01); miR-425(8.2x; p=0.02) and miR-1276 (4,0x; p=0.04). Two miRNA were down regulated in T1D patients: miR-335 (3.7x; p=0.02) and miR-1208 (2.4x; p=0.03) when compared with controls. **Discussion**: The increased expression of miR-101 and miR-1276, associated with inflammation, and miR-204, present exclusively in  $\beta$  cells, probably mirror the pathological process and the injury of  $\beta$  cells. The miR-425 is associated with hyperglycemia and changes in insulin action, both linked to T1D. By the other side, miR-335, which controls the insulin exocytosis in  $\beta$  cell was less expressed in the patients, suggesting its interference in insulin secretion.

We conclude that circulating miRNAs can function as biomarkers for T1D physiopathology, mirroring destruction and altered metabolism.

#### Acknowledgment

Ambulatório de Diabetes do Hospital das Clinicas da Universidade de São Paulo Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaios — I IM 18

Laboratório de Imunologia do Instituto do Coração

Financial support: FAPESP

Reference:

Noble JA, Valdes AM. Curr Diab Rep.11:533-42 2011.

Bartel DP. Cell 116:281-297.2004.

Tang G. Trends Biochem Sci. 30:106-14. 2005.



#### Influência da perda de peso induzida por cirurgia bariátrica sobre a resposta imune em pacientes obesos

Pisi PCB¹, Suen VMM¹, Ferracioli MHV², Ferreira MAN¹, Foss-Freitas MC¹ - ¹FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP, ²Hospital São Lucas de Ribeirão Preto

Introdução: Diversos autores indicam a relação entre obesidade e o desenvolvimento de um estado inflamatório crônico. O presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da adiposidade e da perda de peso induzida pela cirurgia bariátrica sobre a atividade imunológica, através de cultura primária de células mononucleares de sangue periférico de pacientes obesos (IMC ≥ 40 kg/m²) antes e após a realização da cirurgia bariátrica. Material e Método: selecionados 20 pacientes obesos, com idade entre 28 e 56 anos de idade, homens e mulheres, portadores de obesidade grau III (IMC ≥ 40 kg/m²) prestes a serem submetidos a cirurgia bariátrica. Foram coletadas amostras de sangue antes e após a cirurgia, para separação de células mononucleares pelo gradiente de Ficoll-HyPaque. As células foram estimuladas por LPS e Con-A e o sobrenadante coletado para dosagem de citocinas (IL-1β, IL-6, TNF-α, IFN-2, IL-10 e IL17) por teste ELISA. Coletado sangue periférico de 10 indivíduos controles com peso adequado para altura (IMC < 25 kg/m²). Resultado: grupo obeso composto por 3 homens e 17 mulheres, com idade média de 37,65 anos (DP 8,48), IMC pré cirúrgico médio 45,24 kg/m² (DP 4,85), perda de peso média após 6 meses de cirurgia de 23,26% (DP 6,92) e após 1 ano de 28,64% (DP 7,02). Grupo controle composto por 3 homens e 7 mulheres, com idade média de 38,8 anos (DP 8,29), e IMC médio 22,74 kg/m² (DP 1,46). Utilizado Teste de Mann-Whitney e adotado nível de significância p < 0,05. A produção de citocinas por células mononucleares foi comparada a partir do grupo controle, com o grupo obeso antes da cirurgia, 6 meses após a cirurgia e 1 ano após cirurgia. Houve diferença significativa na produção de IL-6, TNF-α, IL-1β e IL-10 (maior no grupo com obesidade e redução no pós operatório). A resposta a estímulos (monócitos estimulados por LPS e linfócitos estimulados por ConA) também foi comparada partindo do grupo controle com o grupo estudado. Houve diferença significativa na resposta imune observada na produção de IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-10, que foi maior no grupo com obesidade. **Discussão:** A produção de citocinas, bem como a resposta a estímulos das células mononucleares estudadas, evidenciou diferenças significativas principalmente no funcionamento dos monócitos do grupo obeso em relação ao grupo controle. Nossos resultados sugerem que os monócitos sofrerem influência da perda de peso precocemente, durante o primeiro ano de tratamento cirúrgico para obesidade



#### Efeitos dos produtos finais de glicação avançada sobre o tecido hepático

Fabre NT, Thieme K<sup>1</sup>, SILVA K S<sup>2</sup>, Catanozi S<sup>2</sup>, Pinto-Junior DC<sup>3</sup>, Okamoto MM<sup>3</sup>, Morais MRPT<sup>3</sup>, Zorn TM<sup>3</sup>, Machado UF<sup>3</sup>, Passarelli M<sup>2</sup>, Corrêa-Giannella ML<sup>1</sup> - <sup>1</sup>FMUSP - LIM 25, <sup>2</sup>FMUSP - LIM 10, <sup>3</sup>ICB USP

INTRODUÇÃO: os produtos de glicação avançada (AGEs) são um grupo diversificado de compostos formados a partir da interação não enzimática entre açúcares redutores e o grupo amino livre das proteínas, lípidos e ácidos nucleicos. Apesar de vários estudos terem avaliado os AGEs como potencial causador de lesão hepática, há poucos estudos abordando os efeitos destes compostos sobre o metabolismo hepático, o que foi objeto do presente estudo. MÉTODOS: ratos da linhagem Wistar receberam, durante 12 semanas, 20 mg/kg de peso de albumina de rato modificada (AlbAGE) ou não por glicação avançada, ambas administradas por via intraperitoneal. Foram avaliadas: (1) variáveis associadas à homeostase da glicose e sensibilidade à insulina (por teste de tolerância oral à insulina); (2) expressão hepática de genes envolvidos no metabolismo dos AGEs, da glicose e de lípides, estresse oxidativo e inflamação; (3) status de ativação das proteínas envolvidas na sinalização insulínica e (4) morfologia hepática e conteúdo de glicogênio. RESULTADOS: a administração crônica de AlbAGE não alterou as concentrações de alanina e aspartato aminotransferases, mas induziu resistência periférica à insulina. Os demais resultados, no entanto, sugerem um aumento na sensibilidade à insulina no território hepático, quais sejam: ativação da proteína AKT, inativação da GSK3β, aumento do conteúdo de glicogênio hepático e diminuição da expressão dos genes da gliconeogênese Pck1 e G6pc. Também observou-se uma diminuição no conteúdo de gordura hepática e na expressão dos seguintes genes: Acaca e Fasn (lipogênicos), Nfkb, Tnf, Il6 (próinflamatórios) e Txnip (pró-oxidante). DISCUSSÃO: apesar da administração crônica dos AGEs induzir resistência à insulina, os dados observados no fígado sugerem um aumento da sensibilidade à insulina no território hepático. Os mecanismos que podem explicar a melhora concomitante da sensibilidade à insulina e do perfil inflamatório hepático após a exposição crônica aos AGEs não são claros, mas incluem a inativação da GSK3, que está associada não somente a efeitos metabólicos, mas também a efeitos anti-inflamatórios.

AGRADECIMENTOS: Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) para Nelly Takashima Fabre (2013/00713-7), Karina Thieme (2014/17251-9) e Ubiratan Fabres Machado (2012/04831-1).



## As Concentrações Plasmáticas Da Proteína FAM3D Estão Mais Elevadas Em Portadores De Diabetes Mellitus De Tipo 2 Tratados Com Sulfoniluréia.

Neves JAJ<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP

Na pesquisa por novas citocinas foi descoberta uma subfamília de proteínas semelhantes às citocinas conhecidas como *Family with Sequence Similarity 3 (FAM3)*, do qual faz parte o *FAM3D*, que é predominantemente expresso no trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis. As concentrações plasmáticas de *FAM3D* variam de acordo com o estado nutricional apresentando uma elevação pós-prandial e uma redução no período pós-absortivo tardio. Aventa-se a hipótese de que o *FAM3D* seria um inibidor da secreção insulínica, já que foi observada sua elevação expressiva em tumores de pacientes com adenocarcinoma de pâncreas associado ao Diabetes Mellitus (DM).

Nosso objetivo foi o de determinar quantitativamente a concentração plasmática do *FAM3D*, pelo método de ELISA, em grupo de indivíduos portadores de DM2 e compará-las com as de indivíduos com Pré-DM2 (PDM2) e Controle (CTRL) não portadores de DM. Foram pareados de acordo com gênero, idade e índice de massa corpórea a fim de elucidar melhor a ação do *FAM3D* bem como sua relação fisiopatológica com o DM2.

Selecionamos 90 pacientes, que, após a realização dos exames, 17 foram excluídos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. A distribuição entre os grupos por gênero ficou desta forma: DM2 com mais de 5 anos do diagnóstico, sem uso de Insulina e sem complicações ou outras doenças grave — 15 masculinos e 14 femininos; PDM2 — 13 masculinos e 15 femininos e grupo controle — 7 masculinos e 9 femininos, totalizando 73 pacientes.

Todos foram submetidos à mensuração das medidas antropométricas e exames bioquímicos mais o cálculo do HOMA-IR e a determinação da concentração plasmática do *FAM3D* pelo método de ELISA. Foram utilizadas as provas de Kruskal-Wallis, na comparação dos grupos de estudo, e o coeficiente de regressão ② de Spearman foi calculado nas análises de correlação entre as concentrações plasmáticas de *FAM3D* e outras variáveis antropométricas ou bioquímicas. Os cálculos estatísticos foram realizados pelo programa JMP (SAS Campus Drive. Building T. Cary, USA). O nível de significância estatística foi fixado em p<0,05. Entres os grupos não houve diferença significante da concentração do *FAM3D*, sendo a Mediana ± Q para o grupo CTRL (24,92 ng/mL ± 9,11); PDM2 (14,65 ng/mL ± 6,02) e DM2 (19,87 ng/mL ± 5,39).

A concentração plasmática do FAM3D foi mais alta nos pacientes com DM2 em uso de Sulfoniluréia (p=0,0001). O grupo de pacientes DM2 sob sulfoniluréia (23,42 ng/mL  $\pm$  6,1) apresentou valores maiores em comparação ao grupo tratado com outros Antidiabéticos orais (ADOS) (14,9 ng/mL  $\pm$  7,30), p<0,05.

Descritores: Diabetes mellitus; FAM3D; Expressão gênica.



#### Gliose hipotalâmica em crianças e adolescentes obesos

Sewaybricker LE<sup>1,2</sup>, Schur EA<sup>3</sup>, Melhorn SJ<sup>3</sup>, Campos BM<sup>4</sup>, Cendes F<sup>4</sup>, Velloso LA<sup>2</sup>, Guerra-Junior G<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil, <sup>2</sup>Laboratório de Sinalização Celular, Departamento de Medicina Interna, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil, <sup>3</sup>Department of Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, USA, <sup>4</sup>Laboratório de Neuroimagem, Departamento de Neurologia, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil

Introdução: A obesidade vem se mostrando uma doença persistente e com altas taxas de recorrência mesmo após tratamento com as propostas atualmente existentes. Essa situação sugere a existência de uma alteração no sistema nervoso central e de seu controle exercido sobre a homeostase energética. Pesquisas recentes sugerem que a inflamação hipotalâmica pode ter um papel importante na patogênese da obesidade. Essa reação inflamatória, histologicamente caracterizada como gliose, pode ser detectada através de ressonância magnética (RM) e foi descrita até o momento somente em adultos e modelos animais. Objetivo: Avaliar a presença de gliose hipotalâmica em crianças e adolescentes obesos utilizando RM quantitativa. Métodos: Onze crianças e adolescentes obesos e 9 controles realizaram exames séricos hormonais e de marcadores inflamatórios em jejum, composição corporal por DXA e RM para medida do tempo de relaxamento T2 utilizando-se uma sequência multi-echo. Resultados: A idade média dos participantes foi de 13,4±2,4 anos. Crianças obesas tiveram maior média de z-score de IMC  $(2,1\pm0,3 \text{ vs} -0,3\pm0,9, \text{P}<0,001)$ , de níveis de leptina  $(33,4\pm15,4 \text{ vs} 4,9\pm5,6 \text{ pg/mL}, \text{P}<0,001)$  e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ :  $2,0\pm0,7$  vs  $1,2\pm0,6$  pg/mL, P=0,02; IL-6:  $2,9\pm1,7$  vs  $1,0\pm0,5$  pg/mL, P=0,004) e menores níveis de adiponectina  $(4,4\pm1,7)$  vs  $6,8\pm1,5$ ng/mL, P=0,005). Os grupos não diferiram com relação à média de idade (P=0,41) e proporções de sexo e estadio puberal (chi<sup>2</sup>=0,20, P=0,66; chi<sup>2</sup>=0,80, P=0,37, respectivamente) ou na média dos níveis de insulina (obeso 6,2±3,1 vs controle 6,4±1,6 mcU/mL, P=0,35). Indivíduos obesos apresentaram tempo de relaxamento T2 mais longo no núcleo médio basal do hipotálamo (MBH) quando comparado ao grupo controle (105,9±4,2 vs 99,5±4,3 ms), achado radiológico consistente com gliose. Em adição, houve uma interação altamente significativa grupo\*região (P=0,0016), demonstrando que sinais de gliose eram específicos ao MBH quando comparado com outras regiões controle no cérebro. Tempos de relaxamento T2 mais longos foram correlacionados com maior porcentagem de gordura visceral corporal (R<sup>2</sup>=0,35, P=0,01) e porcentagem de gordura andróide (R<sup>2</sup>=0,46, P=0,003), mas não com níveis de insulina de jejum (R<sup>2</sup>=0,02, P=0,6).

**Conclusão:** Crianças obesas possuem sinais de gliose hipotalâmica que, quando presente, é associada com a distribuição de gordura corporal relacionada com maior risco metabólico. A presença de gliose no MBH na população pediátrica aponta para o importante papel que a inflamação hipotalâmica pode ter na obesidade infantil e em anteceder o desenvolvimento da resistência insulínica.



## EFEITOS DA RESTRIÇÃO DO CRESCIMENTO INTRAUTERINO SOBRE O PROTEOMA E O METABOLOMA DO HIPOTÁLAMO DE RATOS MACHOS ADULTOS

Pedroso AP<sup>1</sup>, Souza AP<sup>1</sup>, Dornellas APS<sup>1</sup>, Oyama LM<sup>1</sup>, Nascimento CMPO<sup>1</sup>, Rosa JC<sup>2</sup>, Bertolla RP<sup>1</sup>, Tashima AK<sup>1</sup>, Ribeiro EB<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Unifesp - São Paulo, <sup>2</sup>Usp - Ribeirão Preto

Introdução: Evidências epidemiológicas e experimentais têm indicado que a existência de condições desfavoráveis durante a gestação poderia alterar permanentemente a estrutura e função de órgãos e tecidos do feto, ?programando metabolicamente? os indivíduos para doenças na idade adulta. Baixo peso ao nascer, desencadeado por disfunção placentária ou restrição alimentar intrauterina, tem sido associado à obesidade na vida adulta, havendo provavelmente envolvimento de alterações na estrutura e função do hipotálamo, região cerebral que tem papel-chave na regulação da homeostase energética. No presente estudo, investigamos os efeitos da restrição do crescimento intrauterino (IUGR) sobre o proteoma e o metaboloma do hipotálamo de ratos adultos. Métodos: Ratas Wistar grávidas foram separadas em dois grupos: Controle (C), alimentado ad libitum, e Restrito (R), que recebeu 50% da quantidade de ração consumida pelo grupo C, durante toda a gestação. Os filhotes machos receberam dieta ad libitum do desmame até os 4 meses de idade. Proteínas e metabólitos do hipotálamo foram separados por UPLC e HPLC, respectivamente, e analisados por espectrometria de massas. A análise dos efeitos da IUGR foi feita por teste ?t? de Student para dados independentes (p < 0,05). Os metabólitos e proteínas significantemente alterados pela IUGR foram analisados conjuntamente pelo software MetaboAnalyst para determinação das vias metabólicas provavelmente afetadas pelo tratamento. Resultados: Os animais R apresentaram baixo peso ao nascer. Na idade adulta, a ingestão de alimentos e a massa corporal foram semelhantes entre os grupos, mas os ratos R apresentaram maior massa dos depósitos de gordura. O índice HOMA-IR dos animais R mostrou elevação (69%) não significante (p = 0.06). A IUGR alterou significantemente a expressão de 56 proteínas e o nível de 14 metabólitos do hipotálamo. As enzimas amina oxidase B, 4-trimetilaminobutiraldeído desidrogenase e hexoquinase-2 foram identificadas apenas no grupo C, indicando ausência ou muito baixa expressão no hipotálamo do grupo R. A enzima diidrolipoil desidrogenase mostrou redução de 16% no grupo R. Entretanto, houve elevação significante da expressão de 2-oxoglutarato desidrogenase (26%) e alcool desidrogenase (44%) no mesmo grupo. Dentre os metabólitos, houve redução dos níveis de creatina (15%), malato (13%) e glutamato (9%) no grupo R. A análise conjunta de vias indicou que estas alterações poderiam levar a variações do metabolismo de aminoácidos (histidina, arginina, prolina, glicina, serina, treonina, fenilalanina e triptofano). Além disso, houve indicação de alteração significante do metabolismo de piruvato, da via glicolítica e do ciclo do ácido cítrico. Observamos, ainda, maior expressão de glutationa S-transferase omega 1 (64%) no grupo R bem como presença de glutationa redutase e glutationa sintetase apenas neste grupo, o que, em conjunto com a menor quantidade de glutamato (9%), foi relacionado a modificação do metabolismo de glutationa. Discussão: Os resultados sugerem que a IURG causou alterações no hipotálamo do animal adulto, com indicações de desequilíbrio redox, alteração do metabolismo de diversos aminoácidos e prejuízo do ciclo do ácido cítrico. Financiamento: FAPESP, CNPq, Capes.



#### Eventos precoces da vida e composição corporal de adultos jovens no Nutritionists' Health Study

Valente AMM<sup>1</sup>, Almeida-Pititto B<sup>2</sup>, Folchetti LGD<sup>1</sup>, Silva IT<sup>1</sup>, Luthold RV<sup>1</sup>, Ferreira SRG<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo; Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

**INTRODUÇÃO:** Indivíduos que atingem picos de massa muscular mais baixos na fase jovem têm maior probabilidade de apresentar sarcopenia, fragilidade e incapacidade à medida que a idade avança. Determinantes de sarcopenia têm sido mais comumente investigados na fase adulta, embora fatores mais precoces influenciem o pico de massa e força muscular, afetando o ritmo de perda ao longo da vida. É relevante identificar se as medidas antropométricas expressam bem a quantidade e a qualidade da massa muscular.

**OBJETIVO:** Avaliar o compartimento muscular (estrutura e função) por métodos acurados e sua correlação com medidas antropométricas, em adultos jovens saudáveis, participantes do *Nutritionists' Health Study (NutriHS)*.

MÉTODOS: Avaliamos 84 alunos de nutrição ou nutricionistas saudáveis do *NutriHS* (20-40 anos) que foram submetidos a medidas antropométricas (peso, estatura, IMC e circunferências de coxa e panturrilha), testes de força de preensão palmar (dinamômetro manual Jamar®) e de função/explosão muscular (levantar-se e sentar-se na cadeira, 5 repetições) e coleta sanguínea (glicemia de jejum, colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol e triglicérides). Na composição corporal, realizada por um único investigador, no mesmo equipamento (iDXA-GE Lunar®), as variáveis de interesse foram as massas magras de membros superiores e inferiores, cuja soma determina a massa magra apendicular. Realizou-se, então, o cálculo do índice de massa magra apendicular (IMMA: massa magra apendicular/altura²). Testes paramétricos (*t* de Student e correlação de Pearson) ou não-paramétricos (Mann-Whitney e correlação de Spearman) foram empregados dependendo da distribuição da variável. Considerou-se significante p<0,05. (*SPSS*° 16.0).

RESULTADOS: A média de idade da amostra (88,1% mulheres) foi de 25,2±4,4 anos. Os valores antropométricos médios observados foram: IMC (23±4,1kg/m²), circunferência de coxa (42,8±16,6cm) e circunferência de panturrilha (35,9±2,9cm). A força de preensão palmar (25,9±8,1kg) e teste de levantar-se e sentar-se na cadeira (10,1±1,9segundos) foram normais e IMMA foi de 6,5±1,5 kg/m². À DXA, o IMMA correlacionou-se fortemente ao IMC (0,633; p<0,001) e à circunferência da panturrilha (0,616, p<0,001) e de forma moderada à circunferência da coxa (0,422; p<0,001) e à força muscular (0,559, p<0,001). Detectou-se correlação inversa entre força muscular e o tempo de explosão muscular (-0,313, p=0,004), ou seja, quanto maior a força muscular menor o tempo utilizado para completar o teste de levantar-se e sentar-se na cadeira, melhor o desempenho muscular. A glicemia de jejum e perfil lipídico apresentaram-se normais.

**CONCLUSÃO:** A boa correlação do IMMA com medidas antropométricas indica que a utilização da circunferência da panturrilha pode ser de utilidade na prática clínica para avaliação da massa muscular de jovens. O delineamento longitudinal do *NutriHS* permitirá um maior entendimento do compartimento muscular de indivíduos jovens, possibilitando investigar fatores etiológicos que possam ser prevenidos em fase jovem da vida.



## MODULAÇÃO NA HOMEOSTASE GLICÊMICA E *CLEARANCE* DE INSULINA MEDIADA PELO SISTEMA NERVOSO PARASSIMPÁTICO EM CAMUNDONGOS DESNUTRIDOS SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA

Lubaczeuski C<sup>1</sup>, Gonçalvez LM<sup>1</sup>, Vettorazzi JF<sup>1</sup>, Santos-Silva JC<sup>1</sup>, Bonfleur ML<sup>2</sup>, Carneiro EM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) - Instituto de Biologia (IB), <sup>2</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) - Centro de Ciência Biológicas e da Saúde (CCBS)

A desnutrição proteica aumenta o risco de desenvolvimento de doenças crônicas, como obesidade e diabetes tipo 2. Estudos sugerem que o sistema nervoso parassimpático (SNP) pode ter participação neste processo. Sendo assim, avaliamos a contribuição do SNP no desenvolvimento da obesidade e na homeostase glicêmica em camundongos alimentados com dieta hipoproteica e posteriormente com dieta hiperlipídica (HFD). Aos 30 dias de vida, camundongos C57Bl/6 foram submetidos a dieta hipoproteica (6% de proteína – grupo R). Após 4 semanas, o grupo R foi dividido em R, RH que começou receber HFD e RHvag que foi submetido à vagotomia e também passou a receber HFD. Foram avaliados os parâmetros corporais, tolerância à glicose, secreção e sensibilidade à insulina e expressão da enzima degradadora de insulina (IDE). O grupo RH apresento u aumento do peso corporal e de depósitos de gordura, hiperglicemia, intolerância à glicose e resistência à insulina comparado ao grupo R. Além disso a fosforilação da Akt (pAkt) foi menor no músculo gastrocnêmico, fígado e tecido adiposo nos animais RH enquanto que a secreção de insulina induzida pela glicose foi maior comparado com os camundongos R. A vagotomia não alterou o peso corporal, acúmulo de gordura e a resistência à insulina observado pelo KITT e pAkt, entretanto melhorou a tolerância à glicose. Os animais RHvag apresentaram redução na secreção de insulina em resposta à altas doses de glicose, mas apresentaram alta insulinemia 15 minutos após a carga de glicose. A expressão de IDE no fígado foi maior nos animais RH comparado aos R e a vagotomia normalizou a expressão dessa proteína nos animais RHvag. Concluímos, que a vagotomia em animais com desnutrição proteica expostos a HFD melhora a homesotase glicêmica. O SNP pode estar modulando a expressão da IDE reduzindo o clearance da insulina para manter a glicemia reduzindo a depuração no plasma.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/IB/Unicamp, protocolo 3379-1) Suporte: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp).



#### 25(OH) VITAMINA D E SUA ASSOCIAÇÃO COM INTOLERÂNCIA À NA POPULAÇÃO INDÍGENA XAVANTE

Abrahao GCP<sup>1</sup>, Kuhn PC, Santos MC, Vieira Filho JPB<sup>1</sup>, Franco LJ<sup>2</sup>, Moises RS<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil. - Disciplina de Endocrinologia., <sup>2</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. - Departamento de Medicina Social

Introdução: O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é um problema de saúde pública atingindo proporções epidêmicas, com alguns grupos étnicos apresentando maior susceptibilidade à doença. A população Xavante, uma das etnias indígenas mais populosas do Brasil, apresenta alta prevalência de DM2. Predisposição genética, maior idade, sedentarismo e obesidade são fatores de risco bem estabelecidos para esta condição. Estudos anteriores indicam que baixos níveis de vitamina D conferem um risco aumentado para DM2, porém essa relação em diferentes grupos étnicos não é bem conhecida. Objetivo: O objetivo do estudo foi avaliar as concentrações séricas de 25(OH)D e sua associação com anormalidades na tolerância à glicose entre os índios Xavante. Materiais e Métodos: Foram avaliados 819 Xavante não miscigenados (409 homens, 410 mulheres, idade 42±19 anos) que residem nas reservas de Sangradouro e São Marcos, Mato Grosso. Excluídos gestantes e menores de 18 anos. Glicemia capilar de jejum e 2h pós sobrecarga de 75g foram avaliadas e os indivíduos foram classificados como diabéticos (DM) se em uso de agentes antidiabéticos ou glicemia de jejum ou 2h ≥ 200mg/dl; tolerância à glicose diminuída (TGD) se glicemia 2h entre 140-199mg/dl e tolerância à glicose normal (TGN) se glicemia 2h < 140mg/dl. As concentrações de 25(OH)D foram determinadas em amostras de sangue através de ensaio quimioluminescente. O status da vitamina D foi definido como suficiente (25(OH)D ≥ 30ng/ml), insuficiente (25(OH)D 20-30ng/ml) ou deficiente (25(OH)D < 20ng/ml). Resultados: Na população estudada, 353 (43,1%) indivíduos apresentaram TGN, 235 (28,7%) TGD e 231 (28,2%) DM. Em relação ao status da vitamina D, 227 indivíduos (27,7%) apresentaram deficiência e 310 (37,9%) insuficiência. Verificou-se diferença estatisticamente significante entre o grau de tolerância à glicose e os níveis de 25(OH)D: TGN: 32,8±12,1ng/ml; TGD: 21,1±7,0ng/ml e DM: 26,9±11,1ng/ml (p<0,001). Através de regressão logística múltipla ajustada para sexo, estação do ano, idade e índice de massa corpórea, observou-se uma associação entre os níveis de 25(OH)D e DM (OR: 0,97; p=0,002) ou TGD (OR: 0,85; p<0,001). Conclusão: Verificamos uma alta prevalência de hipovitaminose D (65,6%) e uma associação inversa entre níveis de 25(OH)D e DM ou TGD na população indígena Xavante. Estudos futuros são necessários para determinar os benefícios da suplementação de vitamina D nesse grupo de alto risco para intolerância a glicose.



Relação entre memória metabólica, variabilidade glicêmica, estresse oxidativo e microalbuminúria em diabetes tipo 1 Valente T¹, Valente F¹, Lucchesi MBB¹, Bittencourt CS¹, Punaro GR², Gabbay MAL¹, Higa EMS², Dib SA¹ - ¹UNIFESP - Centro de Diabetes, ²UNIFESP - Nefrologia

THE INTERRELATIONSHIP BETWEEN METABOLIC MEMORY, GLYCEMIC VARIABILITY, OXIDATIVE STRESS AND ALBUMINURIA IN TYPE 1 DIABETES

Introduction: Several studies have discussed the role of metabolic memory (MM) and glycemic variability (GV) in the development of chronic diabetes complications (CDC), possibly by triggering oxidative stress (OS). However, the results are conflicting and there are few studies in type 1 diabetes (T1D) patients. Aims: It was to investigate the relationship between metabolic memory, glycemic variability, oxidative stress and microalbuminuria (MA) in T1D. Patients and Methods: 76 T1D without clinical CDC and 22 healthy individuals were studied. MM was evaluated by two ways: first by the mean of the glycated hemoglobin (HbA1c) of the last year (HLY) and second by mean of HbA1c of the last three years (H3Y). GV was also evaluates by two ways: first by the standard deviation (SD) of the glucose from the continuous glucose monitoring system (CGMS-SD) over 3 consecutive days and second by the SD of capilar glucose from the last 3 months on Accu Chek 360® diabetes management system (3MSD). OS biomarkers (OSB) were estimated from 8 hours overnight urinary excretion rates of 8-isoprostaglandin-F2α (ELISA, ALPCO-US), from plasma nitric oxide (NO) by chemiluminescence; plasma thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and erythrocytes reduced/oxidized glutathione (GSH/GSSH) by colorimetric assay (EnzyChrom GSH/GSSH Assay- EGTT-100). HbA1c by HPLC, MA and reactive C protein (PCR) by imunoturbidimetric assay, lipid profile by colorimetric assays, ferritin by electrochemiluminescence. Results: The T1D were aged 23.6 ± 6.8 years, disease duration was 13 ± 6 years, HbA1c 8.7 ± 1.6%, BMI  $23.8 \pm 3.6 \text{ Kg/m}^2$ , insulin dose  $0.83 \pm 0.28 \text{ U/Kg/day}$ , T-Col:  $164.4 \pm 40.6 \text{ mg/dl}$ , TG:  $103.3 \pm 97.3 \text{ mg/dl}$ , HDL-c:  $44.5 \pm 11.4 \pm 40.6 \text{ mg/dl}$ , TG:  $103.3 \pm 97.3 \text{ mg/dl}$ , HDL-c:  $103.3 \pm 97.3 \text{ mg/dl}$ mg/dl, LDL-c 100.3 ± 32.3 mg/dl, PCR 4.99 ± 2.15mg/dl, ferritin 112.1 ± 100.9 mg/L, albuminuria 14.59 ± 34.57 mg/L [±mean ± SD], without clinical CDC. The controls were aged  $25.8 \pm 3.9$  years, HbA1c  $5.4 \pm 0.3\%$ , BMI  $22.1 \pm 2.8$  Kg/m<sup>2</sup>, T-Col:  $167.8 \pm 29.9$  mg/dl, TG:  $86.7 \pm 43.8 \text{ mg/dl}$ , HDL-c  $47.4 \pm 13.8 \text{ mg/dl}$ , LDL-c  $103 \pm 27.2 \text{ mg/dl}$ , PCR  $3.91 \pm 2.72 \text{ mg/dl}$ , ferritin  $104.9 \pm 108.1 \text{ and}$ albuminuria 4.37 ± 4.40 mg/L. In the T1D group there was a positive correlation between the HLY and CGMS-SD (rS: 0.361; p:0.001), NO (rS: 0.278; p: 0.042) and TG (rS: 0.361;p:0.001). H3Y showed positive correlation with CGMS-SD (rS: 0.295; p: 0.010), T-Col (rS: 0.274; p: 0.018), LDL-c (rS: 0.299; p: 0.018) and TG (rS: 0.279; p: 0.016). The correlation of both HLY and H3Y with age was inverse (rS: - 0.227; p: 0.050 and rS: -0.266; p: 0.021, respectively). CGMS-SD showed positive correlation with 3MSD (rS: 0.361; p: 0.003), T-Col (rS: 0.227; p:0.05), TG (rS: 0.241; p:0.03) and inverse correlation with age (rS:-0.239, p: 0.037). 3MSD showed positive correlation with NO (rS: 0.283; p: 0.036), BMI (rS: 0.25; p:0.047) and TG (rS:0.284; p:0.024). Both LDL-c and TG were inversely correlated with GSH/GSSH (rS: -0.417; p: 0.047 and rS: -0.521; p: 0.013, respectively). The MA had a significant association with NO (rs:0.267;p:0.049), TBARS (rs:0.327;p:0.015) and age (rs:0.340; p:0.002). Conclusion: NO is higher in young adult with T1D. In these individuals the OSB have a heterogeneous relation with MM, GV and MA in T1D. NO was related with HLY but with GV of the last three months besides with the endothelial dysfunction. So this study shows the multifactorial origin of OS and the importance of decrease GV besides the HbA1c in the T1D.

## PÔSTERES



## IMPACTO DO MODELO INTEGRADO DE ATENÇÃO PRIMÁRIA E ENFERMEIRA NAVEGADORA APOIADO POR TECNOLOGIAS DE INFORMAÇÃO NO CONTROLE GLICÊMICO

Avansi AF<sup>1</sup>, Ribeiro RS<sup>1</sup>, Daher G<sup>1</sup>, Barbosa RGV<sup>1</sup>, Macedo AISM<sup>1</sup>, Mattos GD<sup>1</sup>, Júnior MSA<sup>2</sup>, Alves DO<sup>1</sup>, Pollettini JT<sup>2</sup> - <sup>1</sup>Hospital Israelita Albert Einstein, <sup>2</sup>Kidopi

Introdução: A maioria dos pacientes diabéticos é assistida por diferentes profissionais de forma descoordenada e 25% destes tem a doença controlada. Neste estudo piloto, avaliamos o impacto no controle glicêmico de uma equipe composta por um médico de saúde da família e uma equipe multidisciplinar coordenada por uma enfermeira navegadora, utilizando protocolos e um aplicativo de telefone celular para educação e monitoramento. Objetivo primário: Avaliar a evolução da A1c antes e 3 meses após o início do seguimento. Objetivo secundário: Avaliar a usabilidade do aplicativo.

Métodos: Foram selecionados diabéticos com A1c acima de 7% para avaliação e seguimento com médico e equipe por 3 meses, através de consultas presenciais e intervenções a distância.

Resultados e Discussão: Foram incluídos 13 diabéticos (8 homens) com hemoglobina glicada acima de 7%, incluindo 5 diabéticos tipo 1, 5 tipo 2 em uso de hipoglicemiantes oral e 3 tipo 2 em uso de insulina. A idade média foi 38 anos (range: 25-37 anos), o tempo médio de diagnóstico foi de 6,3 anos (1 mês a 26 anos). No momento, 9 concluíram o período de intervenção. Até novembro de 2016, planejamos a inclusão de 60 pacientes para conclusão do estudo. Em relação ao controle glicêmico, a A1c média variou de 8,8% (7,3-11,8%) antes da intervenção para 7,9% (6,5-10,7%) após 3 meses de intervenção. Houve redução da A1c em 10 pacientes. Entre todos, os 2 pacientes com antecedentes de hipoglicemia apresentaram redução da incidência de 8 e 6 episódios por semana no primeiro mês para 2 e 3 episódios por semana no terceiro mês, respectivamente. Foram realizadas 27 consultas presenciais com médico, 54 consultas presenciais com a enfermeira navegadora,108 contatos a distância e 2814 interações com o aplicativo sem intervenção humana. A proporção de pacientes satisfeitos com o aplicativo foi de 100%. Conclusão: Os resultados iniciais indicam uma melhora do controle glicêmico e uma usabilidade adequada do aplicativo, a ser confirmada após a conclusão do estudo.



#### Associação de adipocitocinas e função cognitiva em adultos do ELSA-SP.

Cezaretto A<sup>1</sup>, Almeida-Pititto B<sup>1</sup>, Suemoto CK<sup>2</sup>, Bensenor IM<sup>3</sup>, Lotufo PA<sup>3</sup>, Ferreira SRG<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Saúde Pública, USP - Departamento de Epidemiologia, <sup>2</sup>Faculdade de Medicina, USP - Disciplina de Geriatria, <sup>3</sup>Faculdade de Medicina, USP

**Introdução:** Doenças neuro-degenerativas e cardiometabólicas levam a incapacidades e mortalidade precoce e, quando associadas, pioram o prognóstico. Há evidências de que adipocitocinas e resistência à insulina participem de mecanismos fisiopatológicos envolvidos nessa associação. É possível que a detecção destes marcadores auxilie na identificação precoce de demências numa fase pré-clínica.

**Objetivo:** Testar a associação do desempenho em testes cognitivos e adipocitocinas em adultos, participantes do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA- SP)

**Métodos:** Foram incluidos 938 indivíduos entre 35-55 anos de ambos os sexos, sem diabetes ou doença cardiovascular instaladas, que participaram da 1ª fase do ELSA-SP. A função cognitiva foi avaliada pelos seguintes testes: (1) memória de palavras do *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease*, (2) fluência semântica fonêmica, (3) teste de trilhas B. A resistência à insulina foi avaliada pelo HOMA-IR. Análise de regressão linear simples foi empregada para testar associações de cada domínio cognitivo com variáveis antropométricas, metabólicas, HOMA-IR e com adipocitocinas (TNF-α, IL-6, selectina E e adiponectina). Regressão linear múltipla foi usada para verificar associação de domínios cognitivos com as variáveis de principal interesse, ajustadas para variáveis de confundimento (idade, sexo, escolaridade, depressão, disfunção da tireóide, pressão arterial, IMC, glicemia), inclusive relacionadas a estilo de vida (atividade física, tabagismo e álcool).

**Resultados:** A média de idade da amostra (55% mulheres) foi de  $49\pm5.7$  anos e 43% tinham nível superior. Em análise univariada houve associações de memória de evocação com adiponectina ( $\beta$  = 0.084; IC95%: 0.03;0.26; p = 0.022). Em regressão linear múltipla níveis de adiponectina ( $\beta$  = 0.080; IC95%: 0.004;0.228; p = 0.042) se associaram positivamente com escore de memória de evocação, independente de idade, sexo, IMC, resistência à insulina, escolaridade e estilo de vida. Nenhuma associação foi encontrada entre as demais adipocitocinas e domínios cognitivos.

**Discussão:** O encontro de associação entre memória e adiponectina é coerente com prévias evidências de papel neuroprotetor desta adipocitocina. É possível que sua determinação sanguínea possa facilitar a identificação precoce de demência, o que possibilitaria estratégias de prevenção em indivíduos mais jovens. Estudos prospectivos são necessários para investigar esta hipótese.

Agradecimentos: CAPES-PNPD



The consumption of dietary fats promotes early functional and structural changes in the medium eminence blood-brain barrier - The protective role for BDNF

Ramalho AFS<sup>1</sup>, Bombassaro B<sup>1</sup>, Dragano NRV<sup>1</sup>, Morari J<sup>1</sup>, Fioravante M<sup>1</sup>, Velloso LA<sup>1</sup>, Araujo EP<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Unicamp - FCM/Labsincel

The consumption of large amounts of dietary fats activates an inflammatory response in the hypothalamus damaging key neurons involved in the regulation of caloric intake and energy expenditure. It is currently unknown the reason why the medium-basal hypothalamus is the main target for diet-induced brain inflammation. Swiss male mice (6wk old) were fed for 1, 2 or 4 weeks with chow or high fat diet to evaluated if the medium eminence blood brain barrier is particularly sensitive to dietary fats. We show that as early as one week exposure to large amounts of dietary fats is sufficient to increase the expression of inflammatory cytokines and brain-derived neurotrophic factor in the medium eminence, preceding changes in other circumventricular blood-brain barrier regions. The consumption of dietary fats leads to an early loss of the structural organization of 11-tanycytes nearby the interface between the medium eminence and the medium-basal hypothalamus. This is accompanied by an early increase in the hypothalamic expression of brain-derived neurotrophic factor, which is succeeded by a sharp reduction of its expression after two and four weeks on a high-fat diet. The immunoneutralization of brain-derived neurotrophic factor worsens diet-induced functional damage of the medium eminence blood-brain barrier, increases diet-induced hypothalamic inflammation and increases body mass gain. Thus, the medium eminence blood-brain barrier is affected at the functional and structural levels early after introduction of a high-fat diet. Brain-derived neurotrophic factor provides an early protection against damage, which is lost upon persistence of consumption of large amounts of dietary fats.



## CORTISTATIN REDUCES INSULIN SECRETION IN RESPONSE TO GLUCOSE THROUGH PANCREATIC BETA CELL MEMBRANE HYPERPOLARIZATION

Rafacho A<sup>1</sup>, Soriano S<sup>2</sup>, Castellano-Muñoz M<sup>3</sup>, Alonso-Magdalena P<sup>3</sup>, Irles E<sup>3</sup>, Bello M<sup>3</sup>, Vetorazzi J<sup>4</sup>, Merino B<sup>3</sup>, Iborra P<sup>3</sup>, Ruiz A<sup>3</sup>, Luque RM<sup>5</sup>, Nadal A<sup>3</sup>, Quesada I<sup>3</sup> - <sup>1</sup>Federal University of Santa Catarina - Department of Physiological Sciences, Center of Biological Sciences, Florianópolis, SC, 88040-900, Brazil., <sup>2</sup>Alicante University - Department of Physiology, Genetics and Microbiology, Alicante, 03080, Spain., <sup>3</sup>Universidad Miguel Hernández de Elche - Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Elche, Alicante, 03202, Spain., <sup>4</sup>State Campinas University - Department of Structural and Functional Biology, Institute of Biology, Campinas, 13083-862, Brazil., <sup>5</sup>Córdoba University - Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, 14014, Spain.

Introduction: Cortistatin-14 (CORT) is a neuropeptide found in the central nervous system (CNS) and is expressed mainly in inhibitory neurons. CORT shares structural, functional, and pharmacological similarity to somatostatin (SST). SST plays a role in the regulation of endocrine secretion, i.e., inhibiting insulin secretion. Preliminary evidences have also pointed a role for CORT on the modulation of pancreatic insulin secretion, but the cellular mechanisms supporting this role are not well understood. Thus, we studied the potential mechanisms by which CORT acts in pancreatic beta and alpha cells function. Methods: Fresh isolated islets and primary pancreatic beta cells from lean C57BL6 mice were used for determination of functional and electrophysiological parameters. CORT knockout mice were also used. Results: Using insulin secretion protocols with fresh islets isolated from C57BL6 lean mice, we demonstrated that CORT reduced the insulin secretion in response to glucose in a similar magnitude from that of SST (p<0.01), an effect mediated by SST-R5 receptor. In the same direction, glucagon secretion in response to low glucose concentration (0.5 mM) was completely abolished in the presence of CORT (p<0.001), as well as for SST (p<0.001). Beta cell function were further investigated and we observed that reduced glucose-stimulated insulin secretion was paralleled by a decrease in the glucose-induced calcium levels as observed with a fura-2 calcium imaging system (p<0.001). As opposed to the effects on SST, the effect of CORT in beta cell calcium load was blocked by specific SST-R5 receptor antagonist, suggesting a higher affinity of CORT for this receptor. In addition, CORT diminished beta cell membrane potential and annulled the action potential firings in perforated patch clamp experiments (p<0.001). CORT also decreased calcium currents in whole cell patch clamp experiments. Such cell membrane hyperpolarization occurs in a dependence of G protein-coupled inwardly-rectifying K+ (GIRK) channels activity rather than K<sup>+</sup> ATP-dependent channels activity. In line with general results, CORT KO mice exhibited a higher ex vivo insulin response to glucose than lean mice. Discussion/Conclusion: Our results suggest that the binding of CORT to SST-R5 receptors results in beta cell hyperpolarization by involving both calcium channels and GIRK channel activities, thus reducing the beta-cell stimulus secretion coupling.



CREB induces regulation of *Slc2a4* gene expression in rat skeletal muscle: a novel putative CRE site in the *Slc2a4* promoter Alves-Wagner AB<sup>1</sup>, Yonamine CY<sup>1</sup>, Fátima LA<sup>1</sup>, Machado UF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica

Slc2a4 is the gene that encodes GLUT4 protein, being expressed in insulin-sensitive tissues, such as muscle cells and adipocytes. Alteration in GLUT4 expression is directly correlated with alterations in glycemic homeostasis. In skeletal muscle, it has been suggested that the  $\beta$ -adrenergic activity enhances the expression of Slc2a4/GLUT4, as it has been observed during fasting and in spontaneously hypertensive rats (SHR), which display high sympathetic activity. However, how the sympathetic activity can regulate Slc2a4 expression is still unclear. Slc2a4 gene promoter has specific binding-sites for several transcriptional factors that can modulate its expression. We hypothesize that the Slc2a4 expression can be modulated by CREB (cAMP Responsive Element-Binding protein), throughout a CRE (cAMP Responsive Element) binding site, which can be an important feature in the betaadrenergic-induced enhancing of the Slc2a4 expression in muscle. In samples of soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles from SHR and Wistar rats, we performed qPCR for Slc2a4 mRNA expression, electrophoretic mobility shift assay (EMSA) and chromatin immunoprecipitation assay (ChIP). A putative CRE sequence present in Slc2a4 gene promoter was selected based on its homology with other CREs sequences already described. Results: Slc2a4 expression increased in soleus (~35%) and EDL (~81%) muscles of SHR. EMSA results revealed a specific band of protein/DNA complex, as confirmed by competition with excess of unlabeled oligonucleotide and antibody anti-CREB (ab5803, Abcam), and the use of a mutated CRE sequence as well. Once determined the specific band, we analyzed the binding activity into nuclear proteins from the muscles. The binding activity in EDL muscle of SHR was higher (~20%) than in EDL of Wistar rats. ChIP assay confirmed the results found in EMSA, in which EDL had increased CREB activity in Slc2a4 promoter gene. Conclusion: Slc2a4 gene promoter has a domain which is a potential target to CREB. Furthermore, the Slc2a4 mRNA increase observed in muscles of SHR (high sympathetic activity) involves a tissue-specific gene regulation induced by CREB binding into a CRE site in the Slc2a4 promoter. Financial support: FAPESP #2012/04831-1, #2013/26616-8.



## DIFERENTES MUTAÇÕES NO GENE LMNA DETERMINAM HETEROGENEIDADE FENOTÍPICA NA LIPODISTROFIA FAMILIAR PARCIAL TIPO 2

Resende ATP<sup>1</sup>, Martins CS<sup>1</sup>, Bueno AC<sup>1</sup>, Foss MC<sup>1</sup>, Castro M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / USP - Divisão de Endocrinologia, Departamento de Clínica Médica

Lipodistrofia Familiar Parcial tipo 2 (FPLD2) é uma rara laminopatia determinada por mutações autossômicas dominantes no gene da lamina A/C (LMNA). O diagnóstico clínico baseia-se na distribuição anômala do tecido adiposo (TA), com acentuada redução do subcutâneo (TAS) em extremidades e acúmulo de gordura em face e submento. Essas alterações se desenvolvem progressivamente após a puberdade e se associam a alterações metabólicas. Estudos recentes demonstram heterogeneidade clínica entre os portadores de FPLD2. OBJETIVOS: Avaliar a correlação genótipo-fenótipo em portadores de FPLD2. PACIENTES E MÉTODOS: Foram estudados 24 portadores de FPLD2 (18F:6M, idade 37,6±13,8anos). A análise genética foi realizada por sequenciamento direto do gene LMNA. Dados de antropometria (peso, estatura e circunferências de: abdome (CA), quadril (CQ), região cervical (CC), braquial (CB) e de panturrilha (CP) foram obtidos pela avaliação clínica. Para avaliação da distribuição de TAS realizamos medidas de pregas cutâneas (Pc) utilizando adipômetro. A composição corporal foi avaliada por bioimpedância. Dados clínicos foram obtidos pela análise dos prontuários. Para análise das comorbidades realizamos dosagens bioquímicas (hemoglobina glicada- HbA1c, glicemia jejum-GJ, lipidograma e ácido úrico). Para análise estatística utilizamos o teste de Mann-Whitney para comparação de variáveis quantitativas entre os grupos e teste Exato de Fisher para variáveis qualitativas. RESULTADOS: a mutação R482W foi encontrada em 14 pacientes e a mutação R644C em 10. Os portadores da mutação R482W em comparação a R644C apresentaram valores menores de IMC (p=0,01), massa gorda (p=0,02), CB(p<0,01), CQ(p=0,05), Pc de panturrilha (p<0,01), coxa média (p=0,02), abdome (p=0,01), suprailíaca (p<0,01), peitoral (p<0,01), axilar (p<0,01), tricipital (p<0,01) e bicipital (p<0,01). A massa magra (%) foi maior no grupo R482W (p=0,02). Não houve diferença entre CA (p=0,1), CP (p=0,6), CC (p=0,2), Pc subescapulares (p=0,14), HbA1c (p=0,4), GJ (p=0,3), triglicerídeos (p=0,06), colesterol total (p=0,4), HDL (p=0,1), LDL (p=0,8) e ácido úrico (p=0,7). Alterações fenotípicas foram observadas mais precocemente no grupo R482W (14,4 ±3,23vs28 ±9,35 anos,p=0,003). No grupo R482W, houve maior prevalência de DM2 (p=0,04), flebomegalia (p<0,01) e tendência a maior prevalência de HAS (p=0,08) e NAFLD (p=0,09), sem diferença quanto a hipertrigliceridemia, acantose nigricans e hirsutismo. DISCUSSÃO: Pacientes portadores de R482W apresentaram início mais precoce das manifestações clínicas; menor IMC e maior massa magra, reduzida massa gorda total com comprometimento do TAS e maior concentração de adiposidade visceral, confirmando as alterações fenotípicas clássicas da FPLD2. Essas alterações de composição corporal são responsáveis pela maior prevalência de algumas complicações metabólicas observadas no grupo R482W. Ainda, nossos dados sugerem que portadores da mutação R644C apresentam fenótipo atípico e menos grave.

**REFERÊNCIAS**: **ABHIMANYU G**, *JCEM*, 86:59,2001; **CORINNE V**, *Diabetes*, 49:1958, 2000; **NICOLA C**, *Acta Myol*. 32:7, 2013; **REBECCA A**, *Am.J.Genet*. 66:1192,2000

**AGRADECIMENTOS**: Aos pacientes estudados. Apoio técnico: Wendy Turatti e Rogério Zuliani. **FINANCIADORES**: Fapesp n°07/58365-3; CNPq Universal 470482/2012-5 Faepa-HCFMRPUSP.



#### ATUAÇÃO DA REALIDADE VIRTUAL EM INDIVÍDUO COM DIABETES TIPO 2: ESTUDO DE CASO

Raposo AB<sup>1</sup>, Alda MA<sup>1</sup>, Costa AS<sup>1</sup>, Silva JPN<sup>1</sup>, Vanderlei LCM<sup>2</sup>, Santos GF<sup>1</sup>, Freire ACF<sup>1</sup>, Siscoutto RA<sup>1</sup>, Lima RO<sup>1</sup>, Pacagnelli FL<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente, SP, Brasil, <sup>2</sup>Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Unesp, Campus, Presidente Prudente, SP, Brasil.

Introdução: A Diabetes Mellitus (DM) é uma das maiores emergências de saúde global. Estima-se que atualmente há 415 milhões de adultos com diabetes, sendo que cerca de 90% dos casos registrados são do tipo 2. Com isso, há necessidade de intervenções que visem à melhora glicêmica, cardiovascular e na qualidade de vida. No atual contexto tecnológico mundial, recursos terapêuticos têm sido adjuvantes à reabilitação, tal como a Realidade Virtual (RV), que pode ser um mecanismo complementar e inovador para os protocolos fisioterapêuticos. Entretanto, são escassas pesquisas em relação à atuação deste recurso em pacientes diabéticos. Este estudo possui o objetivo de avaliar os efeitos da implementação da RV em indivíduo diabético nos aspectos relacionados à glicemia capilar, freqüência cardíaca (FC), pressão arterial (PA), sensação de tolerância ao esforço e no humor. Métodos: Foi avaliado um indivíduo do gênero masculino, com DM tipo 2, de 68 anos, com episódio anterior de acidente vascular encefálico isquêmico (sem sequelas), hipertensão arterial sistêmica e pós operatório de revascularização do miocárdio. Foram realizadas 10 sessões de fisioterapia, duas vezes por semana, no período da manhã, durante 4 semanas, com duração de 50 minutos. A intensidade do esforço foi avaliada pela fórmula de Karvonen utilizando a FC submáxima estimada para idade, com 60%. Nestas sessões foi implementado a realidade virtual por meio do equipamento Xbox 360® com Kinect™, com o uso dos jogos YourShape™ e Just Dance™. Antes de cada sessão foi verificada glicemia pós prandial, FC, PA e escala de Humor de Brunel (BRUMS) que é composta por suas sub escalas. Durante a sessão foi avaliada a sensação subjetiva de esforço por meio da Escala de Borg e a FC. Após o término da sessão foi novamente monitorada a glicemia, PA, FC e BRUMS. Resultados: A média da glicemia capilar antes das sessões foi de 160,64±19,65 mg/dl e após 168,27±19,13 mg/dl; a FC antes foi de 62,09±4,94 bpm, durante 69,63±7,77 bpm e após 64±4,49 bpm. A PAS antes foi de 132,72±10,09 mmHg e após 134,54±12,13 mmHg; já a PAD inicial foi de 80,90±5,39 mmHg e após 78,18±6,03 mmHg. Na BRUMS a tensão inicial foi de 1,45±1,12 pontos e final 1,34±1,28 pontos; depressão antes 0,72±0,90 pontos e após 0,45±1,03 pontos; vigor inicial 5,36±1,56 pontos e após 5,36±1,56 pontos; fadiga antes 0,36±0,67 pontos e após 1,45±0,93 pontos; raiva antes zero e após 0,18±0,40; já confusão mental tanto inicial quanto final foi zero. A sensação de esforço durante o exercício foi de 12,45±0,82 (ligeiramente cansativo). Discussão: A realidade virtual melhorou o humor, não provocou alterações cardiovasculares, mostrando-se um recurso seguro, mas não reduziu os valores glicêmicos. As características dos exercícios empregados de forma intervalada e com variação da intensidade pode ter contribuído para a não melhora glicêmica. Estes resultados sugerem que a realidade virtual tem que ser executada com monitoramento e cautela e novos estudos com a população diabética são necessários.



Visceral abdominal tissue aferido por DXA associa-se a perfil de risco cardiometabólico mesmo em jovens saudáveis do Nutritionists' Health Study

Valente AMM<sup>1</sup>, Almeida-Pititto B<sup>2</sup>, Folchetti LGD<sup>1</sup>, Silva IT<sup>1</sup>, Luthold RV<sup>1</sup>, Ferreira SRG<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo; Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

**INTRODUÇÃO:** O excesso de tecido adiposo visceral (VAT) eleva o risco cardiometabólico sendo desejável sua identificação de forma precisa, não-invasiva e precoce. A DXA (*dual-energy X-ray absorptiometry*) estima este tecido de modo indireto, apresentando boa correlação com a tomografia e ressonância, com baixo nível de radiação. Está documentada a relação do excesso de VAT com risco cardiometabólico. Porém, menos explorou-se tal associação em jovens saudáveis.

**OBJETIVO:** Analisar se a VAT-DXA associa-se a medidas antropométricas e a fatores de risco cardiometabólico, em adultos jovens saudáveis, participantes do *Nutritionists' Health Study (NutriHS)*.

**MÉTODOS**: Avaliamos 84 alunos de nutrição e nutricionistas (20 a 40 anos), de ambos os sexos, por meio de medidas antropométricas (peso, estatura, IMC, e circunferências de pescoço e cintura), pressão arterial e coleta sanguínea para dosagem de glicemia de jejum, colesterol total, frações e triglicérides. Aquisições de composição corporal foram realizadas, por investigador único, no mesmo equipamento (iDXA/GE LUNAR\*), tendo por variável de interesse a *visceral abdominal tissue* (VAT). Testes paramétricos (t de Student e correlação de Pearson) ou não-paramétricos (Mann-Whitney e correlação de Spearman) foram empregados dependendo da distribuição da variável. O valor de p foi fixado em 5% (*SPSS*\* 16.0).

**RESULTADOS:** A idade média da amostra foi de 25,2±4,4 anos, sendo composta por 88,1% de indivíduos do sexo feminino. Os valores médios de IMC (23±4,1kg/m²) e das circunferências de pescoço (29,0±11,0 cm) e cintura (79,0±9,8cm) eram normais. Os valores médios de pressão arterial, glicose plasmática e perfil lipídico foram normais. À DXA, observou-se: VAT-volume 245,1±304,5cm³ e VAT-massa 236,8±288,4g. O VAT-volume e VAT-massa apresentaram, respectivamente, fortes correlações com IMC (0,662, p<0.001 e 0,685, p<0,001), circunferência de cintura (0,737, p<0,001e 0,755, p<0,001) e circunferência de pescoço (0,605, p<0,001 e 0,620, p<0,001), e moderadas com triglicérides (0,264, p=0,015 e 0,278, p=0,010), HDL-c (-0,229, p=0,036 e -0,263, p=0,016) e pressão arterial sistólica (0,304, p=0,005 e 0,331, p=0,002).

**CONCLUSÃO:** As correlações encontradas no *NutriHS* reforçam a utilidade da quantificação do VAT pelo DXA como indicador de risco cardiometabólico, mesmo entre jovens, com perfil metabólico e massa adiposa visceral normais. A ampliação e seguimento desta população no longo prazo tem potencial para proposição de valores de VAT preditivos de risco cardiometabólico.



ENTERÓTIPOS E CORRELAÇÃO COM PERFIL DE RISCO CARDIOMETABÓLICO EM UMA AMOSTRA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA Moraes ACF¹, Fernandes GR², Silva IT¹, Almeida-Pititto B³, Gomes EP⁴, Pereira AC⁴, Ferreira SRG¹ - ¹Faculdade de Saude Pública, USP, ²Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Minas Gerais, ³Departamento de Medicina Preventiva, UNIFESP, ⁴Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, INCOR, USP

Introdução: Evidências apontam que hábitos alimentares influenciam o perfil de risco cardiometabólico via alteração na composição da microbiota intestinal. Dieta ricas em fibras se associam à maior abundância de bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta, que melhoram a barreira intestinal, reduzindo a translocação de lipopolissacárides. Tal condição atenua o estado inflamatório e a resistência à insulina. Propôs-se avaliar a composição da microbiota por clusters, denominados de enterótipos, e sua relação com hábitos alimentares foi pouco estudada. Este estudo investigou se os enterótipos descritos eram identificados em amostra de brasileiros com distintos hábitos alimentares e se associavam-se a perfil de risco cardiometabólico. Métodos: Neste estudo transversal, 268 indivíduos com diferentes hábitos alimentares (vegetariano estrito, ovo-lacto vegetariano e onívoro) tiveram a composição da microbiota obtida a partir do sequenciamento da região V4 do gene 16S rRNA (Illumina®Miseq). A análise de cluster multidimensional e de componentes principais foi realizada para detectar enterótipos, identificáveis pela abundância predominante de um entre três gêneros ou família. Resultados: Na amostra (54,2% mulheres; 49,4±8,4 anos; IMC 24,8±4,5 kg/m2), foram detectados os 3 clusters descritos originalmente, sendo 111 indivíduos agrupados no enterótipo 1 (Bacteroides), 55 no enterótipo 2 (Prevotella) e 102 no enterótipo 3 (Ruminococcaceae). Ao avaliarmos a distribuição dos hábitos alimentares em relação aos enterótipos, identificamos um número maior que o esperado de vegetarianos estritos no enterótipo 2 (p=0,038) e a concentração de LDL-colesterol foi significativamente menor neste mesmo enterótipo. Correlações significantes (p<0,05) entre a abundância de bactéria produtora de butirato (Faecalibacterium) e biomarcadores [HDL-colesterol (r = 0,345) e HOMA-IR (r = -0,300)] foram encontradas no enterótipo 2. Discussão: Ao identificarmos na amostra os mesmos 3 enterótipos previamente descritos propomos que o ecossistema intestinal não é "população-específico". É possível que as correlações encontradas no enterótipo 2 decorram do maior número de vegetarianos estritos, que tem uma alimentação saudável refletindo numa colonização intestinal mais favorável. O delineamento deste estudo não permite assegurar relações causa-efeito. As associações encontradas com hábitos alimentares e biomarcadores indicam que a abordagem por clusters bacterianos pode contribuir para entender como a dieta modula ao risco cardiometabólico.



## AVALIAÇÃO DE PARÂMENTROS METABÓLICOS DE ANIMAIS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA RICA EM GORDURA INTERESTERIFICADA

Sousa B

Introdução: A obesidade é uma doença de alta prevalência nos dias atuais, principalmente na área urbanizada, e esta é considerada um fator de risco para desenvolvimento de diversas comorbidades como diabetes, doenças cardiovasculares, dislipidemias, hipertensão, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), entre outros. Fatores genéticos associados a fatores ambientais como a ingestão de dietas hipercalórias e hiperlipídicas ricas em gordura saturada e gordura trans parecem ter relevância epidemiológica importante modulando negativamente o perfil lipídico dos indivíduos. Para reduzir ou até mesmo eliminar os ácidos graxos trans dos produtos industrializados, a indústria alimentícia tem utilizado como alternativa o processo de interesterificação e a substituição por gorduras vegetais. Atualmente o óleo vegetal mais utilizado pela indústria alimentícia no mundo é o óleo de palma, esta matéria-prima possui características químicas que são favoráveis para a qualidade organoléptica do produto final. O papel das gorduras interesterificadas vem se mostrando relevante devido ao aumento da presença deste tipo de gordura na alimentação. Neste contexto o presente estudo teve como objetivo avaliar os parâmetros metabólicos e a influência desta gordura na homeostase glicêmica de animais alimentados com dieta controle e hiperlipídica rica em gordura interesterificada. Métodos: Foram utilizados camundongos machos da linhagem Swiss (CEUA: 3853-1) com 6 semanas de idade, separados de maneira aleatória em 4 grupos: grupo controle (CT), com 10% do valor calórico em lipídios proveniente do óleo de palma, controle interesterificado (CT INTER), com 10% de óleo de palma interesterificado, grupo hiperlipidico (HF), com 60% de óleo de palma e hiperlipidico interesterificado (HF INTER), com 60% de óleo de palma interesterificado. O peso dos animais foi mensurado semanalmente e a ingestão alimentar foi obtida através de uma média diária. O teste de tolerância ao piruvato (ipPTT) e valores de glicemia foram obtidos após 7 semanas de dieta. Resultados e Discussão: Os resultados parciais demostram que ao substituir o óleo de palma natural (CT) pelo seu respectivo óleo de palma interesterificado (CT INTER) há um aumento no delta de ganho de peso corporal e maior área sob a curva de glicose no teste ipPTT no grupo CT INTER quando comparados com o grupo CT. Em relação ao grupo hiperlipídico não foi observado diferença estatística nos parâmetros avaliados. Portanto, concluímos que a substituição dos óleo vegetal natural em dieta normocalórica e normolipídica (CT) por suas frações interesterificadas (CT INTER) nas mesmas proporções foi capaz de modular negativamente os parâmetros metabólicos avaliados.



### RESVERATROL IN ADDITION TO INSULIN THERAPHY IMPROVES GLYCEMIC CONTROL IN DIABETIC RATS: PARTICIPATION OF HEPATIC TERRITORY

Yonamine CY<sup>1</sup>, Machado EP<sup>1</sup>, Michalani ML<sup>1</sup>, Freitas HS<sup>1</sup>, Okamoto MM<sup>1</sup>, Corrêa-Giannella ML<sup>2</sup>, Machado UF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. - Department of Physiology and Biophysics, <sup>2</sup>School of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil - Laboratory for Cellular and Molecular Endocrinology (LIM-25), Cell and Molecular, Therapy Center (NUCEL)

Background: Resveratrol is a natural polyphenol that has been proposed to improve glycemic control in diabetes, by mechanisms that involve improvement in insulin secretion and activity. In type 1 diabetes (T1D), in which insulin therapy is obligatory, resveratrol treatment has never been investigated. The present study aimed to evaluate resveratrol as an adjunctive agent to insulin therapy in a T1D-like experimental model.

Methods: Rats were rendered diabetic by streptozotocin (STZ) treatment. Twenty days later, 4 groups of animals were studied: non-diabetic (ND); diabetic treated with placebo (DP); diabetic treated with insulin (DI) and diabetic treated with insulin plus resveratrol (DIR). After 30 days of treatment, 24-hour urine was collected; then, blood, soleus muscle, proximal small intestine, renal cortex and liver were sampled. Specific glucose transporter proteins were analyzed (Western blotting) in each territory of interest. Solute carrier family 2 member 2 (*Slc2a2*), phosphoenolpyruvate carboxykinase (*Pck1*) and glucose-6-phosphatase catalytic subunit (G6pc) mRNAs (qPCR), glycogen storage and sirtuin 1 (SIRT1) activity were analyzed in liver. Results: Diabetes increased blood glucose, plasma fructosamine and glycosuria. Insulin therapy partially recovered the glycemic control; however, resveratrol as adjunctive therapy additionally improved glycemic control and restored plasma fructosamine concentrations to values of non-diabetic rats. Resveratrol did not alter the expression of the glucose transporters GLUT2 and SGLT1 in the intestine, GLUT2 and SGLT2 in kidney and GLUT4 in soleus, suggesting that fluxes of glucose in these territories were unaltered. Differently, in liver, resveratrol promoted a reduction in *Slc2a2*, *Pck1*, and *G6pc* mRNAs, as well as in GLUT2 protein (P<0.05, DIR vs. DI); besides, it increased (P<0.01, DIR vs. DI) the hepatic glycogen content.

Conclusions: Resveratrol is able to improve glycemic control in insulin-treated T1D-like rats. This effect seems not to involve changes in glucose fluxes in the small intestine, renal proximal tubule, and soleus muscle; but seems to be related to several changes in the liver, favoring reduction of glucose production and efflux. Besides, resveratrol increased SIRT1 nuclear protein content in liver, which may be related to the observed gene expression regulations.

Acknowledgments: CNPq (142187/2013-5) ( and FAPESP (2012/04831-1).



## RESVERATROL MELHORA A HOMEOSTASE GLICÊMICA EM CAMUNDONGOS OBESOS COM RESISTÊNCIA À INSULINA: PARTICIPAÇÃO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO.

Yonamine CY<sup>1</sup>, Machado EP<sup>1</sup>, Michalani ML<sup>1</sup>, Freitas HS<sup>1</sup>, Okamoto MM<sup>1</sup>, Machado UF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. - Departamento de Fisiologia e Biofísica

**Introdução:** A resistência à ação da insulina é uma característica comum da obesidade, a qual pode levar ao desenvolvimento de diabetes melitus tipo 2 (DM2). Há indícios de que o resveratrol, um polifenol natural encontrado em sementes de uvas, seja ca paz de promover benefícios na homeostase glicêmica. O objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos do tratamento crônico com resveratrol sobre a homeostase glicêmica de animais obesos com resistência à insulina, e avaliar a possível participação do músculo esquelético nessa regulação, visto que é um órgão que tem papel fundamental no *clearance* de glicose.

Materiais e Métodos: Camundongos machos da linhagem CD1 foram utilizados no presente estudo. No período neonatal, os animais receberam injeção subcutânea de glutamato monossódico (MSG) do 1º ao 5º dia (2 mg/Kg peso) e no 7º dia de idade (4 mg/Kg peso) ou veículo NaCl 0,9 %. Na 19ª semana de idade iniciamos o tratamento dos animais, constituindo os seguintes grupos: controle, MSG e MSG tratado com resveratrol (30 mg/Kg peso). A administração de resveratrol foi via oral dissolvido na água de beber. A duração do tratamento foi 60 dias. No 53º dia de tratamento, realizamos um teste de tolerância à insulina intraperitoneal (ITT), em animais submetidos à restrição alimentar de 4 horas. A dose de insulina foi 1 U/Kg de peso corporal e os tempos de coleta de sangue caudal foram: 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 minutos. A constante de decaimento da glicose (kITT) foi calculada com base na regressão linear dos logaritmos neperianos dos valores glicêmicos obtidos durante o teste. No 60º dia de tratamento os animais foram anestesiados com tiopental sódico (7 mg/Kg peso corporal), o sangue proveniente do ventrículo esquerdo foi coletado para análises bioquímicas e o músculo gastrocnêmio foi retirado para a verificação da expressão gênica de *Slc2a4* por PCR em tempo real e conteúdo de GLUT4 por Western Blotting.

Resultados: Os animais MSG apresentaram aumentos significantes de peso, glicemia, insulinemia e frutosamina plasmática em comparação ao grupo controle, e o tratamento com resveratrol foi capaz de recuperar todos estes valores. Os dados obtidos no teste de tolerância à insulina (ITT) confirmaram que os animais MSG apresentaram reduzidos valores de decaimento de glicose e o tratamento com resveratrol foi capaz de recuperar estes valores. No músculo gastrocnêmio de animais MSG, a expressão do mRNA *Slc2a4* e da proteína GLUT4 reduziram em ~20% e 32%, respectivamente, enquanto que o tratamento com RES foi capaz de recuperar estes valores.

**Conclusão:** Com base nos dados apresentados, o tratamento com RES foi capaz de reverter a perda da homeostase glicêmica causada pela obesidade, em parte pelo aumento da expressão do gene *Slc2a4* e da proteína GLUT4, sugerindo uma participação importante do músculo esquelético no efeito sensibilizador da insulina induzido pelo resveratrol.

Apoio financeiro: FAPESP (2012/04831-1) e CNPq (142187/2013-5).



## AVALIAÇÃO DE PROTEÍNAS DA VIA COLIÉRGICA ANTI-INFLAMATÓRIA NO HIPOTÁLAMO E TECIDO ADIPOSO BRANCO DA PROLE DE CAMUNDONGOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR CONSUMO MATERNO DE DIETA HIPERLIPÍDICA

Souza CM<sup>1</sup>, Sartori JO<sup>1</sup>, Costa SO<sup>1</sup>, Lanza PG<sup>1</sup>, Lemes SF<sup>1</sup>, Souza ACP<sup>1</sup>, Torsoni AS<sup>1</sup>, Milanski M<sup>1</sup>, Torsoni MA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Laboratório de Distúrbios do Metabolismo (LABDIME)-FCA/UNICAMP

Introdução: A gestação e lactação são processos essenciais para as adaptações fenotípicas da prole. Estudos mostram que a exposição à dieta hiperlipídica durante este período tem efeitos obesogênicos na prole, leva a alterações neuronais que induzem ao aumento do consumo alimentar, intolerância à glicose e resistência à insulina na prole adulta, alterações no metabolismo lipídico hepático, danos na sinalização hipotalâmica e aumento da sinalização inflamatória intracelular. O sistema imune inato, é responsável pela defesa do organismo contra processos infecciosos, tem sua intensidade controlada pelo reflexo anti-inflamatório colinérgico. Alterações nesta via tem sido associada a obesidade, inflamação, resistência à insulina e animais que não expressam α7nAChR apresentaram inflamação anormal e menor sensibilidade a insulina. Por outro lado, a ativação da via pela nicotina suprime a inflamação no tecido adiposo e melhora a sensibilidade à insulina em modelos animais com obesidade.

**Métodos:** Foram utilizadas proles (28 dias de vida) de mães que consumiram dieta rica em gordura durante a gestação e lactação após estímulo farmacológico do  $\alpha$ 7nAChR, sendo que o modelo foi composto de 4 grupos: Proles de mães que receberam dieta controle que receberam salina e nicotina ICV e proles de mães obesas que receberam salina e nicotina ICV. Para as análises foram empregadas as técnica de imunofluorescência para avaliação da distribuição do receptor nos tecidos hipotalâmico e epididimal e western blot e PCR para avaliação de,  $\alpha$ 7nAChR e IL10 nos tecidos.

**Resultados:** Foi encontrado em nosso estudo um prejuízo na sinalização da via antiinflamatória colinérgica mediada pela exposição a dieta hiperlipídica no ambiente intrauterino, com diminuição na expressão de receptores α7nAChR em tecido adiposo e hipotalâmamico e diminuição de distribuição de receptores α7nAChR em tecido adiposo e aparentemente também em tecido hipotalâmico. Adicionalmente foi encontrado um aumento na expressão de IL-10 quando os animais foram submetidos ao estímulo farmacológico.

Discussão: A redução no número de receptores α7AchR pode prejudicar a sinalização antiinflamatória à um estímulo próinflamatório de forma sistêmica, contribuindo para o estado inflamatório encontrado na obesidade. Estudos apontam que o reflexo antiinflamatório colinérgico no hipotálamo, podem participar do controle homeostático da fome e saciedade. Sendo assim uma diminuição de receptores hipotalâmicos α7nAChR poderiam estar contribuindo para um menor controle da fome e saciedade nesses animais e desbalanço na homeostase energética, agindo de forma adicional no ganho de peso e predisposição à obesidade (Wang et al. 2011, Ashino et al., 2012; Campos et al., 2007; Payolla et al., 2016 Huang e colaboradores; 2010 García et al. 2015)

Entidade Financiadora: FAPESP

Agradecimentos: FAPESP, Laboratório de disturbios do metabolismo- LABDIME, Faculdade de ciências aplicadas- UNICAMP



EXPRESSÃO DA SUBUNIDADE  $\alpha$ 7 DO RECEPTOR NICOTÍNICO DE ACETILCOLINA E DAS PROTEÍNAS JAK2/STAT3 E CREB) DA NO BAÇO DA PROLE DE MÃES OBESAS.

Sartori JO, Souza CM, Costa SO, Lanza PG, Lemes SF, Souza ACP, Torsoni AS, Milanski M, Torsoni MA

Laboratório de Distúrbios do Metabolismo (LABDIME)-FCA/UNICAMP

Introdução: A prevalência de obesidade durante a gestação tem aumentado e complicações decorrentes da obesidade materna estão relacionadas com o desenvolvimento de distúrbios metabólicos e obesidade na vida adulta da prole. Neste contexto, a exacerbada ativação do sistema imune inato e da sinalização inflamatória, que é controlada pelo reflexo anti-inflamatório colinérgico, pode ter papel importante. A ligação da acetilcolina na subunidade α7 do receptor colinérgico (α7nAChR) dimimui o recrutamento de macrófagos e inibe a produção de citocinas inflamatórias. Nossa hipótese é de que a prole de mães obesas apresenta danos na sinalização anti-inflamatória colinérgica (JAK2/STAT3 e CREB) e isto leva ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos associados a obesidade. Métodos: Camundongos Swiss de 28 dias de vida obtidas de mães que consumiram HFD durante a gestação e lactação foram utilizados. A distribuição do α7nAChR e ativação das proteínas da via de sinalização (JAK2/STAT3/CREB) no baço da prole de mães obesas (HFD-O) e na prole controle (SC-O) foi analisada após estímulo farmacológico com nicotina ICV através de imunofluorescência, Real Time-PCR e WB. Resultados: Não foram encontradas diferenças na quantidade de proteína e de RNAm de α7nAChR quando comparados os grupos SC-O e HFD-O. O estímulo central com nicotina também não alterou a expressão de  $\alpha$ 7nAChR. Porém, parece ocorrer uma tendência de aumento de  $\alpha$ 7nAChR após o tratamento com nicotina no grupo SC-O, o que não foi observado no grupo HFD-O. A expressão de receptores α7nAChR no baço dos animais do grupo HFD-O e no grupo SC-O foi adicionalmente investigada através de imunofluorescência em microscopia confocal, mas não observamos efeito da obesidade materna. A expressão de STAT3 no baço da prole SC-O e HFD-O não foi diferente, mas no grupo SC-O o tratamento ICV com nicotina resultou em aumento da quantidade de STAT3. O mesmo tratamento no grupo HFD-O não resultou em alteração da expressão de STAT3. que consumiram HFD após a administração de nicotina ICV. Adicionalmente, não observamos a modulação da fosforilação de CREB (p-CREB) em nosso modelo experimental mesmo após a administração de nicotina ICV. A técnica de Real Time PCR foi empregada para avaliar TNFα, IL10 e IL1B. Os grupos SC-O e HFD-O não apresentaram diferenças na expressão de TNFα e IL1B, mas a expressão de IL10 estava aumentada no grupo HFD-O comparado ao grupo SC-O. O tratamento com nicotina ICV não alterou a expressão de TNFα e IL1B, mas reduziu a IL10 no grupo HFD-O. Discussão Os dados obtidos sugerem que a obesidade materna afetou a via colinérgica impedindo o aumento da expressão de α7nAChR e STAT3 induzida pela administração de nicotina ICV. Além disso, o grupo HFD também apresentou aumento da expressão de IL10, um citocinas como propriedades anti-inflamatórias. Isto pode ser reflexo da maior inflamação presente neste grupo (HFD-O) em decorrência de dos danos apresentados na via anti-inflamatória colinérgica. Agradecimentos: FAPESP, PIBIC, LABDIME e FCA - UNICAMP.



#### Relação do cálcio com os valores de glicemia e insulina na Lipodistrofia Generalizada Congênita.

Araujo COD¹, Portela JDR¹, Henriques GS, Cortez VOF, Montenegro APDR, Júnior RMM, Maia CSC¹ - ¹UECE - Mestrado Acadêmico em Nutrição e Saúde.

INTRODUÇÃO: A Lipodistrofia Congênita Generalizada (LCG) é uma doença rara, de herança autossômica recessiva e caracterizada pela ausência de tecido adiposo<sup>1,2</sup>. O Brasil ocupa a 3ª posição de incidência no mundo e o estado do Ceará, a segunda maior casuística do Brasil. A ausência de gordura corporal leva a sinais clínicos como a hipertrigliceridemia, resistência à insulina e Diabetes<sup>2</sup>. Os minerais tem um importante papel na homeostase intracelular, permitindo o perfeito funcionamento da célula, a ação de hormônios e a manutenção da saúde. Cálcio, zinco e o magnésio exercem funções no metabolismo e incorporação da glicose no organismo, bem como nas concentrações do hormônio insulina<sup>3</sup>. O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis séricos do cálcio e a relação com os valores de glicemia e insulina na LCG.

MÉTODOS: O estudo foi descritivo, transversal e quantitativo. Foram avaliados oito pacientes cadastrados no Ambulatório de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídio com diagnóstico clínico de LCG. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do hospital e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento livre e esclarecido. Os parâmetros bioquímicos de glicemia e insulina foram obtidos no prontuário. Foi coletado sangue após jejum de 10 horas par análise de cálcio. A análise foi feita por Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado. A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste Kolmogorov-Sminorff e foram considerados significantes valores p<0,05.

RESULTADOS: A idade dos pacientes variou entre 3 e 31 anos. Observou-se uma tendência de correlação positiva entre os níveis séricos de cálcio e glicemia (r=0,22; p=0,06). Não houve correlações significantes entre os valores de cálci e insulina. DISCUSSÃO: A mutação no gene seipin, uma das mais frequentes na LCG, causa redução no nível de cálcio no Retículo Endoplasmático (RE) por alterações no canal Ca<sup>2+</sup> ATPases SERCA e aumento desse mineral no citosol. Essa grande quantidade citoplasmática promove a ativação de diversas enzimas que estimulam processos como a quebra das membranas e a liberação do íon Ca<sup>2+</sup> para a circulação. Elevadas concentrações de cálcio podem contribuir ainda para a resistência à insulina porque diminuem a atividade da enzima tirosina quinase necessária para a cascata de ação deste hormônio <sup>3,4</sup>. Apesar da elucidação destes mecanismo, sugere-se mais estudos sobre a relação dos minerais na LCG.

- (1) BARRA, C.B.; SALVODELLI,; R.D. MANNA, T.D. Síndrome de Berardinelli-Seip: descrição genética e metabólica de cinco pacientes. ArqBrasEndocrinolMetab, v. 55, n. 1, 2010.
- (2) RÊGO, A.G. MESQUITA, E.T. FARIA, C.A. Anormalidades Cardiovasculares e Metabólicas em Pacientes com a Síndrome de Berardinelli-Seip. ArgBrasCardiol, v. 94, n. 1, p. 109-118, 2010.
- (3) TAKAYA, J.; HIGASHINO, H.; KOBAYASHI, Y. Intracellular magnesium and insulin resistance. Osaka, v. 17, n. 2, 2004.
- (4) SANTULLI, G. et al., Calcium release channel RyR2 regulates insulin release and glucose homeostasis. The Journal of Clinical Investigation, v. 125, n.5, p. 1968-1978, 2015.



#### INHIBITION OF PHOSPHODIESTERASE 4 ISOFORM INHIBITS THE EXPRESSION OF COMPONENTS OF CALPAIN- AND CASPASE-DEPENDENT PROTEOLYSIS IN SKELETAL MUSCLES OF DIABETIC RATS

Arcaro CA<sup>1</sup>, Assis RP<sup>1</sup>, Oliveira JO<sup>1</sup>, Paula MF<sup>1</sup>, Costa MC<sup>1</sup>, Zanon NM<sup>2</sup>, Paula-Gomes S<sup>2</sup>, Kettelhut IC<sup>2</sup>, Brunetti IL<sup>1</sup>, Baviera AM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, SP, Brazil - Department of Clinical Analysis, <sup>2</sup>School of Medicine, University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil - Department of Biochemistry and Immunology

Introduction: Increase in the rate of proteolysis is observed in various physiological and pathological conditions characterized by skeletal muscle wasting, which can lead to a reduced quality of life and an increased disability, morbidity and/or mortality. Therefore, the search of novel strategies to counteract muscle proteolysis is important to prevent or reduce the impairments related to muscle wasting. It has been demonstrated that muscle proteolysis can be inhibited by an increase in the intracellular levels of cyclic AMP (cAMP), which can be reached by the inhibition of cAMP phosphodiesterases (PDE). Considering that the PDE4 isoform accounts for the majority of PDE activity in skeletal muscles, the objective of this study was to evaluate the effects of rolipram (PDE4 inhibitor) in the expression of components of the proteolytic machinery, calpain- and caspase-dependent proteolysis and ubiquitin proteasome system in skeletal muscles of diabetic rats (experimental model of muscle atrophy).

Methods: Male Wistar rats (80±10g) were injected with streptozotocin (60mg/kg, i.v.) to induce diabetes and they were divided into four groups (n=8): normal and diabetic rats treated with saline (i.p., NS and DS) or with 2 mg/kg rolipram (i.p., NROL and DROL). After 3 days of treatment, *soleus* and extensor digitorum longus (EDL) muscles were dissected for the determination of the expression (using immunoblotting) of the proteolytic components of caspase-dependent proteolysis (caspase-3; Bax; Bcl-2), calpain-dependent proteolysis (calpain; calpastatin) and ubiquitin conjugates levels.

Results: Soleus and EDL muscles of DS rats had increased levels of caspase-3 (59% and 28%) and pro-apoptosis component Bax (35% and 91%) and diminished levels of anti-apoptosis component Bcl-2 (47% and 43%) when compared with NS. The treatment with rolipram preventing all these disturbances, decreasing the caspase-3 and Bax levels and increasing Bcl-2 levels, in both muscles of diabetic rats. In soleus and EDL muscles of DS rats it were also observed increased levels of calpain (25% and 17%) and diminished levels of calpastatin (68% and 40%). Similarly for caspase-dependent proteolysis, the treatment with rolipram prevented all changes observed in muscles of diabetic rats related with the calpain-dependent proteolysis. Ubiquitin conjugates were increased in soleus (43%) and EDL (24%) of DS rats, while the treatment with rolipram decreased the ubiquitin conjugates in soleus (63%) and EDL (26%) of DROL rats when compared with DS.

Discussion: Inhibition of PDE4 isoform decreased muscle proteolysis in diabetic rats, so appearing as a promising target to prevent or diminish the muscle wasting during catabolic conditions. The understanding of the mechanisms by which rolipram exerts its antiproteolytic effects is ongoing in our laboratory.

Acknowledgements: FAPESP (2013/18861-2; 2014/12202-0), CNPq, CAPES, PADC/FCFAr/UNESP

Keywords: skeletal muscle atrophy, diabetes mellitus, PDE4 isoform, rolipram



## REDUÇÃO DA DISLIPIDEMIA E DO ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM IOGURTE ENRIQUECIDO COM CURCUMINA E/OU METFORMINA

Roxo DF<sup>1</sup>, Arcaro CA<sup>1</sup>, Assis RP<sup>1</sup>, Oliveira JO<sup>1</sup>, Paula MF<sup>1</sup>, Brunetti IL<sup>1</sup>, Baviera AM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, Brasil - Departamento de Análises Clínicas

Introdução: As opções terapêuticas para o diabetes mellitus (DM) incluem insulina e agentes antidiabéticos orais, sendo a metformina amplamente prescrita. No entanto, é crescente o interesse no uso de ativos naturais como terapia complementar, seja por seus benefícios aditivos aos efeitos da terapia clássica, seja pelo potencial antioxidante. Sabe-se que o estresse oxidativo participa do estabelecimento das complicações a longo prazo do DM. Neste trabalho foram avaliadas as consequências dos tratamentos de ratos diabéticos com iogurte enriquecido com curcumina e metformina, isoladas ou associadas, em parâmetros fisiológicos e bioquímicos classicamente alterados no DM, bem como sobre o estresse oxidativo.

Métodos: Ratos Wistar machos (140±10g) receberam estreptozotocina (40mg/kg, i.v.) e foram divididos em 6 grupos (7 ratos/grupo): ratos normais (NIOG) e diabéticos (DIOG) tratados com iogurte; 4U insulina (DINS); 90mg/kg de curcumina em iogurte (DC); 250mg/kg de metformina em iogurte (DM); 90mg/kg de curcumina e 250mg/kg de metformina em iogurte (DCM), por 31 dias. Peso corporal e glicemia foram determinados semanalmente. Após 31 dias, foram determinados os pesos dos tecidos musculares e adiposos, os níveis plasmáticos de triacilglicerol e colesterol e os níveis de malondialdeído (MDA), biomarcador de peroxidação lipídica.

Resultados: No início do experimento, ratos diabéticos apresentavam valores similares de glicemia (≈400mg/dL) e peso corporal (≈147g); após 31 dias, foram observados menores valores de glicemia em ratos diabéticos tratados, em relação ao DIOG (DINS=122±23; DC=391±54; DM=257±58; DCM=269±60; DIOG=557±50, mg/dL). A partir do 22º dia de tratamento, ratos DCM apresentaram peso corporal próximo aos ratos DINS e NIOG, corroborado pelos pesos do tecido adiposo retroperitoneal e músculos EDL, que foram maiores em animais DCM em relação aos tratamentos isolados. A dislipidemia observada neste modelo de DM foi prevenida pelo tratamento curcumina+metformina: a redução nos níveis de triacilglicerol e colesterol em ratos DCM foi maior que àquela observada nos tratamentos isolados. Houve aumento de quase três vezes nos níveis de MDA em plasma de ratos DIOG em comparação aos animais NIOG; os tratamentos isolados com curcumina ou metformina reduziram os níveis de MDA; já a associação metformina+curcumina (DCM) promoveu redução adicional nos níveis de MDA, em relação aos tratamentos isolados (NIOG=7.7±0.35; DIOG=21.3±1.87; DINS=7.6±1.05; DC=16.9±1.33; DM=16.6±2.02; DCM=12.9±1.59, mmol/L).

**Discussão:** Houve redução significativa na dislipidemia e no estresse oxidativo em ratos diabéticos tratados com metformina+curcumina, em comparação aos tratamentos isolados, evidenciando o potencial benéfico desta associação no combate aos distúrbios observados no DM.

Agradecimentos: FAPESP, CNPq, CAPES, PADC/FCFAr/UNESP

Palavras-chave: diabetes mellitus, iogurte enriquecido com curcumina, co-terapias, estresse oxidativo



### ISOCALORIC DIETS WITH OMEGA-9 OR FLAVONOIDS PLUS EXERCISE IMPROVE LIVER INJURY.

Furlan CPB<sup>1</sup>, Oliveira SMP<sup>1</sup>, Maróstica Júnior MR<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Unicamp - Department of Food and Nutrition

Introduction: Liver injury is strongly linked to obesity (Byrne, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 82, 265, 2010). High fat diet contributed to development of adipose tissue dysfunction and had an important role in liver injury (Duval, Diabetes, 59, 1351, 2010). Leptin and other biomarkers are important for differentiating simple fatty liver from non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) (Procaccini, Curr Pharm Des, 17, 1902, 2010). The purpose of this study was to investigate the role of omega-9 and flavonoids in diet plus exercise and the potential treatment of liver injury. Methods: Male Wistar were divided into 2 groups for seven weeks: Standard diet AIN-93G (SE) (n=4) and High-Fat 35% diet (HE) (n=20). After this period, fifteen rats from HE group were chosen after randomization and divided in 3 groups which remained in treatment for six weeks: TEO group (n=5), with 2% omega-9 (oleic + linoleic acid) from Avocado Pulp-oil cv. Hass; TEC group (n=5), in which water was replaced by aqueous extract leaves of avocado cv. Hass with 108.84 ± 2.7 mg catequin equivalentmL<sup>-1</sup>total flavonids content, ad libitum; and HTE group (n=5), without bioactive compounds. High-Fat 35% diet was replaced by AIN-93M diet and animals swam for 5 minutes/day on the last week of treatment. Formula used to calculate caloric consumption (kcal/day)was[(total protein (g) x 4) + (total lipids (g) x 9) + (total carbohydrate (g) x 4) / total weight diet consumption (g) / study days]. Leptin was performed using commercial kits. Total adipose tissue (epididimal + retroperitonel) were weighed. Liver was weighed and performed analysis of total lipids by Bligh & Dyer. Hemotoxylin and eosin were used for the histology for identification of fat droplet and Mallory-Denk Bodies. The results were expressed as mean ± SD. Paired-sample t test (p<0.05) was used. Results and discussion: Caloric intake of rats was 85.02 ± 3.74 Kcal/day. Leptin was improved in the rats fed with omega-9 (TEO) and aqueous extract of leaves rich in flavonoids (TEC), but not in rats that consumed AIN-93M plus exercise (HTE). Only rats fed with omega-9 showed reduction (-35.5%) of total adipose tissue and total lipids in the liver (p<0.05). Rats fed with aqueous leaves extract (TEC) showed less liver weight (p<0.05). Histological analysis showed the presence of Mallory-Denk Bodies in HE group typical condition in NAFLD, but without evidence of Mallory-Denk Bodies in treatment groups (TEO, TEC and HTE). However, fatty drops were present in all groups. In this way, balanced diet with addiction of bioactive compound plus exercise showed better and superior liver recovery than just a balanced diet and exercise. Besides, only diet plus omega-9 when combined with exercise (TEO) showed an important reduction of adipose tissue that promoted better effect in process of recovery liver injury.

**Funding:**Supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq grant number 300533/2014-6) and by FAPESP (grant number 2015/13320-9).



## EFEITO DA CHIA (SALVIA HISPANICA L.) SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES MELLITUS TIPO II

Oliveira CR<sup>1</sup>, Silva MF<sup>1</sup>, Figueiroa MO<sup>1</sup>, Caperuto LC<sup>1</sup>, Silveira VLF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO - Departamento de Ciências Biológicas

Introdução e Objetivos: A obesidade é uma das causas da resistência à insulina em tecidos periféricos, estando envolvida diretamente com o desenvolvimento do Diabetes mellitus tipo 2 (DM2). O DM2 está associado a fatores hereditários e ambientais e, nos últimos anos tem sido relacionado ao processo inflamatório crônico de baixo grau, caracterizado por infiltração de células inflamatórias e secreção de fatores pró-inflamatórios. O consumo de peixe e o aumento de ácidos graxos poliinsaturados do tipo n-3 (AGP n-3) na dieta têm sido associados a efeitos antiinflamatórios e benefícios para a saúde em uma série de doenças, incluindo o DM. Alguns estudos in vitro ou ex vivo têm mostrado que esses AGP, provenientes de fontes marinhas, estimulam a secreção de insulina, porém em modelos animais in vivo, tais resultados são limitados e inconsistentes. A Chia (Salvia hispânica L.), maior fonte vegetal de AGP n-3, tem sido utilizada como base da alimentação de animais para aumentar o conteúdo de AGP n-3. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo determinar o efeito da suplementação dietética com óleo de Chia sobre o consumo alimentar e calórico, ganho de peso, glicemia, teste de tolerância à glicose (GTT) e teste de tolerância à insulina (ITT), em camundongos submetidos ao modelo de DM2, induzido por dieta hiperlipídica e estreptozotocina (STZ). Metodologia: Para isso foram utilizados camundongos C57bl/6 machos com 24 semanas de idade, separados randomicamente em 3 grupos: grupo Controle alimentado por 6 semanas com dieta padrão (C; n=9), animais submetidos ao modelo de DM2 suplementados com óleo de Chia, por via oral, na dose de 1,5 g/kg/dia (HSC; n=9) e animais submetidos ao modelo de DM2 suplementados com água (HS; n=10). Para a indução do DM2, os animais eram alimentados com dieta hiperlipídica (60 % gordura) durante 6 semanas, e no final da terceira semana os animais dos grupos HS e HSC recebiam uma dose baixa de STZ (40 mg/kg/dia), durante 5 dias consecutivos, por via intraperitoneal. O peso corporal e o consumo alimentar e energético eram determinados uma vez por semana. Na última semana de tratamento os animais foram submetidos ao GTT e ITT. Resultados e Discussão: Os grupos HS e HSC apresentaram glicemia basal significativamente aumentada e desenvolveram resistência à insulina em relação ao grupo C. O consumo alimentar e energético não foi diferente entre os grupos HS e HSC, mas estes grupos apresentaram aumento significativo na ingestão calórica, embora tenham apresentado menor consumo alimentar em relação ao grupo C. A suplementação dietética com óleo de chia promoveu perda de peso corporal após a 3º semana de alimentação em relação aos grupos C e HS, não alterou a resistência à insulina, entretanto induziu melhora significativa na tolerância à glicose em relação ao grupo HS. Conclusões: Embora preliminares, os nossos resultados mostram que a suplementação dietética com óleo de Chia, por 6 semanas, promove perda de peso, e melhora a tolerância à glicose em modelo de DM2 induzido por dieta hiperlipídica e estreptozotocina.

Financiadores: FAPESP, CAPES e CNPq.



# SÍNDROME DE MAURIAC E COMPLICAÇÕES MICROVASCULARES DO DIABETES MELLITUS TIPO 1

Gerhardt CMB<sup>1</sup>, Gomes CR<sup>1</sup>, Figueiredo CC<sup>1</sup>, Neto GC<sup>1</sup>, Evangelista N<sup>1</sup>, Fernandes VT<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Hospital Infantil Darcy Vargas - HIDV - SP - Endocrinologia Pediátrica

Introdução: O diabetes mellitus tipo I (DM1) é a endocrinopatia pediátrica mais importante em nosso meio. Com o advento da insulinoterapia, cada vez menos encontramos complicações oriundas desta patologia. Todavia, pacientes com baixa aderência ao tratamento ainda fazem parte desta triste estatística. Apresentaremos o caso de uma adolescente com DM1 que desenvolveu uma rara forma da doença: a Síndrome de Mauriac (SM), devido a não aderência ao tratamento, além de complicações microvasculares da DM1.

Métodos: Relato de caso com estudo retrospectivo de prontuário.

Resultados: Paciente apresenta DM1 desde os 9 anos de idade (2006). Atualmente com 18,8 anos. Iniciou acompanhamento no HIDV em 2008. Nascida de parto gemelar, a termo e PIG (PN= 2560g, EN= 45 cm). Irmã gêmea portadora de Doença Celíaca (DC). Paciente praticava saltos ornamentais desde 2008, afastada há 2 anos. Apresentou má adesão ao tratamento desde a 1ª consulta, com aplicações irregulares de insulina e poucas glicemias capilares. Contudo, exibiu apenas um episódio de cetoacidose diabética entre 2006 e 2016. Sua hemoglobina glicada (A1C) sempre esteve > 12%, variando entre 12-17,6% (A1C de 2007 a 2016: média=15,17% mediana=16,05%). Sua estatura sempre esteve < -3 Desvios-padrão (DP), com altura final, aos 18 anos, 139cm (-3,68 DP). Exames investigatórios para a baixa estatura (BE), todos normais: cariótipo 46,XX, teste da clonidina, RNM de hipófise, ultrassom pélvico, basais hipofisários, adrenais e tireoidianos, função hepática e renal; triagens para Síndrome de Cushing e DC negativas. Em 2009 foram trocadas as insulinas NPH e Regular para Glargina e Lispro, sem sucesso. Desenvolvimento puberal: aos 10,75 anos era M2P3, mas estacionou em M3P4. Aos 15,5 anos, com BE (IGF-1 baixo), atraso puberal, esteatose hepática e hipertrigliceridemia, apresentou critérios para a SM. Com 17 anos, apresentou microalbuminúria positiva. Atualmente, ainda, com amenorréia primária. Em 2016, evoluiu com neuropatia diabética (ND: intensa dor e parestesias em membros inferiores), retinopatia diabética (RD) e piora da nefropatia diabética (NeD), com hipertensão arterial.

Discussão: Este caso visa elucidar os malefícios da baixa aderência ao tratamento do DM1. Trata-se de uma paciente de apenas 18 anos, que em 10 anos de diagnóstico, desenvolveu a SM e a tríade diabética: ND, RD e NeD. É importante garantir um seguimento multidisciplinar e acompanhamento rigoroso com especialistas para se tentar consolidar um tratamento adequado.

#### Bibliografia:

- 1. Giordano S et al. World J Diabetes. 2014 Dec15; 5 (6): 882-8. Diagnosis of hepatic glycogenosis in poorly controlled type 1 diabetes mellitus.
- 2. Oeschgef VV et al. Arch Argent Pediatr. 2014 Apr; 112 (2): e46-9. Mauriac syndrome in Argentina in the XXI century: series of 5 cases
- 3. Levitsky LL et al. M. Complications and screening in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. Up To Date [citado 2 mai 2016]. Disponível em: <a href="http://www.uptodate.com/contents/complications-and-screening-in-children-and-adolescents-with-type-1-diabetes-mellitus">http://www.uptodate.com/contents/complications-and-screening-in-children-and-adolescents-with-type-1-diabetes-mellitus</a>.
- 4. Maia, FFR et al. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002 Jun, 46 (3): 310-15. Síndrome de Mauriac: forma rara do diabetes mellitus tipo 1.
- 5. Boulton AJ, et al. Diabetes Care. 2005;28:956 Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association.



# EFEITOS DO USO ININTERRUPTO DE ANTICONCEPCIONAL HORMONAL COMBINADO ORAL SOBRE A TOLERÂNCIA A GLICOSE E ADIPOSIDADE EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

Roso de Oliveira CA<sup>1</sup>, Soares DN<sup>1</sup>, Figueiredo LS<sup>1</sup>, Araujo TR<sup>1</sup>, Henriques Blanc HN<sup>1</sup>, Ribeiro RA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro - Campus Macae

O anticoncepcional hormonal combinado oral tem por principal finalidade o controle de natalidade. Este controle é seguro, eficaz e reversível. Muitas mulheres têm utilizado estes hormônios ininterruptamente, a fim de evitar a ocorrência da menstruação e dos sintomas da tensão pré-menstrual. Não há muitas informações no que se refere a este uso ininterrupto e suas consequências no organismo. Neste estudo foi avaliado o efeito do uso ininterrupto de contraceptivo oral hormonal composto por etinilestradiol e drospirenona sobre a homeostase da glicose e os estoques de gordura de camundongos fêmeas. Camundongos fêmeas Swiss de 80 e 100 dias de vida foram distribuídas nos grupos: CTL (controle), que receberam diariamente 0,2 mL de água destilada (veículo) via gavagem durante 35 dias; ACO (anticoncepcional oral), fêmeas que receberam diariamente via gavagem 0,6 µg de etinilestradiol e 60 µg de drospirenona diluído em 0,2 mL de água destilada (dose corrigida por alometria). Todos os experimentos foram aprovados pela CEUA-UFRJ (certificado nº.: MACO27). Ao final do tratamento foi realizado o teste de tolerância à glicose (GTT) e a pesagem dos órgãos e gorduras. A expressão da subunidade β do receptor de insulina (IRβ) e da proteína quinase B/Akt foi realizada por Western blot. Os resultados foram analisados por teste t de Student (P < 0,05). Após 35 dias de tratamento com contraceptivos orais, fêmeas ACO apresentaram aumento do peso do útero [5,5±0,3 mg/g de peso corporal (PC)], baço (3,9±0,3 mg/g PC), fígado (52,1±5,1 mg/g PC) em relação aos CTL (4,1 ± 0,5, 3,1±0,3 e 34,2±4,0 mg/g PC; respectivamente). O grupo ACO teve redução no peso da gordura perigonadal (15,4±3.2 mg/g PC), porém aumento da gordura marrom (5,2±0,2 mg/g PC) comparado ao CTL (27,2±3,2 e 4,2±0,3 mg/g PC; respectivamente). Contudo, não foram evidenciadas alterações no peso corporal final (38,6  $\pm$  1,5 g), comprimento naso-anal (9,8  $\pm$  0,1 cm) e índice de Lee (345  $\pm$  6) em fêmeas ACO comparadas às CTL (39,0  $\pm$  1,5 g, 9,8 ± 0,1 cm e 348 ± 5, respectivamente). Durante o GTT foi observado menores valores de glicemia aos 15' (257±20 mg/dL), 30' (225±22 mg/dL) e 60' (139±5 mg/dL) após a injeção de glicose, no grupo ACO em relação ao CTL (378±27, 357±13, 216±16 mg/dL; respectivamente). O total da glicemia no GTT também foi menor nas fêmeas ACO (7774±1018 mg/dL.min<sup>-1</sup>) em relação às CTL (15067±1020 mg/dL.min<sup>-1</sup>). Contudo, a expressão do IRβ no fígado de fêmeas ACO foi 53% menor em relação às CTL. Não houve alteração no conteúdo proteico da fosfo (p)-Akt/Akt no fígado das fêmeas ACO (145±32 %) em relação às CTL (90±16 %). O uso contínuo de contraceptivo oral aumentou a tolerância à glicose, porém reduziu a expressão do IR no fígado. Esse efeito foi associado com a redução de tecido adiposo branco e aumento do tecido adiposo marrom. Provavelmente outras vias de sinalização como da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) pode estar mediando as ações metabólicas dos contraceptivos orais no aumento da tolerância à glicose e regulação dos estoques de tecido adiposo. Fomento: CNPq,FAPERJ



# FEATURES OF METABOLIC SYNDROME INDUCED BY CONCOMITANT FRUCTOSE AND PREDNISOLONE ADMINISTRATION IN RATS. Santos $C^1$ , Silva JS $^1$ , Rafacho A $^1$ - $^1$ Universidade Federal de Santa Catarina - Departamento de Ciências Fisiológicas/CCB

**Introduction:** Metabolic syndrome (MS) is a combination of comorbidities that may include abdominal obesity, insulin resistance (IR), dislipidemia, high blood glucose and hypertension. Fructose-enriched diets, as well as glucocorticoids (GCs) may impair glucose and lipid metabolism. There is no evidence of the impact of these insults on metabolism when administered concomitantly. Thus, we evaluated the effects of concomitant consumption of fructose and prednisolone on the glucose and lipid metabolism and if the alterations found are permanent or transient.

**Methods**: For this, 40-days old Wistar male rats were divided into the following groups: control (Ctl), fructose-treated (20% in drinking water) (Fru), prednisolone-treated (12.5  $\mu$ g/ml in drinking water) (Pred) and the fructose/prednisolone combination (FruPred). All groups were treated for 90 days. A fifth group (FruPredRev) was maintained for 3 months after treatment interruption to check for any reversibility of alterations.

**Results:** The FruPred and Pred groups exhibited decreased weight gain, whereas FruPred and Fru had concomitant reduction in food intake and increased water consumption (n=10, p<0.05), which resulted in an isocaloric balance. No alteration in fasting blood glucose and in glucose tolerance was observed, however the FruPred and Fru groups had hypertriacylglyceridemia associated with increased visceral fat mass and hepatic fat content (n=10, p<0.05 only for FruPred). The constant for glucose decay (kITT), obtained during an ipITT, revealed a reduction in insulin sensitivity in FruPred and Pred groups, as well as fasting hiperinsulinemia. Moreover, the FruPred group exhibited impairments in insulin signaling, as evidenced by decreased total AKT protein content in liver (n=6, p<0.05). All these results seem to be reversed after 3 months of treatment interruption. **Discussion:** Altogether, we concluded that concomitant glucocorticoid and fructose administration triggers some MS features and

**Discussion:** Altogether, we concluded that concomitant glucocorticoid and fructose administration triggers some MS features and most of them are reversed with the withdrawn of the insults.

Acknowledgements: CNPQ and UFSC



## O TRATAMENTO COM OSTEOCALCINA EM CAMUNDONGOS OBESOS MELHORA A RESISTÊNCIA À INSULINA E REDUZ A INFLAMAÇÃO NO TECIDO ADIPOSO BRANCO

Guedes JAC<sup>1</sup>, Machado UF<sup>1</sup>, Furuya DT<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas

**Introdução**: A fascinante descoberta de que o esqueleto possui função endócrina é ainda muito recente. Muito pouco se conhece sobre os mecanismos moleculares da osteocalcina, uma proteína sintetizada por osteoblastos, sobre o metabolismo energético. Assim, o presente estudo teve como objetivo estudar as ações da osteocalcina não carboxilada em camundongos obesos sobre a resistência à insulina *in vivo* e sobre a expressão de genes envolvidos nesse processo, bem como sobre parâmetros bioquímicos. **Métodos**: Camundongos obesos por glutamato monossódico foram tratados por 28 dias com osteocalcina na forma descarboxilada e submetidos ao teste de tolerância à insulina *in vivo*, bem como à coleta de sangue (análises bioquímicas) e tecido adiposo branco (TAB) periepididimal (análise do conteúdo de mRNA por PCR quantitativo).

Resultados: Os animais obesos tratados com osteocalcina tiveram redução do tamanho do TAB (17%, P<0,05), além de redução de colesterolemia (24%, P<0,05), mas não apresentaram alteração dos níveis glicêmicos e nem insulinêmicos em relação aos animais obesos não tratados. Interessantemente, o tratamento com osteocalcina melhorou significativamente a resistência à insulina in vivo dos animais obesos, além de recuperar a expressão da proteína GLUT4, e de seu respectivo mRNA. Quanto à expressão gênica de fatores pró-inflamatórios, a osteocalcina reduziu a expressão do fator de necrose tumoral α (60%, P<0,05), da interleucina 1 (95%, P<0,05), da interleucina 6 (68%, P<0,05), e da proteína quimiotática de monócito 1 (52%, P<0,05) em relação aos animais obesos não tratados. De forma inédita, foi observado que o TAB expressa o gene que codifica para osteocalcina, o que se pensava ser exclusivo do tecido ósseo. No TAB de animais obesos, foi verificado que a expressão do gene da osteocalcina encontra-se reduzido em relação a animais controle (67%, P<0,05); por outro lado, o tratamento com osteocalcina em animais obesos foi capaz de aumentar a sua própria expressão no TAB (30 vezes vs controle, 68 vezes vs obeso não tratado, P<0,05). Por fim, foi observado que o TAB não expressa o gene que codifica para a proteína GPRC6A, o receptor putativo de osteocalcina. Discussão: Os dados obtidos demonstraram que a osteocalcina melhora a resistência à insulina em animais obesos, o que pode ser explicado pela recuperação da expressão de GLUT4, bem como a redução da expressão de genes pró-inflamatórios no TAB. Além disso, a osteocalcina induz a sua própria expressão no TAB, o que pode contribuir para aumentar a ação da mesma nesse território. A ausência da expressão do receptor putativo de osteocalcina GPRC6A indica que esse hormônio, no TAB, age por meio de outro receptor ainda não identificado.

**Apoio financeiro:** FAPESP 12/04831-1, 13/18841-1, 14/10007-5, 15/01576-9.



# OSTEOCALCINA RECUPERA A EXPRESSÃO DO TRANSPORTADOR DE GLICOSE *Slc2a4/*GLUT4 EM ADIPÓCITOS INDUZIDOS COM FATOR DE NECROSE TUMORAL

Guedes JAC<sup>1</sup>, Machado UF<sup>1</sup>, Furuya DT<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas

Introdução: A osteocalcina, uma proteína secretada por osteoblastos, tem sido recentemente associada à melhora do metabolismo de glicose, mas muito pouco se conhece sobre os mecanismos moleculares envolvidos nesse processo. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da osteocalcina sobre a expressão de genes relacionados à resistência à insulina e inflamação em adipócitos induzidos ou não com fator de necrose tumoral alfa (TNF), e a possível expressão do gene da osteocalcina por esse tipo celular.

Métodos: Adipócitos da linhagem 3T3-L1 foram incubados com osteocalcina na forma descarboxilada, TNF ou osteocalcina descarboxilada/TNF. O conteúdo de mRNA foi analisado por PCR quantitativo e de proteína, por Western blotting. Resultados: O tratamento crônico com somente osteocalcina aumentou a expressão de genes relacionados a melhora da resistência à insulina, tais como o gene que codifica para o transportador de glicose GLUT4 (Slc2a4, 71%, P<0,05) e a adiponectina (Adipoq, 22%, P<0,05). A osteocalcina também foi capaz de aumentar a expressão da proteína GLUT4 (75%, P<0,05). Por outro lado, a indução com TNF reduziu drasticamente a expressão dos genes Slc2a4 e Adipoq (60% e 68%, P<0,05, respectivamente), e da proteína GLUT4 (50%, P<0,05). Interessantemente, a osteocalcina foi capaz de reverter o efeito negativo de TNF sobre a expressão do gene Slc2a4 e da proteína GLUT4, mas não sobre a expressão de adiponectina. Com relação aos genes pró-inflamatórios, foi observado que células 3T3-L1 não expressam o gene que codifica para TNF. Além disso, o tratamento com osteocalcina não alterou a expressão da proteína quimiotática de monócito 1. Outro dado inédito foi a constatação de que adipócitos 3T3-L1 expressam em quantidade considerável o gene que codifica a osteocalcina; e ainda, a osteocalcina aumenta a expressão do seu próprio gene (35%, P<0,05), o qual tem sua expressão reduzida por TNF (20%, P<0,05). Foi detectado também nessa linhagem celular a expressão do gene que carboxila a osteocalcina (Ggcx), o que conduz à formação da osteocalcina carboxilada, que é a forma que não está relacionada com as ações endócrinas da molécula. Nenhum dos tratamentos relacionados alterou a expressão de Ggcx. Por fim, foi observado que células 3T3-L1 não expressam o gene que codifica para a proteína GPRC6A, o receptor putativo de osteocalcina.

**Discussão**: Nossos dados apontam que parte dos efeitos benéficos da osteocalcina não carboxilada sobre o metabolismo de glicose deve-se ao aumento da expressão de *Slc2a4*/GLUT4 em adipócitos. Na literatura, a síntese de osteocalcina é restrita a osteoblastos. Nesse trabalho, foi observado que os adipócitos além de expressarem o gene que codifica para osteocalcina, o mesmo tem sua expressão induzida pela própria osteocalcina, o que possivelmente potencializa os efeitos da osteocalcina. A ausência do gene que codifica para o receptor putativo de osteocalcina em células 3T3-L1 indica que esse hormônio tenha suas ações por meio de outro receptor ainda não identificado.

**Apoio financeiro:** FAPESP 12/04831-1, 13/18841-1, 14/10007-5, 15/01576-9.



Portadores de diabetes mellitus tipo 1 com neuropatia autonômica cardiovascular apresentam maiores concentrações plasmáticas de leucotrieno B4 em relação a pacientes sem essa complicação.

Santos-Bezerra DP<sup>1</sup>, Filgueiras LR<sup>2</sup>, PerezRV<sup>1</sup>, Admoni SN<sup>1</sup>, Jancar S<sup>2</sup>, Corrêa-Giannella ML<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Laboratório de Endocrinologia Celular e Molecular (LIM25), <sup>2</sup>Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - Departamento de Imunologia

Introdução: Já é bem estabelecido que pacientes com diabetes tipo 1 (DM1) apresentam uma inflamação crônica de baixa intensidade conhecida como inflamação estéril. Nesses indivíduos, o fator de transcrição NF-kB está ativado cronicamente nos leucócitos circulantes e, consequentemente, há uma produção basal de citocinas como TNF? e IL-1?, que estão envolvidas na patogênese das complicações crônicas do diabetes. Recentemente foi demonstrado em modelo animal que tanto a deficiência de insulina como a hiperglicemia induzem a produção do mediador lipídico leucotrieno B4 (LTB4) por meio da ativação da enzima 5-lipoxigenase (5LO). Esse mediador inflamatório, via seu receptor de alta afinidade BLT1, potencializa a produção de citocinas por aumentar a expressão de *MyD88*, molécula adaptadora da maioria dos receptores do tipo *toll* e do receptor de IL-1?. Além disso foi demonstrado que o LTB4 induz retinopatia diabética (RD) em camundongos com DM1.

<u>Objetivos:</u> Avaliar se o eixo LTB4/MyD88 está associado à presença de RD, de doença renal diabética e de neuropatia autonomia cardiovascular (NAC) em pacientes com DM1.

<u>Método:</u> As concentrações plasmáticas de LTB4 foram dosadas por ELISA (Caymam Chemical). A expressão de *LTBR1*, *ALOX5* (genes que codificam BLT1 e 5LO, respectivamente) e *MYD88* foi determinada por qPCR (sistema Taqman®, Applied) em células linfomononucleares de sangue periférico de pacientes com DM1 (idade mediana = 34,5 anos; 62% sexo feminino, mediana da duração do DM1= 20 anos e mediana da HbA1c = 8,16%). Um total de 20 indivíduos saudáveis foi incluído como controles (idade= 30 anos; 80% do sexo feminino).

Resultados: Comparando os grupos DM1 e controle, não houve diferença nas concentrações plasmáticas de LTB4, porém os pacientes com NAC apresentaram concentrações mais elevadas desse mediador em relação aos pacientes sem essa complicação após ajuste para sexo, idade, tempo de DM, HbA1c, presença de hipertensão e trigliceridemia (p=0,0059). Os pacientes DM1 apresentam maior expressão gênica de *LTBR1* (p=0,0006) e menor expressão de *MYD88* (p=0,0024) quando comparados ao grupo controle. A expressão da *ALOX5* não diferiu entre os grupos e a expressão de *LTB4R* correlacionou-se positivamente com a expressão de *ALOX5* (ρ Spearman=0,77 e p<0,0001). Os pacientes sem RD apresentam maior expressão de *MYD88* quando comparados aos pacientes com RD (p=0,01).

<u>Discussão</u>: O LTB4 não se associou à presença de RD em pacientes DM1. Por outro lado, as maiores concentrações desse mediador nos pacientes com NAC sugere que a inflamação estéril pode estar envolvida na patogênese dessa complicação. Como a insulina inibe a expressão de *Myd88* em macrófagos de camundongo, a menor expressão desse gene nos pacientes com DM1 pode ser secundária à insulinoterapia, e estudos adicionais são necessários para esclarecermos porque os pacientes com RD apresentaram menor expressão desse gene.



# GABA-A RECEPTOR IS AN IMPORTANT GENE NODE IN LYMPHOMONONUCLEAR CELLS FROM PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Rassi DM¹, Foss-Freitas MC, Foss MC, Passos GA, Donadi EA - ¹Faculdade de medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - Clínica Médica

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a major inhibitory neurotransmitter primarily produced by neurons and pancreatic beta cells. GABA functional receptors (GABR) are expressed in brain, pancreas and peripheral blood lymphomononuclear cells (PBMC). After evaluating the differential gene expression in PBMC of recently diagnosed type 1 diabetes mellitus patients (T1D), three GABRA networks were observed, modulating the expression dozen of genes. The study was conducted on T (CD4+ and CD8+) and monocyte (CD14+) cells obtained from 20 pre-pubertal patients and 20 age- and sex-matched healthy controls, using cDNA microarrays. Significant and differentially expressed genes, revealed using the SAM program, were studied for gene networks (GeneNetwork 1.2 algorithm). Three different GABR subunit class genes (alpha1, alpha6 and beta1) up-regulated the expression of the genes related to cell cycle (CNNB1-cyclin M1, STOM-stomatin), apoptosis control (FAS-TNF receptor superfamily, BAT3-HLA-B associated transcript 3), cellular receptor (IL1RAP- interleukin 1 receptor accessory protein, BCAP29-B cell receptor, IK cytokinedown-regulator of HLA II), complement control (CD93-C1q receptor), glucose metabolism (PFKFB2-6-phosphofructo-2kinase/fructose-2,6-biphosphatase 2), insulin receptor (INSR), oncogenes (RHOG-ras homolog gene family, RAB6-member RAS oncogene family), ubiquitins (UBC-ubiquitin C, UBE2Z-ubiquitin-conjugating enzyme E2Z, UBR4-ubiquitin protein ligase E3 component n-recognin 4, and UBAP-ubiquitin associated protein 1), growth factor (COL6A2-collagen, alpha 2, FGF13-fibroblast growth factor 13, FGF9-Fibroblast growth factor 9) among others. Although the role of GABA in the pathogenesis of diabetes has not been established, some studies have shown that GABA down regulates many immune system functions. This study further reports that PBMC may reflect the ongoing diabetes pathogenesis, and further discriminates several other genes with potential interest for T1D.

Financial Support from CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)



### COENZYME Q10 PROTECTS AGAINST BETA CELL DYSFUNCTION AND DEATH INDUCED BY PRAVASTATIN TREATMENT.

Lorza-Gil E<sup>1</sup>, Salerno AG<sup>1</sup>, García-Arévalo M<sup>1</sup>, Trigo JR<sup>2</sup>, Oliveira HCF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Biology Institute, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil. - Department of Structural and Functional Biology, <sup>2</sup>Biology Institute, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil. - Department of Animal Biology

Introduction and Objectives: Statins are widely prescribed cholesterol-lowering agents, which have been demonstrated to significantly reduce cardiovascular morbidity and mortality (1). Although statins are considered to be safe, recent studies suggest that statins are associated with an increased risk of developing Type 2 diabetes (T2D) (2). The precise mechanisms to explain the association between statins and T2D have no yet been identified (3). By inhibiting HMG-CoA reductase, statins also inhibit the generation of cholesterol biosynthesis intermediates like Coenzyme Q10 ( $CoQ_{10}$ ).  $CoQ_{10}$  is an essential part of the mitochondrial respiratory chain, and also acts as antioxidant. We have recently showed that pravastatin treatment of hypercholesterolemic LDL receptor knockout (LDLr<sup>-/-</sup>) mice resulted in marked reductions of glucose-stimulated insulin secretion and increased cell death (4). Here, we investigated whether supplementation of CoQ<sub>10</sub> could rescue impaired insulin secretion and cell death induced by pravastatin in vitro and in vivo. Methods: Female LDLr<sup>-/-</sup> mice were treated with pravastatin (40 mg/kg) and/or Coenzyme Q10 (3g/kg diet) during 2 months. Levels of CoQ10 in liver, glucose stimulated insulin secretion and indicators of apoptosis in islet were determined. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and death cell were measured in INS1E cells supplemented with pravastatin and/or CoQ10. Results: Pravastatin treatment resulted in a 50% decrease of CoQ<sub>10</sub> hepatic levels in LDLr<sup>-/-</sup> mice. CoQ<sub>10</sub> supplementation in LDLr<sup>-/-</sup> mice reversed fasting hyperglycemia of pravastatin treated mice as well as improved their glucose tolerance. Additionally, the reduction in glucose stimulated insulin secretion observed in pravastatin-treated mice was corrected in mice supplemented with CoQ<sub>10</sub>. Finally, supplementation with 5 and 10 μM of CoQ10 in INS1E cells decreased cell death (indicated by cleaved caspase-3 and propidium iodide staining) and oxidative stress (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production rate) induced by the treatment with pravastatin. Conclusions: Our results suggest that the inhibition of the synthesis pathway of coenzyme Q10 by statins impairs beta cell viability and insulin secretion which can be reversed by  $CoQ_{10}$  diet supplementation. The  $CoQ_{10}$  deficiency of beta cell may contribute to the observed increase in risk of T2D during statin treatment.

## References:

- 1. Gotto A.M., et al. Nat Rev Cardiol 10:560-70, 2012
- 2. Sattar N.A., et al. Atheroscler Suppl 15:1-15, 2014
- 3. Chan C.D., et al. Curr Atheroscler Rep 17:472, 2015
- 4. Lorza-Gil E., et al. Toxicology 344:42-52 2016

Supported by: FAPESP, CNPq, CAPES.



Avaliação da proporção basal/bolus e sua relação com controle glicêmico e peso em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 sob regime de insulinoterapia intensiva.

Moraes GM¹, Parisi MCR², Pavin EJ², Neto AM² - ¹1. Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil, ²Faculdade de Ciências Medicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil - Disciplina de Endocrinologia, Departamento de Clínica Médica

Introdução: Diretrizes sobre o tratamento do diabetes mellitus tipo 1 (DM1) orientam que a insulinoterapia intensiva deveria ser realizada através da divisão da dose total aplicada em duas partes iguais, sendo metade usada sob a forma de insulina basal e metade sob a forma de insulina bolus, de forma a simular a secreção fisiológica de insulina. Entretanto, na prática clínica há frequentemente claro predomínio de dose basal. O objetivo desse estudo é analisar se variações na proporção basal/bolus tem impacto na hemoglobina glicada e peso. Métodos: Estudo retrospectivo, por análise de prontuário de pacientes portadores de DM1 em acompanhamento no ambulatório de Endocrinologia do HC-Unicamp há pelo menos 1 ano. No total 105 pacientes consecutivos foram avaliados, e os 93 que não estavam em regime terapêutico de contagem de carboidratos foram incluídos na análise final. Foram coletados dados clínicos como sexo, idade, IMC, tempo de doença e presença de outras comorbidades e complicações do DM (neuropatia, nefropatia e retinopatia), além de dados da prescrição há 2 anos, há 1 ano e os atuais (regime terapêutico, dose e tipo de insulina utilizada, proporção basal/bolus e níveis de hemoglobina glicada). As variações foram calculadas pela diferença entre os valores presentes há 1 ano e os valores atuais de peso, hemoglobina glicada e proporção basal/bolus. Resultados: Dos 93 pacientes, 20,4% eram do sexo masculino e 79,6% do feminino; 77,6% eram brancos, 19,4% pardos e 3% negros. Foi observada mediana (intervalo interquartil) de idade de 32 anos (22,5-41), hemoglobina glicada de 8,8% (7,75-10,05), tempo de doença de 17 anos (9-23), IMC de 25,69kg/m<sup>2</sup> (21,3-29,6). Tabagismo foi observado em 11,8%, hipertensão arterial em 34,4% e dislipidemia em 34,4%. Adicionalmente, verificou-se que 43,5% apresentavam nefropatia, 26,9% neuropatia e 50,5% retinopatia. A mediana da dose diária de insulina atual foi 0,74Ul/kg/dia (0,54-0,96) e a relação basal/bolus atual 63,6% (58,31-70,0). Observou-se correlação significativa entre IMC e dose basal (r=0,45 e p<0,001) e dose bolus (r=0,36 e p=0,001). Houve também correlação significativa entre as variações de 1 ano da proporção basal/bolus e do peso (r=0,24 e p=0,024) e da hemoglobina glicada (r=0,34 e p=0,001). A regressão linear verificou os fatores que influenciaram a variação de hemoglobina glicada e peso em 1 ano. O modelo foi ajustado por sexo, idade, presença de nefropatia e insuficiência renal terminal, além da variação de 1 ano da proporção basal/bolus, hemoglobina glicada e peso. A variação da proporção basal/bolus foi preditor independente da variação de hemoglobina glicada (B=0,07; IC 95% 0,04-0,1; p<0,001) e do peso (B=0,45; IC 95% 0,35-0,67; p=0,001). Discussão: Diferentemente do que é preconizado pelas diretrizes, a proporção basal/bolus é alta mesmo em serviço especializado. O aumento da proporção de insulina basal em relação ao bolus associou-se a aumento da hemoglobina glicada e do peso. Assim, deve-se dar mais atenção à necessidade de reajustes da insulina bolus no manejo de pacientes com DM1.



# REDUÇÃO DA ARHGAP21 MELHORA PARÂMETROS METABÓLICOS DE CAMUNDONGOS C57BL/6 SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA

Soares GM<sup>1</sup>, Silva FR<sup>1</sup>, Saad ST<sup>2</sup>, Boschero AC<sup>1</sup>, Barbosa-Sampaio HC<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Unicamp - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP., <sup>2</sup>Unicamp - Centro de Hematologia e Hemoterapia, HEMOCENTRO, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

INTRODUÇÃO: A função principal da célula β consiste em secretar insulina, cuja secreção é estimulada por nutrientes, em especial a glicose. Os fatores de ribosilação do ADP ou ARFs estão envolvidos na remodelação do citoesqueleto e fusão da vesícula à membrana plasmática em processos secretórios, o que torna essas proteínas possíveis alvos relacionados ao controle da secreção de insulina na célula β. Demonstramos que a ARHGAP21, uma proteína ativadora de função GTPase (GAP), controla a secreção de insulina em ilhotas de camundongos neonatais através da reorganização do citoesqueleto de actina. Assim, para avaliar o papel da ARHGAP21 na homeostase glicêmica, utilizou-se como modelo camundongos heterozigotos para a ARHGAP21 que foram submetidos à dieta rica em gordura para indução de características pré-diabéticas. MÉTODOS: Camundongos C57BL/6 foram separados em: animais controle (Ctl) e animais heterozigotos para ARHGAP21 (Het), que receberam dieta padrão ou dieta hiperlipídica (Ctl HFD e Het HFD). Foram realizados controle do peso corporal, teste de tolerância a glicose (ipGTT) e teste de tolerância a insulina (ipITT). Foram avaliados o peso da gordura perigonadal, triglicerideos (TG) e colesterol (COL) sérico e secreção de insulina em ilhotas isoladas. Foi verificada colocalização de ARF1 e ARF6 com a insulina em ilhotas e interação de ARF6 e ARHGAP21 por imunopreciptação em linhagem de célula β INS-1E. **RESULTADOS:** Os animais Ctl HFD apresentaram intolerância à glicose, resistência à insulina, aumento no ganho de peso corporal e no peso da gordura perigonadal, e aumento na concentração de COL sérico, sendo que todos esses parâmetros foram diminuídos nos animais Het HFD. A secreção de insulina, estimulada por carbacol, foi maior no grupo Het em comparação ao Ctl. Além disso, no ensaio de imunopreciptação, foi verificado que estimulação com alta concentração de glicose (16.7 mM) leva a diminuição da interação entre ARF6 e ARHGAP21. Foi observado também, que há colocalização entre as ARFs e insulina nas ilhotas de animais Ctl e Het. DISCUSSÃO: Os animais HFD apresentaram as características inerentes ao consumo da dieta rica em gordura. Porém, os animais Het HFD parecem apresentar algum mecanismo de proteção contra alguns dos efeitos deletérios da dieta. Como a ARHGAP21 ativa a hidrólise de GTP à GDP e inativa as ARFs, especulamos que alguns desses resultados podem estar relacionados ao aumento da ativação das ARFs nos animais Het. Já foi demonstrado que a ARF-6 induz a translocação de GLUT-4 para a membrana do adipócito, o que sugere um aumento da captação de glicose circulante e melhora nos quadros de intolerância e resistência observados nos animais Het HFD. Além disso, o aumento da secreção de insulina em ilhotas dos animais do grupo Het, estimuladas com carbacol, sugere possível maior ativação e interação da ARF com o receptor M3, e consequente potencialização da secreção de insulina. Foi observado também, em linhagem de célula β, que em presença de alta concentração de glicose, a interação entre ARF6 e ARHGAP21 é menor, sugerindo que a ARHGAP21 seja um controlador negativo da secreção de insulina.

ENTIDADES FINANCIADORAS: CNPq, Capes e Fapesp.



POMC expression modulation in the hypothalamus of mice and effect on food intake after interleukin 17 administration Nogueira  $GAS^1$ , Solon  $C^1$ , Velloso  $L^1$  -  $^1$ UNICAMP - Fisiopatologia Médica

Interleukin 17 (IL-17) is involved in the regulation of distinct aspects of the immune response in mammals. Because IL-17 is produced in the gut and can be modulated by dietary factors and the landscape of gut microbiota, we hypothesized it could be involved in the regulation of the hypothalamic function. To explore this hypothesis, we treated mice with IL-17 ICV and intraperitoneally and evaluated a number of parameters related to hypothalamic function. First, in immunofluorescence staining and real-time PCR we detected no expression of IL-17 in the hypothalamus. However, IL-17 receptor (IL-17RA) is highly expressed in the neurons of the hypothalamus. C57BL/6 and *Swiss albinus* mice were fed on regular chow. Dose-response assay was performed with different IL17 peptide single doses (0.25, 0.50 and 1.00 µg) administrated via IP, and hypothalami were collected after 2 hours of stimulus. In time-course assay, single dose of IL17 (0.5µg) was administrated via IP and hypothalamus were collected after 1, 2, and 6 hours. Hypothalamic neuropeptides and *IL17RA* mRNA expression were analyzed by RT-PCR. In dose-response assay no significant difference was observed for any gene and dose evaluated. We observed significant increased expression of *POMC* after 2 hours in IP administration in time-course assay. In *Swiss albinus* mice, ICV injection of IL17 resulted in reduced spontaneous food intake, which was accompanied by a tendency of increased hypothalamic expression of *POMC* and *MCH*. Our data suggest that IL17 could be involved with control feeding and hypothalamic energy homeostasis.



IMPACTO DO NOVO PROTOCOLO DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS GESTACIONAL (DMG), PROPOSTO PELA ADA (2011), NA OCORRÊNCIA DE DMG E DE HIPERGLICEMIA GESTACIONAL LEVE E NOS RESULTADOS PERINATAIS

Guerra HM<sup>1</sup>, Lisboa EG<sup>1</sup>, Silva IP<sup>1</sup>, Devitte GP<sup>1</sup>, Sirimarco MP<sup>1</sup>, Vernini JM<sup>1</sup>, Cassetari BFN<sup>1</sup>, Calderon IMP<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Introdução: desde agosto de 2011 o Serviço Especializado de Diabetes e Gravidez da Faculdade de Medicina de Botucatu/Unesp (SEDG-FMB/Unesp) adotou o novo protocolo diagnóstico para o DMG recomendado pela ADA/IADPSG. Entretanto, o Perfil Glicêmico (PG) continuou associado ao TOTG 75g para diagnosticar a Hiperglicemia Gestacional Leve (HGL), reconhecida e tratada em nosso Serviço como se fosse DMG. A controvérsia sobre o custo-benefício do novo protocolo da ADA/IADPSG e a dúvida sobre a necessidade de manutenção do PG no protocolo do Serviço justificam o presente estudo. O objetivo foi avaliar o impacto do novo protocolo da ADA/IADPSG na prevalência de HGL e de DMG, na ocorrência de resultados perinatais adversos (RPNA) e na associação TOTG 75g e PG para diagnóstico de HGL no SEDG-FMB/Unesp. Métodos: estudo de corte transversal, incluindo gestantes e seus recém-nascidos (RN), submetidas aos protocolos diagnósticos e que realizaram pré-natal e parto no Serviço antes (janeiro de 2008 a 14 de agosto de 2011) e após (15 de agosto de 2011 a dezembro de 2014) a mudança do protocolo, definindo uma amostra por conveniência. Considerando os dois períodos, foram comparadas a prevalência de DMG e de HGL e a ocorrência de RN-GIG, macrossomia, primeira cesárea e tempo de internação dos RN. Na análise estatística foram utilizados análise de Poison e teste de t-Student, teste do Qui-quadrado ou Exato de Fischer e cálculo de risco (RR e IC 95%) para os desfechos avaliados. O limite de significância foi de 95% (p < 0,05). Resultados: o novo protocolo resultou em aumento de 85% no número de mulheres com DMG e deixou de identificar 17,3% do total de gestantes que mantiveram o diagnóstico de HGL apesar do TOTG 75g normal. O novo protocolo ADA/IADPSG não influenciou o desfecho perinatal. Discussão: esses resultados reforçam a validade da manutenção do PG no protocolo diagnóstico do SEDG-FMB/Unesp. Para concluir sobre o custo-benefício do novo protocolo, são necessários grandes estudos, multicêntricos e com tamanho amostral adequado. Financiamento: Fapesp



# ASSOCIAÇÃO DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL COM O RISCO DE DESENVOLVIMENTO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2 E DO CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM PACIENTES ATENDIDOS NOS SÁBADOS DE SÁUDE

Ferreira HB<sup>1</sup>, Paula DA<sup>1</sup>, Laizo A<sup>2</sup>, Moreira RO<sup>3</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Juiz de Fora - Acadêmico de medicina, <sup>2</sup>Faculdade de Medicina de Juiz de Fora - Professor doutor de prática médica, <sup>3</sup>Faculdade de Medicina de Juiz de Fora - Professor Doutor de Endocrinologia da Faculdade de Medicina de Juiz de Fora

Introdução: O diabetes mellitus 2(DM2) é uma condição clínica decorrente resistência periférica à insulina e, progressiva falência pancreática, ocasionada por mecanismos mediados pelas adipocinas inflamatórias. O tecido adiposo visceral eleva a síntese de muitas adipocinas, sendo que essas, apresentam fundamental papel na fisiopatogênese do diabetes mellitus 2, da inflamação sistêmica, da aterogênse e da hipertensão arterial sistêmica. Metodologia: Estudo retrospectivo da medida de prevalência do Diabetes Mellitus 2, avaliação dos níveis de pressão arterial sistêmica (PAS) estratificando os mesmos de acordo com as faixas de Índice de massa corporal (IMC), com cálculo razão de chances/Odds (OR), tendo a obesidade como fator de risco para o desenvolvimento da DM2 e HAS. O presente estudo foi realizado a partir de 1113 consultas, sendo o grupo amostral em questão de 779 pacientes, cujos dados coletados voluntariamente em 13 Sábados de Saúde do Grupo de Estudos sobre a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, entre 2012-2015. **Resultados:** Estratificado os pacientes de acordo com o IMC, observou-se, que considerada a faixa de pacientes eutróficos como referência estatística para a razão de Odds ou de chances, os pacientes abaixo do peso tinham 9,7% mais chance de ser não diabético e 63% menos chance de ser diabético. Enquanto, os pacientes obesos graus I, II e III, respectivamente, apresentaram 66,6%, 62,2% e 42,4% mais chance de ser diabético mellitus tipo 2. Quanto aos níveis pressóricos, percebeu-se em relação à pressão arterial média (PAM) e sistólica (PAS): os pacientes eutróficos apresentavam um valor médio da PAM de 97,1mmHg e PAS de 124,4mmHg, já os obesos grau I, II e III, apresentaram, respectivamente, PAM de 101,4mmHg, 100,7mmHg e 100,1mmHg e a PAS desses foi na seguinte ordem: 130,7mmHg, 131,6 mmHg e 134,6mmHg. Em relação à proporção dos pacientes de acordo com IMC, 5,2% abaixo do peso, 35,8% eutrófico, 27,21% sobrepeso, 18,99% de obeso grau I, 7,18% de obeso grau II, 5,26% de obeso grau III, já os superobesos representaram 0,3% da amostra. Quanto à glicemia aleatória medida, nenhum dos grupos apresentava valores médios superiores a 200mg/dL, contudo, enquanto os nãos diabéticos apresentaram valores de glicemia média entre 107mg/dL e 124mg/dL, nos sabidamente diabéticos, esses foram de 131mg/dL à 185mg/dL. Discussão: O estudo em presente questão sugere que, assim como as evidencias de estudos coorte na literatura, quanto maior o IMC, maiores são os efeitos diretos sobre a pressão arterial, controle glicêmico e chance de ser diabético. Isso fica elucidado ao âmbito de que, os pacientes com IMC superiores a 30Kg/m², apresentarem no presente estudo significativo aumento na chance de ser diabético, com valores superiores à 50%. Logo, sugere que os efeitos da inflamação crônica do tecido adiposo apresenta correlação com a resistência a insulina, diabetes mellitus 2 e controle glicêmico. O mesmo é notado com o controle da PAS, na qual há um aumento em até 10mmHg na média da pressão sistólica dos pacientes estudados, a medida que o IMC se eleva.



# TALOS E FOLHAS DE BETERRABA (Beta vulgaris L.) ATENUAM O STRESS OXIDATIVO EM ANIMAIS SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA.

Lorizola IM<sup>1</sup>, Portovedo M<sup>1</sup>, Milanski M<sup>1</sup>, Bezerra RMN<sup>1</sup>, Furlan C<sup>2</sup>, Capitani CD<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Ciências Aplicadas - UNICAMP - Faculdade de Ciências Aplicadas - UNICAMP, <sup>2</sup>Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP - Alimentos e Nutrição - DEPAN

Introdução: A obesidade é uma doença crônica de causa multifatorial caracterizada pelo desequilíbrio entre a ingestão energética e o gasto de energia com consequente aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio. Os compostos bioativos com atividade antioxidante, presentes em hortaliças e frutas, podem minimizar os problemas secundários à obesidade, aumentar a qualidade de vida e reduzir as taxas de mortalidade. Nesse sentido, a beterraba (*Beta vulgaris* L.) se destaca pela presença de betalaínas e derivados de compostos fenólicos com atividade antioxidante. Contudo, são poucos trabalhos que analisam as propriedades de talos e folhas de beterraba, apesar de apresentarem quantidade expressiva de fenólicos totais (1,8 mg EAG/100g) e atividade antioxidante. O seu uso poderia minimizar o desperdício e trazer benefícios para a saúde. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de talos e folhas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) adicionados à dietas controle e hiperlipídica no stress oxidativo de camundongos.

Metodologia: Camundongos Swiss, machos, recém-desmamados foram divididos em seis grupos: grupo controle (CT); controle adicionado de extrato de talo e folha de beterraba (190 ml) (CTEX); controle adicionado de folhas e talos de beterraba desidratados (CTFL) (0,5%); hiperlipídico (HL – 60% lipídios); hiperlipídico adicionado de extrato de talo e folha (HLEX) (190 ml); hiperlipídico adicionado de folhas e talos de beterraba desidratados (HLFL) (0,5%). Os animais receberam a dieta e água *ad libitum* por 8 semanas e ao final foram avaliados o ganho de peso, ingestão alimentar, glicemia de jejum, peso hepático, colesterol sérico, atividade das enzimas antioxidantes hepáticas (Superóxido dismutase - SOD, Glutationa Peroxidase - GPx e Glutationa Redutase - GR) e concentração de malondialdeído (MDA) hepático.

Resultados e Discussão: Observou-se maior ganho de peso (②) nos animais HL comparados ao grupo controle (p<0,05). A adição de talos e folhas desidratados (HLFL) promoveu redução de peso hepático em relação ao HL e redução da glicemia de jejum, bem como nos níveis de colesterol total (p<0,05). A adição de talos e folhas de beterraba na dieta hiperlipídica reduziu a concentração de MDA comparados ao grupo HL. Não houve alteração nos valores de GSH e SOD hepáticas entre os grupos com HL e os suplementados (p>0.05). Contudo, houve redução dos valores de GPx e de GR em comparação ao grupo HL. Diante do exposto, observou-se, que a presença de compostos fenólicos proveniente dos talos e folhas de beterraba atenuou o stress oxidativo em animais submetidos à dieta hiperlipídica.

Agradecimentos: Trabalho financiado pela FAPESP (Processo: 2013/18498-5 e Processo 2015/15035-0)



# MORFOFUNÇÃO PANCREÁTICA ENDÓCRINA NA PROLE DE CAMUNDONGOS MACHOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA (HFD) E SUPLEMENTADOS COM TAURINA

Freitas IN<sup>1</sup>, Magalhães EA<sup>1</sup>, Araujo TR<sup>1</sup>, Vettorazzi JF<sup>2</sup>, Carneiro EM<sup>2</sup>, Ribeiro RA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFRJ/Macaé - Laboratório de Morfologia, <sup>2</sup>UNICAMP - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

A ingestão de dieta HFD resulta em obesidade e prejuízo na homeostase da glicose. O aminoácido taurina (Tau) participa do controle do gasto energético corporal e controle glicêmico. Neste estudo, avaliamos a adiposidade, a tolerância à glicose (GTT), secreção de insulina e morfometria do pâncreas endócrino em camundongos machos alimentados com dieta HFD e suplementados com taurina bem como em sua prole. Camundongos C57Bl/6 dos 30 aos 150 dias foram distribuídos nos grupos: controle (CTL); CTL suplementado com 5% de TAU (CTAU); tratados com dieta contendo 36% de gordura (HFD); e HTAU. Aos 150 dias os camundongos foram acasalados com fêmeas CTL para obtenção da prole designada de acordo com o tratamento dos pais (CEUA-UFRJ certificado nº.: MACO31).Camundongos alimentados com dieta HFD apresentaram maior peso corporal, índice de Lee e peso das gorduras perigonadal e retroperitoneal [37±3g, 348±7, 44±5 e 18±3 mg/g de peso corporal (PC), respectivamente] comparado aos CTL (27±2g, 308±7; 21±4 e 7±2 mg/g PC). A ingestão de ração nos CTL foi 73,4% maior que no grupo HFD. O ganho de peso corporal durante o período experimental do grupo HFD foi maior 72,7% em relação ao CTL, e a Tau não alterou esse resultado no grupo HTAU (47,3%). O grupo HFD apresentou aumento do total da glicemia durante o GTT comparado aos CTL (55325±3175 vs 33833±1178 mg/dL.min-1,respectivamente). Ilhotas isoladas de camundongos HFD secretaram mais insulina frente à 11,1 mM de glicose (1,2±0,1 ng/ilhota.h) comparado às CTL (0,64±0,07 ng/ilhota.h). A Tau preveniu a hipersecreção nas ilhotas HTAU (0,78±0,08 ng/ilhota.h). Entre os grupos da prole, não foram observadas alterações no peso corporal, estoques de gordura e GTT. Porém, ilhotas isoladas da prole de pais HFD secretaram menos insulina em reposta à 11,1 (Macho: 0,97±0,12 e Fêmea: 0,46±0,03 ng/ilhota.h) e 22,2 mM de glicose (Macho: 1,30±0,11 e Fêmea: 0,89±0,6 ng/ilhota.h) comparado às ilhotas da prole CTL (11,1 = Macho 1,70±0,16 e Fêmea: 0,72±0,07 ng/ilhota.h; e 22,2 = Macho: 2,07±0,22 e Fêmea: 1,21±0,10 ng/ilhota.h). Ilhotas da prole HTAU secretaram insulina similar às CTL em resposta à 22,2 mM de glicose (Macho: 1,87±0,18 e Fêmea: 1,08±0,10 ng/ilhota.h). A morfometria não mostrou diferença nas áreas da ilhota, de células β e não-β (6623 ± 483,5019 ± 372,  $1604 \pm 166 \,\mu\text{m}^2$ , respectivamente) no pâncreas da prole macho HFD em relação à prole CTL (5734  $\pm$  433, 4195  $\pm$  348 e 1525  $\pm$  112  $\mu$ m<sup>2</sup>). Contudo, o consumo de TAU nos pais, reduziu a área de células não- $\beta$  na prole macho HTAU (951 ± 87  $\mu$ m<sup>2</sup>) e CTAU (1059)  $\pm$  87  $\mu$ m<sup>2</sup>), sem alterar as áreas da ilhota e de célula  $\beta$  (5139  $\pm$  506, 5578  $\pm$  517; 4187  $\pm$  444, 4519  $\pm$  439  $\mu$ m<sup>2</sup>). Ainda, o número de célula não- $\beta$  e a razão célula não- $\beta$ /área de célula não- $\beta$  foram maiores na prole HFD (13,14 ± 0,89; 0,02± 0,002  $\mu$ m²) comparados à CTL  $(6,04 \pm 0,47; 0,008 \pm 0,0008 \,\mu\text{m}^2)$ . Esses parâmetros na prole HTAU  $(4,00 \pm 0,33; 0,01 \pm 0,002 \,\mu\text{m}^2)$  foram similares aos CTL. A dieta HFD desenvolveu obesidade, intolerância à glicose e aumento da secreção da insulina nos pais. A Tau preveniu as alterações funcionais nas ilhotas do grupo paternal HTAU. A ingestão de HFD pelos pais reduziu a liberação da insulina frente à glicose em sua prole, porém sem alterar a área de células β. Mas, a prole HFD apresentou aumento da área e do número de células não-β. A Tau dada aos pais, preveniu essas alterações na morfofunção pancreática endócrina da prole HTAU. CNPq, FUNEMAC e FAPERJ



# Micrornas potencialmente reguladores da captação e utilização de glicose em musculo esquelético de ratos diabéticos

Esteves JV<sup>1</sup>, Yonamine CY<sup>1</sup>, Pinto-Junior DC<sup>1</sup>, Okamoto MM<sup>1</sup>, Machado UF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica

### Introdução

Diabetes é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia associada a prejuízos na captação e utilização de glicose, e m que reduções na expressão das proteínas GLUT4, hexocinase 2 (HK2) e glicogênio sintase 1 (GYS1), codificadas pelos genes *SLC2A4*, *HK2* e *GYS1* respectivamente, desempenham papel fundamental. Recentemente, um novo elemento vem sendo relacionado à etiopatogenia e à fisiopatologia do diabetes, os microRNAs (miRNAs), que são um grupo de pequenos RNAs envolvidos na regulação da expressão gênica, geralmente afetando a estabilidade e degradação de mRNAs. Entretanto, a participação de miRNAs envolvidos na redução da expressão de genes relacionados a captação e metabolização de glicose, sobretudo em músculo esquelético, permanece desconhecida. Assim, o objetivo desse trabalho foi investigar a expressão de miRNAs potencialmente reguladores da expressão de *Slc2a4*/GLUT4, *Hk2*/HK2 e *Gys1*/GYS1 em músculo esquelético de ratos diabéticos.

#### Métodos

Ratos Wistar machos (70 dias) foram tornados diabéticos pela administração de streptozotocina (50 mg/kg, i.v.). Após 13 dias, 3 grupos foram formados: não-diabético (ND) e diabético tratado com placebo (DP) ou insulina (DI) (Insulina NPH, 6U/dia). O tratamento foi conduzido por 7 dias, totalizando 21 dias de diabetes. Ao final do período experimental, parâmetros metabólicos foram avaliados e os músculos sóleos foram removidos para avaliar a expressão de mRNAs e miRNAs por qPCR e de proteínas por Western blotting. Uma abrangente análise *in silico* foi conduzida para determinar miRNAs candidatos a regularem a expressão de *Slc2a4*, *Hk2* e *Gys1*.

### Resultados e Discussão

Os animais diabéticos apresentaram perda de peso, poliúria, glicosúria, hiperglicemia e aumento de frutosamina plas mática; a insulinoterapia melhorou estes parâmetros. O diabetes reduziu (~50%, P<0.01 a P<0.001) os mRNAs *Slc2a4*, *Hk2* e *Gys1*, bem como as proteínas (P<0.001) GLUT4 (77%), HK2 (52%) e GYS1 (49%); a insulinoterapia restaurou de maneira parcial ou completa estes parâmetros. A análise *in silico* indicou: 102 miRNAs para *Slc2a4*, 190 para *Hk2* e 65 para *Gys1*. Vinte miRNAs foram confirmados neste estudo. Oito miRNAs foram modulados pelo diabetes em músculo esquelético, sendo três *upregulated* (P<0.05 a P<0.01): miR-1 (28%), miR-29b (118%) e miR-29c (51%), enquanto cinco foram *downregulated* (P<0.05 a P<0.001): miR-93 (39%), miR-150 (32%), miR-199a (30%), miR-345-3p (23%) e miR-532-3p (26%). Exceto pelos miR-1 e miR-150, a insulinoterapia restaurou parcial ou completamente os demais miRNAs. Adicionalmente, os miR-29b e miR-29c correlacionaram-se (P<0.05) negativamente com GLUT4 (r=-0,67 e r=-0,50 respectivamente) e HK2 (r=-0,41 e r=-0,49 respectivamente), enquanto que os miR-199a e miR-532-3p correlacionaram-se (P<0.05) positivamente com as proteínas GLUT4 (r=0,45 e r=0,54 respectivamente) e HK2 (r=0,48 e r=0,60 respectivamente). Em suma, o diabetes reduziu a expressão de *Slc2a4*/GLUT4, *Hk2*/HK2 e *Gys1*/GYS1, comprometendo de maneira vital o transporte e a consequente utilização de glicose pelo musculo esquelético, e estes prejuízos coexistem com a expressão alterada de diversos miRNAs. Ademais, os níveis proteicos de GLUT4 e HK2 correlacionaram-se significantemente com a expressão do miRNAs 29b, 29c, 199a e 532-3p, sugerindo uma possível relação causal entres esses miRNAs e a expressão de GLUT4 e HK2.

**Financiamento:** FAPESP (#2012/20432-0 e #2012/04831-1).



# A GORDURA DE PALMA INTERESTERIFICADA ALTERA PARÂMETROS METABÓLICOS E A HOMEOSTASIA DE GLICOSE EM CAMUNDONGOS DA LINHAGEM SWISS

Miyamoto JE<sup>1</sup>, Reginato A<sup>1</sup>, Portovedo M<sup>1</sup>, Fante T<sup>1</sup>, Sousa BC<sup>1</sup>, Stahl M<sup>2</sup>, Torsoni MA<sup>1</sup>, Torsoni AS<sup>1</sup>, Ribeiro APB<sup>2</sup>, Milanski M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Ciências Aplicadas UNICAMP - Laboratório de Distúrbios do Metabolismo, <sup>2</sup>Faculdade de Engenharia de Alimentos UNICAMP - Laboratório de Óleos e Gorduras

O controle da via gliconeogênica desempenha um papel fundamental para a manutenção da glicemia em períodos de jejum prolongado. Em situações onde há o desenvolvimento de resistência à insulina (RI) hepática, é observado um controle defeituoso da gliconeogênese, resultando na hiperglicemia em jejum observada em pacientes com DM2. Estudos demonstraram uma estreita relação entre o elevado conteúdo de gordura hepática decorrente da ingestão de dietas hiperlipídicas e o desenvolvimento de RI. Nos últimos anos, o padrão alimentar da população vem se alterando drasticamente, marcado pelo aumento do consumo de alimentos processados e ultraprocessados em detrimento dos alimentos in natura. Devido à crescente preocupação sobre os efeitos adversos e do impacto nutricional das gorduras modificadas pela indústria, como a gordura trans (GT), políticas públicas determinaram a diminuição da utilização deste componente pela indústria e a obrigatoriedade da apresentação da quantidade de GT nos rótulos de alimentos processados. Dessa forma, a indústria de alimentos buscou alternativas para a substituição da GT, como o processo de interesterificação de óleos e gorduras e o uso de gorduras vegetais, como por exemplo, o óleo de palma. A interesterificação é, atualmente, o processo mais utilizado para a modificação físicoquímica de óleos e gorduras. Neste contexto, o estudo teve como objetivo analisar parâmetros metabólicos e mecanismos moleculares envolvidos na resposta à exposição às dietas interesterificadas no metabolismo hepático em roedores. Metodologia: camundongos machos Swiss (CEUA: 3853-1) com 6 semanas de idade foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, os quais receberam dieta controle (PO), com 10% de óleo de palma, dieta controle interesterificada (IPO), com 10% de óleo de palma interesterificado, dieta hiperlipídica (POHFD), com 60% de óleo de palma e dieta hiperlipídica interesterificada, com 60% de óleo de palma interesterificado durante 8 semanas. Resultados e discussões: A análise por cromatografia gasosa demonstrou que o ácido palmítico (C16:0) e ácido oleico (C18:1) são os ácidos graxos mais abundantes do óleo de palma. Após 8 semanas de dieta o grupo IPO apresentou maior delta do ganho de peso, aumento da glicemia em jejum bem como maior área sob a curva de glicose durante o teste de ipGTT quando comparados ao grupo PO. O conteúdo proteico de enzimas envolvidas no controle da gliconeogênese foi avaliado por Western Blot, foi observado maior conteúdo de PEPCK no grupo IPO quando comparado ao PO. Não foram observadas diferenças significativas em relação aos grupos hiperlipídicos POHFD x IPOHFD. Os resultados parciais obtidos demonstram que a substituição do óleo de palma natural (PO) pela sua respectiva fração interesterificada (IPO) na dieta controle, normocalórica e normolipídica podem afetar negativamente parâmetros metabólicos aliados ao prejuízo na homeostasia de glicose.

Este trabalho é financiado pela FAPESP, CNPq e CAPES.



# Os efeitos inibitórios do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) na autofagia em músculos esqueléticos de roedores são mediados pela mTORC1 e PKA

Machado J<sup>1</sup>, Manfredi LH<sup>2</sup>, Silveira WA<sup>3</sup>, Gonçalves DAP<sup>1</sup>, Lustrino D<sup>4</sup>, Heck LC<sup>3</sup>, Filippin EA<sup>1</sup>, Zanon NM<sup>3</sup>, Navegantes LCC<sup>3</sup>, Kettelhut IC<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP - Departamento de Bioquímica e Imunologia, <sup>2</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, <sup>3</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP - Departamento de Fisiologia, <sup>4</sup>Universidade Federal de Sergipe - Departamento de Fisiologia

O papel do fisiológico do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) no processo de excitação-contração é bem conhecido, contudo, seu efeito no metabolismo proteico ainda não está esclarecido. No presente estudo, nós avaliamos os efeitos in vivo e in vitro do CGRP na degradação proteica e nas vias de sinalização intracelular após 7 dias de desnervação (DEN) motora em roedores. Em músculos isolados incubados, o CGRP  $(10^{-10} \text{ a } 10^{-6} \text{M})$  reduziu a proteólise total bem como a induzida pela DEN em uma maneira dependente da concentração. O efeito anti-proteolítico do CGRP foi completamente abolido pelo CGRP8-37, um antagonista do receptor do CGRP. O CGRP ativou as vias de sinalização da PKA/CREB e Akt/Foxo e em paralelo reduziu a proteólise lisossomal, os níveis de expressão dos RNAm para LC3b, Gabarapl1 e catepsina L, bem como o conteúdo proteico da forma lipidada da LC3 em músculos controles e desnervados. Em músculos EDL de ratos desnervados e células C2C12 privadas de nutrientes, diferentes inibidores da PKA (H89, Rp-8-Br-cAMPs or PKI) completamente aboliram os efeitos inibitórios do CGRP em p-Foxo1, 3a e 4, nos genes relacionados com a autofagia, mas não exerceram nenhum efeito no fluxo autofágico (avaliado pela presença de cloroquina em meio de cultura). Uma única injeção in vivo de CGRP (100µg kg<sup>-1</sup>) ativou a sinalização da PKA/CREB e Akt/Foxo, inibiu a atividade transcricional de Foxo, a lipidação da LC3 bem como os níveis de RNAm para LC3b e catepsina L, dois genes alvos de Foxo bem conhecidos, em músculos EDL de ratos desnervados. Para investigar o papel de mTORC1 na inibição do fluxo autofágico mediado pelo CGRP, camundongos desnervados por 7 dias e células C2C12 privadas de nutrientes foram tratadas com CGRP e rapamicina. Nós observamos que o tratamento com rapamicina tanto in vitro (200nM) como in vivo (1.5 mg.kg<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>) completamente aboliu as ações inibitórias do CGRP no fluxo autofágico. Em resumo, este estudo sugere que o CGRP diretamente inibe a proteólise autofágica-lisossomal em músculos esqueléticos de roedores por dois mecanismos diferentes: mecanismo transcricional dependente de Foxo e pós-traducional dependente de mTORC1.

Auxílios: (FAPESP: 11/11003-5; 2012/24524-6; 2015/21112-7).



Genetic markers associated with type 1 diabetes in the Brazilian population: the influence of population stratification Gomes KFB, Santos AS, Semsezem C, Correia MR, Brito LS, Ruiz MO, Fukui RT, Matioli SR, Passos-Bueno MR, Silva MER

Introduction: The investigation of genes associated with complex diseases in case-control studies, based on the frequency of polymorphic variants, may not be appropriate in stratified populations, due to the ethnic admixture, which is characteristic of the Brazilian population. It is therefore difficult to apply this method, due to the risk of spurious associations related to differences in the genetic background of individual cases and controls. Ancestry informative markers (AIMs) can be used to estimate ancestry and correct these distortions. The same genetic variants of susceptibility to type 1 autoimmune diabetes (T1AD) like HLADR3 and DR4 and polymorphisms in PTPN22, CTLA4 and VNTR-INS genes usually present in Caucasians were not always found at the same frequency in our population with T1AD, or conferred lower risk when present. These discrepancies may result from our miscigenation. Therefore, in this study, we aimed to: 1) Analyze a sample of patients with T1AD and health controls, using AIMs, to identify the ancestry of individual components and of the population, that could identify its potential stratification; 2) Evaluate the role of HLADR and DQ alleles and polymorphisms of PTPN22, CTLA4 and INS- VNTR genes in the predisposition to disease, correcting for the bias introduced by the stratification of our population. Methods: 915 patients with T1D, aged 24.6±13.0 years, 81.7% as white and 789 controls, aged 28.5±11.5 years, 65.6% as white, participated of the study. Genotyping of 93 informative markers was performed by BeadXpress platform. The ancestry composition of individuals was characterized by Structure 2.3 program, and variants and alleles of candidate genes were tested using structured association analysis with the STRAT. Results: The European ancestry prevailed in T1AD and control groups (77% and 71,5%, respectively), followed by African and Amerindian. The DRB1\*0301, DR4 (subtypes -\*0401, -\*0402, -\*0405) and DR\*09 alleles as well as DQB1 \*0201 and -\*0302 alleles were confirmed as predisposing to T1AD, even after correcting for the structure of our population. The same was observed for the protective alleles: DRB1(-\*0302, - \*07, -\*10, -\*11, -\*13, -\*14 and -\*15) and DQB1 (-\*0402, -\* 0503, -\*0602 and -\*0603). HLADRB1\*0301/DQB1\*0201, -\*0401/0302, -\*0402/0302, -\*0405/0302, -\*09/0202 haplotypes predominated in T1AD group, while -\*0302/0402, -\*07/0202, -\*10/0501, -\*11/0301, -\*11/0602, -\*13/0603, -\*14/0503 and -\*15/0602 conferred protection. The correction for stratification evidenced DRB1\*16 allele and -\*07/0201 haplotype as protective and DQB1\*0501, initially associated with protection, as neutral. This analysis also confirmed the -\*09/0202, as a risk haplotype and -\*0302/0402, -\*10/0501, -\*11/0602 and -\*13/0603 as protective in our population, similar to reported in African-Americans, although neutral in Caucasians. The susceptibility to T1AD determined by INS VNTR I/I and PTPN22 CT+TT haplotypes were confirmed after correcting for population structure. The CTLA4 rs231775 A>G polymorphism could not be evaluated. Conclusion: We demonstrated differences in genetic variants associated with susceptibility and protection to T1AD in our population when compared to Caucasian and African-American populations, possibly due to the ethnic admixture. The correction for the population structure was important to confirm the protection conferred by DRB1\*16 allele and -\*07/0201 haplotype.

**Descriptors:** type 1 diabetes mellitus; genetics; miscigenation.

**Support:** FAPESP



## Influence of the receptors of common gamma-chain dependent cytokines in T1D predisposition

Gomes KFB<sup>1</sup>, Semzezem C<sup>1</sup>, Santos AS<sup>1</sup>, Fukui RT<sup>1</sup>, Correia MRS<sup>1</sup>, Batista R<sup>1</sup>, Brito LS<sup>1</sup>, Silva MER<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaio (LIM-18) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Type 1 Diabetes (T1D) is an autoimmune disease characterized by the pancreatic infiltration of T and B lymphocytes and production of cytokines. The common gamma chain dependent cytokine family include several inflammatory cytokines like IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and IL-21, which have been associated with several autoimmune diseases. However, in a previous research, we detected a significant decrease in the expression of IL-2Rα in peripheral CD3+ and CD4+ T cells in recent-onset type 1 diabetes patients. IL-4R and IL-7R expression was also decreased in CD3+ and CD4+ T cells respectively. Considering that the knowledge about the role of these receptors in the pathophysiology of diabetes is scarce, and also to better understand these contradictory results, we evaluated 631 patients with T1D ( $25.1 \pm 12.7$  years) and 652 health controls ( $28.6 \pm 11.3$  years). Selected variants of the receptor of IL-2 ( IL-2RA)(rs12722495 and rs12251307), IL-4R (rs3024560 and rs1805015) and IL-7R(rs2228141 and rs6897932) were genotyped by Vera Code methodology, Golden Gate (Illumina, USA). The glutamic acid decarboxylase (GAD65A), tyrosine phosphatase (IA2A) autoantibodies were measured by radioimmunoassay, and zinc transporter 8 autoantibody (ZnT8A) by ELISA. The frequencies of the genotypes of the variants were in Hardy-Weinberg Equilibrium. The genotypic associations were analyzed by Chi-square or Fisher's exact test. The frequencies of the variants of IL-2RA, IL-4R and IL-7R were similar between T1D patients and controls and were independent of gender and ethinicity. The GG+GT genotypes of rs3024560 of the IL-4R determined greater frequency of GAD65A when compared with TT genotype (52.8% x 38.5%; p= 0.0019; CI:1.237-2.576; OR=1.785) . There was no effect of IL-2RA and IL-7R variants on islet autoantibodies titers or frequency. We concluded that variant rs3024560 T/G of IL-4R gene increases the frequency of GAD65A and is related to the pathophysiology of T1D in this Brazilian cohort. Supported by FAPESP



Diagnóstico de síndrome metabólica em índios brasileiros Xavante - Qual é o melhor ponto de corte da circunferência da cintura ? Soares LP¹, Dal Fabbro AL², Silva AS², Martinez EZ², Franco LF³, Kuhn PC³, Moisés RS³, Vieira-Filho JPB³, Franco LJ² - ¹Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - Departamento de Medicina Social, ³Escola Paulista de Medicina / Universidade Federal de São Paulo - Disciplina de Endocrinologia

**Objectivo:** Identificar o melhor ponto de corte da circunferência da cintura (CC) para diagnosticar obesidade central e identificar a síndrome metabólica (SM), na população adulta Xavante das Reservas Indígenas de São Marcos e Sangradouro/Volta Grande – MT, Brasil.

Casuística e Métodos: Foi realizado estudo transversal, com 925 indígenas Xavante com 20 ou mais anos de idade, no período de 2008 a 2012. Foram considerados os critérios diagnósticos de SM da IDF e AHA/NHLBI. A prevalência de SM nos Xavante é de 76,2% nas mulheres e de 55,6% nos homens. De acordo com o número de componentes da síndrome metabólica que apresentavam, os indivíduos foram divididos em três grupos: Grupo I - 0, 1 ou 2 componentes; Grupo II - 3 componentes; Grupo III - 4 ou 5 componentes. Análises de Curva ROC foram utilizadas para avaliar a capacidade de identificar a SM pela CC, comparando o Gupo I (sem diagnósticode SM) com o Grupo III (com diagnóstico de SM, independentemente do valor da CC). O índice de Youden foi utilizado para identificar os pontos de corte da CC com melhor capacidade preditiva.

**Resultados:** O Grupo I foi composto por 314 indivíduos (112 mulheres e 202 homens), o Grupo II por 282 indivíduos (143 mulheres e 139 homens) e o Grupo III por 329 indivíduos (215 mulheres e 114 homens). A área sob a curva ROC da CC para identificar SM foi de 0,67 (IC95% = 0,67-0,78) entre as mulheres e 0,90 (IC95% = 0,86-0,93) entre os homens. Os melhores pontos de corte da CC foram 97cm (sensibilidade 64,7% e especificidade 63,4%) para as mulheres e 94cm (sensibilidade 93,3% e especificidade 72,3%) para os homens.

**Conclusões:** O ponto de corte proposto pela IDF e AHA/NHLBI para o diagnóstico de SM nos índios Xavante é adequado para os homens, porém não para as mulheres. Os achados indicam a importância de estabelecimento de critérios diagnósticos de obesidade central específicos para a população indígena, que apresenta estrutura corporal diferenciada, bem como características culturais, étnicas e de estilo de vida bastante particulares.



### RISCO METABÓLICO EM TRABALHADORES NOTURNOS DO HOSPITAL GERAL DE CARAPICUÍBA

Ciancio D<sup>1</sup>, Fabbri BC<sup>1</sup>, Stella LC<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Centro Universitário São Camilo

INTRODUÇÃO- Após a segunda Guerra mundial, o número de trabalhadores noturnos tem aumentado e hoje corresponde a 20% da população em países industrializados. A literatura relaciona a inversão do ritmo circadiano à Síndrome Metabólica (SM). OBJETIVO- Comparar os parâmetros metabólicos dos trabalhadores diurnos e noturnos do hospital.

METODOS- Os funcionários do hospital que realizaram exames periódicos recentes foram convidados a participar do estudo desde que estivessem no mesmo turno de trabalho há pelo menos 1 ano. Foram excluídos os portadores de doenças metabólicas ou tireoideanas, gestantes, usuários de psicotrópicos/corticoides e aqueles submetidos a procedimentos invasivos recentemente. Após o consentimento informado, foi aplicado um questionário e tomadas medidas antropométricas ( peso, altura, pressão arterial). Os resultados laboratoriais foram extraídos dos exames periódicos. Os dados foram analisados estatisticamente (Teste T).

RESULTADOS- 149 participaram do estudo, e a média de idade foi 38anos, sendo 84% mulheres. Os trabalhadores diurnos (79 pessoas) relataram uma média de 6,4horas de sono por dia, enquanto os noturnos, 5,6 horas por dia. A prevalência de SM (conforme as diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes) foi 36,7% nos trabalhadores diurnos e 44,2% nos noturnos, e estes, apresentaram risco de 1,69 vezes maior para desenvolver SM, independente do número de horas de sono (p0,9). Dos componentes da SM, a variável mais prevalente foi o aumento da cintura, HDL baixo e hipertrigliceridemia. IMC ≥25Kg/m² foi encontrado em 62% da amostra. As mulheres apresentaram risco para SM 2,2 maior do que os homens (p0,13). DISCUSSÃO- Estes dados coincidem com a literatura em relação à faixa etária e susceptibilidade das mulheres à SM. Apesar de não ter havido correlação com horas de sono, a literatura correlaciona tanto a privação de sono como a inversão do ritmo circadiano à redução da sensibilidade à insulina e alteração dos níveis de leptina e grelina colaborando para o ganho de peso. Assim, a doença metabólica deveria ser considerada como risco ocupacional e os trabalhadores noturnos orientados a prevenir tal condição.



# AÇÕES DO CONSUMO DE BISFENOL A (BPA) SOBRE A HOMEOSTASE DA GLICOSE EM CAMUNDONGOS FÊMEAS OVARIECTOMIZADAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

Figueiredo LS<sup>1</sup>, Oliveira KM<sup>1</sup>, Oliveira SA<sup>1</sup>, Rios VK<sup>1</sup>, Ribeiro RA<sup>1</sup>, Blanc HNH<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ-Macaé - Laboratório Integrado de Morfologia

O 2,2-bis (4-hidroxifenil) propano ou bisfenol-A (BPA) é um composto orgânico utilizado na produção de resinas epóxi e plástico policarbonato. Muito encontrado em embalagens de alimentos, materiais médicos, solo, ar e águas residuais. Estudos tem demonstrado que o BPA possui atividade estrogênica, antiestrogênica e antiandrogênica podendo desencadear efeitos deletérios no desenvolvimento do sistema nervoso, reprodução, câncer, problemas cardiovasculares, obesidade e diabetes tipo 2. Neste estudo, foram avaliados os efeitos do consumo de BPA sobre o desenvolvimento da obesidade e homeostase da glicose em camundongos fêmeas ovariectomizadas (OVX) e tratadas com dieta hiperlipídica (HFD). Camundongos fêmeas Swiss com 80-100 dias de vida foram OVX e após duas semanas, as fêmeas que apresentaram-se em anestro por 7 dias foram distribuídas nos grupos: controle (CTL): fêmeas OVX que receberam dieta normolipídica e água filtrada contendo 0,01% de etanol (veículo); controle BPA (CBPA): fêmeas OVX que receberam dieta normolipídica e água filtrada contendo 0,01% etanol e 1 µg/mL de BPA; HFD: fêmeas OVX alimentadas com dieta contendo 36g % de gordura e que ingeriram veículo; e (HBPA): fêmeas OVX que receberam dieta HFD e BPA. Durante 70 dias, os camundongos foram pesados e o consumo de água e ração mensurados semanalmente. Aos 70 dias procedeu-se a coleta de sangue para análise bioquímica, teste de tolerância à glicose (ipGTT) e à insulina (ipITT), e avaliação da obesidade. Todos os experimentos foram aprovados pela CEUA-UFRJ (MACO24). Dados foram analisados por ANOVA de uma via seguida de Newman-Keuls (P < 0,05). Fêmeas HFD tiveram maior ganho total de peso corporal (PC; 16±3 g) e aumento da eficiência alimentar (0,049±0,009g/g) ao longo do tratamento comparadas às CTL (7±3g; 0,007±0,003 g/g; respectivamente). O grupo HBPA teve aumento do ganho de PC (19±2 g) e da eficiência alimentar (0,056 ± 0,006 g/g) similares ao HFD. A glicemia de alimentado foi maior no grupo HFD (177±13 mg/dL) e HBPA (173±17 mg/dL) comparados ao CTL (150±9 mg/dL). Contudo, a glicemia de jejum não diferiu entre os grupos (HFD 1342±110,0; HBPA 1117±58,46; CTL 839,7±124,6 e CBPA 809,0±136,6 mg/dL). Durante o GTT, fêmeas HFD apresentaram hiperglicemia aos 15 min do teste (466±20 mg/dL) em relação às CTL (354±18 mg/dL). O total da glicemia no GTT foi maior nas fêmeas HFD (1342±110 mg/dL.min<sup>-1</sup>) do que nas fêmeas CTL (840±125 mg/dL.min<sup>-1</sup>). Contudo, fêmeas HBPA tiveram total da glicemia (1117±58,46 mg/dL.min<sup>-1</sup>) no GTT similar às HFD e CTL. Durante o ITT, o grupo HFD teve maior glicemia total (255±45 mg/dL.min<sup>-1</sup>) em relação ao CTL (166±19 mg/dL.min<sup>-1</sup>). Mas, camundongos HBPA não apresentaram alteração na glicemia total do ITT (151,8±17,19 mg/dL.min<sup>-1</sup>). Foi evidenciado somente tendência ao aumento do estoque de gordura retroperitoneal nas fêmeas HFD (40,9±3,5 mg/g de PC) e HBPA (44,3±4,3 mg/g PC) em relação às CTL (23,8±7,5 mg/g PC). Nossos dados até o momento demonstram que a dieta HFD aumenta o PC e causa intolerância à glicose e resistência à insulina. Esses dados prévios ainda não mostram efeitos aditivos deletérios sobre esses parâmetros nas fêmeas HBPA. Fomento: FAPERJ e CNPq.



# SGLT-2 É EXPRESSO EM NEURÔNIOS HIPOTALÂMICOS: UM NOVO SÍTIO POTENCIALMENTE ENVOLVIDO NA RESPOSTA METABÓLICA À DAPAGLIFLOZINA

Pires LS<sup>1</sup>, Araújo TM<sup>1</sup>, Regiani D<sup>1</sup>, Razolli DS<sup>1</sup>, Ramalho AF<sup>1</sup>, Vasques AC<sup>2</sup>, Velloso LA<sup>1</sup>, Geloneze B<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNICAMP - Faculdade de Ciências Médicas, <sup>2</sup>UNICAMP - Faculdade de Ciências Aplicadas

Introdução: O equilíbrio entre comportamento alimentar e dispêndio energético é um processo biológico que tem o cérebro como coordenador central e o hipotálamo como principal estrutura envolvida. No núcleo arqueado, duas subpopulações de neurônios, NPY/AgRP e POMC/CART, respondem a sinais periféricos que informam a respeito da disponibilidade de energia no organismo. Variações nos níveis sanguíneos de glicose são rapidamente detectadas por neurônios hipotalâmicos gerando sinais que participam do controle da fome e do gasto energético. Os mecanismos envolvidos na resposta hipotalâmica à glicose ainda são pouco conhecidos, porém acredita-se que seus transportadores, GLUT e SGLT, desempenham um papel importante. O cotransportador sódio-glicose tipo 2 (SGLT-2) é expresso no rim e no cérebro, incluindo os sítios hipotalâmicos de controle alimentar. É sabido que a inibição do SGLT-2 produz glicosúria e perda de calorias concomitante à diminuição no peso corpóreo, no entanto não se sabe qual o mecanismo envolvido neste efeito. Os objetivos desse estudo são avaliar a possível relação da inibição do SGLT-2 pela Dapagliflozina (DAPA), no controle alimentar e no dispêndio energético; e estudar a disposição celular hipotalâmica do SGLT-2 na região do terceiro ventrículo (3V). Métodos: Camundongos machos C57BL/6, divididos em 4 grupos, receberam veículo (salina) ou DAPA nas doses de 1, 5 ou 10 mg/kg, via oral (gavagem) por duas semanas. Foram avaliados peso, ingestão alimentar, tolerância à glicose (GTT), adiposidade e neurotransmissores hipotalâmicos por meio de imunofluorescência e RT-PCR. Foi realizada uma intervenção clínica com voluntárias eutróficas e normoglicêmicas que foram analisadas antes e após a administração de DAPA (Forxiga) 10mg/dia por uma semana. Avaliamos antropometria, composição corporal, teste de tolerância oral à glicose (OGTT) e calorimetria indireta. Resultados e Discussão: Nos estudos com roedores a imunofluorescência mostrou que o SGLT-2 encontra-se na região do 3V, colocalizando-se com neurônios POMC e NPY. Tais evidências apontam para uma possível participação do SGLT-2 no controle alimentar. Houve uma redução da glicemia de jejum, bem como uma melhor eficiência no decaimento da curva glicêmica frente ao GTT. Observamos ainda uma diminuição no peso corpóreo e na ingestão alimentar, além de uma tendência à diminuição da massa adiposa epididimal. O aumento no volume urinário e a aferição da glicose na urina também foram detectados. Na intervenção clínica observamos uma diminuição do peso, da massa adiposa, da circunferência da cintura e do diâmetro abdominal sagital. Houve uma melhor eficiência na resposta glicêmica e maior gasto energético. O SGLT-2 está expresso em neurônios localizados no hipotálamo e, quando inibido com DAPA, potencializa a regulação da homeostase glicêmica em roedores e humanos. Estas novas ações do fármaco podem avançar na compreensão de mecanismos hipotalâmicos envolvidos no controle alimentar e energético e criar novas perspectivas terapêuticas para a obesidade. Agradecimentos à FAPESP e à UNICAMP.



## REGULAÇÃO EPIGENÉTICA - AVALIAÇÃO DE MIRNAS COMO POTENCIAIS ALVOS TERAPÊUTICOS NA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCÓOLICA (DHGNA) EM CAMUNDONGOS OBESOS TRATADOS COM *CAMELLIA SINENSIS*

Ferreira LT<sup>1</sup>, Otton R<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Cruzeiro do Sul

O crescimento alarmante da obesidade tornou-se mundialmente um desafio para a saúde pública e tem estimulado o interesse científico na etiologia e na busca por intervenções terapêuticas capazes de prevenir as comorbidades associadas a esta doença. A doença hepática gordurosa não alcóolica (DHGNA) compreende um espectro de distúrbios hepáticos progressivos que estão intimamente relacionadas com a obesidade. Neste sentido, muitos pesquisadores procuram encontrar compostos bioativos oriundos de plantas medicinais capazes de tratar e prevenir o seu desenvolvimento. A planta Camellia sinensis da qual se obtem o chá verde, possui um importante potencial antiobesidade. O conteúdo de polifenóis desta planta confere diversos efeitos benéficos à saúde. No entanto, os mecanismos moleculares envolvidos permanecem parcialmente conhecidos. Este estudo tem por objetivo avaliar a expressão de 90 microRNAs (miRNAs) diferentes associados com inflamação, RI e estresse de reticulo endoplasmático a partir de um qPCR array e correlacionar com os mecanismos associados a patogênese da DHGNA.Visamos identificar os miRNAs modulados pela obesidade e pelo chá verde e correlacioná-los com a DHGNA identificando seus genes-alvo no fígado. Para o modelo experimental, camundongos machos C57BI/6 (19±2g) foram alimentados com dieta padrão ou dieta hiperlipídica durante 4 semanas. Em seguida os animais foram suplementados (grupo chá verde e obeso tratado com chá verde) ou não (grupo controle e obeso) com 500 mg/kg de extrato aquoso de chá verde durante 12 semanas. Após 16 semanas experimentais os animais foram eutanasiados e o tecido hepático foi retirado e armazenado a -80ºC até ser realizado o miRNA qPCR array das amostras. O RNA total do fígado dos animais foi extraído, o cDNA dos miRNAS foi preparado e em seguida foi realizada a análise individual dos miRNAs(n=3 animais por grupo) por qPCR (TaqMan-ThermoFisher). A validação e avaliação das vias moduladas estão sendo realizadas pela expressão gênica por qPCR e protéica por WB. Os resultados preliminares mostram que o modelo de indução à obesidade por dieta hiperlipídica foi eficaz e conduziu ao desenvolvimento da DHGNA caracterizada pelo aumento de 26,4 e 43% do colesterol e triglicerídeo hepático respectivamente, assim como pelo aumento da atividade das enzimas ALT e AST no plasma e pelas análises histológicas do tecido hepático. Dos 90 miRNAs avaliados apenas 3 foram modulados significativamente entre os grupos. As alterações hepáticas encontradas nos camundongos obesos foram associadas à modulação do miR-34a, que apresentou aumento, miR-132 e miR-194 que apresentaram diminuição na sua expressão. A suplementação com chá verde, por sua vez, foi capaz de atenuar os efeitos da obesidade protegendo os animais do desenvolvimento de DHGNA, através da diminuição na expressão de miRNA-34a e do aumento na expressão de miR-132 e miR-194, possivelmente modulando processos envolvidos na patogênese desta doença. Desta forma os efeitos benéficos à saúde provenientes do consumo regular de chá verde podem abrir novas perspectivas no tratamento da obesidade e da DHGNA através da regulação epigenética, tendo os miRNAs como potencias alvos do mecanismo de ação dos polifenóis.

Apoio Financeiro: FAPESP 2013/22293-0



Advanced glycation does not interfere with the ability of apo A-IV in inhibiting the LPS-elicited TNF $\alpha$  secretion by macrophages Okuda LS<sup>1</sup>, Pickford R<sup>2</sup>, Patel M<sup>3</sup>, Woods T<sup>4</sup>, Brimble M<sup>4</sup>, Rye KA<sup>3</sup>, Passarelli M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP - Laboratório de Lípides - LIM10, <sup>2</sup>University of New South Wales - Bioanalytical Mass Spectrometry Facility, <sup>3</sup>University of New South Wales - Lipid Research Group, <sup>4</sup>University of Auckland - School of Chemical Sciences

**Introduction:** Advanced glycation end products (AGE) are prevalent in diabetes mellitus and disturb antiatherogenic properties of HDL, namely by impairing reverse cholesterol transport, antioxidant and anti-inflammatory roles of apolipoprotein (apo) A-I. ApoA-IV is a 46 kDa HDL-protein and also mediates reverse cholesterol transport and anti-inflammatory actions. We analyzed the profile of AGE species in apoA-IV submitted to in vitro glycation and its interference in the inflammatory response in macrophages.

**Methods:** Recombinant apoA-IV produced in *E.coli* and apoA-I isolated from health human plasma were submitted to *in vitro* advanced glycation by incubation with 0.25 mM, 0.5 mM, 1 mM or 1.5 mM glycolaldehyde (GAD) or methylglyoxal (MGO) freshly diluted in PBS, at 37° C for 24 h, under nitrogen atmosphere and in the dark. Control samples were incubated with PBS alone. Liquid chromatography and mass-spectrometry (TSQ Quantum Access triple quadrupole mass spectrometry - Thermo Fisher Scientific) analyses were performed to quantify the amount of three different AGE associated with apoA-IV and A-I: pyrraline (PYR), carboxymethyllysine (CML) and argpyrimidine (ARG). J774 macrophages were treated with 50 μg/mL of control or AGE-apoA-IV for 24 h in the presence of acetylated LDL (50 μg/mL) and then exposed to lipopolyssacharide (LPS; 1 μg/mL) for further 24 h. Medium was collected in order to measure TNFα secretion by ELISA. Statistical comparisons were done by One Way ANOVA, with Tukey's post test.

Results and discussion: *In vitro* glycation of apo A-IV with GAD rendered the formation of PYR (GAD 0.25 mM: 14.5 ± 3; 0.5 mM: 60 ± 14; 1 mM: 313 ± 60; 1.5 mM: 754 ± 98 nmol of PYR/mmol of lysine) and CML (GAD 0.25 mM: 19 ± 17; 0.5 mM: 116.5 ± 60; 1 mM: 379 ± 76; 1.5 mM: 916 ± 76 nmol of CML/mmol of lysine), while MGO promoted the formation of ARG (MGO 0.25 mM: 483 ± 186; 0.5 mM: 3062 ± 2137; 1 mM: 11922 ± 3636 nmol of ARG/mmol of arginine), both in a dose-dependent way. Incubation with same concentration of GAD (1 mM) generated more CML and less PYR in apoA-I when compared to apoA-IV (CML: 563 ± 85 versus 379 ± 76, p=0.0016; PYR: 173 ± 14 versus 313 ± 60, p=0.0003); while MGO (1 mM) generated more ARG in apoA-IV than in apoA-I (ARG: 6161 ± 3116 versus 11922 ± 3636; p = 0.0098), showing a different pattern of glycation between the two apolipoproteins. In macrophages, the secretion of TNFα elicited by LPS was inhibited by previous incubation with C-apoA-IV (625 ± 37 pg/mL) in comparison to cells treated with LPS alone (1451 ± 674 pg/mL; p = 0.0187). This ability to inhibit inflammation was maintained in AGE-apoA-IV (GAD-apoA-IV: 413 ± 127 pg/mL, p = 0.0016; MGO-apoA-IV: 357 ± 12 pg/mL, p = 0.0008). In conclusion, advanced glycation of apoA-IV does not impair its anti-inflammatory activity that may relate to the distinct pattern of glycation products generated in this apolipoprotein as compared to apoA-I.

Funding: FAPESP (2013/02854-7; 2013/23392-1)



# AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO DE RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM NAC

Rosa LRO<sup>1</sup>, Kaga AK<sup>1</sup>, Carmo NOL<sup>1</sup>, Queiroz PM<sup>1</sup>, Barbanera PO<sup>1</sup>, Fernandes AAH<sup>1</sup> - <sup>1</sup>IBB/UNESP

**Introdução:** O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença metabólica devido a deficiência insulínica, associadas ao estresse oxidativo [1]. Assim, antioxidantes são alvos terapêuticos nesta patologia. O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade do Nacetil-cisteína (NAC) em amenizar o estresse oxidativo hepático induzido pelo DM.

**Métodos:** 32 ratos machos Wistar (±230g; 50 dias de idade) foram distribuídos em 4 grupos experimentais (*n*=8): G1: normais, G2: normais tratados com NAC, G3: diabéticos e G4: diabéticos tratados com NAC. O DM1 foi induzido pela estreptozotocina (STZ), (60 mg/kg, i.p). O NAC (25 mg/kg/dia) foi administrado via gavage, durantes 37 dias. Os animais receberam água e ração comercial *ad libitum*. No 37º dia, os animais foram eutanasiados e amostras sanguíneas e hepáticas (± 100mg) foram obtidas para a determinação da glicemia e do estresse oxidativo (EO). Utilizou-se ANOVA e teste Tukey para análise estatística.

Resultados: A glicemia reduziu (p<0,05) em G4 em comparação aqueles diabéticos não tratados (G3), porém sem atingir (p>0,05) os valores de G1 e G2 (G1: 92,71 $\pm$ 14,41; G2: 98,10 $\pm$ 14,07; G3: 351,0 $\pm$ 27,94; G4 128,8 $\pm$ 12,87 mg/dL). A administração de NAC diminuiu (p<0,05) o hidroperóxido de lipídio (HP) em animais diabéticos (G3: 353,67 $\pm$ 31,14; G4: 238,5 $\pm$ 19,55 nmol/g tec). A atividade da catalase não diferiu entre G3 e G4 (G3: 32,31 $\pm$ 7,78; G4: 44,25 $\pm$ 9,53  $\mu$ mol/g tec). Enquanto a superóxido dismutase (SOD), glutationa peroxidase (GPx) e as concentrações de glutationa total e reduzida (GSH) normalizaram (p<0,05) na presença de NAC em animais diabéticos (SOD: G1: 27,05 $\pm$ 1,51; G2: 28,64 $\pm$ 3,99; G3: 20,00 $\pm$ 3,17; G4: 25,07 $\pm$ 2,47 nmol/mg pt) (GPx: G1: 138,64 $\pm$ 14,86; G2: 138,17 $\pm$ 10,32; G3: 113,87 $\pm$ 20,95; G4: 137,56 $\pm$ 11,13 nmol/mg tec) (GSH Total: G3: 77,73 $\pm$ 15,14; G4: 108,90 $\pm$ 26,85 nmol/g tec).

Discussão: As disfunções bioquímicas mais evidentes no metabolismo da glicose no DM, refere-se a hiperglicemia, a qual está relacionada ao EO. Há relatos na literatura que pacientes diabéticos são susceptíveis ao EO (4,5). NAC administrado em animais diabéticos atenuou a hiperglicemia, resultado este respaldado na literatura [2]. A atuação hipoglicemiante pode estar associada à atividade antioxidante da NAC em G4. O NAC contém cisteína na sua molécula, atuando assim como precursor da GSH, que é substrato da GPx, importante na defesa antioxidante [3]. Isto pode explicar a restauração dos níveis de GSH hepático e aumento da atividade da GPx. O HP e SOD estiveram aumentados em G3, e diminuídos com administração de NAC. Estes resultados são consistentes com [6]. Concluí-se que o NAC foi eficiente em manter a homeostase glicêmica e exercer maior controle do EO hepático em condição diabética, através de sua ação antibiabetogênica e antioxidante.

### Bibliografia:

- [1] ULLAH A. Saudi Pharm. Journ. v s/n, p s/n, 2015.
- [2] JAIN SK. Free Rad. Bio. & Med. v 48 p 1633, 2009.
- [3] RUFFMAN R. Clin. Pharmacol. v 69 p 857.
- [4] JOHANSEN et al Biomed: Cardiov. Diabetol..v. 4, p.1, 2005
- [5] FAKHER et al, Iranian J Public Health v.36, p. 58, 2007
- [6] CHANG et al, Chin. J. Physiol. v. 55, p. 192, 2012

Apoio Financeiro: FAPESP e CAPES.



AVALIAÇÃO DA PERDA DE PESO EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO ACOMPANHADAS EM AMBULATÓRIO MULTIPROFISSIONAL Santos LR¹, Silva MLLS¹, Cedro RM¹, Carvalho MFS¹, Guimarães AC¹, Ladeia AM¹ - ¹Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública - Projeto de Estudo do Excesso de Peso

INTRODUÇÃO: A Obesidade é uma Doença Crônica Não-Transmissível e pode predispor o indivíduo a diversas comorbidades. Ela é hoje a principal desordem nutricional dos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Considera-se sucesso no tratamento da obesidade a habilidade de atingir e manter uma perda de peso clinicamente útil, que resulte em efeitos benéficos sobre as comorbidades associadas. Mas, para alcançar essa meta, exige-se um modelo de atenção à saúde pautado na integralidade do indivíduo, que trate a obesidade como uma enfermidade multifatorial e não fragmentada. OBJETIVO: Avaliar se houve perda de peso significativa e melhora do perfil metabólico em mulheres com excesso de peso atendidas em ambulatório de obesidade multidisciplinar de Salvador. MÉTODOS: O estudo foi observacional, longitudinal, de coorte prospectiva. A população alvo foi mulheres com excesso de peso. Amostra composta por 297 mulheres atendidas de 2009 até 2015, em ambulatório multidisciplinar de obesidade no Ambulatório Docente Assistencial da Bahiana. As variáveis analisadas no estudo foram peso, altura, índice de massa corpórea, pressão arterial, glicemia em jejum, hemoglobina glicada, glicose pós-prandial, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides. As variáveis estudadas foram colhidas na primeira e na última consulta de cada paciente. Foi utilizado o programa Statistical Package for the Social Sciences, para realizar análise estatística. O trabalho está ligado ao "Projeto de Estudo do Excesso de Peso" (PEPE). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e comunicado pelo OF. N.166/2009, referente ao protocolo 72/2009. RESULTADOS: Na população estudada, a média de idade foi de 44 ± 12 anos, havendo uma predominância de mulheres negras ou pardas (90,4%), obesas (86,6%), com segundo grau completo (54,2%) e média de renda familiar de 2,0 ± 1,8 salários mínimos. Após tratamento, apenas 15,4% das pacientes obtiveram uma perda de peso ≥ 5% do peso inicial e 85,9% das pacientes ainda eram classificadas como obesas. Porém, houve uma melhora nas médias das variáveis pressão arterial sistólica ( $141 \pm 25$  vs.  $135 \pm 20 - p < 0.001$ ), pressão arterial diastólica (88  $\pm$  12 vs. 82  $\pm$  11 - p < 0,001), glicemia de jejum (109  $\pm$  39 vs. 102  $\pm$  28 - p = 0,01), glicemia pósprandial ( $186 \pm 97 \text{ vs. } 147 \pm 61 - p < 0.001$ ), colesterol total ( $198 \pm 42 \text{ vs. } 191 \pm 36 - p = 0.03$ ), LDL-colesterol ( $127 \pm 38 \text{ vs. } 118 \pm 1.00 \pm 1.00$ ) 34 - p < 0.001) e HDL-colesterol ( $45 \pm 10$  vs.  $49 \pm 15 - p < 0.001$ ). Na comparação entre o grupo que perdeu e o que não perdeu mais que > 5% do peso inicial, só houve diferença estatística no valor da pressão arterial sistólica (126 ± 16 vs. 136 ± 21 – p < 0,001). A média de consultas por ano das pacientes foi de 2,23 ± 0,84. O tempo médio de acompanhamento ambulatorial das pacientes foi de 3,3 ± 2,1 anos. A taxa de abandono de tratamento foi de 40,4%. DISCUSSÃO: O tratamento multiprofissional da obesidade em mulheres com excesso de peso resultou em uma baixa prevalência de perda de peso satisfatória, entretanto, teve efeitos positivos nos aspectos clínicos e laboratoriais das pacientes. AGRADECIMENTOS: Aos colegas do PEPE, por se dedicarem com afinco, para promover a saúde de uma população carente. FINANCIAMENTO: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

Palavras-Chave: Obesidade; Perda de Peso; Intervenção Multidisciplinar



# AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INGESTÃO SUB-CRÔNICA DO EXTRATO METANÓLICO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA NOS NÍVEIS GLICÊMICOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES MELLITUS

Wouk J<sup>1</sup>, Soares BM<sup>2</sup>, Pezoti AR<sup>1</sup>, Silva LA<sup>3</sup>, Malfatti CRM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Estadual do Centro-Oeste - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, <sup>2</sup>Universidade Estadual do Centro-Oeste - Programa de Pós Graduação em Desenvolvimento Comunitário, <sup>3</sup>Universidade Federal do Paraná - Programa de Pós Graduação em Educação Física

### Introdução

O DM é uma patologia crônica que apresenta como característica principal o quadro hiperglicêmico, ocasionado pela secreção inadequada de insulina, ou ainda, por defeito da ação desse hormônio (IDF, 2015a; WHO, 2015). Estima-se que 415 milhões de adultos estejam hoje acometidos por DM em todo o mundo, número esse que tende a crescer a 642 milhões até o ano de 2040 (IDF, 2015b). Devido aos efeitos colaterais e a toxicidade dos fármacos hipoglicemiantes sintéticos usados cronicamente, há uma crescente procura por produtos naturais com atividade antidiabética (DORNAS et al., 2009). Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da ingestão subcrônica em diferentes doses do extrato metanólico da planta *Baccharis dracunculifolia* em um modelo animal de DM sobre os níveis glicêmicos e insulínicos.

#### Materiais e métodos

Foram utilizados nesse trabalho 56 ratos *Wistar* machos adultos. Os animais foram divididos em 8 grupos de 7 animais da seguinte forma: Controle "Tween 80" + Água destilada (CT), Controle Extrato *B. dracunculifolia* 200 mg/kg (CB), Controle Diabéticos "Tween 80" + Água destilada (CDT), Diabéticos Sulfoniluréia 10 mg/kg (DS), Diabéticos Extrato *B. dracunculifolia* 50 mg/kg (DB50), Diabéticos *B. dracunculifolia* 100 mg/kg (DB100), Diabéticos *B. dracunculifolia* 200 mg/kg (DB200), Diabéticos *B. dracunculifolia* 200 mg/kg + Sulfoniluréia 10 mg/kg (DB200S). A indução do DM foi realizada pela administração de 60 mg/kg de estreptozotocina (STZ). Para o controle glicêmico, foi usado o teste oral de tolerância a glicose (TOTG).

### Resultados e Discussão

Nos resultados obtidos pelo TOTG tanto na avaliação ao jejum, como nas quantificações aos 30, 60 e 120 min., os grupos DB50, DB100, DB200 e DB200S foram (p<0.05) diferentes dos demais grupos, apresentando valores de glicemia intermediários entre os grupos não diabéticos (CT e CB) e o grupo controle diabético (CDT). A diminuição glicêmica se destacou na avaliação final (após 120 min.) e nos ratos do grupo que recebeu a menor concentração do extrato de *B. dracunculifolia* (50 mg/kg), que foi capaz de diminuir a glicemia em 45%. Os demais grupos diminuíram 43,2% (DB200S), 40,5% (DB100) e 37,9 (DB200).

#### Conclusão

A partir destes resultados evidencia-se que o extrato metanólico da planta *B. dracunculifolia* é capaz de diminuir os níveis glicêmicos em ratos diabéticos.

#### Referências

DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.D.; DORES, R.G.; FABRES, M.H.A., NAGEM, T.J. Efeitos antidiabéticos de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacy**, 19, 2009.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERTION – IDF (2015a). Disponível em: <a href="http://www.diabetesatlas.org/">http://www.diabetesatlas.org/</a> Acesso em: 22, mar., 2016. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION NEWSLETTER (2015b). Disponível

 $em: \underline{http://idf.createsend.com/t/ViewEmailArchive/r/1CA75956E7FB1B982540EF23F30FEDED/C67FD2F38AC4859C/}\ .\ Acesso\ em: 22,\ mar.,\ 2016.$ 



Assessment of cardiovascular and biochemical responses in exercise recuperation post aerobic training in diabetic rats Silva LA<sup>1</sup>, Wouk J<sup>2</sup>, Malfatti CRM<sup>2</sup>, Osicki R<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná - Programa de Pós Graduação em Educação Física, <sup>2</sup>Universidade Estadual do Centro-Oeste - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Introduction: Diabetes Mellitus type 2 is a chronic disease that affects the population in an increasingly way, becoming a serious Public Health problem<sup>1</sup>. Exercise enhances the muscular absorption of glucose during and after the effort period, therefore it is seen as a helpful part of the treatment to maintain the glycemic control in diabetic patients<sup>2</sup>. To understand how exercise brings answers of hemodynamic and biochemist homeostasis is fundamental for the pathology acquaintance. In this way, the objective of this study was to assess the cardiovascular and biochemical responses during aerobic exercise recuperation in diabetic rats. Methods: There were utilized 12 animals, of 60 days, divided in two groups: Control and Diabetic. The diabetes model was induced by intraperitoneal administration of 60 mg/kg of streptozotocin. On the test day, the animals performed a 60 minutes' session of predominantly aerobic exercise, using an overload of 6% of their body's weight. After and before the exercise, the animals had their systolic blood pressure (SBP) and heart rate (HR) measured. Besides theses analysis, blood has been drawn by caudal puncture to a subsequent lactate, glycerol and glucose assay. The animals were trained during 30 days by swimming tank, without extra carga a 40 minute session. Results and conclusion: There was no difference in glycerol values between groups, however, a decrease in glucose value occurred in the diabetic animals after exercising, as well as an increase of lactate in the same group. 1', 3', 5' and 7' after the exercise, a significant reduction of HR in the diabetic group was noticed when compared with the control group, such behavior was also observed with double product (DP) together with SBP values 1', 3'and 5'after the exercise. The diabetic animals' recovery has been possibly affected by a reduction of blood flow and a reduction of energetic substrates contribution, as well as lactate clearance. This information demonstrate how homeostasis is dysregulated due to a clinical condition that triggers complications in several body tissues.

#### Reference:

- 1. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care 2016 39:S13-S22.
- 2. Howarth FC, et al. Effects of voluntary exercise on heart function in streptozotocin (STZ) induced diabetic rat. Int J Diabetes & Metabolism 2007; 15(2): 32-37.



## AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOBESIDADE DO EXTRATO DA LARANJA MORO EM CAMUNDONGOS INDUZIDOS A OBESIDADE POR DIETA DE CAFETERIA

Santos MS<sup>1</sup>, Otton R<sup>2</sup> - <sup>1</sup>Universidade Cruzeiro do Sul - Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica, <sup>2</sup>Universidade Cruzeiro do Sul - Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde

Introdução: A obesidade é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como o acúmulo excessivo ou anormal de gordura, que pode causar dano à saúde do indivíduo, sendo considerada um dos principais problemas de saúde pública da atualidade. O extrato da laranja Moro (Citrus sinensis, L. Osbecck), também conhecida por laranja sanguínea ou vermelha, pode ser um extrato promissor para o tratamento da obesidade. Recentemente tem-se estudado o efeito terapêutico do extrato da laranja Moro, preparado a partir da laranja vermelha na obesidade. Objetivo: A proposta do presente estudo foi avaliar o efeito antiobesidade do extrato de laranja vermelha, variação Moro, em camundongos induzidos a obesidade por dieta de cafeteria. Metodologia: Neste estudo utilizamos camundongos C57Bl/6 machos, que receberam alimentação e água ad libitum por um período total de 16 semanas (4 meses). A partir do segundo mês de dieta de cafeteria, os animais foram tratados com extrato Morosil (200mg/ Kg de peso corporal) por gavagem até o final do período de experimentação. Durante este período os animais foram pesados semanalmente e será avaliada a ingestão diária de dieta de todos os grupos controle (dieta padrão), extrato de Morosil (dieta padrão mais Morosil), obeso (dieta de cafeteria) e obeso + Morosil. Após este período, os animais foram eutanasiados por decapitação. Resultado- Ao final da experimentação o grupo OB+Morosil diminuiu seu peso corporal, assim como o tamanho dos depósitos do tecido epididimal, subcutâneo e o índice de adiposidade, não havendo diferença significativa no tamanho do depósito do tecido adiposo marrom. A glicemia dos camundongos suplementados com a dieta de cafeteria nos testes de GTT e ITT indicou o desenvolvimento da resistência à insulina, no entanto no grupo obeso as diferenças nas concentrações plasmáticas foram revertidas pela suplementação com chá verde. A glicemia de jejum, leptina plasmática, resistina plasmática deram aumentados no grupo obeso mas foram revertidas com o chá verde. A insulina plasmática não houve diferença significativa. O tamanho do fígado diminuiu no grupo OB+Morosil comparado ao grupo obeso. Para verificar se houve algum dano hepático foram avaliados os níveis de ALT deu alterado nos animais com dieta de cafeteria; os triglicerídeos não houve diferença entre os grupos; os níveis colesterol foram melhorados nos grupos tratados com chá verde. Avaliamos as citocinas proinflamatórias no plasma IFN<sub>Y</sub> diminuiu nos animais suplementados com o chá verde; as interleucinas IL-1 β, IL-2, IL-17 foram alterados nos grupos com a dieta de cafeteria; a MCP-1 e o VEGF houve interação entre a dieta e o tratamento. Entre as citocinas anti-inflamatória estão a IL-4 que no grupo OB+Morosil diminuiu com relação ao grupo obeso; na interleucina 10 (IL-10) foi alterado no grupo com dieta de cafeteria. Conclusão-De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que o extrato da laranja Moro é capaz de modular o peso corporal, com isso melhorou o índice de adiposidade, aglicemia foi melhorada. Foi capaz de restabelecer os níveis dos hormônios relacionados a obesidade. Assim, é possível afirmar que o extrato da laranja Moro tem um efeito antiobesidade.



# AVALIAÇÃO DO PERFIL DE GENES ENVOLVIDOS NA SINALIZAÇÃO DA LEPTINA E INSULINA NO HIPOTÁLAMO DE CAMUNDONGOS OBESOS TRATADOS COM CHÁ VERDE

Santos MS<sup>1</sup>, Otton R<sup>2</sup> - <sup>1</sup>Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo, Brasil - Programa de Pós-Graduação, Ciências da Saúde, <sup>2</sup>Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo, São Paulo

Introdução- O controle homeostático do balanço energético corporal é exercido por populações específicas de neurônios situados, em sua maior parte, no hipotálamo. O chá verde (Camellia sinensis) possui inúmeras ações farmacológicas já descritas, mas pouco se sabe sobre sua possível ação no hipotálamo. Objetivo- Avaliar o perfil de genes envolvidos na sinalização da leptina e insulina no hipotálamo de camundongos obesos tratados com chá verde. Metodologia- Utilizamos camundongos C57Bl/6 machos, que receberam alimentação e água ad libitum por um período total de 4 meses. A partir de 4 semanas da dieta hiperlipídica (HF), os animais foram tratados com extrato de chá verde (CV-500 mg/ Kg de peso corporal) por gavagem até o final do período de experimentação (2ª a 6ª feira). Após este período, os animais foram eutanasiados por decapitação e o hipotálamo dos animais foi extraído, limpo, pesado e armazenados à -80ºC para posterior extração de RNA. Resultados- Uma semana antes da eutanásia dos animais foi realizado o teste de tolerância à glicose e os grupos que receberam a dieta HF apresentaram concentrações de glicose significativamente superiores quando comparado aos grupos alimentados com dieta padrão. Também foi realizado o teste de tolerância à insulina e o grupo OB apresentou concentrações de glicose significativamente superiores quando comparado ao grupo controle, já o grupo OB+CV apresentou uma diminuição comparado ao grupo OB. Ao final do experimento foi possível observar que a dieta HF promoveu um aumento significativo no peso dos animais e o grupo OB+CV houve redução do peso comparado aos animais obesos. O mesmo efeito foi observado na avaliação da ingesta alimentar, o grupo OB+CV diminui a ingesta alimentar comparado ao grupo obeso que recebeu apenas a dieta. Realizamos o cálculo do coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC) e obtivemos uma diminuição no grupo OB+CV comparado ao grupo OB; isto também aconteceu no cálculo de coeficiência alimentar (CEA). Houve diminuição dos depósitos dos tecidos epididimal, subcutâneo e tecido adiposo marrom no grupo OB+CV comparado ao grupo OB, isto foi confirmado pelo índice de adiposidade. Nos níveis plasmáticos de insulina e leptina o grupo OB+CV apresentou suas concentrações diminuídas com relação ao grupo OB que aumentou comparado ao controle. Estes dados caracterizam a resistência à insulina e leptina, sendo melhorado pelo chá verde. A expressão de LepRb aumentou significativamente no grupo OB e diminuiu no grupo OB+CV enquanto a SOCS 3, surpreendentemente não apresentou diferença significativa entre os grupos. Avaliamos a expressão de mRNA de POMC e houve um aumento nos grupos alimentados com dieta HF. O gene relacionado à fome NPY, foi diminuído nos grupos tratados com cháverde. A expressão de IKK não mostrou diferença significativa entre os grupos enquanto a expressão de TLR4 aumentou no grupo com a dieta HF sem efeitos restauradores do extrato de chá verde. Conclusão- De acordo com nossos resultados podemos concluir que o tratamento com o extrato de chá verde foi capaz de reverter os efeitos da dieta hiperlipídica sobre a ingesta e o peso corporal, melhorar a resistência à insulina e leptina modulando positivamente a sinalização de leptina no hipotálamo. **Suporte Financeiro**: Fapesp 2013/22293-0, Fapesp 2015/16114-0.



# BLOQUEADOR DE CANAL DE CÁLCIO VERAPAMIL PREVINE A EXPRESSÃO DA PROTEÍNA DE INTERAÇÃO COM A TIORREDOXINA (*TXNIP*) EM CÉLULAS RENAIS EXPOSTAS A HIPERGLICEMIA

Lima MIA<sup>1</sup>, Oliveira-Souza M<sup>2</sup>, Corrêa-Giannella ML<sup>1</sup>, Monteiro MB<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Lab. de Endocrinologia Celular e Molecular - FMUSP, <sup>2</sup>Lab de Fisiologia Renal - ICBUSP

### Introdução

O sistema tiorredoxina (TXN) é considerado um dos dois principais sistemas antioxidantes endógenos. A TXN é capaz de interagir com um grande número de proteínas, tal como a proteína de interação com a tiorredoxina (TXNIP). O envolvimento da TXNIP na doença renal diabética (DRD) já foi demonstrado em diversos estudos, inclusive por nosso grupo de pesquisa. Seu aumento, diretamente induzido pela hiperglicemia, promove estresse oxidativo, inflamação e produção de matriz extracelular, dentre outros efeitos associados a patogênese da DRD.

Recentemente demonstrou-se que o bloqueador do canal do cálcio (BCC) verapamil é capaz de previnir a expressão próapoptótica de TXNIP em células β pancreáticas humanas e no miocárdio de roedores diabéticos, mostrando que verapamil exerce efeitos adicionais àqueles já bem estabelecidos no tratamento da hipertensão e da angina *pectoris*. Baseado no que já foi demonstrado nos tecidos cardíaco e pancreático e em nossos estudos anteriores nossa hipótese é que a inibição da TXNIP também explicaria os efeitos benéficos exercidos pelo verapamil sobre o tecido renal na vigência do diabetes mellitus. Assim avaliamos como a expressão de *TXNIP* e de *TXN* é modulada por verapamil em células renais expostas a hiperglicemia. Métodos

Células da linhagem HEK-293 (n=6) foram tratadas com meio de cultura contendo (1) 5,6mM de glicose (controle); (2) alta glicose (25mM); e (3) alta glicose + 50uM de verapamil. As culturas foram tratadas por 2, 6 e 24 horas. Além disso, as culturas também foram tratadas por 72h em meio contendo alta glicose + 10uM, 20uM ou 50uM de verapamil.

O RNA total celular foi isolado e convertido em cDNA (High Capacity RNA-to-cDNA). Os ensaios de qPCR foram realizados em aparelho StepOne Plus com uso de sondas Taqman para *TXNIP, TXN* e *18S* (controle endógeno). Resultados

A expressão de *TXNIP* foi menor no grupo alta glicose + 50uM de verapamil em comparação ao grupo controle e ao grupo tratado apenas com alta glicose após 2h (*P*<,0001 e *P*<,0001); 4h (*P*<,0001 e *P*<,0001) e 24 h (*P*=0,002 e *P*=0,006, respectivamente). Apesar da diminuição da expressão de *TXNIP* nestes grupos não observamos aumento significante de *TXNIP* nos grupos tratados apenas com alta glicose em relação ao grupo controle.

Em 72h, a expressão de TXNIP foi maior nos grupos alta glicose e alta glicose + 10uM de verapamil em relação ao grupo controle (P<,0001 e P=0,0019, respectivamente). De maneira inversa o tratamento com alta glicose + 50uM de verapamil diminuiu a expressão de TXNIP (P=0,0001) em relação ao grupo controle.

Em relação ao aumento da expressão de *TXNIP* no grupo alta glicose este foi gradualmente prevenido pela adição de 20uM e 50uM de verapamil (*P*<,0001 e *P*<,0001, respectivamente). Não foram observadas diferenças na expressão de *TXN*. Discussão

Esses resultados sugerem que, assim como observado em outros tecidos submetidos a condição diabética, verapamil diminui a expressão de *TXNIP* induzida por hiperglicemia em células renais. Estudos adicionais são necessários para investigar se outros BCC mais utilizados no tratamento da hipertensão arterial também inibem a expressão de *TXNIP* induzida pela hiperglicemia, o que poderia contribuir para seus efeitos benéficos na DRD.Apoio financeiro: Fapesp



# AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE EDULCORANTES DIETÉTICOS EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO E/OU DIABETES, EM ATENDIMENTO AMBULATORIAL EM UM HOSPITAL PÚBLICO

Martins MR¹, Lucena MCN¹, Lima VH¹, Trecco SMLS¹ - ¹Instituto Central do HCFMUSP - Divisão de Nutrição e Dietética

Introdução: A obesidade e o excesso de peso são desencadeados por fatores nutricionais. Aspectos genéticos, metabólicos, psicológicos, culturais e ambientais podem desempenhar em diferentes indivíduos papéis importantes na patogênese da obesidade. Além disso, o consumo exagerado de produtos industrializados refinados com alto teor de calorias, tem-se uma grande parcela da população em sobrepeso e obesidade. Consequentemente observa-se o desenvolvimento de diabetes tipo 2 ou síndrome metabólica. Desta forma, a preocupação com a saúde, estética e redução calórica da dieta, houve um aumento no consumo de adoçantes dietéticos entre a população brasileira. Para indivíduos que necessitam perder peso, manter o controle glicêmico ou o consumo energético, a opção de substituir o açúcar por adoçante pode ser realizada associada à dieta equilibra da sob orientação de um nutricionista. O presente trabalho objetivou avaliar o consumo de edulcorantes dietéticos em pacientes após intervenção nutricional no ambulatório de nutrição da clínica médica do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Métodos: Estudo transversal que avaliou o consumo de adoçantes em 211 pacientes atendidos no ambulatório de nutrição da clínica médica no período de julho à dezembro de 2015 através de um questionário aplicado com questões referentes à utilização de edulcorante, tipo (pó/líquido), em qual alimento utilizava e se não utilizava qual o motivo. Os pacientes foram divididos em dois grupos: Diabéticos (DM) n= 124 e Geral (G) sem diabetes com excesso de peso ou obesidade n= 87.Em ambos os grupos foi avaliado Índice de Massa Corporal (IMC). Análise estatística: Programa SPSS v.17, (p<0,005). Resultados e Discussão: A idade média do grupo DM foi 56,0 ±11,7 anos, houve uma prevalência de 67% (n=83) do sexo feminino e média de IMC 32,9 ±8,5 Kg/m². No grupo G a idade foi 45,7 ±14,8 anos, sexo feminino 81,6%(n=71) e a média de IMC  $35,6 \pm 6,9 \text{ Kg/m}^2$ . Os obesos foram os que mais utilizaram edulcorantes em ambos os grupos, sendo no DM 64,0% (n=67) e G 87,0% (n=57). A comparação entre os grupos DM e G, quanto ao uso de edulcorantes não foi estatisticamente significativa p= 0,08. A sacarina sódica e ciclamato de sódio foi mais consumida em ambos os grupos respectivamente 47,6% (n=50) e 41,5% (n=27), pode ser justificado devido ser mais antigo no mercado, ter menor custo e ser mais divulgado<sup>1</sup>. O café foi a bebida mais utilizada com o edulcorante, 12,3% (n=13) no DM e 20,0% (n=13) no G. A forma líquida foi mais usada tanto no DM 83,8% (n=88) quanto no G 83,0% (n=54). A utilização de edulcorantes foi maior em mulheres e idosos com excesso de peso onde a sacarina sódica e ciclamato de sódio foi mais utilizada (89,2%), e a forma líquida por 98,0% dos usuários¹. Quanto a não utilização do edulcorante no grupo DM 15,0% (n=19) e no G 25,0%(n=22) o principal motivo foi aversão. Concluiu-se que a maior utilização de edulcorante foi em obesos de ambos os grupos. Alguns diabéticos ainda não utilizam edulcorante mesmo após diagnóstico, sendo necessário acompanhamento nutricional contínuo para reforço das orientações nutricionais.

**Referências:**1. Zanini RV. Prevalência da utilização de adoçantes dietéticos: Um estudo de base populacional. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2010.



#### EFEITOS DA INGESTÃO DE CAPSINOIDES SOBRE A ADIPOSIDADE CORPORAL EM RATOS WISTAR ADULTOS.

Foss-Freitas MC<sup>1</sup>, Cansian ACC<sup>1</sup>, Zordan AJCM<sup>1</sup>, Gonçalves NB<sup>1</sup>, Suen VMM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto ? USP - Departamento de Clínica Médica, Divisão de Endocrinologia e Metabologia

Introdução: O consumo de alimentos termogênicos, dentre eles os capsinoides, tem demonstrado efeitos na redução de gordura corporal, melhora na tolerância à glicose, propriedades anti-inflamatórias, atividades anti-hiperlipidêmica e antioxidante. Objetivou-se neste trabalho investigar o efeito dos capsinoides e sua influência na prevenção da adiposidade corporal em ratos Wistar adultos. Métodos: 24 animais foram separados em quatro grupos: controle (C), controle + capsinoides (CC), dieta hiperlipídica (H) e dieta hiperlipídica + capsinoides (HC). Durante um período de 6 semanas os grupos CC e HC receberam suplementação diária, adicionada à dieta, de capsinoides na dosagem de 0,18mg/Kg de peso do animal. Durante o experimento foram avaliados o peso corporal semanalmente e, ao final do estudo, os animais foram sacrificados, sendo coletado sangue total e tecidos: hepático, adiposo epididimal, marrom e retroperitoneal. Resultados e Discussão: O ganho de peso total em 6 semanas foi semelhante entre os grupos. Em relação ao consumo alimentar foi maior por animais com dieta padrão suplementada com capsinoides. A adiposidade corporal apresentou-se menor nos grupos tratados com capsinoides. O tecido adiposo marrom foi o único que apresentou o peso significativamente menor nos dois grupos tratados com capsinoides, comparando-se aos grupos não tratados Quanto ao peso da gordura epididimal, observou-se que este tecido apresentou maior peso significativo no grupo H, comparando-se ao grupo HC.. O acréscimo de capsinoides na dieta dos animais não proporcionou redução significativa dos níveis séricos de glicemia, colesterol total, LDL-colesterol e triglicérides durante as 6 semanas de tratamento. Conclusão: No presente estudo foi possível concluir que o consumo de capsinoides tem efetividade na prevenção da obesidade. Além disso, os capsinoides também não interferiram na ingestão de dieta dos animais suplementados, pois apresentaram consumo igual ou maior aos não suplementados. Enfim, a efetividade do tratamento sobre o depósito de gordura em órgãos específicos poderá nortear o embasamento de novas pesquisas.

#### Referências Bibliográficas:

- WESTERTERP-PLANTENGA, M.; DIEPVENS, K.; JOOSEN, A.M.; BÉRUBÉ-PARENT, S.; TREMBLAY, A. **Metabolic effects of spices, teas, and caffeine.** *Physiol Behav* 89: 85–91, 2006.
- SNITKER, S.; FUJISHIMA, Y.; SHEN, H; OTT, S.; PI-SUNYER, X.; FURUHATA, Y.; SATO, H.; e TAKAHASHI, M. Effects of novel capsinoid treatment on fatness and energy metabolism in humans: possible pharmacogenetic implications. Am J Clin Nutr, 89:45–50, 2009.
- FORTE, G.C.; SCHNEIDER, A.P. Modulação do gasto energético pela ingestão de capsaicina, cafeína e catequinas: uma revisão sistemática. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, São Paulo v.6, n.35, p.207-215, Set/Out. 2012



# A SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE GENGIBRE (ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE) MELHORA A HOMEOSTASE GLICÊMICA E ATENUA O GANHO DE PESO E EM CAMUNDONGOS C57BL/6.

Foss-Freitas MC<sup>1</sup>, Zordan AJCM<sup>1</sup>, Cansian ACC<sup>1</sup>, Gonçalves NB<sup>1</sup>, Suen VMM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto USP - Departamento de Clínica Médica, Divisão de Endocrinologia e Metabologia

Introdução: A prevalência da obesidade de suas comorbidades está aumentando mundialmente e uma das opções de tratamento envolve o uso do gengibre (Zingiber officinale), que apresenta propriedades farmacológicas na regulação da termogênese e tem sido proposto como estratégia para perda e manutenção do peso. Materiais e métodos: Estudo experimental com uma amostra de 40 camundongos machos C57BL/6 divididos em quatro grupos: grupo controle (C), grupo controle com gengibre (CG), grupo hiperlipídico (H) e grupo hiperlipídico com gengibre (HG). Os animais receberam, respectivamente, adição de 500mg/kg de peso corporal de extrato seco de gengibre (grupos intervenção CG e HG) ou nenhuma suplementação (grupos controle C e H) às suas dietas. Antes do início da suplementação e ao final do experimento, antes da eutanásia, foram feitas medidas de glicemia capilar e coletadas amostras de sangue para a realização do teste de tolerância à glicose (GTT) e teste de tolerância/sensibilidade à insulina (ITT). Após o sacrifício, obteve-se também amostras séricas para dosagens de insulina e lipidograma, bem como espécimes totais do fígado e dos tecidos adiposo marrom, epididimal e retroperitoneal para a mensuração de seus pesos absolutos. Resultados e Discussão: observou-se no grupo de dieta hiperlipídica suplementada com extrato de gengibre atenuação do percentual de ganho de peso em quatro semanas, melhora da tolerância à glicose e restauração da sensibilidade insulínica ao final estudo, quando comparado aos outros grupos. O menor percentual de ganho de peso no grupo HG ocorreu independentemente da ingestão alimentar, porém não permaneceu sustentado após doze semanas de suplementação com o extrato. O grupo HG também apresentou um menor ganho de peso hepático em relação aos grupos não suplementados. Por outro lado, não foram encontradas diferenças significativas na comparação do perfil lipídico e no peso dos tecidos adiposos do grupo HG em relação aos demais grupos estudados. Conclusão: O extrato seco de gengibre pode atenuar o percentual do ganho de peso associado a uma dieta hiperlipídica, além de melhorar a resistência à ação da insulina e a intolerância glicêmica. A importância de tais achados e a sua relação com o potencial efeito termogênico relacionado ao gengibre precisam ser confirmados através de novos estudos.

#### Referências Bibliográficas

ATTARI V. E., OSTADRAHIMI A, ASGHARI JAFARABADI M, MEHRALIZADEH S, MAHLUJI S. Changes of serum adipocytokines and body weight following Zingiber officinale supplementation in obese women: a RCT. Eur J Nutr. 2015 Aug 29 HASANI-RANJBAR S, NAYEBI N, LARIJANI B, ABDOLLAHI M. A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. World J Gastroenterol 2009; 15(25): 3073-3085

LI Y, TRAN VH, KOTA BP, NAMMI S, DUKE CC, ROUFOGALIS BD. Preventative Effect of Zingiber officinale on Insulin Resistance in a High-Fat High-Carbohydrate Diet-Fed Rat Model and its Mechanism of Action. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2014 Aug;115(2):209-15



CURCUMIN-ENRICHED YOGHURT INHIBITS THE ACTIVITIES OF CALPAIN AND PROTEASOME IN SKELETAL MUSCLES OF DIABETIC RATS Oliveira JO<sup>1</sup>, Costa MC<sup>1</sup>, Arcaro CA<sup>1</sup>, Assis RP<sup>1</sup>, Gutierres VO<sup>1</sup>, Paula MF<sup>1</sup>, Costa PI<sup>1</sup>, Brunetti IL<sup>1</sup>, Baviera AM<sup>1</sup> - <sup>1</sup>School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, SP, Brazil - Department of Clinical Analysis

Introduction: It is an emerging and promising trend the search of natural active compounds with potential to reduce or prevent skeletal muscle atrophy. Curcumin (diferuloylmethane) is a yellow pigment extracted from *Curcuma longa* L. rhizomes. A wide range of biological activities has been attributed to curcumin, including antidiabetic activity. Considering that diabetes mellitus is characterized by muscle mass loss due to an increase in the rate of proteolysis, the objective of this study was to investigate the consequences of the curcumin treatment in the activities of proteases that cause atrophy in skeletal muscles of diabetic rats.

Methods: Male Wistar rats (150±10g) were injected with streptozotocin (40 mg/kg, i.v.) to induce diabetes and they were divided into three groups (n=7): diabetic rats treated with yoghurt (DYOG), yoghurt enriched with 90 mg/kg curcumin (DC90) or insulin 4U (DINS), and normal (non-diabetic) rats treated with yoghurt (NYOG). Rats were treated every day. Weekly, the body weight, glycemia and urinary urea levels were monitored. After 35 days, animals were euthanized and *soleus* and *extensor digitorum longus* (EDL) muscles were excised and used for the determination of the activities of calpain and proteasome by the hydrolysis of specific substrates and release of 7-amino-4-methylcumarin (AMC), quantified by fluorimetric analysis (excitation: 360 nm; emission: 460 nm).

Results: DC90 rats had a reduction in the glycemia and urinary urea levels and an increase in the body weight when compared with DYOG. The increase in the body weight gain in DC90 rats can be attributed, at least in part, to a decrease in the loss of muscle mass: the weight of EDL in DC90 rats was higher than DYOG (DYOG=31.3±2.29; DC90=40.5±2.05; DINS=44.1±1.48; NYOG=44.0±1.22; mg/100g). The minor muscle mass gain in DYOG was probably due to the increase in the proteasome activity (soleus: DYOG=58.2±2.37; NYOG=45.2±2.01; EDL: DYOG=45.6±3.88; NYOG=25.4±4.7; pmol AMC/mg protein/min). DC90 rats showed a significant reduction in the proteasome activity in EDL (33.5±2.49 pmol AMC/mg protein/min), confirming the diminished loss of EDL mass in DC90 rats. Proteasome activity must be preceded by the protein release from the sarcomere, which can be promoted by the proteolysis mediated by calpains. DYOG rats showed an increased calpain activity in soleus (24%) and EDL (40%) muscles, and the treatment with curcumin decreased the calpain activity only in EDL muscles, which was 23% lower than DYOG.

**Discussion:** Curcumin treatment decreased the activities of calpain and proteasome in skeletal muscles of diabetic rats, leading to a minor loss of muscle mass. The understanding of the curcumin beneficial effects in diabetes mellitus must be further explored, but recent evidences from our laboratory indicates that curcumin-enriched yoghurt promoted an increase in the insulin sensitivity in skeletal muscles of diabetic rats, which can explain its antiproteolytic effect.

Acknowledgements: FAPESP (2013/18861-2), CNPq, CAPES, PADC/FCFAr/UNESP Keywords: curcumin-enriched yoghurt, diabetes mellitus, muscle atrophy, proteasome, calpain



#### CO-ADMINISTRATION OF INSULIN AND CURCUMIN-ENRICHED YOGHURT IMPROVES OXIDATIVE STRESS IN STREPTOZOTOCIN-DIABETIC RATS

Gutierres VO<sup>1</sup>, Paula MF<sup>1</sup>, Arcaro CA<sup>1</sup>, Assis RP<sup>1</sup>, Costa MC<sup>1</sup>, Oliveira JO<sup>1</sup>, Costa PI<sup>1</sup>, Baviera AM<sup>1</sup>, Brunetti IL<sup>1</sup> - <sup>1</sup>School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, Brazil - Department of Clinical Analysis

Introduction: Insulin therapy is indicated for the treatment of diabetes mellitus (DM), especially type 1 DM. However, insulin administration can lead to some adverse affects, such as hypoglycemia episodes, postprandial hyperglycemia and poor metabolic control. New options for the treatment of DM are necessary. Curcumin (diferuloylmethane), the yellow pigment extracted from *Curcuma longa* L. rhizomes, has antidiabetic and antioxidant activities. The objective of this study was to evaluate the effects of the treatment of diabetic rats with a minor insulin dose in association with the administration of curcumin-enriched yoghurt.

Methods: Male Wistar rats (150±10g) were injected with streptozotocin (40 mg/kg, *i.v.*) for DM induction and they were divided into 6 groups (8 rats/group): normal (NYOG) and diabetic rats treated with yoghurt (DYOG); treated with 4U insulin (DI4U); treated with 1U insulin (DI1U); treated with 90mg/kg curcumin/yoghurt (DC90); treated with 90mg/kg curcumin/yoghurt and 1U insulin (DC9011U), for 35 days. Weekly, body weight, food and water intake, urinary volume and glycemia were determined. After 35 days, it were determined the weight of adipose tissues and skeletal muscles, malondialdehyde (MDA) plasma levels and liver levels of protein carbonyl groups (PCO), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD).

Results: At the beginning of the experiment, diabetic rats had similar glycemia values (470 mg/dL). After 35 days, glycemia of DC90 (525.54±8.78) and DI4U (88.95±10.50) rats were lower than DYOG (615.74±13.69); DC90I1U rats had glycemia lower (250.62±44.26) than DI1U rats (355.31±45.33). DI4U, DI1U and DC90I1U rats showed improvement in all physiological parameters when compared with DYOG. MDA levels were reduced in DI4U and DC90I1U rats (10.28±1.48 and 11.10±1.29, μmoL/mL, respectively), when compared with DYOG (17.50±1.38). PCO levels were reduced in DI4U (34%), DC90 (9%), DI1U (10%) and DC90I1U (37%) rats when compared with DYOG. DC90I1U rats had increased SOD and CAT activities, reaching values similar those of DI4U and NYOG rats.

**Discussion:** The association between curcumin-enriched yoghurt and a minor dose of insulin can be an interesting alternative to treat DM, since the beneficial responses observed in various biomarkers were similar those of the major insulin dose, this last closely related with adverse effects. Since the association reduced the oxidative stress, this treatment can be also an interesting option in the prevention of long-term complications of DM related with oxidative disturbances.

Acknowledgements: CAPES, CNPq, FAPESP, FCFAr/UNESP

Keywords: diabetes mellitus, curcumin-enriched yoghurt, co-therapies, oxidative stress



### PALMITATO E PRODUÇÃO DE CERAMIDAS EM NEURÔNIOS HIPOTALÂMICOS

Piton M<sup>1</sup>, Portovedo M<sup>1</sup>, Reginato A<sup>1</sup>, Miyamoto JE<sup>1</sup>, Torsoni MA<sup>1</sup>, Torsoni AS<sup>1</sup>, Milanski M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNICAMP - Laboratório de Distúrbios do Metabolismo

Introdução: A obesidade é um problema na saúde pública mundial que se dá pela perda da regulação entre a ingestão alimentar e o gasto energético. O hipotálamo é o órgão responsável por controlar o acoplamento fome/saciedade, principalmente por meio da sinalização de hormônios como a leptina e a insulina. Sabe-se que em modelos experimentais, o excesso de gordura saturada proveniente da dieta é capaz de atenuar a sinalização de insulina em neurônios hipotalâmicos e ativar diversas vias de sinalização relacionadas com inflamação e estresse celular, como ativação de Toll Like Receptor 4 e estresse de retículo endoplasmático. Recentemente foi demonstrado que a obesidade leva a uma alteração no metabolismo de esfingolipídios, que por sua vez, interferem em vias de sinalização inflamatória e morte celular. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento com palmitato em células hipotalâmicas na produção de ceramidas e avaliação de morte celular. Métodos: Células hipotalâmicas GT1-7 foram tratadas com diferentes doses e tempos de palmitato. Após, o conteúdo de ceramida foi medido por meio de ensaio com DAG cinase e ATP marcado. A ativação de caspase 3 e 7 foi avaliada por meio de ensaio luminescente, no qual foi adicionado um substrato para as caspases 3 e 7 que, quando clivado, libera aminoluciferina, que é substrato para a luciferase. Resultados: Foi observado aumento progressivo na produção de ceramidas após o tratamento com palmitato, que se iniciou com seis horas de tratamento e teve o maior aumento após vinte e quatro horas. Concomitante ao aumento exacerbado de ceramidas foi observada maior ativação de caspase 3 e 7 após vinte e quatro horas de tratamento com palmitato, indicando possível ativação de morte neuronal. As ceramidas são importantes moléculas lipídicas bioativas, capazes de modular vias inflamatórias e regular o destino de células após estímulo estressor. A produção exacerbada de ceramida em resposta à sobrecarga de ácidos graxos saturados em células hipotalâmicas pode ser um mecanismo molecular importante envolvido na apoptose de neuronios importantes para o controle da ingestão alimentar e do gasto energético.

Entidade Financiadora: CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Agradecimentos: UNICAMP, CNPq, FCA, LabDiMe.



O consumo de dieta hiperlipídica leva à modulação de autofagia mediada por chaperonas em hipotálamo de camungos Portovedo M<sup>1</sup>, Reginato A<sup>1</sup>, Miyamoto JE<sup>1</sup>, Torsoni MA<sup>1</sup>, Torsoni AS<sup>1</sup>, Milanski M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Unicamp

Introdução: A autofagia mediada por caperonas (CMA) consiste em um tipo de autofagia relacionado com a degradação específica de proteínas pelo lisossomo. Por sua especificidade, a CMA atua como um importante regulador do metabolismo celular, sendo que, a falha nesse processo pode levar ao acúmulo de proteínas disfuncionais e perda da homeostase celular. O objetivo deste trabalho foi investigar a CMA em hipotálamo de camungondos alimentados com dieta hiperlipídica. Métodos: Para isso, camundongos Swiss machos receberam uma dieta normolipídica (CT) ou hiperlipídica (HL) por 3 dias ou 1 semana. Westernblotting foi utilizado para verificar o conteúdo de proteínas envolvidas com a CMA e co-imunoprecipitação foi utilizada para verificar a associação das proteínas Lamp2a e Hsc-70 no hipotálamo dos animais experimentais. qRT-PCR foi usado para avaliar a expressão gênica de citocinas hipotalâmicas. Além disso, o peso e a ingestão alimentar foram avaliados diariamente. Resultados e discussão: Após 3 dias de consumo de dieta hiperlipídica, foi observado aumento na expressão gênica de IL1β e aumento na fosforilação de JNK1 no hipotálamo de animais que consumiram dieta HL por 3 dias, bem como aumento no peso corporal, no tecido adiposo epididimal e ingestão alimentar. Além disso, foi observado aumento da associação de Lamp2 com Hsc-70 no hipotálamo dos animais HL. De forma contrária, o conteúdo total de Lamp2a e Hsc-70 está diminuído nesse período experimental nos animais HL. Em contrapartida, após 1 semana de dieta HL, os animais apresentam aumento no peso corporal e tecido adiposo epididimal, sem alterações na ingestão alimentar. A expressão gênica de IL1β está diminuída e a associação entre Lamp2 e Hsc-70 está diminuída. Além disso, camundongos submetidos ao tratamento intracerebroventricular com 2 μL de palmitato 90 μM por 8 dias apresentam aumento da associação de Lamp2 com Hsc-70 em hipotálamo. Essas alterações sugerem que a CMA está modulada de forma diferenciada em diferentes tempos após o curto período de consumo de dieta hiperlipídica, sendo que, os ácidos graxos saturados podem ser os responsáveis pelas alterações neste processo. Modulação da CMA em resposta ao consumo de dieta hiperlipídica e ao tratamento com ácido graxo saturado representa um importante mecanismo que pode se relacionar com o acúmulo de proteínas disfuncionais e perda da homeostase hipotalâmica durante a obesidade. Essa pesquisa foi financiada pelo processo #2013/10911-0 e #2014/11751-0 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).



# EFFICACY AND SAFETY OF LIRAGLUTIDE 3.0MG AND 1.8MG IN WEIGHT LOSS RESPONDERS FROM OVERWEIGHT/OBESE ADULTS WITH TYPE 2 DIABETES: A SUBGROUP ANALYSIS OF THE SCALE DIABETES TRIAL

DeFronzo R<sup>1</sup>, Davies M<sup>2</sup>, Kushner R<sup>3</sup>, Mosenzon O<sup>4</sup>, Skjoth T<sup>5</sup>, Claudius B<sup>5</sup>, Fonseca MIH<sup>6</sup>, Valente F<sup>7</sup> - <sup>1</sup>Texas Diabetes Institute, San Antonio, TX, USA, <sup>2</sup>Diabetes Research Centre, Leicester University, Leicester, UK, <sup>3</sup>Northwestern University, Chicago, IL, USA, <sup>4</sup>Hadassah Hebrew University Hospital, Jerusalem, Israel, <sup>5</sup>Novo Nordisk, Søborg, Denmark, <sup>6</sup>Novo Nordisk Brazil, <sup>7</sup>Federal University of São Paulo - UNIFESP, São Paulo, Brazil

INTRODUCTION AND METHODS: SCALE Diabetes (NCT01272232) is a 56-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial evaluating the efficacy and safety of liraglutide for weight management in overweight/obese adults with T2D. 846 subjects were randomized 2:1:1 to liraglutide 3.0 mg (n=423), 1.8 mg (n=211) or placebo (n=212) as an adjunct to diet and exercise. 50% male, mean age 54.9 years, BMI 37.1 kg/m², A1c 7.9%, and T2D duration 7.3 years. This subgroup analysis compares efficacy and safety in responders (weight loss of ≥5% from baseline at week 56) vs non-responders. Changes from baseline data are least-squares means (efficacy) or observed means (safety) with LOCF. Pulse data are observed means for completers.

RESULTS: Mean weight loss for responders vs non-responders was 10.3% vs 1.6% with liraglutide 3.0 mg, 10.4% vs 1.3% with liraglutide 1.8 mg and 9.7% vs 0.7% with placebo, although more subjects in the liraglutide 3.0 mg (49.9%, n=205) and 1.8 mg (35.6%, n=72) groups than the placebo group (13.8%, n=29) were responders (p<0.0001). Changes in A1c from baseline with liraglutide 3.0 mg, 1.8 mg and placebo were -1.6 and -1.5 vs -1.1% for responders, and -1.0, -1.0 and -0.2% for non-responders. SBP was reduced by -5.0, -6.2 and -5.3 mmHg in responders with liraglutide 3.0 mg, liraglutide 1.8 mg and placebo respectively and -0.5, -1.9 and 0.5 mmHg in non-responders. Physical function scores using IWQoL-LITE improved by 19.0, 16.4 and 15.5 with liraglutide 3.0 mg, liraglutide 1.8 mg and placebo, respectively, in responders vs 11.1, 10.4 and 7.7 in non-responders. In responders vs non-responders adverse events (AEs) were reported by 96% vs 92% with liraglutide 3.0 mg, 94% vs 91% with liraglutide 1.8 mg and 97% vs 85% with placebo. For serious AEs no marked differences between responders and non-responders were observed. The most frequent AEs were GI disorders, which were more frequent in responders vs non-responders for liraglutide 3.0 mg (76% vs 55%) but not different for liraglutide 1.8 mg (58% vs 57%) or placebo (41% vs 39%). Rates (events/patient year) of documented symptomatic hypoglycemia (plasma glucose ≤56 mg/dL) were similar in responders vs non-responders across all groups, liraglutide 3.0 mg, liraglutide 1.8 mg and placebo was 1.1; placebo: 0.1 vs 0.3. Mean (SD) change in pulse rate from baseline for liraglutide 3.0 mg, liraglutide 1.8 mg and placebo was 1.3 (9.5), 2.0 (10.7) and -4.4 (10.1) bpm for responders and 3.5 (10.2), 3.1 (10.1) and -1.2 (9.0) bpm for non-responders.

CONCLUSION: A higher proportion of subjects achieved a clinically meaningful ≥5% weight loss at 56 weeks with liraglutide 3.0 mg and 1.8 mg, compared with placebo. The responder groups had a total weight loss at 56 weeks of ~10%. Responders in the liraglutide groups had greater improvements in A1c, indicating an additional benefit of treatment above that attributed to weight loss. Similar overall incidence of AEs was observed in subgroups.



# IMPACT OF BMI ON HBA1C REDUCTION, HYPOGLYCEMIA RATES AND INSULIN REQUIREMENTS IN RESPONSE TO IDEGLIRA IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES (T2D)

Fonseca MIH<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Novo Nordisk Brazil

INTRODUCTION: A novel combination of insulin degludec (IDeg) and liraglutide (Lira), IDegLira, is in clinical development.

METHODS: In this post hoc analysis of 2 Phase 3 trials: DUAL I (IDegLira vs IDeg and Lira in patients uncontrolled on oral antihyperglycemic drugs [OADs]; 52 weeks) and DUAL II (IDegLira vs IDeg in patients uncontrolled on basal insulin + OADs; 26 weeks), we examined whether IDegLira was consistently effective across a range of baseline BMI categories (<25; 25–30; 30–35; >35 kg/m2).

RESULTS: In DUAL I, the reduction of HbA1c by IDegLira was 1.8–1.9% and independent of baseline BMI (Table). In each BMI category, HbA1c decreased more with IDegLira vs IDeg or Lira (both P<0.001). In DUAL II, the reduction of HbA1c by IDegLira was 1.6–2.1% with the greatest reduction at BMI 30–35 kg/m2. In DUAL I, IDegLira was more insulin-sparing compared to IDeg at higher BMIs while providing greater reductions in HbA1c. In DUAL I, lower hypoglycemia rates were observed with increasing BMI. Many patients on IDegLira reached a target HbA1c of <7% with weight loss and no hypoglycemia (DUAL I: 33.1%; DUAL II: 39.2%).

CONCLUSION: Across BMI categories, IDegLira improved clinical outcomes such as lowered HbA1c, reduced hypoglycemia rates and reduced insulin dose compared with IDeg alone. IDegLira is effective in both insulin-naïve patients and in those previously uncontrolled on basal insulin, independent of baseline BMI.



Tratamento com insulina melhora A expressão de proteínas relacionadas com metabolismo energético e contratilidade em músculo cardíaco de ratos diabéticos, repercutindo na função ventricular

Okamoto MM<sup>1</sup>, David-Silva A, Pinto Jr DAC, Yonamine CY, Freitas HS, Antunes VR, Machado UF - <sup>1</sup>Instituto de Ciências Biomédicas da USP - Fisiologia e Biofísica

A hiperglicemia é um dos principais fatores que conduzem a alterações metabólicas, funcionais e estruturais no músculo cardía co de diabéticos. No diabetes mellitus tipo 1 (DM1), ocorre redução na expressão do mRNA *Slc2a4* e da proteína GLUT4, e consequentemente na captação de glicose pelo cardiomiócito. Adicionalmente, também ocorre redução na expressão de proteínas como SERCA2A e GSK3B na musculatura cardíaca de animais diabéticos. Ainda, estudos evidenciam a participação do transportador SGLT1 no aporte de glicose celular e da AMPK na regulação da homeostase energética do cardiomiócito, o que poderia também estar alterado no DM1. O presente estudo investigou o efeito do DM1 e das insulinas NPH e glargina sobre a regulação glicêmica, conteúdo de glicogênio no ventrículo esquerdo, expressão de GLUT4, SGLT1, AMPK, pAMPK, GSK3, pGSK3 e SERCA2A, e atividade funcional do ventrículo esquerdo.

MÉTODOS: Ratos tornados diabéticos com aloxana foram tratados com salina, insulina NPH ou glargina (6U/dia) por 2 semanas. Animais não diabéticos foram usados como controles. Avaliamos: a) controle glicêmico por meio da glicosúria e frutosamina plasmática; b) peso corporal e do ventrículo esquerdo; c) glicogênio; d) GLUT4 em fração microssomal e de membrana plasmática; e) proteínas SGLT1, pAMPKA, AMPKA, pGSK3B, GSK3A e SERCA2A em homogeneizado tecidual; f) atividade funcional ventricular esquerda por meio dos parâmetros dP/dT máxima (derivada máxima de aumento da pressão ventricular) e dP/dT mínima (derivada máxima de queda da pressão ventricular), as quais são estimativas da contratilidade e da complacência miocárdica, respectivamente.

RESULTADOS: O DM induziu aumento (P<0.05) na glicosúria, frutosamina plasmática e glicogênio cardíaco; e redução (P<0.05) nos pesos corporal e do ventrículo esquerdo, na expressão de GLUT4, SGLT1, pAMPKA, AMPKA, pGSK3B, GSK3B e SERCA 2A, e nos parâmetros de função ventricular dp/dT máxima e dp/dT mínima. Os tratamentos com insulinas NPH ou glargina reverteram parcial ou totalmente esses parâmetros. Porém, destaca-se que o tratamento com glargina, comparado ao tratamento com NPH, promoveu um efeito adicionalmente significativo (P<0.05) sobre glicogênio, frutosamina, GLUT4 em membrana plasmática e p-GSK3B, além de ser o único tratamento capaz de reverter a dp/dT máxima (20%, P<0.05)

CONCLUSÃO: No coração de ratos diabéticos houve redução em parâmetros moleculares relacionados à utilização de glicose e à homeostasia celular do cálcio, o que se acompanhou de redução na contratilidade e complacência cardíacas, caracterizando a miocardiopatia diabética. Essas alterações foram revertidas por insulinoterapia, destacando-se que a insulina glargina foi significativamente mais eficiente que a NPH na recuperação da função ventricular.

Financiamento: FAPESP 2012/04831-1



# EFEITO DO ÓLEO DE CHIA (Salvia hipanica L.) NO METABOLISMO GLICÊMICO E LIPÍDICO DE CAMUNDONGOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA

Santos PHQ<sup>1</sup>, Silva MF<sup>1</sup>, Florentina BO<sup>1</sup>, Silva PD<sup>1</sup>, Silveira VLF<sup>1</sup>, Caperuto LC<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal de São Paulo - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO: A obesidade, reconhecida como doença inflamatória crônica, é o principal fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes. A pesquisa e a procura por alimentos funcionais que previnam ou amenizem tais doenças tem aumentado nos últimos anos. Nesse sentido, a semente de Chia (Salvia hispanica L.), por ser a maior fonte vegetal de ácidos graxos ômega-3 (AGP w-3), potencialmente anti-inflamatórios, poderia atenuar os sintomas relacionados a essas doenças. Assim, nosso objetivo é avaliar o efeito da ingestão de óleo de Chia sobre o metabolismo glicêmico e lipídico em modelo experimental de obesidade, induzida por dietas hipercalóricas (HC) ricas em gordura saturada (HF) ou sacarose (HS). MÉTODOS: Foram utilizados camundongos C57bl/6 com 8-10 semanas de idade, alimentados por 15 semanas com as dietas HC. Os animais foram inicialmente separados em 2 grupos (HF e HS). Em cada um dos grupos, os animais foram separados randomicamente em 4 sub grupos: Controle Magro (CM;n=7), alimentado com ração padrão, Controle Obeso alimentado com a dieta HC (CO; n=7), Obeso suplementado com óleo de Chia (OC; n=7) alimentado durante todo o período com dieta HC suplementada com Chia, e Obeso suplementado parcialmente com óleo de Chia (OPC; n=7), alimentado com dieta HC por 9 semanas e dieta HC suplementada com óleo de Chia nas últimas 6 semanas. Foram avaliados durante o experimento o ganho de peso, consumo alimentar e calórico, ITT e GTT. No final do tratamento com as dietas, os animais foram anestesiados com pentobarbital (60mg/kg) e o sangue foi coletado para a avaliação do perfil lipídico. Em seguida a anestesia foi aprofundada, os animais foram eutanasiados e os tecidos adiposos e fígado retirados e pesados. RESULTADOS: Os resultados parciais do nosso estudo mostram que o óleo de Chia não alterou a adiposidade visceral e o ganho de peso corpóreo, observados nos animais obesos alimentados com ambas as dietas, HF ou HS. Nos animais obesos alimentados com a dieta HF, a suplementação total ou parcial com óleo de Chia não alterou a glicemia de jejum e a intolerância à glicose. Entretanto, diminuiu significativamente o aumento de colesterol total. Nos animais obesos com suplementação parcial, o óleo de chia promoveu ainda aumento significativo do HDL e diminuição da fração não-HDL. Nos animais obesos alimentados com a dieta HS a suplementação total ou parcial da dieta com óleo de chia melhorou significativamente a intolerância à glicose e a resistência à insulina. DISCUSSÃO: A suplementação dietética com óleo de semente de Chia, durante 15 semanas, promoveu alterações diferentes em dois modelos de obesidade. Na obesidade induzida por dieta HF o óleo de Chia melhorou o perfil lipídico, prevenindo a hipercolesterolemia, diminuindo a fração não-HDL e aumentando o HDL, enquanto que, no modelo de obesidade induzida por dieta HS, o óleo de Chia melhorou o perfil glicêmico, diminuindo a intolerância à glicose e a resistência à insulina.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FAPESP



# CCBP2 overexpression in the hypothalamus prevents hypothalamic inflammation and reduces glucose intolerance in diet-induced obesity

Fioravante M, Morari J, Ramalho AF, Solon C, Moura R, Haddad-Tovolli R, Bombassaro B, Velloso LA

Introduction: In diet-induced obesity (DIO) the hypothalamus is affected by an inflammatory response that induces resistance to satiety and adipostatic hormones leading to the defective regulation of caloric intake and energy expenditure. Studies have shown that inflammation can be triggered as early as one day after the introduction of dietary fats and the chemokine fractalkine plays an important role in this process. However, given the complexity of the initiation of an immune response, we hypothesized that other chemokines could also be involved in this process.

Results: Here we evaluated the differential hypothalamic expression of transcripts of 84 chemokines in obese-prone and obese-resistant Swiss mice fed on a high-fat diet (HFD). We identified the chemokine CCBP2 (D6) as an early responsive transcript that is decreased in the hypothalamus of OP. Using lentivirus delivery, we overexpressed CCBP2 in the hypothalamus of OP and OR (OPLV and ORLV) and evaluated metabolic and inflammatory parameters after 15 days on HFD. CCBP2 overexpression resulted in the decreased expression of cytokines (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10). This was not accompanied by differences in caloric intake and body mass gain. However, CCBP2 overexpression in the hypothalamus resulted in a greater systemic glucose tolerance as determined by an intraperitoneal glucose tolerance test. By confocal microscopy of the pancreas, we observed that pancreatic islets of OPLV and ORLV mice were bigger than control.

Conclusion: Overexpression of CCBP2 in the hypothalamus of DIO mice improves systemic glucose tolerance and increases pancreatic islet size.

Acknowledgment: FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), OCRC (Obesity and Comorbities Research Center).



As consequências funcionais da superexpressão da urocortina 2 na massa muscular esquelética de camundongos Lautherbach N E S¹, Gonçalves D A P¹, Paula-Gomes S², Zanon N M¹, Silveira WA¹, Pereira M G³, Miyabara EH³, Navegantes LCC¹, Kettelhut IC² - ¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMPR/USP) - Fisiologia, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMPR/USP) - Bioquímica, ³Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB/USP) - Anatomia

Introdução: Estudos demonstram que a Urocortina 2 (Ucn2) exerce efeitos anti-atrófico e hipertrófico no músculo esquelético de roedores, no entanto, os mecanismos intracelulares responsáveis por estes achados ainda não foram esclarecidos. O presente trabalho investiga o papel da Ucn2 nas vias de sinalização envolvidas no controle do metabolismo de proteínas em músculo esquelético. Métodos: Músculos soleus e EDL de ratos Wistar e camundongos C57BL6 foram isolados e incubados (2h) com diferentes concentrações de Ucn2 para investigar a taxa de degradação proteica através da liberação de tirosina no meio. Músculos tibialis de camundongos e células musculares C2C12 foram transfectadas com o plasmídeo expressando Ucn2 por 7-14 dias e 24-48h, respectivamente. Em seguida, as células e o músculo tibialis foram processados para determinar os níveis de fosforilação de substratos de PKA, CREB, Akt, Foxo1 e ERK1/2 por western blot. Para análise da função muscular in vivo os camundongos foram anestesiados e o nervo ciático foi exposto e conectado a um eletrodo. O tendão do músculo tibialis anterior foi conectado a um transdutor de força acoplado a um computador para obtenção dos dados referentes à força gerada pela contração muscular. Resultados: A Ucn2 e a isobutilmetilxantina (IBMX), um inibidor não seletivo das fosfodiesterases do AMPc, exerceram efeito antiproteolítico in vitro em músculos soleus e EDL de ratos normais. Já a co-incubação com Ucn2 e IBMX não provocou redução adicional na proteólise total. A superexpressão in vivo de Ucn2 (14 dias) induziu hipertrofia e atenuou a perda da força muscular tetânica em tibialis anterior comparado com músculos transfectados com o vetor vazio. A transfecção in vivo de plasmídeos expressando dominante negativo de Akt e mkp1(inibidor ERK1/2) aboliu este efeito hipertrófico. A Ucn2 aumentou os níveis de fosforilação de Akt, Foxo1, S6, substratos de PKA e CREB. Discussão: Os resultados in vitro sugerem que os efeitos antiatróficos causados pela Ucn2 são mediados pelo AMPc, uma vez que a co-incubação de Ucn2 e IBMX não causou qualquer redução adicional na proteólise total, sugerindo que ambas as drogas compartilham este mesmo mediador intracelular. Os nossos resultados demonstram que o incremento de massa muscular provocado pela Ucn2 aumenta a força de contração melhorando, dessa forma, a função muscular. Ademais, foi demonstrado que as guinases Akt e ERK1/2 são mediadoras centrais do efeito hipertrófico induzido pela superexpressão da Ucn2, já que a ausência da atividade destas quinases, isoladamente, aboliu o efeito hipertrófico da Ucn2. Além disso, este efeito parece depender da atividade conjunta de Akt e ERK1/2, evidenciando um possível cross-talk entre estas vias de sinalização. Conclusão: Os resultados sugerem que os efeitos desencadeados pela Ucn2 na massa muscular esquelética parecem ser mediados pelas vias de sinalização PKA/CREB, Akt/Foxo, S6 e ERK1/2 resultando assim nas ações hipertróficas e anticatabólicas da Ucn2 observadas no metabolismo proteico muscular. Suporte: CAPES, FAPESP.



#### AVALIAÇÃO DA HIPOVITAMINOSE D EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 OBESOS CANDIDATOS A CIRURGIA BARIÁTRICA

Razuck NNP<sup>1</sup>, Fontana AGS<sup>1</sup>, Souza CR<sup>1</sup>, Santos DMS<sup>1</sup>, Périco M<sup>1</sup>, Souza MR<sup>1</sup>, Rocha MP<sup>1</sup>, Soares RP<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina Santa Marcelina - Liga Acadêmica de Endocrinologia Santa Marcelina

### INTRODUÇÃO:

A hipovitaminose D ocorre quando os níveis plasmáticos de 25 hidroxivitamina D (25(OH)D) estão menores que 30 ng/mL; essa alteração pode ocorrer em pessoas com pouca exposição solar, dieta pobre em alimentos que a contem, catabolismo hepático aumentado, diminuição da síntese endógena e resistência orgânica.

A hipovitaminose D nos obesos e com diabetes tipo 2(DM2) possa estar ligada ao depósito dessa vitamina nos adipócitos e à menor exposição solar devido a menor mobilidade e sedentarismo.

#### **OBJETIVOS:**

Avaliar a prevalência de hipovitaminose D em obesos com e sem DM2 e comparar os níveis dessa vitamina nos dois grupos.

#### MÉTODOS:

Avaliamos dados de prontuários de obesos com critérios para realização de cirurgia bariátrica do ambulatório de endocrinologia do Hospital Santa Marcelina. A coleta de dados ocorreu no perído de novembro 2015 à abril 2016.

Realizamos um estudo transversal para avaliação de dados de prevalência do ambulatório e estrutura banco de dados para pesquisas futuras.

#### **RESULTADOS:**

Dos 100 prontuários avaliados, excluímos 20 sem a dosagem de 25(OH)D. Dos 80 restantes, a hipovitaminose D foi encontrada em 89%, com média global de 26,9 ng/mL. No total, 37 eram DM2. A média e desvio padrão desse grupo foi: idade:  $(49\pm1,6anos)$ , IMC:  $(45\pm0,8 \text{ kg/m}^2)$  e 25(OH)D:  $(22,9\pm1,1 \text{ ng/mL})$ , nesse grupo, 8% eram suficientes, 41% insuficientes e 51% deficientes em 25(OH)D.

Dos pacientes obesos não DM2 (n: 43), a média e desvio padrão desse grupo foi: idade:  $(41\pm1,3$ anos), IMC:  $(49\pm0,8$  kg/m²) e 25(OH) D:  $(23,5\pm1,1$  ng/m L), nesse grupo 14% eram suficientes, 59% insuficientes e 27% deficientes em 25(OH)D. Não houve diferença significante nos grupos entre as médias de 25(OH)D e nem para IMC, a única diferença da idade, maior no grupo DM2 (p: 0,002).

## CONCLUSÃO:

A prevalência de hipovitaminose D encontrada é esperada e pode estar relacionada à ingestão inadequada, exposição solar limitada e diminuição da biodisponibilidade devido ao excesso de tecido adiposo.

Torna-se imprescindível em toda avaliação pré-operatória de pacientes obesos candidatos a bariátrica, portadores de DM2 ou não, dosar 25(OH)D e caso presente a hipovitaminose D a correção é mandatória, pois a tendência é piora dos níveis após o procedimento cirúrgico.

A população DM2 é mais acometida pela forma mais severa de hipovitaminose D, pois a deficiência foi observada em 51% desses, ao passo que os não DM2, 27 % eram deficientes dessa vitamina.

#### REFERÊNCIAS:

SCHUCH, Natielen Jacques; GARCIA, Vivian Cristina; MARTINI, Ligia Araújo. Vitamina D e doenças endocrinometabólicas. Arq Bras Endocrinol Metab, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 625-633, jul. 2009. Disponível em . acessos em 08 maio 2016.



## AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DA PRIMEIRA CONSULTA DE PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 CANDIDATOS A CIRURGIA BARIÁTRICA

Razuck NNP<sup>1</sup>, Albuquerque A<sup>1</sup>, Silva TS<sup>1</sup>, Paro MT<sup>1</sup>, Barbosa TR<sup>1</sup>, Rogana ECB<sup>1</sup>, Soares RP<sup>1</sup>, Coutinho FL<sup>1</sup>, Rocha MP<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina Santa Marcelina - Liga Acadêmica de Endocrinologia Santa Marcelina

### INTRODUÇÃO:

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e uma síndrome causada pela resistência à insulina e disfunção de célula β pancreática com diminuição da liberação desse hormônio. No Brasil a prevalência de DM2 é de 11,6 milhões de casos, sendo que 3,2 milhões não diagnosticados. A obesidade é um fator de risco para DM2 e sabe-se que para cada aumento de 10% no peso corporal, há elevação de 2mg/dL na glicemia de jejum.

#### METODOLOGIA:

Coletamos dados de 100 (cem) pacientes obesos com indicação de cirurgia bariátrica do ambulatório de endocrinologia do Hospital Santa Marcelina, o levantamento dos dados e análise das informações ocorreu entre Novembro de 2015 e Abril de 2016. Avaliamos os dados da primeira consulta desses pacientes e separamos de acordo com o antecedente pessoal de DM2. Foi quantificada a prevalência do DM2 entre os sexos e analisamos o perfil glicêmico através da hemoglobina glicada (HbAIC), sendo estabelecido como controle adequado quando seu valor ≤ 7%.

#### **RESULTADO:**

Após a análise de 100 prontuários, foi constatado que 40% dos pacientes referiam o diagnóstico de DM2. Desses, 7,5% (n:3) era m do sexo masculino e 92,5% (n:37) do sexo feminino, a média ± desvio padrão; valor mínimo e valor máximo foram: idade (49 ± 1,7; 21-70 anos), IMC: (45,8± 1,17; 35,3-71,4 kg/m²), HbA1C: 7,45 ± 0,26; 5,6- 13,4%), sendo que 52, 5% (n:21) tinham HbA1C ≤7%. Em relação ao tratamento do DM2: 95% (n:38) usavam metformina , 22,5% (n:9) usavam metformina e insulina NPH, nenhum paciente usava apenas insulina NPH. Quanto a coexistência de doenças: 80% (n:32) tinham hipertensão arterial sistêmica, 35% (n:14) hipotireoidismo e 60% (n:24) tinham dislipidemia. Já em relação ao estilo de vida desses pacientes 5% (n:2) eram fumantes, não haviam etilistas no grupo e 32,5%(n:13) faziam atividade física programada. No que tange aos pacientes que não referiam DM2, 42% (n:25) tinham, o diagnóstico, na primeira avaliação, de pré -DM2.

### DISCUSSÃO:

A análise mostra que dos 100 pacientes pesquisados no ambulatório de obesidade, 40% apresentavam o diagnóstico de DM2 e 42% o diagnóstico de pré-DM2 na primeira avaliação, mostrando uma forte relação entre as doenças. Outro resultado pesquisado foi o valor da HbA1C, tendo 52,5% dos pacientes valor ≤ 7%, 47,5% estavam acima desse valor, mostrando que nessa população existe mais pacientes dentro da meta glicêmica, diferentemente da maioria dos estudos (4).Conclui-se que, o perfil clínico e laboratorial dos pacientes DM2 do ambulatório de obesidade do Hospital Santa Marcelina se assemelha aos perfis encontrados em outros estudos em alguns aspectos, como o sexo mais acometido (mulheres), a idade e a relação entre a o besidade e o DM2. REFERÊNCIAS

• 1- Gross JLG Jorge L., Silveiro SPS Sandra P., Camargo JLC Joíza L., Reichelt AJR Angela J., de Azevedo MJA Mirela J.. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico.



### EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DA Bauhinia forficata LINK NA PREVENÇÃO DO DIABETES TIPO 2 EM MODELO ANIMAL

Gasparini P<sup>1</sup>, Garofolo IC<sup>1</sup>, Lellis-Santos C<sup>1</sup>, Silva DO<sup>2</sup>, Silveira VLF<sup>1</sup>, Caperuto LC<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal de São Paulo - Departamento de Ciências Biológicas, <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo - Departamento de Ciências Exatas e da Terra.

Introdução: O diabetes *mellitus* (DM) é uma doença crônica caracterizada por hiperglicemia e intolerância à glicose, afetando 415 milhões de adultos no mundo. O tipo mais comum de DM é o 2 (DM2), caracterizado pela resistência à insulina e/ou deficiência relativa na produção de insulina. A aderência da sociedade aos fitoterápicos tem aumentado por uma série de fatores e estes têm sido utilizados na medicina alternativa para o tratamento de doenças. O tratamento para o DM é comumente realizado com a utilização de espécies vegetais na forma de chá (decocção ou infusão), sendo a *Bauhinia forficata* Link (*Bf* L.) uma das espécies utilizadas. Alguns estudos demonstraram que esta planta é fonte potencial de antioxidantes naturais, com atividades antidiabética e hipoglicêmica. Embora tenha sido sugerido efeito benéfico do extrato aquoso das folhas da *Bf* L. na prevenção de complicações do DM associadas ao estresse oxidativo, na literatura há somente estudos que relacionam a *Bf* L. ao tratamento do DM2, além de não elucidarem seu mecanismo de ação. Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de trabalhos que abordem a relação desta planta com a prevenção do DM2 e seus possíveis mecanismos de ação nos tecidos alvo da insulina. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito preventivo do extrato aquoso oriundo da decocção (Dec) de folhas frescas da *Bf* L. no DM2, analisando a via de sinalização da insulina no tecido hepático.

**Métodos:** Para tal, 30 camundongos C57Bl/6J machos com 6 meses de idade foram separados em 4 grupos: animais Controle (C, n=7) suplementados com dieta controle e gavage diária com água; animais submetidos à dieta controle e gavage diária com *Bf* L. na dose de 200 mg/kg (CBf, n=8); animais submetidos a indução do DM2 e gavage diária com água (HS, n=7), e animais submetidos a indução do DM2 e gavage diária com *Bf* L. na dose de 200 mg/kg (HSBf, n=8). Ambas, dieta e gavage, foram administradas concomitantemente durante 6 semanas e a indução do DM2 foi realizada através de dieta hiperlipídica (HFD) durante todo o período e de baixa dose de estreptozotocina (STZ).

Resultados e Discussão: (1) A quantificação dos compostos fenólicos e dos flavonoides presentes em Dec demonstrou que o extrato é uma fonte potencial de ambos; (2) os testes de tolerância oral à glicose (oGTT) e tolerância intraperitoneal à insulina (ipITT) evidenciaram que Dec foi capaz de atenuar o desenvolvimento da resistência à insulina, fato não observado com relação à intolerância à glicose; (3) os animais diabéticos apresentaram glicemia de jejum superior a 230 mg/dL; já no grupo HSBf, Dec foi capaz de reduzir a glicemia para valores inferiores a 230 mg/dL em 50% dos animais; (4) os parâmetros metabólicos demonstraram que Dec alterou o ganho de peso e ingesta alimentar, porém não os parâmetros bioquímicos; (5) os pesos dos tecidos adiposos (TA) e hepático indicaram que Dec não foi capaz de alterá-los, reduzindo apenas o TA epididimal do HSBf; (6) o mecanismo de ação de Dec não parece ser via alteração na pAKT/AKT e pERK/ERK hepática. Portanto, a decocção da *Bf* L. parece atenuar o DM2 no modelo utilizado, porém, não através de proteínas da sinalização da insulina no fígado.

Entidades Financiadoras: FAPESP e CNPq.



# COMPARAÇÃO DO GASTO ENERGÉTICO DE PACIENTES PORTADORES DE SÍNDROME METABÓLICA AVALIADO PELO MÉTODO DE CALORIMETRIA INDIRETA E POR EQUAÇÕES PREDITIVAS UTILIZADAS NA PRÁTICA CLÍNICA

Pereira PHGR<sup>1,2</sup>, Castro JMR<sup>1</sup>, Araujo RL<sup>1</sup>, Ribeiro BV<sup>1</sup>, Aniteli TM<sup>1</sup>, Santos RF<sup>1,3</sup> - <sup>1</sup>Liga de Síndrome Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LSM HC-FMUSP), <sup>2</sup>Universidade Paulista (UNIP), <sup>3</sup>Faculdade de Medicina da USP (FMUSP, LIM 18)

Introdução: O aconselhamento dietético e alterações no estilo de vida são considerados terapias de primeira escolha para o tratamento de pacientes com Síndrome Metabólica (SM). Para a intervenção dietética individualizada, deve-se estimar a Taxa Metabólica Basal (TMB) e o Gasto Energético Total (GET) do paciente, entretanto, são conhecidas divergências de resultados entre as fórmulas de estimativa atualmente disponíveis na literatura científica. Desse modo, o estudo teve por objetivo comparar o GET estimado por equações preditivas com a avaliação realizada por calorimetria indireta (CI) em pacientes com SM. Métodos: Trata-se de estudo transversal com indivíduos portadores de SM atendidos em no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O gasto energético dos indivíduos foi determinado por CI e pelas equações preditivas de Harris & Benedict (HB), Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO/OMS) e Institute of Medicine (IOM). O resultado da CI foi multiplicado pelo fator atividade (FA) específico de cada uma das equações, obtendo-se, assim, o GET de cada paciente. A análise estatística foi realizada por meio do software Graphpad Prism 6®, sendo utilizado o teste de Wilcoxon para a comparação entre os resultados das equações e respectiva calorimetria indireta e teste de Spearman para análise de correlação. Resultados: Foram avaliados 43 indivíduos (25,6% homens e 74,4% mulheres), com média de idade de 54 ± 10 anos. Os resultados das correlações entre o GET obtido por equações preditivas e o GET determinado por CI após multiplicação pelo FA foram, respectivamente:  $2492,34 \pm 828,0 \times 2505,98 \pm 841,8$  kcal/dia para HB (r = 0,9243), 1779,61  $\pm$  $381.1 \times 2338.45 \pm 556.0 \text{ kcal/dia para IOM} (r = 0.9117) = 2467.57 \pm 546.3 \times 2520.97 \pm 516.4 \text{ kcal/dia para FAO/OMS} (r = 0.9097).$ Verificou-se correlação positiva entre todas as equações utilizadas e a CI, porém a fórmula estimativa de HB foi a que mais se aproximou dos valores obtidos pela calorimetria. Discussão: A CI é considerada padrão ouro na determinação do gasto energético, entretanto, é menos utilizada na prática clínica já que o calorímetro possui custo elevado e necessita de mão de obra especializada para o manejo correto. Assim sendo, as equações preditivas tornam-se um método mais prático e menos oneroso para estimativa do gasto energético. De acordo com o presente estudo, a equação de HB seria mais adequada para a população em questão, no entanto, como este é o primeiro trabalho que avalia tais parâmetros, são necessários novos estudos que corroborem esses resultados. Entidade financiadora: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Liga de Síndrome Metabólica do HC-FMUSP.



#### ACOMPANHAMENTO NUTRICIONAL AMBULATORIAL DE PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA

Pereira PHGR<sup>1,2</sup>, Moraes TD<sup>1,2</sup>, Kozaka JM<sup>1,2</sup>, Pissiguelli R<sup>1</sup>, Araujo RL<sup>1</sup>, Arruda-Marques MC<sup>1,3</sup>, Santos RF<sup>1,3</sup> - <sup>1</sup>Liga de Síndrome Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LSM HC-FMUSP), <sup>2</sup>Universidade Paulista (UNIP), <sup>3</sup>Faculdade de Medicina da USP (FMUSP, LIM 18)

Introdução: Alterações no perfil dietético apresentam efeito na melhora dos parâmetros metabólicos da Síndrome Metabólica (SM). Desse modo, o estudo teve por objetivo avaliar o efeito da introdução de dieta hipocalórica e nutricionalmente balancea da sobre os biomarcadores da SM. **Métodos:** Trata-se de estudo prospectivo com indivíduos portadores de SM atendidos em no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). Os pacientes foram submetidos a acompanhamento ambulatorial nutricional, mensalmente, durante 6 meses, sendo adotada a dieta recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da SM. Na primeira e última consultas, foram colhidas amostras de sangue em jejum, para dosagem de glicemia (GLI), hemoglobina glicada (HbA1c), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicérides (TG). Em cada consulta foram aferidos peso, altura, circunferência da cintura (CC), pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) e calculado o índice de massa corporal (IMC). O consumo alimentar foi avaliado por recordatórios de 24 horas, os quais foram calculados por meio do software Virtual Nutri Plus®, versão 2.0. A análise estatística foi realizada no software Graphpad Prism 6®, com teste t de student e correlação de Pearson para variáveis paramétricas e teste de Mann-Whitney e correlação de Spearman para não-paramétricas. O nível de significância considerado como diferente estatisticamente foi p<0,05. Resultados: Foram avaliados 31 indivíduos adultos, de ambos os sexos, portadores de SM. As médias ± desvio padrão para os biomarcadores avaliados no início e final do tratamento foram: peso  $(96.8 \pm 26.0 \times 94.4 \pm 23.0)$  kg (p=0,067); IMC  $(36.0 \pm 7.9 \times 9.00)$  kg (p=0,067); IMC  $(36.0 \pm 7.00)$  kg (p=0,067); IMC  $(36.0 \pm 0.00)$  kg (p=0,067);  $35.2 \pm 6.7$ ) kg/m<sup>2</sup> (p=0.079); CC (111.7 ± 17.5 X 108.4 ± 16.1) cm (p=0.044); GLI (107.2 ± 14.7 X 101.4 ± 14.5) mg/dL (p=0.063); HbA1c  $(5.9 \pm 0.6 \times 5.8 \pm 0.6)\%$  (p=0,005); HDL-c  $(47.1 \pm 13.1 \times 47.4 \pm 10.9)$  mg/dl (p=0,775); TG  $(146.4 \pm 54.5 \times 140.1 \pm 65.8)$ mg/dl (p=0.587); PAS (140,8 ± 39,0 X 133,8 ± 17,0) mmHg (p=0,766); PAD (88,7 ± 21,6 X 81,4 ± 13,0) mmHg (p=0,690). A comparação entre os recordatórios iniciais e finais mostrou aumento no consumo de fibras (16,48 x 19,50) g (p=0,043), não tendo havido significância estatística entre os demais parâmetros avaliados. Discussão: O acompanhamento nutricional de pacientes com SM, durante 6 meses, levou à redução da CC e da HbA1c e demonstrou uma tendência à redução de peso, IMC e GLI. Essas alterações são fundamentais no controle metabólico dos pacientes, uma vez que estão associadas ao menor risco de desenvolvimento de diabetes e doenças cardiovasculares. No tocante ao consumo alimentar, observou-se aumento significativo na ingestão de fibras, o que sabidamente relaciona-se à melhora do perfil glicêmico dos pacientes. Sendo assim, observa-se que o tratamento nutricional individualizado apresenta fundamental importância para o controle metabólico de indivíduos portadores de SM. Entidade financiadora: Financiamento próprio. Agradecimentos: Liga de Síndrome Metabólica do HC-FMUSP.



# 17β ESTRADIOL INDUZ A TRANSLOCAÇÃO DE ESR1 DO NÚCLEO PARA A MEMBRANA PLASMÁTICA E AUMENTA A CAPTAÇÃO DE GLICOSE EM ADIPÓCITOS 3T3-L1

Campello RS<sup>1</sup>, Fátima LA<sup>1</sup>, Mori RCT<sup>1</sup>, Machado UF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Instituto de Ciências Biomédicas/USP - Departamento de Fisiologia e Biofísica

INTRODUÇÃO: A resistência à insulina (RI) manifesta-se como uma reduzida capacidade dos tecidos sensíveis à insulina, no que diz respeito à captação de glicose, responderem a níveis normais do hormônio. Tais tecidos (muscular e adiposo) expressam a proteína transportadora de glicose GLUT4 e redução na expressão gênica e/ou na translocação de GLUT4 para a membrana plasmática está relacionada à diminuição da sensibilidade a insulina. Sabe-se que o 17β Estradiol (E2) está envolvido no controle da homeostasia glicêmica, no qual variações na concentração do hormônio podem estar relacionadas à diminuição do conteúdo de GLUT4 e RI. O mecanismo de ação do E2 envolve a sua ligação aos seus receptores (ESR1 e ESR2), os quais podem modular a expressão de genes, bem como participar da ativação de vias de sinalização intracelulares, tais como a via PI3K/AKT, sabidamente envolvida na translocação do GLUT4 para a membrana com consequente aumento na captação de glicose. Pesquisas demonstram que os efeitos do E2 sobre as vias de sinalização têm início na membrana plasmática ou próximo dela e têm sido descritos como mediados por ESR1 e ESR2 extranuclear ou até mesmo pela exclusão dos ESRs previamente localizados em núcleo, entretanto, em células sensíveis à insulina, tais efeitos ainda carecem de maiores esclarecimentos. Portanto, o objetivo foi avaliar a participação do E2 sobre a distribuição subcelular dos ESRs, fosforilação de AKT, translocação de GLUT4 para a membrana e captaçao de glicose em adipócitos 3T3-L1.

**MÉTODOS:** Adipócitos da linhagem 3T3-L1 foram tratados por 24 horas com E2 (10 nM); agonista seletivo de ESR1 (PPT) (10 nM) ou antagonista seletivo de ESR1 (MPP) (1 μM), na presença ou ausência de E2. Avaliou-se a distribuição subcelular dos ESRs, bem como a translocação de GLUT4 por imunofluorescência. A fosforilação de AKT e o índice de translocação de GLUT4 foram avaliados por Western blotting. Finalmente, verificou-se a captação de glicose por 2-deoxy-[1,2- 3H]-D-glicose.

RESULTADOS: Ensaios de imunofluorescência revelaram a exclusão nuclear e localização em membrana plasmática apenas de ESR1 após exposição ao E2. O tratamento com PPT induziu a translocação de ESR1 do núcleo para a membrana, na ausência ou presença de E2. Por outro lado, após a exposição ao MPP, a distribuição de ESR1 foi predominantemente localizada em núcleo, mesmo após a adição de E2. Interessantemente, os tratamentos que induziram a translocação de ESR1 para a membrana plasmática se refletiram em aumento na fosforilação de AKT. Tanto os ensaios de imunofluorescência quanto de Western blotting revelaram que o tratamento com E2 foi capaz de induzir a translocação de GLUT4 do citoplasma para a membrana plasmática, até mesmo na ausência de insulina. Além disso, houve um aumento na captação de glicose induzida por insulina após tratamento com E2.

**DISCUSSÃO:** Os resultados demonstram que o tratamento com E2 induz a translocação de ESR1 do núcleo para a membrana plasmática o qual se acompanha por aumento na fosforilação de AKT. Além disso, a presença de E2 induz a translocação de GLUT4 para a membrana e aumento na captação de glicose. Tais achados revelam que, em adipócitos, a participação do E2 na melhora da sensibilidade à insulina é mediada por ESR1.

Apoio Financeiro: FAPESP (2012/24210-1)



#### UMA NOVA MEDIDA ANTROPOMÉTRICA PARA ESTIMAR O COMPONENTE ADIPOSO VISCERAL NA SÍNDROME METABÓLICA

Pissiguelli R¹, Giacaglia LR¹, Ueda SKN², Pereira PHGR³, Araujo RL¹, Arruda-Marques MC¹, Santos RF¹ - ¹Liga de Síndrome Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LSM HC-FMUSP), ²Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IR do HC-FMUSP), ³Liga de Síndrome Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LSM HC-FMUSP), Universidade Paulista (UNIP)

#### **RESUMO**

Introdução - A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por um conjunto de fatores de risco cardiovascular associados à deposição central de gordura e à resistência à insulina (RI). A circunferência abdominal (CA) tem sido o índice antropométrico mais representativo da gordura intra-abdominal, mas nem sempre essa medida denota o conteúdo visceral. A tomografia computadorizada (TC) é um método de análise mais preciso na detecção da gordura visceral, mas não é realizada rotineiramente na prática clínica. O estudo teve como objetivos estabelecer e validar um método clínico prático, não oneroso, de se quantificar a gordura visceral utilizando as medidas da CA para subtrair o componente subcutâneo, além de propor um novo modelo matemático que quantificasse o componente subcutâneo abdominal e visceral a partir do método da prega e da CA correlacionando-os com a TC de abdômen. Métodos – Foram selecionados 15 pacientes do sexo masculino, entre 18 e 60 anos de idade, da LSM do HC-FMUSP. Foram coletados dados de TC e medidas de CA e de espessuras cutâneas abdominal (DCAb) e suprailíaca (DCSi). Resultados - Os participantes da pesquisa apresentaram média de idade de 49 anos, sendo que todos apresentaram obesidade central. As estimativas de superfícies de gorduras subcutânea (GS) e visceral (GV) médias foram de  $401,06 \text{ cm}^2 \text{ e de } 231,15 \text{ cm}^2$ , respectivamente. As equações preditivas formuladas foram: GS =  $-1166,34 + \text{IMC} \times 20,86 + \text{CA}$  (em pé) x 5,78 + DCSi (em pé) x 5,56 + DCAb (em pé) x 3,03 e GV = = -239,26 - IMC X 12,66 + CA (em pé) x 8,11 + DCSi (em pé) x 0,10 -DCAb (em pé) x 1,43. Discussão - É sabido que a distribuição de gordura corporal relaciona-se à RI, base fisiopatológica da SM. Sendo assim, a estimativa dos conteúdos de gordura visceral e subcutânea da cavidade abdominal é fundamental para predizer o risco de doenças crônicas não-transmissíveis e comorbidades, como o diabetes. Dado que os exames padrão-ouro para quantificar as gorduras subcutânea e visceral não são utilizados rotineiramente na prática clínica ressalta-se a importância da elaboração e uso das equações preditivas para auxílio no diagnóstico e prognóstico da SM. As equações preditivas apresentadas são inovadoras para adolescentes e adultos portadores de SM, diferentemente aos modelos matemáticos já propostos, tornando-se essencial a continuidade do projeto para a sua futura validação a partir do aumento da amostra.

Descritores: Síndrome Metabólica; Diagnóstico; Tomografia; Medidas antropométricas.

### **ENTIDADE FINANCIADORA**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

#### **AGRADECIMENTOS**

À equipe multiprofissional da LSM do HC-FMUSP, cuja ajuda foi indispensável à realização do projeto, à parceria oferecida pelo IR da FMUSP e à FAPESP, pelo auxílio financeiro.



#### INCIDÊNCIA DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS

Lima RAO<sup>1</sup>, Freire APCF<sup>1</sup>, Pacagnelli FL<sup>1</sup>, Lopes GAP<sup>1</sup>, Santos ABC<sup>1</sup>, Pereira JA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade do Oeste Paulista - Faculdade de Fisioterapia

Introdução: A presença de diabetes mellitus (DM) é um fator de risco independente para doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral (AVC), doença vascular periférica e insuficiência cardíaca, que são as principais causas de morte nesses pacientes. Segundo dados da Sociedade Brasileira de Diabetes, o estado com mais adultos portadores de DM é o estado de São Paulo, onde aproximadamente 14% da população é portadora de DM tipo 2. As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte (52%) em pacientes diabéticos do tipo 1 e 2, com maior prevalência em DM tipo 2. Estima-se que 25% a 74% dos 50 milhões de sobreviventes de AVC no mundo têm alguma deficiência física, cognitiva ou emocional, e necessitem de assistência parcial ou completa para realizar atividades da vida diária. Métodos: Foi realizado um estudo observacional, composto por pacientes atendidos em uma clínica escola de fisioterapia no interior de São Paulo, no setor de neurologia. Foram avaliados 30 prontuários de pacientes atendidos pela clínica escola durante o período de 2015. Participaram do estudo todos os pacientes portadores de DM 2 com diagnóstico clínico de sequela de AVC. Os pacientes foram incluídos após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Resultados: A média de idade dos pacientes observados era de 63,6 anos ± 6,36. A maioria dos pacientes, 88,9% sofreu episódios de AVC isquêmicos, e 11,1% dos pacientes sofreram AVC hemorrágico. Não foi possível correlacionar o tempo do diagnóstico clínico de DM e a ocorrência do primeiro episódio de AVC. No entanto todos os pacientes portadores de DM estão sendo orientados quando a dieta e a prática regular de atividade física e a sua eficácia no controle da glicemia, evitando assim a ocorrência de novos episódios de AVC em pacientes portadores de DM 2. Discussão: Neste estudo não foi observada correlação entre o tempo de diagnóstico de DM2 e o AVC. Contudo, estima-se que 50% da população portadora de DM não saiba que é portador da doença, que permanece assintomática até a realização de testes de rastreamento ou do aparecimento de complicações em decorrência da doença.



Revisão sistemática e metanálise da eficácia do programa de atividade física supervisionado no tratamento da Polineuropatia Diabética.

Lima RAO<sup>1</sup>, Lopes GAP<sup>1</sup>, Nunes VS<sup>2</sup> - <sup>1</sup>Universidade do Oeste Paulista e Universidade Estatual Paulista ?Júlio de Mesquita Filho?-Faculdade de Medicina de Botucatu - SP - Faculdade de Fisioterapia e Faculdade de Medicina, <sup>2</sup>Universidade Estatual Paulista ?Júlio de Mesquita Filho?- Faculdade de Medicina de Botucatu - SP - Faculdade de Medicina

Introdução: pacientes com Diabetes Mellitus (DM) podem desenvolver no decorrer da vida várias complicações crônicas que juntas contribuirão para uma maior morbidade e mortalidade nesses indivíduos. A polineuropatia periférica diabética (PPD) está entre as mais frequentes. Vários estudos têm demonstrado que o programa de atividade física pode prevenir ou mudar a história natural da PPD. A hipótese deste estudo foi que um programa supervisionado de atividade física pode independente de o controle glicêmico diminuir os sinais, sintomas e consequências da PPD. Objetivo: avaliar por meio de uma revisão sistemática a eficácia e segurança do programa de atividade física supervisionado no tratamento da PPD. Métodos: a metodologia foi de acordo com a colaboração Cochrane. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados, em que homens ou mulheres adultos, com critérios diagnósticos de DM e PPD foram randomizados a um programa supervisionado de atividade física (grupo intervenção) ou não (grupo controle). As bases de dados eletrônicas Embase, Pubmed, Lilacs e Cochrane foram utilizadas como fontes de dados. Os desfechos procurados foram melhora na PPD na qualidade de vida, segurança dos exercícios e controle do DM. Os desfechos homogêneos entre os estudos incluídos foram plotados numa metanálise usando o software RevMan 5.3. Resultados: foram identificados 3999 estudos, e dois revisores independentemente leram os títulos e resumos dos mesmos. Dos 26 estudos potencialmente elegíveis, 6 foram incluídos na revisão e 20 foram excluídos devido à falta de randomização ou diferentes grupos controle. Um total de 390 pacientes foram alocados ao grupo intervenção ou controle. Em relação a melhora da PPD os desfechos que puderam ser plotados na metanálise foram a medida do equilíbrio estático e dinâmico. O primeiro foi aferido pelo tempo dos indivíduos parados sobre a perna não dominante com olhos abertos e fechados, cuja metanálise incluiu 3 estudos e o resultado favoreceu o grupo intervenção tanto com os olhos abertos como fechados (MD 3.73 (0.64, 6.83) p=0.02, I<sup>2</sup> = 0% e (MD 1.23(0.31, 2.16) p=0.009, l<sup>2</sup>=0%, respectivamente). O equilíbrio dinâmico foi aferido pela escala de equilíbrio de Berg e TUG, a metanálise incluiu 3 estudos e o resultado de ambos não mostrou diferença entre os grupos (MD -0.56(-1.60, 0.48) p=0.29, l<sup>2</sup>=0% e MD -0.19(-0.96, 0.58) p=0.63, I<sup>2</sup>=0%, respectivamente). Pela falta de homogeneidade entre os desfechos analisados, não foi possível plotar na metanálise os resultados relacionados a qualidade de vida, segurança dos exercícios e melhora no controle glicêmico. Discussão: apesar do grande número de estudos publicados relacionar a melhora da PPD com a atividade física supervisionada, encontramos apenas 6 estudos randomizados na literatura. Embora a análise qualitativa dos dados favoreceu o grupo intervenção, apenas a melhora do equilíbrio dinâmico e estático foi possível ser analisado pela metanálise, sendo que apenas o primeiro favoreceu significativamente o grupo intervenção.



# POLYPHENOLS FROM *EUGENIA DYSENTERICA* DC REDUCE POSTPRANDIAL GLUCOSE AND INSULIN PLASMA CONCENTRATIONS IN PATIENTS WITH GLUCOSE INTOLERANCE

Araujo RL<sup>1</sup>, Santos RF<sup>2</sup>, Giacaglia LR<sup>2</sup>, Genovese Ml<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, <sup>2</sup>Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina Disciplina de Endocrinologia (LIM-18)

Introduction: Previous study of our group, in vitro and in animal models, have shown that Eugenia dysenterica DC (Brazilian fruit) has polyphenolic compounds with blood glucose-lowering. Objective: In the present study, the aim was to evaluate the acute effect of EDDC fruit juice on postprandial blood glucose and insulin concentrations, in patients with glucose intolerance. Methods: Fourteen patients (male/female: 2/12); age (46 ± 8) years, were conducted to three meal tests of 30 g of carbohydrate plus 300 mL water (Test 1), or 300 mL of clarified juice -without fiber- (C- EDDC juice) (Test 2), or 300 mL of Non-clarified juice (NC- EDDC juice) (Test 3), after 8 hours fasting, 7 days -interval between them. Blood glucose and insulin were measured at 0, 30, 60, 90, and 120 min for glucose and insulin. Data (mean  $\pm$  SD) were analyzed by repeated measures ANOVA, and Friedman tests, p  $\leq$  0.05. Results: The results showed that AUC with C-EDDC and NC-EDDC juices were 13% and 18% lower for glucose (14935 ± 1604 x  $12968 \pm 1237 \times 12291 \pm 979 \text{ mg/dL/min}, p \le 0.0001)$  and 39% and 45% lower for insulin, respectively, than control (test 1): (6049)  $\pm$  3617 x 3710  $\pm$  1757 x 3331  $\pm$  1337  $\mu$ U/ml/min, p  $\leq$  0.0013). Similar results were observed for incremental area (IAUC): lower glucose by C-EDDC and NC-EDDC juices (68% and 74%, respectively) (2763 $\pm$  1272 x 890  $\pm$  625 x 720  $\pm$  371 mg/dL/min, p  $\leq$  0.0001) and insulin was 67% and 81% lower than control ( test 1) (3673 ± 2594 x 1192 ± 797 x 710 ± 807 µU/ml/min, p≤ 0.0006). The insulin secretion index ( $\Delta$ Ins0-120/ $\Delta$ gluc0-120) decreased with both EDDC juices: (0.3972 ± 0.2156 x 0.2859 ± 0.1323 x 0.2692 ± 0.1020 p < 0.0035). Conclusion: Eugenia dysenterica DC juices, both clarified and non-clarified, decreased significantly postprandial plasma glucose and insulin concentrations during meals test. The research reported in this abstract has been supported by the FAPESP and CNPQ.



### CONSUMO DE ANTIOXIDANTES REDUZEM FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À SÍNDROME METABÓLICA

Araujo RL<sup>1</sup>, Simomura VL<sup>1</sup>, Pereira PHGR<sup>1</sup>, Bellani R<sup>1</sup>, Santos RF<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Liga Acadêmica de Síndrome Metabólica do Ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina (LIM-18)

Introdução: A síndrome metabólica (SM) é um transtorno associado a algumas complicações, como obesidade visceral, inflamação crônica de baixo grau, disglicemia e estresse oxidativo. Neste sentido, estratégias nutricionais que contribuam com o equilíbrio antioxidante tornam-se substanciais. Objetivo: Avaliar a ingestão dietética de nutrientes antioxidantes e relacioná-los com a redução dos fatores risco associados à SM. Métodos: Trata-se de um estudo transversal, com 21 (homens/mulheres: 8/13) pacientes portadores de SM atendidos em um ambulatório de Endocrinologia no município de São Paulo. Foram coletados dados antropométricos (peso, estatura e circunferência da cintura); clínicos (pressão arterial); bioquímicos (glicemia em jejum, hemoglobina glicada, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicerídeos) e sobre o consumo dietético por meio de recordatório habitual calculado no software Virtual Nutri Plus versão 2.0. O tratamento estatístico foi conduzido no software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 18.0 e para todos parâmetros avaliados foi considerado nível de significância de 5%. Para análise de correlação entre consumo dietético e marcadores da SM foi realizada Correlação de Pearson e Correlação de Spearman. Resultados: Os resultados mostraram que em relação ao consumo dietético, os homens consomem maior percentual de ácidos graxos monoinsaturados quando comparados às mulheres (9,0±2,1 vs 4,9±1,9; p=0,000) e maior percentual de ácidos graxos poliinsaturados (5,6±3,1 vs 2,8±1,7; p=0,014). No que se refere ao consumo de antioxidantes e os marcadores de risco cardiovascular, para o sexo feminino, o consumo de zinco resultou em uma correlação inversa com a CC (r=-0,655; p=0,015), assim como o cobre em relação à glicemia sérica (r=-0,567; p=0,043). Já para o sexo masculino, houve uma correlação positiva entre a ingestão de ácido ascórbico e o HDL-colesterol (r= 0,829; p=0,011). Conclusão: A correlação positiva entre o consumo de ácido ascórbico e HDL-colesterol para os homens, e a correlação inversa entre zinco e CC e, entre cobre e glicemia para o sexo feminino, apontam a importância destes nutrientes na redução dos fatores de risco associados à síndrome metabólica.



# IMPROVEMENT OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN DIABETIC RATS TREATED WITH CURCUMIN AND/OR LYCOPENE, AND/OR BIXIN SUPPLEMENTED YOGHURT

Assis RP<sup>1</sup>, Arcaro CA<sup>1</sup>, Gutierres VO<sup>1</sup>, Oliveira JO<sup>1</sup>, Costa Pl<sup>1</sup>, Baviera AM<sup>1</sup>, Brunetti IL<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista, UNESP - Análises Clínicas

Introduction: The strong association among hyperglycemia, dyslipidemia and oxidative stress accounts for the long-term complications related to diabetes mellitus (DM). It is a promising trend the search of natural active compounds that have beneficial effects against these disorders. In addition, food fortification, mainly of dairy products, has appearing as an interesting way to offer active compounds acting to reduce or prevent chronic diseases related with metabolic disturbances. The present study evaluated the chronic treatment of diabetic rats with curcumin and/or lycopene, and/or bixin-enriched yoghurt, as well as their effects on physiological and biochemical parameters altered in DM.

Methods: Male Wistar rats (150±10g) received streptozotocin (40 mg/kg, *i.v.*) for the induction of experimental DM and they were divided into 8 groups (7 rats/group): normal (NYOG) and diabetic rats treated with yoghurt (DYOG); 4U insulin (DINS); 90mg/kg curcumin/yoghurt (DC); 45mg/kg lycopene/yoghurt (DL); 5.5mg/kg bixin/yoghurt (DB); 90mg/kg curcumin and 45mg/kg lycopene/yoghurt (DCL); 90mg/kg curcumin and 5.5mg/kg bixin/yoghurt (DCB), for 50 days. Body weight, fasting plasma levels of glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol and triacylglycerols were determined at every 10 days. After 50 days, the plasma levels of malondialdehyde (MDA) and oxidized-LDL (ox-LDL) were measured, as well as the liver levels of MDA, protein carbonyl groups (PCO), reduced gluthatione (GSH), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and gluthatione peroxidase (GSH-Px).

Results: In the beginning of the experiment, diabetic rats had similar glycemia values (480mg/dL); after 50 days, DINS, DC, DL, DB, DCL and DCB rats showed a decrease in the glycemia levels when compared with DYOG. The treatments of diabetic rats with curcumin and/or lycopene, and/or bixin reduced the total cholesterol plasma levels (DC= 73.20±2.63; DL= 63.63±1.28; DCL= 65.00±3.81, DB= 66.00±3.26, DCB= 71.14 ±4.49 ,mg/dL) when compared with DYOG (84.00±3.61, mg/dL); the same was observed for plasma triacylglycerols (DC= 108.83±11.95; DL= 91.80±12.77; DCL= 105.60±22.96, DB= 167.50±18.74, DCB= 134.80±21.58,mg/dL) when compared with DYOG (228.62±23.21, mg/dL). The treatments with curcumin and/or lycopene, and/or bixin decreased the levels of biomarkers of oxidative damage (MDA, PCO, ox-LDL) and increased the antioxidant defenses (GSH, CAT, SOD, GSH-Px), when compared with DYOG.

**Discussion:** Curcumin and/or lycopene, and/or bixin administered in yoghurt improved carbohydrate and lipid metabolism, and had beneficial effects against the impairments caused by oxidative stress in DM. However, the associations showed a "partial additive effect" when compared to isolated treatments.

Acknowledgements: CAPES, CNPq, FAPESP, PADC/FCFAr/UNESP.



#### Physiological concentrations of ketone bodies do not induces browning in isolated white adipocytes

Caminhotto RO<sup>1</sup>, Andreotti S<sup>1</sup>, Sertié RAL<sup>1</sup>, Proença ARG<sup>1</sup>, Boltes GR<sup>1</sup>, Lima FB<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica

**Background:** Recent data<sup>1</sup> demonstrated that the ketone body  $\beta$ -hydroxybutyrate induces browning in white adipocytes *in vitro* after 24 hour of incubation. However, the tested doses were supraphysiological (50 mM) or only founded during ketoacidosis (25 mM). Ketogenic diets increases ketonemia about 1-3 mM. Prolonged fasting can increases it to 4-7 mM.<sup>2</sup> Since it could be provoked *in vivo* though dietary interventions, we decided to study the impact of physiological concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate on metabolism and markers of browning in white adipocytes.

**Methods:** After a control study with isoproterenol to demonstrate that inguinal subcutaneous mature adipocytes are susceptible browning, isolated fat cells from Wistar rats were incubated with 0, 2.5, 5 and 10 mM of β-hydroxybutyrate. Their ability to oxidize  $^{14}$ C-acetate was tested, as well the maximum activity of citrate synthase and gene expression of UCP-1, PGC1α and PPARγ.

**Results:** Physiological concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate did not induce any alterations in <sup>14</sup>C-acetate oxidation, citrate synthase activity and gene expression.

Conclusions: Although supraphysiological concentrations of ketones can induce browing in white adipocytes, physiological concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate have no influence on browning markers and on adipocyte mitochondrial metabolism.

#### References

- 1. Carrière A et al. *Diabetes*. 2014; 63: 3253-65.
- 2. Cahill GF Jr. Annu Rev Nutr. 2006; 26: 1-22

### **Funding**

This work was supported by FAPESP (14/10705-4)



#### Oral β-hydroxybutyrate salts intake as a model of ketosis in Wistar rats

Caminhotto RO<sup>1</sup>, Komino ACM<sup>1</sup>, Silva FF<sup>1</sup>, Castro NC<sup>1</sup>, Lima FB<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica

**Background:** Ketosis can be induced in human and animal by some dietary interventions, such as fasting and ketogenic diets. However, the increasing interest on the ketogenesis issue motivated the development of alternative approaches to increase ketonemia in quicker ways and with less drastic interventions. Thus, we tested whether an oral  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ HB) salt mixture (sodium/potassium) intake could increase ketonemia in Wistar rats.

Methods: Acute experiment- Six hours fasting Wistar rats (n=5) received a single gavage of  $\beta$ -hydroxybutyrate salts (300mg/100g of body weight) or a control salts solution (NaCl/KCl) for assessing the capability to increase ketonemia at 15′, 30′, 60′ and 120′. To demonstrate that ketonemia was being influenced by exogenous ketones, a concurrently overload of glucose (75 mg/100g of body weight) were administrated in order to reduce endogenous ketone synthesis.

Long term experiment- Wistar rats (n= 4-3) received a  $\beta$ HB salts solution in drinking water (final concentration of 4.2%) for 4 weeks.

Results: Acute experiment-  $\beta$ HB salts increased ketonemia over control and basal conditions, at levels similar to a nutrition ketosis (>1 mM) and sustained it for the next 2 hours. In addition,  $\beta$ HB salts disrupted the negative correlation between glycemia and ketonemia founded in control rats.

Long term experiment- Rats which drink  $\beta$ HB salts solution developed higher average of ketonemia (0.8mM, +33%) in the outset of experimental morning (ZT 0), while a small decrease in average of glycemia was detected (103mg/dL, -5%).

**Conclusions:** Oral βHB salts intake can increase ketonemia in Wistar rats and therefore can be used as an acute and long term animal model of ketosis.

#### Reference

1. Kesl SL et al. Nutr Metab (Lond). 13:9. 2016.

### **Funding**

This work was supported by FAPESP (14/10705-4)



# USO DE MEDICAMENTOS POR PESSOAS COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 EM UNIDADES DE SAÚDE DA FAMÍLIA Oliveira REM<sup>1</sup>, Franco LJ<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP)

Introdução: O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é um problema de saúde pública e o processo de controle envolve mudanças no estilo de vida com alimentação adequada, prática de exercícios físicos e uso antidiabéticos 1,2. Os medicamentos são importantes na terapia do DM2 e a escolha envolve as melhores respostas terapêuticas, a fisiopatologia da doença, as reações adversas e o acesso<sup>2</sup>. Assim, O objetivo deste estudo foi caracterizar o uso de antidiabéticos por pessoas com DM2 adstritas em Unidades de Saúde da Família (USFs) de Ribeirão Preto, São Paulo. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal descritivo realizado por meio de entrevista estruturada com amostra calculada de 100 mulheres e 100 homens com DM2 cadastrados em seis USFs vinculadas à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. As variáveis de interesse foram as sociodemográficas, econômicas, estilo de vida e relacionadas ao tratamento medicamentoso do DM2. Resultados: A média de idade dos participantes do estudo foi 63,9 anos (DP=13,7) nas mulheres e 59,5 anos (DP=13,9) nos homens. Em ambos os gêneros predominou o auto relato da cor/raça branca, baixa renda e baixa escolaridade. O tabagismo foi três vezes mais frequente nos homens (18%). A dependência ao álcool foi sete vezes mais frequente entre os homens (28%). As mulheres relataram utilizar em média 1,6 medicamentos (DP=0,7) e os homens 1,5 medicamentos (DP=0,6) para o tratamento do DM2. A metformina foi o antidiabético mais citado por 70% das mulheres e 65% dos homens, com relato de eventos adversos por 15% das mulheres e 2% dos homens. O uso de apenas sulfonilureias foi relatado por 12% das mulheres e 14% dos homens. Já o uso de apenas insulina foi referido por 10% das mulheres e 16% dos homens. A associação entre metformina e sulfonilureia foi de 22% nas mulheres e 18% nos homens. O uso concomitante de antidiabético oral e insulina foi observado em 17% dos homens e mulheres. A principal fonte de obtenção dos medicamentos foram as farmácias da rede pública de saúde em ambos os gêneros. Discussão: As características sociodemográficas e econômicas da população estudada corroboram com outros estudos brasileiros<sup>3</sup>. A frequência de dependência ao álcool e uso antidiabéticos é preocupante, uma vez que, pode levar a hipoglicemia e ao efeito dissulfiram<sup>2</sup>. A média de antidiabéticos foi inferior à evidenciada em um estudo realizado no Rio Grande do Sul<sup>4</sup>. Análises do perfil de utilização dos medicamentos para controle do DM2 deve ser prioridade constante nas agendas dos gestores, gerentes e equipes de saúde buscando a utilização correta, racional para reduzir o perfil de morbimortalidade inerente ao quadro clínico e que garanta melhores condições de vida a esta população. Referências Bibliográficas: 1. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care, 39(1),2016. 2. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2015-2016. Grupo Editorial Nacional, 2016. 3. Villas Boas et al. Adesão de pessoas com diabetes mellitus tipo 2 ao tratamento medicamentoso. Rev Bra Enferm, 67(2), 268, 2014. 4. Santos et al. Adesão ao tratamento medicamentoso pelos portadores de Diabetes Mellitus atendidos em uma Unidade Básica de Saúde no município de Ijuí/RS: um estudo exploratório. Rev Ciênc Farm Básica Apl, 31 (3), 223, 2010. 5. Tavares et al. Uso de medicamentos para tratamento de doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. Epidemiol. Serv. Saúde, 24 (2), 315, 2015.



AGE-albumin reduces ABCA-1 content in macrophages by inducing its modification by AGE and degradation by the ubiquitinproteasome and lysosomal system.

Iborra RT<sup>1</sup>, Machado-Lima A<sup>2</sup>, Okuda LS<sup>1</sup>, Fabres-Machado U<sup>3</sup>, Lu R<sup>4</sup>, Nakandakare ER<sup>1</sup>, Yokoyama S<sup>4</sup>, Passarelli M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina da USP - Laboratório de Lípides (LIM-10), <sup>2</sup>Universidade São Judas Tadeu, <sup>3</sup>Instituto de Ciências Biomédicas USP -Departamento de Fisiologia e Biofísica, <sup>4</sup>Nutritional Health Science Research Center at Chubu University, Japan

Advanced glycated (AGE) albumin impairs macrophage reverse cholesterol transport by diminishing ABCA-1 protein level. We investigated if AGE-albumin affects ABCA-1 intracellular modification by glycation and its degradation rate and if these events are mediated by the receptor for AGE (RAGE).

Macrophages were treated with Control(C) or AGE-albumin plus LXR-agonist and in the presence or absence of proteasome (MG132), calpain (calpeptin and calpain inhibitors I and II) or lysosome inhibitor (NH4CI). ABCA-1 decay rate was determined after incubations with cycloheximide and calculated along time by the slope of the linear regression. ABCA-1 was determined after immunoblot of bulk cell membranes utilizing antiABCA-1 Ab. β-actin was utilized to correct bands. After immunoblotting, Dynabeads-immunopreciptated ABCA-1 was probed against anti AGE Ab and anti-ubiquitin Ab. RAGEsiRNA induced a 54% silencing of RAGE. Results(mean±SD) were compared by the Student t-test or One-Way ANOVA.

AGE-albumin induced ABCA-1 glycation as assessed by the enhanced amount of total AGE in the immunopreciptated ABCA-1 (223±81UA in AGE-albumin vs 100±32UA in C-albumin; p<0.05). As compared to C-albumin, AGE-albumin reduced ABCA-1 level (30%) and increased its ubiquitination (125%). AGE-albumin induced a higher degradation rate of ABCA-1 (-6.85±1.1) as compared to C-albumin (-3.01±0.6) that was partially prevented by inhibiting lysosomal and proteasomal activities but was independent of calpain-mediated surface degradation. RAGE silencing abrogated the reduction in ABCA-1 elicited by AGE-albumin.

AGE-albumin reduces macrophage ABCA-1 by inducing its intracellular modification by AGE and its degradation by the ubiquitinproteasome and lysosomal systems. ABCA-1 levels can be preserved by inhibiting the expression of RAGE.

Funding: FAPESP # 2012/04831-1 and 2012/12088-7 (Brazil)



# The receptor for advanced glycation end products mediates cholesterol efflux impairment in macrophages caused by human advanced glycated albumin

Machado-Lima A<sup>1</sup>, Iborra RT<sup>1</sup>, Lacerda BA<sup>1</sup>, Nakandakare ER<sup>1</sup>, Corrêa-Giannella ML<sup>2</sup>, Schimidt AM<sup>3</sup>, Passarelli M<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina da USP - Laboratório de Lípides (LIM-10), <sup>2</sup>Faculdade de Medicina da USP - Laboratório de Endocrinologia Celular e Molecular (LIM 25), <sup>3</sup>New York University Langone Medical Center - Diabetes Research Program

Advanced glycation end products (AGE) are elevated in diabetes mellitus (DM) plasma and predict the development of atherosclerosis. The receptor for AGE (RAGE) mediates vacular damage induced by AGE. AGE albumin increases inflammation, oxidative and endoplasmic reticulum stress related to disturbance in macrophage reverse cholesterol transport. We addressed how RAGE is involved in the impairment of apo A-I and HDL2- mediated cholesterol efflux in macrophages elicited by AGE albumin. AGE albumin was isolated from poorly controlled type 1 (DM 1) and type 2 (DM 2) DM patients' serum (HbA<sub>1c</sub> > 9%) and control albumin (C) from control subjects by FPLC and purified by alcohol extraction. Human albumin was glycated in vitro by incubating with 10mM glycolaldehyde (AGE albumin). Bone marrow-derived macrophages (BMDM) isolated from RAGE knockout (RAGE-KO) and wild-type (WT) mice or THP-1 cells transfected with siRNA-RAGE were treated for 48 h with C, DM 1, DM 2, non glycated or AGE. Then, <sup>3</sup>H-cholesterol efflux and gene expression [AGER (RAGE), SCD1 (Stearoyl-Coenzyme A desaturase 1), JAK2 (Janus kinase 2), NOX4 (NADPH oxidase 4), NFKB1 (NF-kappaB), ABCA1 (ATP binding cassette subfamily A member 1) and ABCG1 (ATP binding cassette subfamily G member 1)] were determined. There was a reduction in <sup>3</sup>H-cholesterol efflux to apo A-I (71% and 58%) and HDL<sub>2</sub> (58% and 49%) in WT BMDM exposed to, respectively, DM 1 or DM 2 albumin as compared to C albumin. These changes were not observed when RAGE-KO BMDM were incubated with DM 1 or DM 2 albumin. In BMDM WT, there was an increase in Ager, Nox4 and Nfkb1 and a reduction in Scd1 and Abcg1 mRNA expression after treatment with DM1 and DM 2 albumin. In RAGE-KO cells treated with DM albumin, Nox4, Scd1 and Nfkb1 were reduced and Jak2 and Abcg1 were increased. In RAGE silenced THP-1 cells, NOX4 and SCD1 mRNA were reduced and JAK2 and ABCG1 were increased even after treatment with in AGE or DM albumin. Abca1 was increased by DM 1 albumin in RAGE-KO and by DM 2 in WT cells, although was reduced in RAGE-KO in comparison to WT BMDM. In THP-1 cells (both with scramble siRNA or siRNA-RAGE), the ABCA1 mRNA expression was not modified. In conclusion, RAGE mediates the deleterious effects of AGE albumin in macrophage reverse cholesterol transport. AGE blockers might be useful in preventing derangements in AGE-induced cellular lipid metabolism and atherosclerosis. (FAPESP); grants 12/04831-1 to MP and MLCCG; 12/19112-0, 13/06800-9 and 14/05951-6 to A Machado-Lima, 12/12088-7 and 13/26256-1to RTI).



Green tea polyphenols relief metabolic disorders associated with obesity by modulating endoplasmic reticulum stress in white and brown adipose tissue of obese mice

Bolin AP<sup>1</sup>, Otton R<sup>2,1</sup> - <sup>1</sup>University of São Paulo, São Paulo, Brazil - Department of Pharmacology, Biomedical Sciences Institute, <sup>2</sup>Cruzeiro do Sul University, São Paulo, Brazil - Program of Post-Graduate in Health Sciences

Background/Objective: Obesity is currently one of the most serious public health problems around the world. Recently one of the most important discoveries made in obesity research has been the role of chronic inflammation that occurs in obese patients. Disturbances seen in obesity such as the excess of nutrients are able to cause stress in the endoplasmic reticulum (ER). ER stress can occurs when proteins are misfolded during biosynthesis, and the constant activation of the unfolded protein response (UPR) can initiate inflammation and apoptosis. Scientific community is constantly looking for new molecules or plant-derived compounds that could be used to prevent or to treat overweight and obesity. In recent years, a great deal of interest has focused on green tea brewed from the unfermented dried leaves of Camellia sinensis. Evidences indicate that green tea (GT) has beneficial effects to health and many of the components of tea have specific health-promoting effects. Based on the lack of information on how GT extract modulates ER stress, especially in adipose tissue, this study hypothesized that GT supplementation can modulates ER stress induced by obesity and subsequent inflammatory response in white and brown adipose tissue (Ethic Committee nº 135/2013). Methods/Results: Male C57Bl/6 mice (3 months) were divided into 4 groups: Control (standard diet), GT (standard diet+GT), Obese (cafeteria diet) and Obese+GT. Mice induced to obesity were fed with cafeteria diet for 4 weeks. Afterwards, the animals received gavage with GT (500 mg/kg of body weight) over 12 weeks (5 days/week). After 16 weeks of experimentation, the mice were killed and adipose tissues (epididymal, subcutaneous and brown) were properly stored. The cafeteria diet provided 50% additional Kcal/g compared to standard diet. The treatment with GT decreased body weight and fat depots, improved insulin sensitivity (GTT and ITT), decreased plasma insulin levels and increased GLUT4 expression which was increased by the cafeteria diet. In addition GT increased the levels of adiponectin and the excretion of lipids, regardless the diet. ER stress was induced by obese condition and GT treatment was able to reduce the expression of BIP, CHOP and XBP1 in white and brown adipose tissue. Also, obese mice treated with GT had decreased plasma inflammatory cytokines and lower expression of macrophage mRNA markers MCP-1 and F4/80, beside increased expression of GATA3 and Foxp3, Th2 and Treg lymphocyte markers. Conclusion: Collectively, our data are indicative of a novel signaling network that links GT supplementation and the improvement in the obesity frame and ER stress. GT could be a good therapeutic strategy to combat insulin resistance, dyslipidemia, and inflammation in adipose tissue by mainly modulating ER stress.



Polifenóis do chá verde induzem *browning* do tecido adiposo subcutâneo e aumentam a atividade do TAM em camundongos obesos Tolentino G<sup>1</sup>, Bolin AP<sup>2</sup>, Otton R<sup>1,2</sup> - <sup>1</sup>Universidade Cruzeiro do Sul - Programa de Pos-Graduação em Ciências da Saúde, <sup>2</sup>University of São Paulo, São Paulo, Brazil - Department of Pharmacology, Biomedical Sciences Institute

Introdução/Objetivo: O excesso de peso contribui para o surgimento de diversas doenças como o infarto agudo do miocárdio (IAM), hipertensão, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), entre outras. Diversas pesquisas indicam que o tecido adiposo (TA) é um órgão colaborador ativo que atua na regulação da homeostase corporal. O TA pode ser dividido em tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo marrom (TAM). O TAM apresenta intensa atividade mitocondrial com alta atividade de UCP-1 e função termorreguladora. Esta característica o torna alvo de estudos, uma vez que não acumula gordura, e sim, utiliza ácidos graxos como combustível energético, possuindo um potencial anti-obesidade. Recentemente foi descoberto o tecido adiposo bege/brite, que similar ao TAM possui um potencial de queima dos estoques energéticos promovidos por estímulos adrenérgicos ou a exposição ao frio. A comunidade científica tem dado atenção ao consumo do chá verde (CV) (Camellia sinensis). Estudos demonstram que os polifenóis presentes no chá verde possuem propriedades benéficas à saúde, entre elas efeito antiobesidade, por reduzir os estoques de TA. Portanto, o objetivo deste estudo é investigar se os compostos presentes no CV ativam vias termogênicas no TAM além de induzir o fenótipo bege no TAB subcutâneo.

Métodos/Resultados: Camundongos (C57Bl/6) machos (3 meses de vida) foram divididos em quatro grupos: Controle (ração padrão), CV (ração padrão e gavagem com CV), OB (dieta de cafeteria) e OB+CV (dieta de cafeteria e gavagem com CV). Os animais receberam a dieta de cafeteria (4.2 kcal/g) ou padrão (2.8 kcal/g) e água *ad libitum* por 4 semanas. Após esse período iniciou-se o tratamento com extrato do chá verde (500 mg/kg) por mais 12 semanas. Os animais foram mantidos a 23 ② 2元c, sob ciclo de iluminação de 12/12 horas. Analisamos a taxa de metabolismo basal por calorimetria indireta de circuito aberto na 10³ semana. Após 16 semanas de experimentação os animais foram eutanasiados e o TAM e TAB subcutâneo foram armazenados para posterior análise por qPCR dos seguintes genes envolvidos na termogênese: PRDM16, TMEM26, IRF4, PGC1α, PPARy e UCP1. O CV aumentou expressivamente a taxa metabólica dos animais avaliada através do consumo de O₂ e da produção de CO₂ logo após a administração intragástrica. Esse incremento perdurou por 5h e ocorreu independentemente do tipo de dieta ofertada aos animais. Os animais induzidos à obesidade apresentaram uma preferência na oxidação de lipídeos e o tratamento não foi capaz de modular a preferência no consumo energético. O tratamento com CV foi capaz de aumentar a expressão dos genes termogênicos IRF4 e PGC1α no TAM dos animais alimentados com a dieta padrão, além de aumentar a expressão de UCP1. No TAB subcutâneo, o tratamento foi eficaz em aumentar a expressão de genes característicos de *browning* como PRDM16 e TMEM26, além de aumentar a expressão dos genes PPARy e UCP1 nos animais induzidos ou não a obesidade.

**Conclusão:** Os dados indicam que o CV é capaz de induzir a diferenciação das células do TAB subcutâneo em células bege (*browning*) com consequente alteração funcional do tecido e aquisição de uma maior taxa metabólica, tornando-o um potencial adjuvante na prevenção do ganho de peso e suas complicações.

Suporte financeiro: Fapesp (2015/07024-8 e 2012/20415-8)



Prevalência de Complicações nos Pés de Pacientes Diabéticos atendidos em um Serviço de Endocrinologia e Metabologia na Cidade de Porto Velho - RO

Ribeiro SAG¹, do Amaral RC¹, Bassani SP², Figueiredo PHRS², Amaral AR³, Araujo DDS² - ¹Governo do Estado de Rondônia - Secretaria de Saúde - Endocrinologia, ²Governo do Estado de Rondônia - Secretaria de Saúde - Terapia Intensiva, ³Endoclinica - Diabetes Melitus

**Objetivos -** Estudar a prevalência de complicações nos pés de pacientes diabéticos atendidos entre Janeiro e dezembro de 2015 em um Serviço de Endocrinologia e Metabologia na cidade de Porto Velho- RO.

**Métodos** - Durante o período de Janeiro a dezembro de 2015 todos os pacientes diabéticos atendidos em nosso serviço foi triado para avaliação dos pés que consistia em (1) inspeção para avaliar : coloração , hidratação , infecção , distrofias ungueais, deformidades e úlceras. (2) Avaliação por neurotensiometro, monofilamentos de 10g e diapasão. (3)Palpação de pulsos, sendo que quando foi observado suspeita de lesão vascular, os mesmos eram submetidos ao Índex Tornozelo-Braquial usando um Doppler.

**Resultados** - De janeiro a dezembro de 2015, 2300 pacientes tiveram seus pés avaliados. Destes pacientes avaliados 16% apresentavam alterações, sendo que 2,47% apresentavam lesões isquêmicas graves. Dos outros 13,53%, observamos 5,8% com complicações como úlceras, vasculopatias e neuropatias; os outros 7,70% tinham condições como calosidades, paroniqueas e onicocriptose. Ressalta-se que dos 2,47% com lesões isquêmicas graves, 1,3% tinham histórias de amputações prévias. Dos pacientes que não foram encontrado achados anormais ao exame, 64,7% tinham Hbaic igual ou inferior a 7%. Dos que apresentavam alterações somente 20,3% apresentavam Hba1c menor ou igual a 7%.

**Conclusão** - A abordagem dos pés dos pacientes diabéticos é de fundamental importância para manter a saúde e a qualidade de vida desta população. Encontramos uma baixa prevalência de lesões isquêmicas graves, no entanto os pacientes com pés em risco foram de 13,53% o que nos permitiu abordá-los com medidas que evitem amputações no futuro. O controle glicêmico adequado também é fundamental para reduzir está complicação.



#### Relato de 2 casos de Diabetes Flatbush atendidos em uma Unidade de Terapia Intensiva.

Ribeiro SAG¹, Valente LM², Amaral AR³, Junior WDLI⁴, do Amaral RC⁵ - ¹Governo Estado de Rondônia - Secretaria de Saúde - Endocrinologia, ²Secretaria de Saúde - AMI - Terapia Intensiva, ³Endoclinica - Centro Especializado em Diabetes, ⁴Governo do Estado de Rondônia - AMI - Terapia Intensiva, ⁵Governo do Estado de Rondônia - Secretaria de Saúde

A Cetoacidose Diabética (CAD) é uma complicação bastante comum do Diabetes Melitus caracterizado por Hiperglicemia, cetonúria e acidose. Embora seja encontrado predominantemente no Diabetes Melitus tipo 1, esta complicação pode ocorrer também no Diabetes Melitus do tipo 2. Há diversos relatos de indivíduos na qual a CAD é a forma de apresentação inicial do Diabetes mas que posteriormente apresentam curso clínico compatível com DM tipo 2

**Objetivo -** Relatar 2 casos que foram atendidos na Unidade de Terapia Intensiva - AMI, em Porto Velho, e que foram inicialmente classificados como DM tipo 1.

**Métodos -** Os 2 pacientes foram avaliados na admissão por glicemias, gasometrias, pesquisa de corpos cetônicos e foram classificados com portadores de DM tipo 1 em complicação aguda por CAD. Durante a internação foram avaliados em relação a IMC, Hb1ac, Dosagem de anti-GAD e anti-ilhotas.

**Resultados -** A média de idade foi 28 anos ( 32 e 27), apresentavam na admissão Ph< 7,20 , glicemias > 350 mg/dl e cetonúria. Ambos não tinham conhecimento prévio de serem diabéticos. O IMC médio foi de 27kg/m2 e a HB1AC > 13%.

Apos alta hospital ambos foram seguidos em ambulatório onde a insulina foi descontinuada e hoje mantém bom controle metabólico somente com mudanças no estilo de vida e anti-diabéticos orais.

**Conclusão** - É importante termos o Diabetes *Flatbush* como diagnóstico diferencial nos pacientes que se apresentam com CAD em nossos serviços pois os mesmos podem não necessitar do uso de Insulina por toda sua vida. Dois fatores foram muito importantes para fazermos o diagnóstico nestes casos: a ausência de anticorpos e a idade mais avançada.

#### Como está sua retina? O auto conhecimento do status da retina em 269 pacientes com DM1

Admoni SN<sup>1,2</sup>, Perez RV<sup>1,2</sup>, Santos DP<sup>2</sup>, Machado CG<sup>3</sup>, Queiroz MS<sup>1</sup>, Nery M<sup>1</sup>, Corrêa-Giannella ML<sup>1,2</sup> - <sup>1</sup>Divisão de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, <sup>2</sup>LIM 25, Laboratório de Endocrinologia Molecular e Celular da Faculdade de Medicina da USP, <sup>3</sup>Divisão 3 de Oftamologia e Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

É sabido que "a educação é a pedra chave para um bom resultado nos cuidados com diabetes" (Swift P, 2009) e que o seu bom uso pode prevenir o desenvolvimento de Retinopatia Diabética (RD) (Eijk K 2012). Além disso, a consciência da presença de RD melhora a adesão do paciente para a prevenção precoce, diagnóstico e tratamento, melhorando suas chances de seguir as recomendações de seguimento da Sociedade Americana de Diabetes (ADA) (Çetin EN 2013; Wagner H 2008). Por outro lado, o desconhecimento de uma complicação pode levar `a adesão insuficiente de diretrizes clínicas, necessárias para a prevenção destas complicações (Bongaerts B 2013).

O objetivo deste estudo é verificar em pacientes com DM1 o conhecimento sobre o *status* de sua retina e compará-lo com uma retinografia realizada por um único oftalmologista.

Entre março de 2012 e julho de 2015, foi realizado um questionário em 269 pacientes com DM1 há mais de 10 anos, em que foram perguntados sobre dados demográficos, de saúde e se apresentavam retinopatia ou complicações oftamológicas relacionadas ao DM. Os dados avaliados foram tempo de diabetes, gênero, HAS, dislipidemia e tabagismo, HbA1c e presença de nefropatia, neuropatia periférica e autonômica cardiovascular. Um único ofatmologista, cego para as respostas do questionário, avaliou os pacientes de acordo com o protocolo de 7 campos. Todos forneceram consentimento informado.

Os pacientes foram classificados com base no seu auto-conhecimento do *status* de sua retina: se a resposta fosse correta, ele era considerado "consciente". Se houvesse discrepância entre a resposta e o *status* da retina, era considerado "não consciente". Os resultados estão na Tabela. Dos 83 pacientes (30,8%) "não conscientes" a prevalência de DR era elevada (47%). Importante observar que de 31 pacientes com DR não-proliferativa, a maioria não estava ciente de sua condição. Quando comparados com os cientes, houve diferença significativa (64%, p <0,0001).

Sabe-se que pode-se prevenir formas graves de RD com consulta ofatmológica de rotina. O desconhecimento de sua condição faz com que o paciente procure atendimento médico com uma frequência menor que a recomendada, impedindo-o de obter melhor tratamento e prevenção. Além disso, informações erradas trazidos por pacientes levaria provedores de saúde a orientá-los de forma errônea. Finalmente, a conclusão deste estudo reforça a importância da educação continuada dos pacientes sobre o conhecimento de suas complicações.

Tabela: Características dos pacientes de acordo com o auto conhecimento do *status* de sua retina

Conscientes	Não conscientes	р
114 (61,3%)	44 (53%)	n/s
11 (5,9%)	20 (24,1%)	<0,0001
61 (32,8%)	19 (22,9%)	n/s
81/105	29/54	n/s
21 (16-28)	20 (15-27)	n/s
12 (6,4%)	8 (9,6%)	n/s
66 (35,5%)	38 (42,6%)	n/s
83 (44,6%)	39 (43,8%)	n/s
8,2 (7,2 - 9,1)	8,3 (7,4 - 9,5)	n/s
68 (36,5%)	37 (41,5%)	n/s
71 (38,1%)	32 (38,5%)	n/s
44 (23,6%)	32 (38,5%)	n/s
	114 (61,3%) 11 (5,9%) 61 (32,8%) 81/105 21 (16-28) 12 (6,4%) 66 (35,5%) 83 (44,6%) 8,2 (7,2 - 9,1) 68 (36,5%) 71 (38,1%)	114 (61,3%) 44 (53%) 11 (5,9%) 20 (24,1%) 61 (32,8%) 19 (22,9%) 81/105 29/54 21 (16-28) 20 (15-27) 12 (6,4%) 8 (9,6%) 66 (35,5%) 38 (42,6%) 83 (44,6%) 39 (43,8%) 8,2 (7,2-9,1) 8,3 (7,4-9,5) 68 (36,5%) 37 (41,5%) 71 (38,1%) 32 (38,5%)



Proposta de um sistema de pontuação clínica para prever neuropatia autonômica cardiovascular em pacientes com DM1 Admoni SN<sup>1,2</sup>, Riguetto CM³, Takano C³, Corrêa-Giannella ML<sup>1,2</sup>, Pavin EJ³, Parisi MCR<sup>1,3</sup>, Neto AM³ - ¹Divisão de Endocrinologia e Metabologia HC FMUSP, ² LIM 25, Laboratório de Endocrinologia Molecular e Celular FMUSP, ³Departamento de Clínica Médica FCM UNICAMP

Sabe-se que a neuropatia autonômica cardiovascular (NAC) é subdiagnosticada e que a identificação precoce pode diminuir a morbi-mortalidade do paciente DM1. No entanto, ainda não estão disponíveis ferramentas práticas para o rastreamento de NAC. O objetivo deste estudo é desenvolver um sistema de pontuação clínica para o rastreamento de NAC em pacientes com DM1. Cem pacientes com DM1 da Universidade de Campinas (UNICAMP) foram avaliados para NAC pelo software Poly-Spectrum usando os testes de reflexo cardiovascular de Ewing e medidas de variabilidade da frequência cardíaca. As características clínicas associadas à NAC, com base em regressões logísticas, foram utilizados para calcular uma pontuação numérica para o diagnóstico de NAC. Esta pontuação foi então aplicada em uma segunda amostra de 120 pacientes com DM1, da Universidade de São Paulo (USP).

Dos 100 pacientes da UNICAMP, 39 apresentaram NAC. Preditores de NAC em modelos de regressão foram: HAS (OR=6,8 IC95% 2,76-16,74 P<0,001), colesterol total (OR=1,012 IC95% 1,003-1,022 P=0,008), triglicérídes (OR=1,012 IC 95% 1,004-1,02 P=0,002), sudorese pós-prandial (OR=3,36 IC 95% 1,28-8,79 P=0,01), hipotensão ortostática sintomática (OR=2,44 IC 95% 1,06-5,57 P=0,035), retinopatia (OR=2,04 IC 95% 1,36-3,04 P=0,001), nefropatia (OR = 2,47 IC 95% 1,59-3,82 P<0,001), pressão arterial (PA) diastólica (OR=1,06 IC 95% 1,02-1,11 P=0,003), monofilamento de 10g (MF10g) direito (OR=5,7; IC95% 1,66-19,49 P=0,006) e MF10g esquerdo (OR=5,0 IC95% 1,44-17,31 P=0,011).

A pontuação da fórmula foi: NAC-score = (sudorese pós-prandial x 5) + retinopatia + nefropatia + (colesterol total /10) + (triglicérides /10) + (HAS x 5) + (hipotensão ortostática x 5) + (PA diastólica /10) + (MF10g direito x 2,5) + (MF10 g esquerdo x 2,5). As variáveis categóricas (sudorese pós-prandial, HAS, hipotensão ortostática, MF10 g direito e esquerdo) foram considerados= 1 se presente/ anormal e = 0 se ausente/ normal. Retinopatia foi classificada como normal= 0; não proliferativa= 1, proliferativa= 2, amaurose unilateral= 3 e amaurose bilateral = 4; nefropatia como normal= 0, microalbuminúria = 1, macroalbuminúria= 2, doença renal crônica= 3, hemodiálise= 4 e transplante renal= 5. A áresa sob a curva ROC para este resultado é 0,872 (IC 95% = 0,802-0,942; P <0,001) com o melhor ponto de corte em 44,6 (sensibilidade 81,6% e especificidade de 79%). A análise de sensibilidade com 1.000 resamples com substituição (bootstrapping) produziu intervalos de confiança semelhantes.

A população da USP consistiu de 120 pacientes; 16 (13,3%) com NAC confirmada por análise pelo software Poly-Spectrum. O ponto de corte NAC-score de 44,6 foi aplicado e comparado com o diagnóstico pelo software e rendeu uma sensibilidade de 75%, especificidade de 49%, valor preditivo positivo de 18,5% e valor preditivo negativo de 92,7%. A análise de sensibilidade com bootstrapping (1.000 resamples) não alterou significativamente estes resultados.

Estes resultados confirmam que um escore clínico é potencialmente capaz de prever NAC com alta sensibilidade e um bom valor preditivo negativo em pacientes DM1. Embora uma pontuação positiva continua a exigir testes complementares, pacientes com pontuação inferior a 44,6 têm uma baixa probabilidade de NAC, contribuindo assim para selecionar aqueles que realmente necessitam de avaliações mais completas.



### Modulação da via colinérgica anti-inflamatória no fígado pela obesidade materna

Costa SO<sup>1</sup>, Lanza PG<sup>1</sup>, Souza CM<sup>1</sup>, Sartori JO<sup>1</sup>, Souza ACP<sup>1</sup>, Lemes SF<sup>1</sup>, Torsoni AS<sup>1</sup>, Borges FO<sup>1</sup>, Torsoni MA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>FCA-UNICAMP/Laboratório de Distúrbios do Metabolismo

INTRODUÇÃO. De acordo com estudos prévios a obesidade materna e/ou consumo de dieta hiperlipídica pode promover alterações metabólicos e inflamatórias importantes que participam da manutenção da homeostase. O controle da resposta inflamatória tem papel importante na manutenção da homeostase e é realizado pela via anti-inflamatória colinérgica que envolve a ativação de receptores colinérgicos (α7nAChR e m1AChR) nos tecidos produtores de citocinas. O desenvolvimento da resistência a insulina tem importante participação de vias pró-inflamatórias e, portanto, nós hipotetizamos que danos neste sistema possam contribuir para o desenvolvimento de resistência a insulina. Neste estudo componentes da via anti-inflamatória colinérgica no fígado da prole de mães obesas foram investigados . MÉTODOS. Camundongos Swiss de 28 dias de vida obtidas de mães que consumiram dieta hiperlipídica/controle durante a gestação e lactação foram utilizados (CEUA n. 3968-1). O fígado da prole de mães obesas (HFD-O) e na prole controle (SC-O) foi utilizado para avaliação dos componentes da via colinérgica (STAT3 e  $\alpha$ 7nAChR) e citocinas pró e anti-inflamatórias após estímulo farmacológico com nicotina, agonista do recetptor  $\alpha$ 7nAChR, através das técnicas de real-time PCR e western blot. Também utilizou a cultura de linhagem celular hepática de camundongos (Hepa-1c1c7 [ATCC® CRL-2026™]) para análise da relação entre a via colinérgica e a sinalização da insulina. RESULTADOS E DISCUSSÃO. A expressão proteica do receptor α7nAChR no fígado foi menor no grupo HFD-O que no grupo SC-O. Por outro lado os níveis de RNAm para o receptor  $\alpha$ 7AchR estava aumentado no grupo HFD-O comparado ao grupo SC-O e os níveis de RNAm para TNF $\alpha$  e ADAM17 apresentaram uma tendência de aumento no grupo HFD-O comparado ao grupo SC-O. O tratamento ICV com nicotina não alterou a expressão de TNF e ADAM17, mas resultou em aumento de IL10 no grupo SC-O. Este mesmo efeito da nicotina não foi observado no grupo HFD após tratamento ICV com nicotina. Isto pode ser reflexo da maior inflamação presente neste grupo (HFD-O) em decorrência de danos apresentados na via anti-inflamatória colinérgica. Para avaliar se ácidos graxos saturados tem efeito sobre a quantidade α7AchR empregamos as células Hepa-1c1c7. Após tratamento com palmitato por 3 horas o conteúdo proteico de α7AchR tende a diminuir, sugerindo um efeito da de ácidos graxos sobre a expressão do receptor. Agencias finaciadoras: FAPESP, CNPq e CAPES.



# EXPRESSÃO DA SUBUNIDADE $\alpha$ 7 DO RECEPTOR NICOTÍNICO DE ACETILCOLINA E DAS PROTEÍNAS JAK2/STAT3 E CREB NO BAÇO DA PROLE DE MÃES OBESAS

Sartori JO<sup>1</sup>, Costa SO<sup>1</sup>, Souza CM<sup>1</sup>, Lanza PG<sup>1</sup>, Souza ACP<sup>1</sup>, Lemes SF<sup>1</sup>, Milanski M<sup>1</sup>, Torsoni AS<sup>1</sup>, Torsoni MA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>FCA-UNICAMP/Laboratório de Distúrbios do Metabolismo

Introdução: A prevalência de obesidade durante a gestação tem aumentado e complicações decorrentes da obesidade materna estão relacionadas com o desenvolvimento de distúrbios metabólicos e obesidade na vida adulta da prole. Neste contexto, a exacerbada ativação do sistema imune inato e da sinalização inflamatória, que é controlada pelo reflexo anti-inflamatório colinérgico, pode ter papel importante. A ligação da acetilcolina na subunidade α7 do receptor colinérgico (α7 nAChR) dimimui o recrutamento de macrófagos e inibe a produção de citocinas inflamatórias. Nossa hipótese é de que a prole de mães obesas apresenta danos na sinalização antiinflamatória colinérgica (JAK2/STAT3 e CREB) e isto leva ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos associados a obesidade. Métodos: Camundongos Swiss de 28 dias de vida obtidas de mães que consumiram HFD durante a gestação e lactação foram utilizados. A distribuição do α7nAChR e ativação das proteínas da via de sinalização (JAK2/STAT3/CREB) no baço da prole de mães obesas (HFD-O) e na prole controle (SCO) foi analisada após estímulo farmacológico com nicotina ICV através de imunofluorescência, Real Time-PCR e WB. Resultados: Não foram encontradas diferenças na quantidade de proteína e de RNAm de α7nAChR quando comparados os grupos SC-O e HFD-O. O estímulo central com nicotina também não alterou a expressão de  $\alpha$ 7nAChR. Porém, parece ocorrer uma tendência de aumento de  $\alpha$ 7nAChR após o tratamento com nicotina no grupo SC-O, o que não foi observado no grupo HFD-O. A expressão de receptores α7nAChR no baço dos animais do grupo HFD-O e no grupo SC-O foi adicionalmente investigada através de imunofluorescência em microscopia confocal, mas não observamos efeito da obesidade materna. A expressão de STAT3 no baço da prole SC-O e HFD-O não foi diferente, mas no grupo SC-O o tratamento ICV com nicotina resultou em aumento da quantidade de STAT3. O mesmo tratamento no grupo HFD-O não resultou em alteração da expressão de STAT3. que consumiram HFD após a administração de nicotina ICV. Adicionalmente, não observamos a modulação da fosforilação de CREB (pCREB) em nosso modelo experimental mesmo após a administração de nicotina ICV. A técnica de Real Time PCR foi empregada para avaliar TNFα, IL10 e IL1B. Os grupos SC-O e HFD-O não apresentaram diferenças na expressão de TNFα e IL1B, mas a expressão de IL10 estava aumentada no grupo HFD-O comparado ao grupo SC-O. O tratamento com nicotina ICV não alterou a expressão de TNFα e IL1B, mas reduziu a IL10 no grupo HFD-O. **Discussão:** Os dados obtidos sugerem que a obesidade materna afetou a via colinérgica impedindo o aumento da expressão de α7nAChR e STAT3 induzida pela administração de nicotina ICV. Além disso, o grupo HFD também apresentou aumento da expressão de IL10, um citocinas como propriedades anti-inflamatórias. Isto pode ser reflexo da maior inflamação presente neste grupo (HFD-O) em decorrência dos danos apresentados na via anti-inflamatória colinérgica. Agradecimentos: CNPq, FAPESP, PIBIC, LABDIME e FCA -UNICAMP.



# MESENCHYMAL STEM CELLS CULTURED AS SPHEROIDS (MSC-SPH) AS TOOLS FOR PANCREATIC ISLET TRANSPLANTATION OUTCOME OPTIMIZATION

Oliveira TC<sup>1</sup>, Forni MF<sup>1</sup>, Santos AF<sup>1</sup>, Wailemann RAM<sup>1</sup>, Terra LF<sup>1</sup>, Gimeno ML<sup>2</sup>, Gomes VM<sup>1</sup>, Fortuna V<sup>3</sup>, Perone MJ<sup>2</sup>, Sogayar MC<sup>4</sup>, Labriola L<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Instituto de Química, <sup>2</sup>IBIOBA-MPSP CONICET, <sup>3</sup>Universidade Federal da Bahia - Instituto de Ciências da Saúde, <sup>4</sup>Universidade de São Paulo - NUCEL-NETCEM - Faculdade de Medicina

INTRODUCTION: Type 1 diabetes is a chronic disease caused by autoimmune destruction of pancreatic beta cells leading to insulin deficiency and consequent metabolism impairment. Pancreatic islet transplantation is a therapeutic alternative however, both islet isolation technique and allorecognition by immune system undermine beta cell viability. One of the strategies investigated in islet transplantation is the co-transplantation of mesenchymal stem cells in order to improve graft function, either by immune response modulation or by increasing islet's vascularization. Recent studies from Darwin Prockop and collaborators showed aggregation of bone marrow derived MSCs as spheroids (MSC-Sph) enhances their secretion of modulators of inflammation and immunity. It is worth mentioning that this cell type has not yet been tested in the context of islet transplantation. Furthermore there is an evident benefit of making use of skin cells since they are of easy access and provide the possibility of using cells obtained from the receptor themselves. Therefore, we set out to assess whether co-transplantation of MSC-Sph cells, enriched from skin primary cultures, influence islet viability and functionality, improving the outcome of transplantation. METHODOLOGY: Primary cultures of human skin tissue were subjected to adherent and suspension culture steps to enrich MSC-Sph population and further characterized by flow cytometry (FC). MSC-Sph cells were co-cultured with mouse splenocytes to assess cytokines secretion. Mouse islets kept in co-culture with MSC-Sph conditioned medium were submitted to viability and functional assays. MSC-Sph cells were injected into immunodeficient *nude* mice testes to check for tumorigenicity. **RESULTS AND DISCUSSION:** The MSC-Sph cells FC analysis showed an enrichment of CD105+ and double-positive CD105+/CD90+ populations, with no significant enrichment of negative markers (CD34, CD45, HLA-DR). The culture of murine splenocytes with MSC-Sph resulted in a decrease of splenocyte proliferation as well as modulation of immune secretory profile, with both decrease of proinflamatory and increase in anti-inflammatory cytokines. Murine testes showed no signs of tumor formation after six months of MSC-Sph injection. MSC-Sphconditioned medium inhibited cytokine-induced beta-cell death, while exposure to conditioned medium from primary skin cells showed no cytoprotective effect. Moreover, the presence of MSC-Sph-conditioned medium did not hamper glucose-stimulated insulin release. These results pointed MSC-Sph as important tools for increasing islet transplantation outcome since they displayed promising effects on both islet viability as well as immunomodulation.

Support: BNDES, CNPq, CAPES, FAPESP, MS-DECIT, MCTI



# AVALIAÇÃO DO GRAU DE PRESERVAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR DESCELULARIZADA DE PÂNCREAS MURINO AO LONGO DO TEMPO.

Mantovani MC<sup>1</sup>, Fonseca TV<sup>2,1</sup>, Sogayar MC<sup>3,1</sup> - <sup>1</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo SP - NUCEL/NETCEM- Núcleo de Terapia Celular e Molecular, Departamento de Clínica Médica, <sup>2</sup>Universidade de Santo Amaro - Faculdade de Farmácia, <sup>3</sup>Universidade de São Paulo, São Paulo SP - Instituto de Química, Departamento de Bioquímica

Introdução: A matriz extracellular (MEC) compõe uma complexa rede de estabilização de tecidos. Estudos recentes mostram que a MEC também desempenha um papel fundamental na migração e expressão fenotípica das células residentes, além de influenciar na proliferação e diferenciação celular através da transdução de sinais. Tais informações abriram espaço para diversas pesquisas acerca da produção de arcabouços biológicos descelularizados. Nosso grupo NUCEL (www.usp.br/nucel) vem estudando a utilização de arcabouços pancreáticos descelularizados, com o intuito de utilizá-los em bioengenharia tecidual, na reconstrução de um pâncreas bioartifical como tratamento alternativo para pacientes portadores de Diabetes Mellitus do Tipo I. Para tanto, é de suma importância avaliar por quanto tempo é possível manter estas matrizes pancreáticas descelularizadas no laboratório, em boas condições de preservação até a realização do processo de reconstrução pancreática. Métodos: Após extração dos pâncreas murinos (n=12) os órgãos são descelularizados por perfusão de detergente através de protocolo desenvolvido em nosso laboratório. Após a etapa de descelularização, as matrizes pancreáticas são caracterizadas e, então, preservadas de três formas diferentes, utilizando-se: a) tampão salina-fosfato – sem cálcio e sem magnésio (PBSA) à 4°C; b) PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico à 4°C; e, c) solução de meio RPMI 1640 contendo 10% de dimetil sulfóxido (DMSO) e 10% de soro fetal bovino (FBS) à -80°C. Amostras são retiradas para análise após 1, 2,4,8,12 e 16 semanas. As análises destas amostras envolvem: a) avaliação por microscopia óptica utilizando-se as colorações de hematoxilina e eosina, azul de Alcian e vermelho de Picrosírius; b) avaliação por microscopia eletrônica de transmissão. Resultados: Os pâncreas murinos foram extraídos e descelularizados de forma eficaz, através do protocolo desenvolvido em nosso laboratório. Estas matrizes foram incubadas nos diferentes tipos de condições de preservação e, até o momento, as amostras correspondentes a 1, 2 e 4 semanas foram coletadas para análise. As análises demonstraram que durante as primeiras quatro semanas, as matrizes pancreáticas descelularizadas, não apresentaram diferença significativa entre as diferentes condições de preservação. Discussão: Durante o período de um mês não observamos diferença nas formas utilizadas de preservação das matrizes pancreáticas murinas descelularizadas. Na literatura, ainda não existem estudos que avaliem de forma tempo-dependente a integridade da matriz extracelular pancreática descelularizada. Uma avaliação da preservação do arcabouço pancreático em função do tempo é de suma importância, uma vez que conhecendo-se a melhor condição de preservação e o tempo limite de manutenção deste material em laboratório deverá permitir o aperfeiçoamento cada vez maior das tecnologias de recelularização destes arcabouços para gerar um órgão parcial ou totalmente funcional.

Apoio: BNDES, CNPq, FAPESP, FINEP, MCTI, MS-DECIT.



#### CIRCULATING NKT CELLS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES: PRELIMINARY FINDINGS

Lobo TF1, Pendeloski KPT1, Borges CM1, Torloni MR1, Mattar R1, Daher S1 - 1Universidade Federal de São Paulo - Obstetrícia

Introduction: Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is an inflammatory condition. Many cells and mechanism have been implicated in its pathophysiology. Natural Killer T cells (NKT), which represent 0.2% of all circulating T lymphocytes, are a heterogeneous population; they have some properties of T lymphocytes and others of NK cells. Activated NKT cells secrete several inflammatory and anti-inflammatory cytokines and chemokines. In general, human NKT cells express CD3+CD16+CD56+, and more specifically Valfa+Vbeta+. These cells have been associated with obesity and increased insulin resistance. An unbalanced production/activation of these cells has been reported in patients with type 2 diabetes mellitus. Our aim was to characterize the profile of NKT cells in peripheral blood samples of women with GDM in the third trimester of pregnancy.

**Methods:** This case control study included 18 women at 28-36 weeks' gestation: 8 had GDM and 10 were healthy. Peripheral blood NKT cells were evaluated by flow cytometry, using both monoclonal antibodies: CD3+CD16+CD56+ and Valfa+Vbeta+. We compared the percentages of NKT in both groups using Student's t test. P values < 0.05 were considered significant. The research protocol was approved by the university's ethics committee and written informed consent was obtained from all participants. **Results:** We found no significant differences in the percentages of NKT cells expressing CD3+CD16+CD56+ in the two groups (0.22%  $\pm$  0.13 versus 0.24%  $\pm$  0.32, control and GDM groups, respectively, p=0.85 Student's t test). The percentages of NKT cells Valfa+Vbeta+ were similar in healthy women and GDM patients (0.08%  $\pm$  0.04 versus 0.17%  $\pm$  0.24, respectively, p=0.28 Student's t test).

**Discussion:** These preliminary results do not suggest that circulating NKT subpopulations are involved in the pathogenesis of GDM. The study is ongoing. We are recruiting more participants and assessing NKT cells in the maternal-fetal interface to confirm our findings.



#### MONOCYTE SUBSETS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS: PRELIMINARY FINDINGS

Angelo AGS1, Lobo TF, Mattar R1, Godoy RVC1, Torloni MR1, Daher S1 - 1Universidade Federal de São Paulo - Obstetrícia

Introduction: The monocyte-macrophage system plays a key role in the development of inflammation and insulin resistance (IR) during pregnancy. Monocytes represent 5-10% of blood leukocytes and are classified according to the expression of surface protein markers (CD14 and CD16). CD14 corresponds to the lipopolysaccharide (LPS) receptor, and CD16 is the induction phagocytosis receptor. Monocyte CD14+CD16- phenotype is the classical subset comprising the largest population of human monocytes (90%) and is associated with the development of inflammation. Monocyte CD14-CD16+ is the non-classical subset and CD14+CD16+ monocyte is the intermediate subset. The latter two subsets have similar properties, predominantly secreting cytokines. Changes in the profile of monocytes have been associated with the onset of inflammatory reaction and the occurrence of metabolic disorders. We aimed to evaluate the profile of monocytes subsets from peripheral blood of and pregnant women with and without GDM during the third trimester of pregnancy.

**Methods:** This case control study included 15 pregnant women at 28-36 weeks' gestation: 5 with GDM and 10 healthy women. Peripheral blood monocyte cells were incubated at  $37^{\circ}$ C for 4 hours and then evaluated by flow cytometry, using monoclonal antibodies (CD14, CD16). Student's t test was used for statistical analyses and p<0.05 was considered significant.

**Results:** The percentages of intermediate monocytes were significantly higher in healthy pregnant women compared to GDM patients ( $10.9\% \pm 4.2$  versus  $4.9\% \pm 1.7$  respectively, p = 0.01, Student's t test). There were no other significant differences in the percentages of monocytes between the groups.

**Discussion:** Supporting our hypothesis, these preliminary results suggest that women with GDM have a different monocyte subset profile. The study is ongoing. We are recruiting more participants and assessing other monocyte cell markers.



# CONTRIBUIÇÃO DE VIAS CONTRARREGULATÓRIAS SOBRE O PREJUÍZO NA HOMEOSTASE DA GLICOSE EM CAMUNDONGOS OBESOS-MSG

Araujo TR<sup>1</sup>, Silva Junior JA<sup>1</sup>, Magalhães EA<sup>1</sup>, Vettorazzi JF<sup>2</sup>, Ribeiro RA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, <sup>2</sup>Universidade Estadual de Campinas

A obesidade é uma desordem metabólica que está associada ao desenvolvimento de diferentes comorbidades, como o Diabetes Mellitus do tipo 2 (DM2). O DM2 é uma síndrome hiperglicêmica caracterizada pela redução da secreção de insulina e resistência à ação deste hormônio. Ainda, considera-se que a hiperglucagonemia é fator determinante para o DM2. O glutamato monossódico (MSG) quando administrado em roedores no período neonatal provoca lesões hipotalâmicas, causando obesidade e prejuízos metabólicos. Roedores MSG apresentam intolerância à glicose, esteatose hepática e resistência à insulina. No entanto, as ações do glucagon no modelo experimental MSG permanecem desconhecidas. Neste estudo avaliamos o desenvolvimento da obesidade, morfometria das ilhotas pancreáticas e produção hepática de glicose estimulada por glucagon em camundongos obesos MSG. Camundongos neonatos machos Swiss receberam injeções subcutâneas de MSG (4 g/kg de peso corporal/dia; n = 18) ou salina (1,25 g/kg de peso corporal/dia; grupo controle: CTL, n = 16), durante os cinco primeiros dias de vida (Aprovação CEUA-UFRJ: MACO33). Dos 30 aos 90 de vida, os camundongos foram pesados e o consumo de água e ração mensurados semanalmente. Aos 90 dias, procedeu-se a coleta de sangue para análise bioquímica e os testes de tolerância à glicose (ipGTT), ao glucagon e ao piruvato. No pâncreas foi realizada imunohistoquímica para o glucagon. Os resultados foram analisados por teste tde Student (P < 0,05). Camundongos MSG apresentaram aumento no total de ganho de peso corporal (40±2 g), porém redução do consumo semanal de ração (51±1,2 g), comparados aos CTL (26±3 e 72±0,7 g). O grupo MSG aumentou o índice de Lee (350±4) e os estoques de gordura perigonadal [40,5±1,9 mg/g de peso corporal (PC], retroperitoneal (13,3±1,4 mg/g de PC) e de tecido adiposo marrom (9,4±0,6 mg/g de PC) em relação ao CTL (321±2, 23,0±2,9, 6,6±0,8 e 4,1±0,2 mg/g de PC; respectivamente). O total da glicemia durante o GTT (45772±2302 mg/dL.min<sup>-1</sup>) e a glicemia de alimentado foram maiores nos camundongos MSG (237±48 mg/dL) comparados aos CTL (18357±3445 e 136±4 mg/dL). Porém, não houve alteração para a glicemia de jejum (107±4 e 88±11 mg/dL). Essa normoglicemia foi mantida por hiperinsulinemia no grupo MSG (1,0±0,2 ng/mL) em relação ao CTL (0,2±0,1 ng/mL). Camundongos MSG tiveram aumento de 121% da produção endógena de glicose em resposta ao glucagon, e elevação de 127% da glicemia em resposta ao piruvato, quando comparados aos CTL. Ilhotas pancreáticas dos camundongos MSG apresentaram aumento da área total (13920±2526 µm²) e da área de célula alfa (803±91 µm²) comparados ao pâncreas CTL (6994 $\pm$ 855 e 459 $\pm$ 69  $\mu$ m<sup>2</sup>, respectivamente). O tratamento neonatal com MSG levou ao desenvolvimento da obesidade e prejuízos na homeostase glicêmica. Vias contrarregulatórias podem contribuir para o prejuízo no controle da glicose corporal na obesidade MSG, visto que há maior produção hepática de glicose por fatores glicogenólicos e gliconeogênicos, e hipertrofia das células alfa pancreáticas. Esse último achado mostra que as alterações plásticas no pâncreas endócrino frente a resistência à insulina podem também ocorrer em todos os tipos celulares das ilhota pancreática. Fomento: CNPq, FAPERJ



# AÇÕES DA SUPLEMENTAÇÃO COM TAURINA (TAU) SOBRE A REATIVIDADE VASCULAR EM RATOS OBESOS MSG (GLUTAMATO MONOSSÓDICO)

Leão VF<sup>1</sup>, Ferreira LLDM<sup>1</sup>, Maciel CM<sup>1</sup>, Raimundo JM<sup>1</sup>, Ribeiro RA<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro - Campus UFRJ-MACAÉ

INTRODUÇÃO: A TAU é um aminoácido presente em altas concentrações nos tecidos e plasma de mamíferos. Estudos demonstram que a TAU é capaz de regular a função cardiovascular e melhorar o perfil lipídico plasmático em roedores obesos. OBJETIVO: Avaliar os efeitos da TAU sobre a obesidade e reatividade vascular em ratos obesos MSG. MÉTODOS: Ratos machos Wistar receberam injeções subcutâneas de MSG [4g/Kg peso corporal (PC), grupo MSG] ou salina (1,25g/Kg PC; controle: CTL) no período neonatal. Ao desmame os ratos foram divididos nos grupos: CTL, MSG e CTL ou MSG suplementados com 2,5% de TAU (CTAU e MTAU). Aos 150 dias de vida foi realizada coleta de sangue, teste de tolerância à glicose (GTT) e após dois dias, os ratos foram pesados e eutanasiados. Anéis da aorta torácica foram preparados para registro de tensão isométrica em resposta à fenilefrina (Phe) e à acetilcolina (ACh) ou para análise de expressão proteica da pAkt/Akt, peNOS/eNOS. A obesidade foi avaliada pelo peso dos estoques de gordura. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguida de Newman-Keuls (P < 0,05). Todos experimentos foram aprovados pela CEUA UFRJ-Macaé (MACOO3). RESULTADOS E DISCUSSÃO: Ratos MSG apresentaram hipertrigliceridemia no estado de jejum e alimentado (244±66, 198±28 mg/dL, respectivamente) e hiperinsulenemia no estado de jejum (3,06±0,8 ng/mL) em relação ao CTL (79±5, 138±9 mg/dL e 1,1±0,3 ng/mL, respectivamente). A TAU normalizou a trigliceridemia do grupo MTAU (141±31 e 131±14 mg/dL, respectivamente) e melhorou parcialmente a insulinemia (2,1±0,65 ng/mL). Ainda, ratos MSG apresentaram intolerância à glicose durante o GTT em relação ao CTL (36476±4160 vs 23287±2361 mg/dL.min<sup>-1</sup>; respectivamente). Ratos MTAU apresentaram valores do total da glicemia durante o GTT (30928±3777 mg/dL.min<sup>-1</sup>) intermediários aos grupos MSG e CTL. O grupo MSG apresentou aumento dos acúmulos de gordura perigonadal (33,6±1,4 mg/g PC), retroperitoneal (35,4±1,9 mg/g PC) e tecido adiposo marrom (2,24±0,1 mg/g PC) em comparação ao CTL (15,25±0,8, 11,4±0,8 e 1,15±0,08 mg/g PC, respectivamente). A suplementação com TAU reduziu em 18% e 12% as gorduras perigonadal e retroperitoneal no grupo MTAU (27,7±1,4, 31,3±1,6 mg/g, respectivamente). Ainda, aortas de ratos MSG tiveram menor resposta vasodilatadora a 10µM de ACh (56±5%) em relação às aortas CTL (79±9%). E o relaxamento máximo frente à ACh nas aortas MTAU foi similar às CTL (72±3%). A resposta vasoconstritora a 10μM de Phe não diferiu entre os grupos (CTL 0,84±0,06, CTAU 1,3±0,08, MSG 0,87±0,07 e MTAU 0,99±0,14 g). Até o momento a expressão da pAkt/Akt e peNOS/eNOS dos grupos MSG  $(1,04\pm0,3 \text{ e } 1,3\pm0,1\%)$  e MTAU  $(1,02\pm0,3 \text{ e } 0,74\pm0,3\%)$ , respectivamente) não diferiram do CTL  $(1,02\pm0,08 \text{ e } 1,1\pm0,3\%)$ . TAU teve efeitos benéficos em ratos MSG, normalizando o perfil lipídico plasmático, reduzindo a deposição de gordura e melhorando parcialmente a hiperinsulinemia e a tolerância à glicose. Além disso, o tratamento com TAU corrigiu a baixa resposta à ACh. A melhora na função vascular induzida por Tau pode estar associado à redução do estresse oxidativo devido à sua atividade antioxidante e ao seu efeito vasodilatador direto com aumento da liberação de óxido nítrico. Novos experimentos de expressão proteica precisam ser realizados para obtenção de melhores resultados. Apoio Financeiro: Capes, CNPq, PIBIC-UFRJ, FAPERJ.



# Estudo das atividades voluntária e espontânea de ratos diabéticos

AssisWF, Kakazu V, Tadeu Junior O, Santhiago P, Leme JACA

O diabetes mellitus é um grupo heterogêneo de doenças caracterizadas por elevada glicemia trazendo diversos prejuízos ao organismo. Para o tratamento do diabetes são recomendados o uso de fármacos hipoglicemiantes, insulina exógena, adequações nutricionais e a prática de atividade física (AF). Sendo assim, a AF se tornou foco de estudos pela comunidade científica, buscando compreender as vias que promovem este benefício. Todavia, a busca por aprimorar esse tratamento tem levado os pesquisadores a encontrar os efeitos das diferentes formas de atividade física como atividade física espontânea, voluntária, ocupacional ou o exercício físico. Estudos em animais têm sido muito úteis para contribuir nessas descobertas, todavia, normalmente utiliza exercício físico como forma de tratamento, sendo escassos os estudos que utilizaram atividade física voluntária ou espontânea. A gaiola enriquecida é um interessante meio de promover a atividade física espontânea e voluntária em animais. O presente estudo terá por objetivo investigar os efeitos do ambiente enriquecido e da atividade fisica nele promovido em ratos diabéticos. Para tanto, ratos adultos da linhagem Wistar foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: controle (C) e diabetes (D). O diabetes foi induzido através da aplicação de estreptozotocina (50 mg/kg) dissolvida em tampão citrato (0,01 μM, ph 4,5) por via intraperitoneal. No inicio e final do período experimental foram realizados os testes de glicemia e ao final foram mensurados o deslocamento na roda de atividade e coletadas as imagens para posterior análises do deslocamento dos animais utilizando o software Dvideow®. Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio do teste t de Student ou Mann-Whitney (significância de 5%). O software SPSS\* foi utilizado para as análises. Os resultados demontraram redução da glicemia após as atividades (C: 99,2±10,3; 101,3±17,2; D: 493,2±102,5 455,7±132,9). Nas análises da roda de atividade, os animais diabeticos andaram 19,7 vezes menos que os annimais controles (2087±101; 111,6±42,3) e no deslocamento (C:5,24±1,7;D:2.3±1,9) tembém apresentaram valores estatiticamente menores. Desta forma, pode ser concluido que o diabetes diminui as atividades espontânea e voluntária mas, apesar disso, a manutenção no AE diminui a glicemia dos animais diabéticos nele mantidos.

# INDEX DE AUTORES

Abrahao GCP	PP.21
Admoni SN	PT.25, PT.87, PT.88
Albuquerque A	PT.67
Alda MA	PT.07
Almeida-Pititto B	PP.18, PT.02, PT.08, PT.09
Alonso-Magdalena P	PT.04
Alves DO	PT.01
Alves-Wagner AB	PT.05
Amaral AR	PT.85, PT.86
Andreotti S	PT.78
Angelo AGS	PT.94
Aniteli TM	PT.69
Antunes VR	PT.62
Araujo COD	PT.15
Araujo DDS	PT.85
Araujo EP	PT.03
Araujo RL	PT.69, PT.70, PT.72, PT.75, PT.76
Araújo TM	PT.43
Araujo TR	PT.21, PT.34, PT.95
Arcaro CA	PT.16, PT.17, PT.56, PT.57, PT.77
Arruda-Marques MC	PT.70, PT.72
Assis RP	PT.16, PT.17, PT.56, PT.57, PT.77
AssisWF	PT.97
Avansi AF	PT.01
Barbanera PO	PT.46
Barbosa RGV	PT.01
Barbosa TR	PT.67
Barbosa-Sampaio HC	PT.29
Bassani SP	PT.85
Batista R	PT.39
Baviera AM	PT.16, PT.17, PT.56, PT.57, PT.77
Bellani R	PT.76
Bello M	PT.04
Bensenor IM	PT.02
Bertolla RP	PP.17
Betônico CCR	PP.03
Bezerra RMN	PT.33
Bittencourt CS	PP.22
Blanc HNH	PT.42
Bolin AP	PT.83, PT.84
Boltes GR	PT.78
Bombassaro B	PT.03, PT.64
Bonfleur ML	PP.19
Borges CM	PT.93
Borges FO	PT.89
Boschero AC	PT.29
Brimble M	PT.45
Brito LS	PT.38, PT.39
Brunetti IL	PT.16, PT.17, PT.56, PT.57, PT.77
Bueno AC	PT.06
Caetano L	PP.23
Calderon IMP	PT.31
Caminhotto RO	PT.78, PT.79
Campello RS	PT.71

Campos BM	PP.15
Cansian ACC	PT.54, PT.55
Caperuto LC	PT.19, PT.63, PT.68
Capitani CD	PT.33
Carmo NOL	PT.46
Carneiro EM	PP.19, PT.34
Carvalho MFS	PT.47
Cassetari BFN	PT.31
Castellano-Muñoz M	PT.04
Castro JMR	PT.69
Castro M	PT.06
Castro NC	PT.79
Catanozi S	PP.11
Cedro RM	PT.47
Cendes F	PP.15
Cezaretto A	PT.02
Ciancio D	PT.41
Claudius B	PT.60
Corrêa-Giannella ML	PP.03, PP.11, PT.11, PT.25, PT.52, PT.82, PT.87,
Correa-Glafffiella IVIL	PT.88
Correio MD	
Correia MR	PT.38
Correia MRS	PT.39
Cortez VOF	PT.15
Costa AS	PT.07
Costa MC	PT.16, PT.56, PT.57
Costa PI	PT.56, PT.57, PT.77
Costa SO	PT.13, PT.14, PT.89, PT.90
Coutinho FL	PT.67
Cunha-Neto E	PP.09
Daher G	PT.01
Daher S	PT.93, PT.94
Dal Fabbro AL	PT.40
David-Silva A	PT.62
Davies M	PT.60
DeFronzo R	PT.60
Devitte GP	PT.31
Dias-Da-Silva MR	PP.05
Dib SA	PP.22
do Amaral RC	PT.85, PT.86
Donadi EA	PT.26
Dornellas APS	PP.17
Dotto RP	PP.05
Dragano NRV	PT.03
Esteves JV	PT.35
Evangelista N	PT.20
Fabbri BC	PT.41
Fabre NT	PP.11
Fabres-Machado U	PT.81
Fante T	PT.36
Fátima LA	PT.05, PT.71
Fernandes AAH	PT.46
Fernandes GR	PT.09
Fernandes VT	PT.20
Ferracioli MHV	PP.10
	ı

Ferreira HB	PT.32
Ferreira LLDM	PT.96
Ferreira LT	PT.44
Ferreira MAN	PP.10
Ferreira SRG	PP.18, PT.02, PT.08, PT.09
Figueiredo CC	PT.20
Figueiredo LS	PT.21, PT.42
Figueiredo PHRS	PT.85
Figueiroa MO	PT.19
Filgueiras LR	PT.25
Filippin EA	PT.37
Fioravante M	PT.03, PT.64
Florentina BO	PT.63
Folchetti LGD	PP.18, PT.08
Fonseca MIH	PT.60, PT.61
Fonseca TV	PT.92
Fontana AGS	PT.66
Forni MF	PT.91
Fortuna V	PT.91
Foss MC	PT.06, PT.26
Foss-Freitas MC	PP.10, PT.26, PT.54, PT.55
Franco LF	PP.05, PT.40
Franco LJ	PP.01, PP.21, PT.40, PT.80
Freire ACF	PT.07
Freire APCF	PT.73
Freitas HS	PT.11, PT.12, PT.62
	PT.34
Freitas IN	
Fukui RT Furlan C	PP.09, PT.38, PT.39 PT.33
Furlan CPB	
	PT.18
Furuya DT Gabbay MAL	PT.23, PT.24
García-Arévalo M	PP.22
	PT.27
Garofolo IC	PT.68
Gasparini P	PT.68
Geloneze B	PT.43
Genovese MI	PT.75
Gerhardt CMB	PT.20
Giacaglia LR	PT.72, PT.75
Gimeno ML	PT.91
Giuffrida FM	PP.05
Godoy RVC	PT.94
Gomes CR	PT.20
Gomes EP	PT.09
Gomes KFB	PT.38, PT.39
Gomes PM	PP.24
Gomes VM	PT.91
Gonçalves DAP	PT.37, PT.65
Gonçalves NB	PT.54, PT.55
Gonçalvez LM	PP.19
Gonfinetti NV	PP.09
Guedes JAC	PT.23, PT.24
Guerra HM	PT.31
Guerra-Junior G	PP.15

Guimarães AC	PT.47
Gutierres VO	PT.56, PT.57, PT.77
Haddad-Tovolli R	PT.64
Heck LC	PT.37
Henriques Blanc HN	PT.21
Henriques GS	PT.15
Higa EMS	PP.22
Iborra P	PT.04
Iborra RT	PT.81, PT.82
Irles E	PT.04
Izumi S	PP.07
Jancar S	PT.25
Júnior MSA	PT.01
Júnior RMM	PT.15
Junior WDLI	PT.86
Kaga AK	PT.46
Kakazu V	PT.97
Kettelhut IC	PT.16, PT.37, PT.65
Komino ACM	PT.79
Kozaka JM	PT.70
Kuhn PC	PP.21, PT.40
Kunii IS	PP.05
Kushner R	PT.60
Labriola L	PT.91
Lacerda BA	PT.82
Ladeia AM	PT.47
Laizo A	PT.32
Lanza PG	PT.13, PT.14, PT.89, PT.90
Lautherbach N E S	PT.65
Leão VF	PT.96
Lellis-Santos C	PT.68
Leme JACA	PT.97
Lemes SF	PT.13, PT.14, PT.89, PT.90
Lima FB	PT.78, PT.79
Lima MIA	PT.52
Lima RAO	PT.73, PT.74
Lima RO	PT.07
Lima VH	PT.53
Lisboa EG	PT.31
Lobo TF	PT.93, PT.94
Lopes GAP	PT.73, PT.74
Lorizola IM	PT.33
Lorza-Gil E	PT.27
Lotufo PA	PT.02
Lu R	PT.81
Lubaczeuski C	PP.19
Lucchesi MBB	PP.22
Lucena MCN	PT.53
	PT.04
Luque RM Lustrino D	PT.37
Lustrino D	
Luthold RV  Massada AISM	PP.18, PT.08
Machada CC	PT.01
Machado CG	PT.87
Machado EP	PT.11, PT.12

PP.11, PT.05, PT.11, PT.12, PT.23, PT.24, PT.35, PT.62, PT.71 PT.81, PT.82 PT.96 PT.34, PT.95 PT.15
PT.81, PT.82 PT.96 PT.34, PT.95
PT.96 PT.34, PT.95
PT.34, PT.95
PT.15
PT.48, PT.49
PT.37
PT.92
PT.18
PT.40
PT.06
PT.53
PT.38
PT.93, PT.94
PT.01
PP.15
PT.04
PT.11, PT.12
PT.13, PT.14, PT.33, PT.36, PT.58, PT.59, PT.90
PP.06
PT.65
PT.36, PT.58, PT.59
PP.05
PP.21, PT.40
PT.52
PT.15
PT.09
PT.28
PT.70
PP.11
PT.03, PT.64
PT.32
PT.71
PT.60
PT.64
PT.04
PT.81, PT.82
PP.17
PP.02
PT.37, PT.65
PP.03, PP.04, PT.87
PT.28, PT.88
PT.20
PP.14
PT.30
PT.74
PP.11, PT.11, PT.12, PT.35, PT.62
PT.45, PT.81
PT.19
PT.27
PT.16, PT.17, PT.56, PT.57, PT.77 PT.42

Oliveira REM	PP.01, PT.80
Oliveira SA	PT.42
Oliveira SMP	PT.18
Oliveira TC	PT.91
Oliveira-Souza M	PT.52
Osicki R	PT.49
Otton R	PT.44, PT.50, PT.51, PT.83, PT.84
Oyama LM	PP.17
Pacagnelli FL	PT.07, PT.73
Parisi MCR	PT.28, PT.88
Paro MT	PT.67
Passarelli M	PP.11, PP.16, PT.45, PT.81, PT.82
Passos GA	PT.26
Passos-Bueno MR	PT.38
Patel M	PT.45
Paula DA	PT.32
Paula MF	PT.16, PT.17, PT.56, PT.57
Paula-Gomes S	PT.16, PT.65
Pavin EJ	PT.28, PT.88
Pedroso AP	PP.17
Pendeloski KPT	PT.93
	PT.09
Pereira AC Pereira JA	PT.73
Pereira M G	PT.65
Pereira PHGR	PT.69, PT.70, PT.72, PT.76
Perez RV	PT.25, PT.87
Périco M	PT.66
Perone MJ	PT.91
Pezoti AR	PT.48
Pickford R	PT.45
Pinto Jr DAC	PT.62
Pinto-Junior DC	PP.11, PT.35
Pires LS	PT.43
Pisi PCB	PP.10
Pissiguelli R	PT.70, PT.72
Piton M	PT.58
Pollettini JT	PT.01
Portela JDR	PT.15
Portovedo M	PT.33, PT.36, PT.58, PT.59
Prada PO	PP.20
Proença ARG	PT.78
Punaro GR	PP.22
Queiroz MS	PP.03, PT.87
Queiroz PM	PT.46
Quesada I	PT.04
Rafacho A	PT.04, PT.22
Raimundo JM	PT.96
Ramalho AF	PT.43, PT.64
Ramalho AFS	PT.03
Raposo AB	PT.07
Rassi DM	PT.26
Razolli DS	PT.43
Razuck NNP	PT.66, PT.67
Regiani D	PT.43
	•

Reginato A	PT.36, PT.58, PT.59
Reis AF	PP.05
Resende ATP	PT.06
Ribeiro APB	PT.36
Ribeiro BV	PT.69
Ribeiro EB	PP.17
Ribeiro RA	PT.21, PT.34, PT.42, PT.95, PT.96
Ribeiro RS	PT.01
Ribeiro SAG	PT.85, PT.86
Riguetto CM	PT.88
Rios VK	PT.42
Rlim LC	PP.08
Rocha MP	PT.66, PT.67
Rogana ECB	PT.67
Rosa JC	PP.17
	PT.46
Rosa LRO	
Roso de Oliveira CA	PT.21
Roxo DF	PT.17
Ruiz A	PT.04
Ruiz MO	PT.38
Rye KA	PT.45
Saad ST	PT.29
Salerno AG	PT.27
Santhiago P	PT.97
Santos ABC	PT.73
Santos AF	PT.91
Santos AS	PP.09, PT.38, PT.39
Santos C	PT.22
Santos DMS	PT.66
Santos DP	PT.87
Santos GF	PT.07
Santos LR	PT.47
Santos MC	PP.21
Santos MS	PT.50, PT.51
Santos PHQ	PT.63
Santos RF	PT.69, PT.70, PT.72, PT.75, PT.76
Santos-Bezerra DP	PT.25
Santos-Silva JC	PP.19
Sartori JO	PT.13, PT.14, PT.89, PT.90
Schimidt AM	PT.82
Schur EA	PP.15
Semsezem C	PT.38
Semzezem C	PT.39
Sertié RAL	PT.78
Sewaybricker LE	PP.15
Silva AS	PT.40
Silva DO	PT.68
Silva FF	PT.79
Silva FR	PT.29
Silva IP	PT.31
	PP.18, PT.08, PT.09
Silva IT	
Silva JPN	PT.07
Silva JS	PT.22
Silva Junior JA	PT.95

Silva KS	PP.11
Silva LA	PT.48, PT.49
Silva MER	PP.09, PT.38, PT.39
Silva MF	PT.19, PT.63
Silva MLLS	PT.47
Silva PD	PT.63
Silva TS	PT.67
Silveira VLF	PT.19, PT.63, PT.68
Silveira WA	PT.37, PT.65
Simomura VL	PT.76
Sirimarco MP	PT.31
Siscoutto RA	PT.07
Skjoth T	PT.60
Soares BM	PT.48
Soares DN	PT.21
Soares GM	PT.29
Soares LP	PT.40
Soares RP	PT.66, PT.67
Sogayar MC	PT.91, PT.92
Solon C	PT.30, PT.64
Soriano S	PT.04
Sousa B	PT.10
Sousa BC	PT.36
Souza ACP	PT.13, PT.14, PT.89, PT.90
Souza AP	PP.17
Souza CM	PT.13, PT.14, PT.89, PT.90
Souza CR	PT.66
Souza MR	PT.66
Stahl M	PT.36
Stella LC	PT.41
Suemoto CK	PT.02
Suen VMM	PP.10, PT.54, PT.55
Szarf G	PP.05
Tadeu Junior O	PT.97
Takano C	PT.88
Tashima AK	PP.17
Terra LF	PT.91
Thieme K	PP.11
Titan SM	PP.03
Tolentino G	PT.84
Torloni MR	PT.93, PT.94
Torsoni AS	PT.13, PT.14, PT.36, PT.58, PT.59, PT.89, PT.90
Torsoni MA	PT.13, PT.14, PT.36, PT.58, PT.59, PT.89, PT.90
	PT.53
Trecco SMLS Trigo JR	PT.27
Ueda SKN	PT.72
Valente AMM	PP.18, PT.08
Valente F	PP.22, PT.60
Valente LM	PT.86
Valente T	PP.22
Vanderlei LCM	PT.07
Vasques AC	PT.43
Velloso L	PT.30

Vernini JM	PT.31
Vettorazzi JF	PT.04, PP.19, PT.34, PT.95
Vieira-Filho JPB	PP.21, PT.40
Wailemann RAM	PT.91
Woods T	PT.45
Wouk J	PT.48, PT.49
Yokoyama S	PT.81
Yonamine CY	PT.05, PT.11, PT.12, PT.35, PT.62
Zanon NM	PT.16, PT.37, PT.65
Zoppi C	PP.12
Zordan AJCM	PT.54, PT.55
Zorn TM	PP.11
Zucchari DAPC	PP.13