

PT.01

TRIIODOTIRONINA COMO UMA EFICAZ TERAPIA ADJUVANTE À INSULINA NO TRATAMENTO DE RATOS INDUZIDOS AO DIABETES MELLITUS POR ALOXANA.

Florido Neto AR¹, Agostini L¹, Panveloski-Costa AC¹, Nunes MT¹ - ¹USP - ICB - Departamento de Fisiologia e Biofísica

INTRODUÇÃO: O Diabetes Mellitus (DM) vem afetando a população de forma crescente, tornando-se um sério problema de saúde global. É uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia conseqüente a defeitos na síntese/secreção, sinalização da insulina ou ambos. O controle glicêmico de pacientes DM1 é feito pela reposição de insulina, tratamento que em longo prazo leva à resistência ao hormônio. O DM e as disfunções tireoidianas são as endocrinopatias mais prevalentes no planeta e vem sendo apontada de maneira crescente na literatura a correlação entre DM e hipotireoidismo. De fato, estudos do nosso grupo mostraram que ratos DM induzidos por aloxana apresentam hipotireoidismo e aumento de citocinas pró-inflamatórias na circulação, e que o tratamento com triiodotironina (T3) promove melhora do quadro inflamatório, aumento da sensibilidade à insulina e redução da produção hepática de glicose (Panveloski-Costa et al, Acta Phys 217:130, 2016; Teixeira et al, Physiol Rep 22:747, 2016). Considerando que: (a) a reposição com insulina é a única alternativa para o tratamento do DM1; (b) os ratos DM apresentam hipotireoidismo e (c) o T3 aumenta a sensibilidade à insulina; esse estudo se propôs a avaliar se a associação de T3 à insulina poderia trazer benefícios à homeostasia glicêmica dos animais DM. **MÉTODOS:** Ratos Wistar (250g) foram induzidos ao DM por aloxana (150 mg/kg, ip), e subdivididos em grupos tratados com 3 e 6U de insulina (DM3 e DM6) associadas, ou não, ao tratamento com T3 (1,5 µg/100 g de PC: DMT3; DM3T3 e DM6T3), por 28 dias. Os animais foram pesados semanalmente, e a avaliação da glicemia de jejum, sensibilidade periférica à insulina e conteúdo protéico de GLUT4 e TNF-α do músculo Soleo foi realizada posteriormente. Grupos de animais não diabéticos foram submetidos aos mesmos procedimentos utilizando-se salina. **RESULTADOS:** Os ratos DM tratados com Insulina associada ao T3 apresentaram maior ganho de peso corporal em relação ao DM e DMT3. A glicemia de jejum apresentou-se maior nos grupos DM e DM3 comparados aos grupos DM tratados com T3 (DMT3 e DM3T3). O tratamento dos ratos DM com 3U de insulina associado ou não ao T3 ou com 6U de insulina aumentou o kITT, enquanto que o tratamento com 6U de insulina associado ao T3 o reduziu. O conteúdo protéico de TNF-α apresentou-se reduzido nos grupos DMT3, DM3, DM6 e DM3T3 comparados aos animais DM e DM6T3. Adicionalmente, o tratamento dos ratos DM com 3U de insulina e com T3 promoveu importante aumento do conteúdo muscular de GLUT4. **DISCUSSÃO:** O tratamento de ratos DM com T3 melhora os parâmetros avaliados, o que corrobora nossos estudos anteriores e, a associação de T3 com a insulina na menor dose (3U) promoveu benefícios ainda maiores para a regulação da homeostase glicêmica no DM. Desta forma, o T3 parece ser eficaz como adjuvante da insulina (3U) no tratamento de ratos DM comparando-se ao tratamento apenas com insulina na dose de 6U, que é utilizada como dose de reposição, indicando que doses menores de insulina poderiam ser utilizadas no tratamento do DM quando se associa T3, o que poderia evitar ou retardar o quadro de resistência à insulina observada nos indivíduos DM tratados cronicamente com insulina.

AGÊNCIA DE FOMENTO: Capes/Proex e FAPESP.

PT.02

Histone H3 post-translational modifications at *Slc2a4* gene in skeletal muscle of type 2 diabetic mice.

Yonamine CY¹, Alves-Wagner AB, Esteves JV¹, Okamoto MM¹, Corrêa-Giannella ML², Giannella-Neto D, Machado UF¹ - ¹Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas - Fisiologia e Biofísica, ²Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina

Background and aims: The main characteristic of diabetes mellitus is the loss of glycemic homeostasis. In this process, skeletal muscle plays a key role and maintenance of the GLUT4 glucose transporter (encoded by the *Slc2a4* gene) expression is fundamental. Epigenetic regulations of *Slc2a4* have never been investigated in diabetes; and resveratrol, suggested as an insulin sensitizer, might be a modulator of these regulations, as it is an activator of the deacetylase sirtuin 1 (SIRT1). The present study aimed to evaluate in type 2 diabetic mice (T2D) the effect of resveratrol treatment on glycemic homeostasis, *Slc2a4*/GLUT4 expression in skeletal muscle, epigenetic regulations of *Slc2a4* such as lysine acetylation (ac) or tri-methylation (me3) of histone 3 (H3Kac and H3K9me3), and the possible participation of SIRT1.

Materials and methods: T2D was induced by neonatal subcutaneous injection of monosodium glutamate (MSG) from day 1 to day 5 (2 mg/kg body weight) and day 7 (4 mg/kg body weight). Control mice received only the vehicle (0.9% NaCl). At the age of 19 weeks, T2D mice were treated or not with resveratrol (30 mg/kg body weight) for 60 days. Resveratrol was offered in the drinking water. On the 53rd day of treatment, insulin tolerance test (ITT) was performed. On the 60th day of treatment the animals were anesthetized with sodium thiopental (7 mg/kg body weight), blood was collected from the left ventricle and the gastrocnemius muscle was removed for analysis of: *Slc2a4* mRNA (RT-qPCR), total GLUT4 and nuclear SIRT1 (Western blotting), acetylation of H3K9,14,18,23 and 27 and tri-methylation of H3K9 (ChIP assay).

Results: T2D mice developed obesity, increased concentrations of plasma glucose (by 1.8 folds, $P<0.001$), fructosamine (by 1.5 folds, $P<0.05$) and insulin (by 6.8 folds, $P<0.001$), and decreased rate of glucose decay in the ITT; resveratrol treatment reversed all these alterations, except the obesity. The *Slc2a4*/GLUT4 expression was reduced in muscle of T2D (by 30%, $P<0.01$ and 50%, $P<0.05$, respectively), and that was partially reversed by resveratrol. ChIP assay evinced that diabetes increased the content of both H3Kac (1.5 folds, $P<0.01$) and H3K9me3 in the *Slc2a4* promoter (by 1.4 folds, $P<0.001$); and the later was reversed by resveratrol. Additionally, although the nuclear SIRT1 content did not alter in T2D, the resveratrol treatment increased it (by 1.7 folds, $P<0.05$).

Conclusion: T2D induced epigenetic regulations in skeletal muscle *Slc2a4* gene, such as increased H3Kac and H3K9me3, the later potentially participating on the *Slc2a4* gene repression. Resveratrol treatment improved the metabolic control of T2D mice and partially reversed the *Slc2a4*/GLUT4 expression. These regulations could not be explained by deacetylase activity of SIRT1 upon *Slc2a4* gene, but may be related to modulations of H3K9me3. These results point out the histone H3 post-translational modifications as potential targets to control GLUT4 expression and, consequently, to improve glycemic homeostasis in T2D.

Keywords: Diabetes mellitus. resveratrol. *Slc2a4*. GLUT4. epigenetics. Histone H3 post-translational modifications. SIRT1.

Financial support: FAPESP #2012/04831-1 and CNPq #142187/2013-5.

PT.03

O EFEITO PROTETOR DO EXERCÍCIO FÍSICO EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE ANIMAIS EXPOSTOS A DOSES BAIXAS E MÚLTIPLAS DE ESTREPTOZOTOCINA

Paula CC¹, Ferreira SF², Oliveira CC¹, Ortis F¹ - ¹USP - Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, ²Unicamp - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

Introdução: Diabetes mellitus do tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune, na qual citocinas pro-inflamatórias contribuem para a disfunção e morte das células β pancreáticas, instaurando um quadro de hiperglicemia. O tratamento é feito através da administração de doses diárias de insulina exógena, dieta e exercício físico, mas ainda não é o ideal, podendo ocorrer episódios de hiperglicemia o que aumenta a mortalidade e morbidade. Estudos recentes mostram um possível efeito benéfico do exercício físico na viabilidade e função de células β pancreáticas, mas os mecanismos envolvidos nessa melhora ainda não são totalmente elucidados. **Métodos:** Foram utilizados camundongos C57BL/6 divididos em grupo: controle, diabético, treinado e diabético treinado. O treinamento foi feito por três semanas à aproximadamente 70% da velocidade máxima durante 60 minutos por cinco vezes na semana. O diabetes foi induzido pelo protocolo de doses baixas e múltiplas de estreptozotocina (MLSTZ). A glicemia plasmática e o peso corporal foram monitorados durante o período experimental. Após sete e onze semanas foi realizado o teste de tolerância à glicemia (GTT) e insulina (ITT). O pâncreas foi avaliado por histologia com coloração em HE e Imuno-histoquímica para insulina e glucagon. **Resultados:** O treinamento físico foi capaz de prevenir parcialmente a hiperglicemia induzida pelo MLSTZ. Apesar disso, o exercício físico não alterou significativamente a tolerância a glicose, comparado aos grupos controle e diabéticos. Como esperado, animais diabéticos apresentaram uma maior resistência à insulina, o que foi parcialmente prevenido pelo exercício físico. A área total de ilhotas diminuiu em animais diabéticos, mesmo nos treinados, há também uma diminuição da marcação de insulina nessas ilhotas. Porém o treinamento físico parece exercer um efeito benéfico, pois apesar de não ser capaz de prevenir totalmente a diminuição da área total de ilhotas é capaz de induzir um aumento do número de ilhotas, as quais apresentam marcação para glucagon em regiões mais centrais. Essas observações podem estar relacionadas ao aparecimento de novas ilhotas, e possivelmente com a proteção contra a hiperglicemia encontrada nos animais. **Discussão:** O exercício é considerado uma importante estratégia não farmacológica no controle da homeostase da glicose durante o DM1. Trabalhos mais recentes implicam entre os efeitos benéficos do exercício físico a secreção de fatores anti-inflamatórios que seriam benéficos para proteção e manutenção das células β pancreáticas. Devido a complexidade do DM1, e sabendo que a disfunção das células β implica diretamente na homeostase da glicose é imprescindível um entendimento dos mecanismos relacionados a essa proteção. Mostramos aqui que o exercício é capaz de aumentar o número de ilhotas. As mudanças estruturais e quantitativas nas ilhotas pancreáticas tem grande importância na regulação glicêmica e podem estar relacionadas com a preservação da massa de células β . **Agradecimentos:** Agradecemos ao pessoal do nosso laboratório, aos Profs. Drs. Sérgio Oliveira e Maria Inês Borella e ao técnico Cruz Rignonati pelo apoio e suporte técnico. **Financiamento:** FAPESP e CAPES

PT.04

CARACTERIZAÇÃO DO MODELO DE REGENERAÇÃO DO PÂNCREAS ENDOCRINO EM CAMUNDONGOS NEONATOS TRATADOS COM ESTREPTOZOTOCINA

Santos C¹, Ferreira SM, Vetorazzi JF, Costa-Junior JM, Santos GJ, Rafacho A, Boschero AC - ¹UNICAMP - Centro de Pesquisa em Obesidade e Comorbidades/Departamento de Biologia Estrutural e Funcional/Instituto de Biologia/Unicamp.

Introdução. As células beta pancreáticas possuem a capacidade de se adaptarem a inúmeras demandas fisiológicas, no entanto, existem poucos modelos *in vivo* que exploram os processos de plasticidade e regeneração dessas células. A administração neonatal de estreptozotocina em ratos leva a redução das células beta pancreáticas, que é restaurada na idade adulta. Contudo, em camundongos este modelo não tem sido explorado. Assim, buscamos analisar a capacidade de regeneração de células beta de camundongos frente a administração de estreptozotocina (STZ) no período neonatal, afim de buscar novos alvos que possam contribuir na regeneração de células beta pancreáticas.

Metodologia. Neste estudo, utilizamos camundongos C57BL6J machos com 6 dias de idade, que foram divididos em: grupo controle (CTL – recebeu uma dose de tampão fosfato) ou tratados com uma única dose de STZ (65 mg/Kg *s.c*). Após a aplicação, a glicemia foi acompanhada e os camundongos foram submetidos ao teste de tolerância à glicose. Posteriormente, os camundongos foram eutanasiados, e o pâncreas endócrino removido para obtenção da massa de células beta.

Resultados. Após 25 dias da administração de STZ os animais apresentaram uma ablação de 40% na massa de células beta em relação ao grupo CTL, paralelo a intolerância à glicose que foi exacerbada aos 75 dias pós STZ. Após 210 dias, os animais STZ apresentaram recuperação parcial da intolerância à glicose e glicose sanguínea em estado alimentado ($n=9$; $p<0,05$).

Discussão. Com estes resultados parciais concluímos que, a recuperação da intolerância à glicose ao longo do tempo é um indicativo do processo de regeneração das células beta em camundongos após o tratamento com STZ. Sendo possível a utilização como modelo experimental para a investigação da regeneração do pâncreas endócrino. Ademais, esclarecer os mecanismos moleculares relacionados com esta recuperação pode auxiliar na busca de novos alvos terapêuticos no tratamento de doenças como o diabetes tipo 1 e 2.

PT.05

Relations between Asymmetrical Dimethylarginine Levels and both Cardiovascular Risk Factors and Outcomes and Type 2 Diabetes Development in Hypertensive Patients

Triches CB¹, Zanella MT¹, Batista M¹ - ¹unifesp

Abstract

Asymmetric dimethylarginine (ADMA), which is the main endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, plays a critical role in the process of endothelial dysfunction. We evaluated the association between high plasma ADMA levels in hypertensive patients and the presence of cardiovascular risk factors, the development of type 2 diabetes mellitus (DM) and the development of cardiovascular outcomes, including death. We evaluated 191 hypertensive subjects who were stratified into 2 groups according to the median value of basal ADMA: those with high levels of plasma ADMA ($>0.55 \mu\text{mol/L}$) and low levels of plasma ADMA ($\leq 0.55 \mu\text{mol/L}$) who were prospectively evaluated over 5.8 years. High ADMA levels were seen in subjects with higher weight, body mass index (BMI), waist circumference, triglycerides, uric acid, and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), and lower levels of HDL-*col* and in type 2 diabetic patients. There was an association between high plasma ADMA levels and the occurrence of cardiovascular death. In a subgroup of hypertensive subjects free from metabolic syndrome (MS) and DM at baseline, there was an association between high ADMA levels and the development of type 2 DM. In conclusion, our study confirms the association of high plasma ADMA levels and the presence of cardiovascular risk factors in hypertensive subjects. It also suggests the association of high plasma ADMA levels and the occurrence of cardiovascular death in hypertensive subjects and the development of type 2 DM in a subgroup of hypertensive subjects who are free from MS and DM at baseline.

PT.06

OSTEOCALCINA MELHORA A RESISTÊNCIA À INSULINA NO TECIDO ADIPOSEO BRANCO, FÍGADO E OSSO EM CAMUNDONGOS OBESOS

Guedes JAC¹, Esteves JV¹, Morais MRPT², Zorn TMT², Machado UF¹, Furuya DT¹ -

¹Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, ²Universidade de São Paulo - Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas

Introdução: Recentemente foi demonstrado que a osteocalcina, uma proteína sintetizada por osteoblastos, age sobre o metabolismo energético, resultando na fascinante descoberta de que o esqueleto possui função endócrina. No entanto, muito pouco se conhece sobre os mecanismos moleculares das ações da osteocalcina sobre o metabolismo de glicose. Para tanto, o presente estudo teve como objetivo estudar os mecanismos moleculares envolvidos nas ações da osteocalcina sobre a resistência à insulina em camundongos obesos.

Métodos: Camundongos machos foram divididos em 3 grupos: magros (grupo controle), obesos por glutamato monossódico tratados ou não com osteocalcina na forma descarboxilada (uOC) por 28 dias. Para verificar a resistência à insulina *in vivo* foi realizado o Teste de Tolerância à Insulina. O conteúdo de mRNA foi investigado por qPCR; de proteína, por *Western blotting*; e, o grau de infiltração de macrófagos, por análise histológica.

Resultados: Os animais tratados com uOC apresentaram melhora de resistência à insulina *in vivo*. No tecido adiposo branco (TAB) visceral, o tratamento com uOC melhorou a resistência à insulina (aumento do conteúdo de AKT fosforilada e da expressão do transportador de glicose GLUT4), e reduziu a expressão de mediadores pró-inflamatórios e a infiltração de macrófagos. No fígado, uOC melhorou a resistência à insulina (aumento do conteúdo de AKT fosforilada) e reduziu a expressão de mediadores pró-inflamatórios. Além disso, no osso, o tratamento dos animais obesos com uOC, resultou em melhora da resistência à insulina (aumento do conteúdo de AKT fosforilada, e redução da expressão dos genes que codificam para proteína tirosina fosfatase osteotesticular e osteoprotegerina, ambos genes envolvidos na resistência à insulina no osso).

Discussão: Nossos resultados mostram que uOC melhora a resistência à insulina *in vivo* em camundongos obesos, com melhora da resistência à insulina e inflamação no TAB e fígado, bem como melhora da resistência à insulina no osso.

Apoio Financeiro: FAPESP 2013/18841-1, 2014/10007-5, 2015/01576-9, 16/15603-0

PT.07

O EFEITO DA HIPERGLICEMIA MATERNA SOBRE A GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E O ESTRESSE DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO EM ILHOTAS PANCREÁTICAS ISOLADAS DA PROLE DE RATAS

Carvalho DS^{1,2}, Haidar AA¹, Araujo AD¹, Argeri R³, Pereira ACV¹, Baptista ACA¹, Carpinelli AR⁴, Hirata AE⁵ - ¹Universidade Federal de São Paulo - Unifesp - Fisiologia, ²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO), ³Universidade Anhembi Morumbi - Faculdade de Farmácia, ⁴Universidade de São Paulo - (USP) - Fisiologia e Biofísica, ⁵Universidade Federal de São Paulo - Unifesp

A hiperglicemia durante a gravidez pode resultar em defeitos no metabolismo de glicose e na função das células β pancreáticas na prole. As origens fetais da doença no adulto estão associadas a vários mecanismos causadores que são dependentes das condições de estresse intrauterino. O papel do estresse oxidativo e do estresse do retículo endoplasmático (RE) têm sido estudados em modelos de programação fetal. É possível que o estresse oxidativo e o estresse do retículo endoplasmático sejam um elo de conexão entre o insulto intrauterino e as consequências da programação fetal na vida adulta da prole. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da hiperglicemia materna sobre a geração de espécies reativas de oxigênio e o estresse do retículo endoplasmático em ilhotas pancreáticas isoladas da prole de ratas. Foram utilizadas ratas da linhagem wistar com três meses de idade e a indução do diabetes foi realizada através da administração de estreptozotocina (STZ) – 60 mg/kg em dose única via intraperitoneal. A partir das proles das mães diabéticas e controles, foram selecionados apenas os machos, que foram estudados aos 3 meses de idade. Os animais filhos de mãe diabética (FMD) apresentaram uma redução do peso corporal ao nascimento quando comparados ao grupo filho de mãe controle (CLT) que se manteve por todo o período experimental. Encontramos redução do peso do tecido adiposo epididimal, aumento dos triglicérides, VLDL e colesterol total, além de resistência à insulina evidenciada por teste *in vivo*. Observamos aumento da secreção de insulina estimulada pela glicose, na condição 16,7 mM. A produção do ânion superóxido encontrou-se reduzida no grupo FMD enquanto que a atividade da enzima Catalase (CAT) encontrou-se aumentada. Evidenciamos um aumento da fosforilação de eIF2 α e das proteínas JNK e p-38 MAPK no grupo FMD quando comparado ao grupo CTL. Estes resultados demonstram que a hiperglicemia materna durante a concepção, gestação e lactação é capaz de promover alterações permanentes no peso corporal do nascimento aos três meses de idade, dislipidemia e resistência à insulina. Nas ilhotas pancreáticas isoladas, promoveu aumento no processo secretório de insulina quando desafiado com alta glicose associado à redução da geração do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e aumento da atividade da enzima catalase. Observamos indicativo de estresse celular mediado pelo aumento da fosforilação das MAP kinases JNK, p-38MAPK e do fator de iniciação eucariótico 2 (eIF2 α).

ENVOLVIMENTO DE NOX-1 NA VIABILIDADE DE CÉLULAS SECRETORAS DE INSULINA

Vilas-Boas EA¹, Ortis F², Carpinelli AR¹ - ¹Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica, ²Universidade de São Paulo - Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento

Introdução: O diabetes tipo 1 é caracterizado por absoluta deficiência de insulina decorrente de uma destruição autoimune progressiva das células beta pancreáticas. No desenvolvimento da doença, há liberação de citocinas pró-inflamatórias num processo inflamatório chamado insulite. As citocinas liberadas modulam a atividade de vários processos destrutivos provocando disfunção e morte das células beta. A enzima NADPH oxidase é um complexo enzimático produtor de superóxido presente, entre outros tecidos, na célula beta pancreática. Evidências recentes indicam o envolvimento desta enzima com o estresse oxidativo em exposição a citocinas pró-inflamatórias, o que poderia contribuir para destruição da célula beta nesse ambiente. O núcleo catalítico da enzima possui diferentes homólogos, como NOX-1 e NOX-2, e estudos recentes propõem que a NOX-1 é a principal isoforma estimulada em ilhotas e células beta pancreáticas quando expostas a citocinas. Assim, o objetivo de nosso estudo é avaliar o papel da isoforma NOX-1 na indução de disfunção e morte de células beta por citocinas pró-inflamatórias.

Métodos: Foram utilizados camundongos *wild type* (WT) ou *knockout* NOX-1 (KO NOX-1) que foram submetidos ao Teste de Tolerância a Glicose (GTT) e Teste de Tolerância a Insulina (ITT). Ilhotas isoladas desses animais (WT e KO NOX-1) e a linhagem celular de células beta pancreáticas INS-1E foram expostas a citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β +IFN γ +TNF- α) na presença ou ausência de um antagonista para NOX-1 (no caso das linhagens celulares) por 24 ou 48 horas. A viabilidade celular foi analisada por citometria de fluxo pelo uso do kit Via Count (Merck Millipore) e por western blot para avaliar a expressão proteica de caspase 3 clivada.

Resultados: Os camundongos WT e KO NOX-1 não apresentam diferenças em suas curvas do GTT. Já no ITT, os animais KO NOX-1 são mais resistentes que os animais WT. O tratamento com as citocinas pró-inflamatórias leva a um aumento na apoptose de células INS-1E, o que é prevenido com a adição do antagonista da NOX-1 (ML171), efeito confirmado tanto por citometria de fluxo, quanto por expressão proteica de caspase 3 clivada. Além disso, os resultados de viabilidade de ilhotas de camundongos KO NOX-1 expostas a citocinas pró-inflamatórias acompanham os resultados obtidos com a linhagem INS-1E.

Discussão: Nossos resultados até o momento mostram que tanto as células INS-1E tratadas com antagonista NOX-1 (ML171), quanto as ilhotas de camundongos KO NOX-1 são protegidas da apoptose provocada por citocinas pró-inflamatórias. A inibição da atividade da NOX-1 pode representar um alvo para a preservação da função da célula beta em um ambiente inflamatório, porém a atividade dessa enzima também parece ser importante para a função secretora da célula beta em condições fisiológicas. Portanto a falta de um melhor entendimento sobre as vias moduladas por essa enzima, que podem levar ao seu caráter pró-apoptótico frente a um ataque imune, é de extrema importância para o desenho de estratégias para sua modulação.

Agradecimentos: a professora Lucia Rossetti Lopes (USP) por ceder os animais KO NOX-1 e a Marlene Santos da Rocha pelo excelente suporte técnico.

Financiamento: FAPESP, CNPq, CAPES

PT.09

ÁCIDO BILIAR TUDCA MELHORA A INSULINEMIA DE CAMUNDONGOS COM DIABETES DO TIPO 1 ATRAVÉS DO AUMENTO DA SÍNTESE E REDUÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE INSULINA

Bronczek GA¹, Vettorazzi JF², Soares GM², Santos C², Bonfim MF², Balbo SL¹, Boschero AC², Costa-Júnior JM² - ¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, ²Universidade Estadual de Campinas - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

Introdução: Pacientes com Diabetes Mellitus do tipo 1 (DM1) necessitam de administração diária de insulina exógena, o que pode causar eventos de hipoglicemia e outros efeitos colaterais. Portanto, encontrar moléculas endógenas que possam ser utilizadas no controle glicêmico no DM1 e que não apresentem efeitos colaterais é de extrema importância. Nesse sentido, o ácido biliar conjugado com taurina: ácido tauroursodesoxicólico (TUDCA) tem se mostrado eficaz no tratamento do DM2; contudo, sua eficiência no tratamento do DM1 tem sido menos explorada. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do TUDCA no controle glicêmico de camundongos com DM1.

Métodos: Foram utilizados camundongos C57BL/6 divididos inicialmente em dois grupos: 1) Grupo controle (CTL n=6) e 2) Grupo estreptozotocina (STZ n=22), o qual recebeu uma dose intraperitoneal (i.p.) de 40mg/kg de STZ durante cinco dias para indução do DM1. Uma vez instalado o DM1 no grupo STZ, este foi subdividido em dois grupos: 1) STZ (n=10) que recebeu injeção i.p. de PBS e 2) STZ+TUDCA (n=12) que recebeu uma dose i.p. de 300 mg/kg de TUDCA. Essas administrações foram executadas diariamente durante 24 dias. Para análise dos dados foram utilizados os testes: T Student e Mann-Whitney. Os resultados foram expressos em média±erro padrão da média e, as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P \leq 0,05$.

Resultados e Discussão: Após 15 dias de tratamento, os animais do grupo STZ+TUDCA apresentaram redução de 43% na glicemia, comparado ao grupo STZ ($410,9 \text{ mg/dL} \pm 22,57$ STZ x $233,1 \text{ mg/dL} \pm 20,06$ STZ+TUDCA). Essa redução da glicemia, provavelmente, deveu-se a um aumento da insulinemia, observada ao final do tratamento ($1,177 \text{ ng/mL} \pm 0,03$ STZ x $1.653 \text{ ng/mL} \pm 0,08$ STZ+TUDCA). Esse aumento da insulinemia pode ser explicado, pelo menos em parte, pela redução da atividade hepática da IDE (insulin degrading enzyme), enzima responsável pela degradação da insulina (Atividade da IDE/ μ total de proteína: $0,016 \pm 0,002$ STZ x $0,006 \pm 0,0008$ STZ+TUDCA), bem como pelo aumento da massa de células beta ($0,082 \text{ mg} \pm 0,009$ STZ x $0,201 \text{ mg} \pm 0,018$ STZ+TUDCA) e da quantidade dessas células por ilhota (Razão célula beta/ilhota: $0,144 \pm 0,01$ STZ x $0,185 \pm 0,006$ STZ+TUDCA). Juntos, esses efeitos contribuíram para a melhora na tolerância à glicose e flexibilidade metabólica nos camundongos STZ+TUDCA.

Conclusão: Concluímos que o tratamento com TUDCA proporciona aumento da insulinemia em camundongos com DM1 através de dois mecanismos, o aumento da massa de célula beta, e também pela redução da atividade hepática da IDE. Sugerindo que o tratamento com esse ácido biliar apresenta potencial terapêutico para o controle glicêmico no DM1.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e FAPESP.

PT.10

PREVALÊNCIA DO DIAGNÓSTICO DA HIPERGLICEMIA NA ADMISSÃO HOSPITALAR NO HOSPITAL GERAL DO GRAJAÚ NO PERÍODO DE MARÇO A ABRIL DE 2016.

Admoni SN, Karman GF, Schalch MS, Martucci J

INTRODUÇÃO: A hiperglicemia hospitalar, muitas vezes subdiagnosticada, é definida como valores plasmáticos ou capilares de glicose maiores de 140 mg/dL. Esta condição pode ocorrer em pacientes com ou sem diabetes e sua ocorrência relaciona-se a piores desfechos tendo impacto direto na evolução e prognóstico clínico dos pacientes. O rápido diagnóstico da hiperglicemia hospitalar e seu consequente tratamento implicam na redução do tempo de internação, dos custos, da mortalidade e da necessidade de unidade de terapia intensiva, fazendo-se de suma importância sua detecção e diagnóstico precoce. Este trabalho tem como objetivo avaliar estatisticamente a realização deste diagnóstico tão importante na admissão no Hospital Geral do Grajaú.

MÉTODOS: Foi feita uma coleta retrospectiva de dados de 149 prontuários de pacientes internados na enfermaria de clínica médica do Hospital Geral do Grajaú em São Paulo, durante os meses de março a abril de 2016, observando se havia a devida aferição de glicemia capilar na admissão hospitalar e o valor desta. Além disso, foram levantadas as seguintes variáveis: gênero do paciente, se este era sabidamente diabético ou não, idade e motivo de internação. Esses dados foram analisados estatisticamente utilizando o teste de Shapiro-wilk, teste U de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis e teste qui-quadrado, com valor de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADO: Nota-se que em quase metade das fichas de admissão (46,3%), não havia a anotação da glicemia capilar. Alguns grupos específicos tiveram esta coleta mais negligenciada como os não sabidamente diabéticos e os de menor faixa etária.

DISCUSSÃO: Pode-se perceber que a prevalência da hiperglicemia hospitalar é elevada dentre aqueles que aferiram a glicemia capilar na admissão hospitalar, correspondendo a quase metade dos casos. Mas, notadamente, houve uma grande falta de aferições ou então registros dessa variável em prontuários.

BIBLIOGRAFIA:

CLEMENT S, et al., Management of diabetes and hyperglycemia in hospitals *Diabetes care* v27 p.553, 2004;

LEVETAN CS, et al. Unrecognized diabetes among hospitalized patients. *Diabetes Care* v.21 p.246-249, 1998;

ADMONI SN, NERY M. Hiperglicemia Hospitalar. *Clinica Medica HC FMUSP, São Paulo*, v. 5, n 2, p. 334-335, 2016;

FINFER S, et al. NICE-SUGAR Study Investigators. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med.*; v.360 p.283, 2009;

LEITE et al., Impact of hyperglycemia on morbidity and mortality, length of hospitalization and rates of re-hospitalization in a general hospital setting in Brazil *Diabetology & Metabolic Syndrome* v. 2 p.49, 2010;

UMPIERREZ GE, et al. Hyperglycemia: an independent marker of in-hospital mortality in patients with undiagnosed diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* v. 3 p.978, 2002

PT.11

PERFIL DOS PACIENTES COM DIABETES MELLITUS NO HOSPITAL GERAL DO GRAJAÚ.

Karman GF, Martucci J

INTRODUÇÃO: O diabetes mellitus é uma patologia muito prevalente tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento e o número de casos vem aumentando a cada ano. Quantificar o predomínio atual de DM e estimar o número de pessoas com diabetes no futuro é importante, pois possibilita planejar e alocar recursos de maneira racional. Há marcantes diferenças no predomínio de DM entre diversos países e grupos étnicos. É importante observar-se as características em comum dos grupos mais acometidos pela doença para entender suas causas e evitar suas graves complicações.

MÉTODOS: Estudo retrospectivo e descritivo, unicêntrico baseado no levantamento de informações a partir do prontuário de pacientes que já possuíam diagnóstico de diabetes mellitus ou que internaram devido primodescompensação da doença. Foram notificados 100 pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus internados no Hospital geral do grajaú do mês de fevereiro de 2016 a fevereiro de 2017.

RESULTADO: A internação ocorreu com maior frequência em doentes DM tipo 1 (66,7%), homens (62%), pardos (53%), idade média de 40 anos e com comorbidades, a principal causa foi cetoacidose diabética de moderada gravidade provocada principalmente por infecções.

DISCUSSÃO: Esse estudo demonstrou maior frequência de internação em doentes DM tipo 1, com média de 7 anos de doença. Atualmente, sabe-se que a incidência de DM1 tem aumentado, particularmente na população infantil.

Diversos estudos indicam maior prevalência de DM em mulheres no Brasil, porém nesse estudo prevaleceu homens pardos, com faixa etária de 40 anos, com comorbidades.

Em relação a causa da internação houve uma alta prevalência de casos com cetoacidose diabética (CAD) de moderada gravidade, o que era de se esperar no predomínio de diabetes tipo 1.

A principal etiologia da descompensação clínica foram as infecções. Em segundo vem a má aderência, chamando atenção para esse tipo de população, que depende do serviço público para obter as medicações necessárias para seu tratamento e em sua falta, observamos grande repercussão nesse tipo de população. Vale dizer que a população estudada apresentou complicações macrovasculares e microvasculares precocemente.

No dia da alta hospitalar a maioria (78,3%) não apresentou controle glicêmico.

A principal comorbidade dos pacientes internados foi a hipertensão arterial (65,4%) que é comumente relacionada ao diabetes tipo 2. Em segundo lugar ficou o hipotireoidismo (11,5%), lembrando que no Brasil a principal causa de hipotireoidismo é a tireoidite de Hashimoto. Esse estudo aponta que 28,6% já haviam apresentado acidente vascular cerebral e 14,3% infarto agudo do miocárdio.

Referências:

VAN DE BERGHE G, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. N Engl J Med. 2009;360 (13): 1283-97

FINFER S, et al. NICE-SUGAR Study Investigators. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. N Engl J Med. 2009;360(13):1283-97

Association AD. Diabetes care- 2016; 39(suppl.1): S99-S104

LEVETAN CS, et al. Unrecognized diabetes among hospitalized patients. Diabetes Care 21:246-249, 1998

DUNGAN KM, BRAITHWAITE SS, PREISEIR JC. Stress hyperglycemia. *The Lancet*. 2009; 1798-807.

UMPIERREZ GE, et al. Hyperglycemia: an independent marker of in-hospital mortality in patients with undiagnosed diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87 (3):978-82.

American Diabetes Association, Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012. *Diabetes Care*. 2013; 36 (4): 1033-46. .

PT.12

ROLE OF ARHGAP21 IN PANCREATIC BETA CELL FUNCTION BY ARF6 SIGNALING THROUGH THE CHOLINERGIC PATHWAY

Soares GM¹, Zangerolamo L¹, Saad S², Boschero AC¹, Barbosa-Sampaio HCL¹ -
¹Department of Structural and Functional Biology - Biology Institute, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil, ²Haematology Centre - School of Medicine, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil.

Background and aims: ARHGAP21, a GTPase activating protein (GAP), controls insulin secretion in islets of neonatal mice through reorganization of the actin cytoskeleton. ADP ribosylation factors (ARFs) are ARHGAP21 partners, involved in cytoskeleton remodeling and vesicle traffic, which makes them potential targets for regulation of insulin secretion in beta cells. Thus, to evaluate the role of ARHGAP21 in beta cell function, we used ARHGAP21 haplodeficient mice, and INS-1E beta cell line.

Methods: C57BL/6 ARHGAP21 haplodeficient mice (Het) and controls (Ctl) received standard rodent chow ad libitum. We assessed glucose homeostasis by insulin and glucose tolerant test, and glucose/carbachol-stimulated insulin secretion by RIA. Proteins interactions were assessed by immunoprecipitation in INS-1E and pancreatic islets. Inhibition of ARF6 was performed by siRNA. To analyze the data we used the Student's t-test. Data are mean \pm SEM, and the difference between the groups were considered statistically significant if $P \leq 0.05$.

Results and discussion: Glucose and insulin tolerance of Het mice were similar to Ctl group. No differences were observed on glucose-stimulated insulin secretion. However, Carbachol-stimulated insulin secretion was higher in isolated islets from Het, compared to Ctl mice (0,88 ng/ μ L \pm 0,12 Ctl x 1,58 ng/ μ L \pm 0,15 Het). Increased insulin secretion in ARHGAP21 haplodeficient mouse islets, stimulated by carbachol, suggests that the M3R-ARF6 pathway is ARHGAP21-dependent. Furthermore, as demonstrated in the immunoprecipitation experiment, stimulation with carbachol also increased ARF6 interaction with M3 receptor in INS-1E (100 A.U. 8.3 mM x 126,7 A.U. 8.3 mM + cch \pm 8,66). Consistent with ARF6 role in cytoskeleton remodeling and vesicle traffic to promote insulin secretion, the M3R-ARF6 interaction, stimulated by carbachol, suggests that ARF6 is, possibly, recruited by M3R, linking the cholinergic pathway to vesicle traffic in beta cells. After inhibition of the ARF6 protein in INS-1E, we observed that siARF-6 cells lose the secretory potentiation capacity when stimulated with carbachol (176,3 ng/ μ g \pm 11,51 siCTL x 98,81 ng/ μ g \pm 6,72 siARF6), confirming that ARF6 plays an important role in the secretion of insulin through the cholinergic pathway.

Conclusion: Our results showed that reduction in ARHGAP21 content, in pancreatic islets, increased carbachol-stimulated insulin secretion. Cholinergic stimulus also increased ARF6-M3R interaction. In addition, inhibition of ARF6 decreases carbachol-stimulated insulin secretion. These data suggest a possible involvement of the cholinergic pathway in ARHGAP21-ARF6 modulation of beta cell function.

Acknowledgement: CNPq and FAPESP.

PT.13

REDUCTION OF RHOGAP ARHGAP21 INDUCES HEPATIC STEATOSIS IN C57BL/6 MICE

Zangerolamo L¹, Soares GM¹, Saad S², Boschero AC¹, Barbosa-Sampaio HCL¹ -

¹Department of Structural and Functional Biology - Biology Institute, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil, ²Haematology Centre - School of Medicine, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil.

Introduction

ARHGAP21 is a RhoGAP involved in several cellular processes, such as: migration, proliferation, differentiation and intracellular vesicle trafficking. Liver performs various biochemical functions necessary for body metabolic homeostasis. It has an important role in lipid metabolism, by synthesizing, capturing and esterifying fatty acids, as well as secreting lipids in the form of lipoproteins. Vesicular formation mechanisms allow the exit of liver lipids, such as VLDL (Very Low Density Lipoprotein). Here we studied the ARHGAP21 knockdown mice (Het), a whole-body gene-deficiency model (heterozygous) that expresses approximately 50% of ARHGAP21, and the RhoGAP participation in liver metabolism.

Methods

Animals were submitted to a normal fat diet (Ctl and Het) or a high fat diet (Ctl-HFD and Het-HFD), 35% fat, for 12 weeks. At the end of 12 weeks (2 days before euthanasia), insulin sensitivity was measured by ipITT and pyruvate tolerance was obtained by ipPTT. After euthanasia, liver samples were collected for several analyses. Gene expression of MTP was determined by q-PCR; protein content of MTP and AKT-Serine483 phosphorylation was assessed by Western Blotting and triglycerides levels were measured by ELISA. To explore the function of ARHGAP21 in VLDL-TG secretion, mice were treated with Triton WR Tyloxapol, to block peripheral lipolysis, and plasma TG accumulation was measured along the time. To analyze the data we used the Student's t-test and the difference between the groups were considered statistically significant if $P \leq 0.05$.

Results and discussion

There were no significant differences in insulin and pyruvate tolerance tests in Het, compared to Ctl mice, although these animals presented increased AKT-Serine483 phosphorylation in liver. HFD did not induce insulin resistance in Het-HFD, compared to Ctl-HFD, as observed by ipITT and AKT-Serine483 phosphorylation in liver. Besides that, Het-HFD animals presented reduced hepatic gluconeogenesis, observed by ipPTT. Het and Het-HFD animals presented higher hepatic triglycerides levels, compared to the respective controls. Moreover, our data showed reduced VLDL-TG secretion, which could be associated to the reduced gene expression and protein content of MTP, observed in Het model fed on both diets. When treated with Triton WR Tyloxapol, het model fed on both diets, showed lower VLDL-TG secretion levels than the respective controls, indicating a possible ARHGAP21 role in VLDL-TG secretion in liver. Thus, our *in vivo* data indicate that ARHGAP21 could participate in the mechanisms associated with lipogenesis and liver lipids secretion.

Conclusion

Our data showed evidences that ARHGAP21 is involved in mechanisms associated with hepatic lipid metabolism, possibly in the assembling of the VLDL granule, preventing lipids accumulation in liver.

Acknowledgement: FAPESP and OCRC.

PT.14

REGULAÇÃO DOS TRANSPORTADORES DE GLICOSE NO RIM: EFEITO DA PROGRESSÃO DO DIABETES.

Freitas HS¹, Yonamine CY¹, Okamoto MM¹, Furuya DT¹, Machado U F¹ - ¹ICB - USP

Introdução: O córtex renal é um território que participa da gênese de alterações fisiopatológicas do rim, como o desenvolvimento da glomeruloesclerose diabética. A reabsorção da glicose filtrada ocorre no túbulo proximal através das proteínas SGLT2 e GLUT2 no segmento S1 e das proteínas GLUT1 e SGLT1 no segmento S3. Em ratos com 20 dias de diabetes, a concentração de glicose extracelular no túbulo renal proximal aumenta pela elevação da glicemia e da reabsorção da glicose filtrada, o que induz aumento da expressão dos transportadores GLUT2 e SGLT2 (Freitas et al, 2007; Freitas et al, 2008), contribuindo para desenvolvimento da glomeruloesclerose. Também verificamos que o tratamento com insulina de ratos diabéticos (20 dias) melhora o controle glicêmico e faz a expressão das proteínas GLUT2 e SGLT2 retornar a valores de ratos não-diabéticos após 6 dias de tratamento. Além disso, como esses resultados indicavam envolver controle transcricional, mostramos que essa regulação se dava devido a maior interação do fator transcricional HNF-1 na região promotora dos genes dos transportadores SGLT2 e GLUT2 (Freitas et al, 2008; Freitas et al, 2009). Entretanto, nada se conhece sobre essa regulação em diabetes de longa evolução.

Objetivo: investigar o efeito do diabetes crônico (60 dias) e do tratamento com insulina na expressão de GLUT2, SGLT2, GLUT1 e SGLT1 em túbulo proximal renal de ratos machos Wistar. Estudar a atividade de ligação do fator transcricional HNF-1 α ao gene *Slc5a2* (codifica a proteína SGLT2).

Métodos: Nós estudamos a abundância do mRNA do *Slc5a2* e das proteínas GLUT2, SGLT2, GLUT1 e SGLT1 por Western blotting em ratos machos Wistar, não diabéticos (C), com 60 dias de diabetes (D) (injeção intravenosa de estreptozotocina na dose de 50 mg/Kg) e com 60 dias de diabetes tratados por 7 dias com insulina NPH – 6U/dia (DI). Nestes animais também avaliamos a atividade de ligação do fator transcricional HNF-1 α especificamente no promotor do gene *Slc5a2* (codifica o SGLT2), pelo *ensaio de Mobilidade Eletroforética* ou Gel de Retardo (*Electrophoretic Mobility Gel Shift Assay- EMSA*).

Resultados: Verificamos que, ao contrário do descrito em ratos de 20 dias de diabetes, a proteína SGLT2 diminuiu 60% em ratos diabéticos comparados aos controles ($P<0,001$). As proteínas GLUT1 e SGLT1 também diminuíram nos animais diabéticos ($P<0,01$), mas o GLUT2 não. O tratamento dos ratos diabéticos por 7 dias com insulina NPH – 6U/dia, não alterou o conteúdo das proteínas GLUT1, GLUT2 e SGLT1, mas aumentou o mRNA *Slc5a2* e a proteína SGLT2 em relação ao D ($P<0,01$). Finalmente, observou-se que o diabetes reduziu a atividade de ligação do HNF-1 α ($P<0,001$), mas o tratamento com insulina não foi capaz de reverter essa regulação ($P<0,001$ vs C).

Conclusão: Os resultados indicam que a progressão do estado diabético tende a diminuir a expressão dos transportadores renais de glicose, sendo que a redução do *Slc5a2*/SGLT2 pode estar relacionada com redução na atividade de ligação do fator transcricional HNF-1 α . A melhora do controle glicêmico por tratamento com insulina foi capaz de reverter a regulação apenas do SGLT2, porém por mecanismo independente do HNF-1 α . Espera-se que essas distintas regulações na expressão dos transportadores de glicose, conforme varia o tempo de diabetes e o grau de controle metabólico, possam explicar as limitações e/ou variações na resposta ao tratamento com drogas inibidoras de SGLT2. Financial support: FAPESP #2016/15603-0

PT.15

Insulin sensitizer effect of estrogen in adipocytes involves ESR1/CEBPA-mediated increase in *Slc2a4*/GLUT4 expression

Fatima LA¹, Campello RS¹, Freitas HS¹, Clegg DJ², Machado UF¹ - ¹Instituto de Ciências Biomédicas da USP - Fisiologia e Biofísica, ²Biomedical Research Department, Diabetes and Obesity Research Division, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, California, USA.

The hyperplastic expansion of adipocyte tissue, by induction of adipocyte differentiation, is an important way to store the excess of lipids and to reduce insulin resistance, as compared to adipocyte hypertrophy. CCAAT/enhancer-binding protein alpha (CEBPA) together with peroxisome proliferator-activated gamma (PPARG) are the main transcriptional factors regulating the adipocyte differentiation, and they also are responsible for induction of insulin-stimulated glucose transporter GLUT4 (codified by the gene solute carrier family 2 member 4, *SLC2A4*), which is a marker of cellular differentiation. E2-deficiency, as in menopause, has been associated to fat accumulation, dyslipidemia, elevated inflammatory markers, insulin resistance and increased the risk of type 2 diabetes mellitus (T2DM). Estradiol (E2) has been reported as a modulator of *Slc2a4*/GLUT4 expression, by mechanisms not yet clearly described. Our hypothesis is that E2, via its receptor ESR1, regulates the CEBPA/PPARG-induced expression of *Slc2a4*/GLUT4, and that could reflect in the adipocyte differentiation.

Methods: 3T3-L1 cells were analyzed at days 2, 4, 6 and 8 after the beginning of the differentiation, with or without 10 nM E2. In another set of experiments, fully differentiated adipocytes were subjected or not to *Esr1* silencing (by small interfering RNA knockdown of ESR1, 50% repression), and treated or not with 10 nM E2. *Esr1*, *Esr2*, *Cebpa* and *Pparg* mRNAs (RT-qPCR); total GLUT4 and nuclear ESR1, ESR2, CEBPA proteins (Western blotting); CEBPA binding into *Slc2a4* promoter (EMSA); cellular localization of GLUT4 (immunofluorescence); and lipid accumulation (oil red staining) were evaluated.

Results: 24-hour E2 treatment increases *Slc2a4*/GLUT4 expression, and that is accompanied by increased *Cebpa* expression and nuclear content of CEBPA.

Knockdown of *Esr1* represses *Cebpa* and *Slc2a4* expression, as well as total GLUT4 and nuclear CEBPB; effects that were not altered by E2. *Pparg* expression altered neither by E2 nor by si*Esr*. During differentiation, lipids accumulation, *Slc2a4*/GLUT4 expression progressively increased, and E2 had a positive significant effect in 8-day-differentiated cells. Similarly, *Cebpa* mRNA and nuclear CEBPA content also increased during differentiation, with a significant positive effect of E2 after 8 days. Besides, CEBPA binding into the *Slc2a4* promoter at 8 days of differentiation increased by E2 treatment. *Pparg* mRNA and nuclear PPARG also increased during differentiation, but no effect of E2 was observed.

Conclusion: E2 stimulates *Slc2a4*/GLUT4 expression through ESR1/CEBPA-mediated mechanism, and effect that is also triggered during adipocyte differentiation. This E2 effect may contribute to adipocyte hyperplasia instead of hypertrophy, contributing to improve insulin sensitivity in adipose tissue.

Keywords: Obesity, adipose tissue, 3T3-L1 adipocyte, CEBPA, *Slc2a4*, GLUT4.

Financial support: FAPESP #2016/15603.

PT.16

INFLUENCE OF DIABETES IN THE PATHOGENESIS OF HUMAN CUTANEOUS LEISHMANIASIS: THE ROLE OF LEUKOTRIENE B₄.

Silva IBS¹, Nunes S¹, Ampuero M¹, Lima R¹, Lago A², Carvalho E², Brodskyn C¹, Tavares N¹ - ¹FIOCRUZ - IGM, ²UFBA

Abstract:

Background: Leishmaniasis remains as one of the most neglected tropical diseases in the world. The host immune response against *Leishmania* has a critical role in promoting parasite killing, but it also accounts for inflammation and disease severity. The localized cutaneous form (LCL) is characterized by the presence of a single ulcerated lesion in the skin and uncontrolled inflammation. The increased susceptibility of skin infections is one of the complications of diabetes. When compared to the euglycemic state, hyperglycemia leads to changes in the production of pro-inflammatory cytokines and chemokines mainly by increasing the production of Leukotriene B₄, an inflammatory lipid mediator. In this context, the present study aimed to evaluate the influence of diabetes in the outcome of human LCL, considering the role of LTB₄.

Methods: First, we measured serum levels of lipid mediators LTB₄, PGE₂ and IL-1, IL-6, TNF- α , IL-10 cytokines by immunoenzymatic assay (ELISA) in euglycemic or hyperglycemic patients with LCL. After, we correlate these findings with clinical data, such as glucose, time, size, number and area of the lesion. Then, we cultured human macrophages *in vitro* with different glucose concentrations (0, 90, 150, 300 mg/dL) and infected with *Leishmania braziliensis* to evaluate the rate of infection as well as the viability of parasites. The culture supernatant was destined to measure lipid mediators and cytokines and the cells were used to analyze the expression of BLT1, PGE2, MyD88, TLR2, TLR4 by Real-Time PCR (RT-qPCR).

Results: We detected an increase of LTB₄ in the plasma of diabetic patients, which strongly correlates with the glycemic state and healing time. Similar results were obtained with IL-6 and TNF- α with glycemic state but not healing time, suggesting that diabetes amplify the inflammatory response observed during LCL. Moreover, only LTB₄ had a positive correlation with healing time. The *in vitro* assays indicate that glucose increases the infection rate and the viability of parasites in a dose dependent way in human macrophages infected by *L. braziliensis*. Besides, these cells express lower levels of BLT1 with high glucose concentrations in macrophages infected or not.

Conclusion: Together, these preliminary results suggest that high concentrations of glucose increases the susceptibility of macrophages to the infection by *L. braziliensis* through the reduction of BLT1, even with increased levels of LTB₄.

Footnote: This study is supported by FAPESB and CAPES.

EFEITOS DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE METFORMINA E LICOPENO EM MARCADORES FISIO-METABÓLICOS E DE ESTRESSE GLICO-OXIDATIVO NO DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL

Figueiredo ID¹, Lima TFO², Inácio MD², Costa MC², Assis RP², Brunetti IL², Baviera AM² - ¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, FCFar/UNESP - Departamento de Análises Clínicas, ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, FCFar/UNESP - Departamento de Análises Clínicas

INTRODUÇÃO: O tratamento para o diabetes mellitus (DM) inclui insulina e agentes anti-diabéticos orais, sendo a metformina amplamente prescrita. No entanto, é crescente o interesse no uso de produtos naturais como terapia complementar, seja por seus benefícios aditivos aos efeitos da terapia clássica, seja pelo potencial antioxidante. Estudo recente do laboratório demonstrou que o licopeno incorporado ao iogurte tem potencial antiaterogênico e antioxidante, mitigando o risco cardiovascular no DM (Assis et al., Int. J. Mol. Sci. 18, 332, 2017). No presente estudo, foram avaliadas as alterações em marcadores fisio-metabólicos e de estresse glico-oxidativo em ratos diabéticos tratados com iogurte enriquecido com metformina ou licopeno, isolados ou em misturas. **MÉTODOS:** Ratos machos Wistar (150±10g) receberam estreptozotocina (40 mg/kg) para indução do DM. Os animais foram divididos em 5 grupos (8 ratos/grupo): normal, tratado com iogurte (NIOG); diabéticos tratados com: iogurte (DIOG); 4U de insulina (DINS); 250 mg/kg de metformina (DMET); 45 mg/kg de licopeno (DLIC); combinação metformina+ licopeno (DLICMET), durante 30 dias. Peso corporal e glicemia foram monitorados semanalmente, ingestão hídrica, alimentar e volume urinário a cada 15 dias. Níveis de colesterol total, triglicerídeos e HDL foram determinados no início (dia 0) e fim do experimento (dia 30). Níveis plasmáticos de produtos finais de glicação avançada (AGE) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinados após 30 dias de tratamento. Os resultados foram expressos como média±erro padrão e considerados estatisticamente diferentes com p<0,05 (One-Way ANOVA seguido de Student-Newman-Keuls). **RESULTADOS:** No dia 0, ratos diabéticos apresentaram valores de glicemia de \cong 400 mg/dL; no dia 30, todos os ratos diabéticos tratados apresentaram reduções na glicemia (DINS=93,2±12,3; DMET=399,8±43,8; DLIC=398,8±36,2; DLICMET=263,7±34,2; mg/dL) em relação ao DIOG (534,5±29,2 mg/dL); a redução na glicemia de ratos tratados com licopeno+metformina foi maior em relação aos tratamentos isolados. Em relação ao DIOG, os tratamentos com metformina e/ou licopeno melhoraram a ingestão alimentar, ingestão hídrica e volume urinário de ratos diabéticos. Após 30 dias, os tratamentos com metformina e/ou licopeno reduziram o colesterol total e os triglicerídeos em relação aos animais DIOG; a redução no colesterol foi maior em ratos DLICMET (44%) em relação aos tratamentos isolados (DLIC=30%; DMET=24%). Nenhum tratamento foi capaz de melhorar os níveis de HDL. Após 30 dias, ratos DLICMET apresentaram maior redução nos níveis de AGE plasmáticos (72%) em relação aos tratamentos isolados (DLIC=54%; DMET=51), quando comparados ao DIOG. O tratamento licopeno+metformina mostrou-se mais eficaz na redução dos níveis plasmáticos de TBARS (44%) em relação aos tratamentos isolados (DLIC=23%; DMET=19%). **DISCUSSÃO:** O tratamento de animais diabéticos com iogurte enriquecido com metformina e licopeno melhorou o controle glicêmico, a dislipidemia e reduziu os marcadores do estresse glico-oxidativo, evidenciando o potencial benéfico desta combinação no combate às complicações crônicas observadas no DM.

Agradecimentos: FCFar/UNESP, CAPES, FAPESP.

PT.18

PAPEL DA MOISTATINA E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO NAS CELULAS BETA PANCREÁTICAS

Costa-Junior JM¹, Ferreira SM¹, Bonfim MF¹, Barros J¹, Vettorazzi JF¹, Carneiro EM¹, Boschero AC¹ - ¹UNICAMP

Introdução:

O exercício físico resistido parece ser uma estratégia terapêutica interessante para o controle glicêmico de pacientes diabéticos do tipo-2 (DT-2). A redução da miostatina, induzida por este tipo de esforço emerge como candidato em potencial para explicar a provável melhora da massa de células beta. A inibição da miostatina, em modelo animal de diabetes do tipo 2 resulta em aumento da proliferação e massa de células beta. O envolvimento de inibidores do ciclo celular, como p-16 não foi investigado nesse contexto. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do treinamento em exercício físico resistido em camundongos DT-2 e analisar a expressão de p-16 em linhagem de células beta pancreáticas expostas à miostatina.

Metodos:

Camundongos C57BL-6 com 60 dias de idade foram divididos em 2 grupos: Controles alimentados com dieta chow (C) e Obesos alimentados com dieta rica em gordura (O) por 12 semanas. Após a confirmação da indução da resistência à insulina pela dieta gordurosa, pelo teste de tolerância à insulina (ITT), injetamos streptozotocina via intraperitoneal com na dosagem de 40mg/kg no dia 1 e 25 mg/kg em 3 outros dias consecutivos. Uma vez confirmada a indução do DT-2, através da verificação de glicemia de jejum superior à 200 mg/dl, separamos os animais em outros dois grupos: Controles diabéticos (D) e diabéticos treinados (DT). O treinamento constitui-se de 8 séries de escalada, com 4 séries com peso de 50% do peso corporal do animal fixado na calda e 4 séries com peso de 75% do peso corporal do animal, 1x/dia5x/por semana durante 8 semanas. 48 horas depois da última sessão de treino nós realizamos o teste de tolerância à glicose (GTT), teste de tolerância à insulina (ITT) e análise da insulinemia de jejum e alimentado. Nós também expomos células INS à crescentes concentrações de miostatina e avaliamos a expressão das proteínas p-SMAD3, p-16 e interação da SMAD-3 com a proteína MLL-1.

Resultados e Discussão:

Os animais do grupo O apresentaram peso corporal e resistência à insulina maior que os animais do grupo C. Um aumento da glicemia de jejum e alimentado foi observado nos animais do grupo D em comparação com o grupo O. O que pode ser explicado pela redução da insulinemia. O treinamento físico foi eficiente em aumentar o peso corporal, do músculo gastrocnêmio e da gordura retro-peritoneal nos animais treinados, o que pode ser devido ao aumento da síntese de proteínas musculares e da lipogênese induzida pelo aumento da insulina plasmática nestes animais. O aumento da insulinemia nos animais treinados também ajuda a explicar a redução da glicemia no estado alimentado, assim como na melhora da glicose em relação aos animais DT-2 sedentários. Nos experimentos realizados com linhagem de células beta pancreáticas, observamos aumento na expressão proteica de p-SMAD3 e p-16 nas células expostas à miostatina por 48 horas, o que corrobora estudos prévios que verificaram aumento na expressão de supressores do ciclo celular induzido por miostatina em outros tipos celulares. Acreditamos que o aumento de p-16 se deveu através do aumento da translocação da proteína metiladora da H3K4me3, o que sugere a participação de mecanismos

epigenéticos neste contexto.

Conclusão:

Nossos dados demonstram que o exercício físico resistido é eficiente em melhorar o controle glicêmico de animais DT-2 através da melhora da função das células beta pancreáticas e sugere que parte desses efeitos podem ser regulados a partir de um mecanismo de *cross-talk* entre o musculo esquelético e o pâncreas endócrino.

PT.19

A GORDURA DE PALMA INTERESTERIFICADA ALTERA A HOMEOSTASIA DE GLICOSE E MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM TECIDO HEPÁTICO DE CAMUNDONGOS DA LINHAGEM *SWISS*

Miyamoto JE¹, Portovedo M¹, Reginato A¹, Sousa BC¹, Stahl MA², Ignacio-Souza LM¹, Torsoni MA¹, Torsoni AS¹, Ribeiro APB², Milanski M¹ - ¹Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Ciências Aplicadas, ²Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia de Alimentos

Introdução: Os processos de interesterificação química e enzimática são os mais utilizados atualmente como alternativa tecnológica à hidrogenação parcial (gordura *trans*) para a modificação de óleos e gorduras, porém o papel das gorduras interesterificadas no metabolismo ainda é controverso. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo analisar a homeostasia glicêmica e a ativação de vias inflamatórias e mecanismos moleculares envolvidos na resposta à exposição às dietas ricas em gordura interesterificada no metabolismo hepático em camundongos. **Metodologia:** Camundongos machos da linhagem *Swiss* (CEUA: 3853-1) com 6 semanas de vida foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais: grupo normolipídico óleo de palma (OP), com 10% do valor energético total (VET) de lipídios provenientes do óleo de palma não modificado, grupo normolipídico óleo de palma interesterificado (OPI), com 10% do VET de lipídios provenientes do óleo de palma interesterificado quimicamente, grupo hiperlipídico (HLOP), com 60% do VET de lipídios provenientes do óleo de palma não modificado e grupo hiperlipídico interesterificado (HLOPI), com 60% do VET de lipídios provenientes do óleo de palma interesterificado quimicamente, os quais receberam a dieta experimental por um período de 8 semanas. Massa corporal e glicemia em jejum foram mensurados. Teste de tolerância à glicose (ipGTT) e teste de tolerância à insulina (ipITT) foram realizados após 7 semanas de dieta e a expressão gênica de marcadores inflamatórios em tecido hepático foi analisada por RTq-PCR. O óleo de palma não modificado e óleo de palma interesterificado quimicamente tiveram suas composições em ácidos graxos, de triacilgliceróis e distribuição regioespecífica analisadas. **Resultados e discussões:** O ácido palmítico (C16:0) e o ácido oléico (C18:1) são os ácidos graxos (AG) mais abundantes do óleo de palma, representando 42% e 41% respectivamente do total de AG. Após a interesterificação química (OPI e HLOPI) houve uma modificação no padrão natural de posicionamento dos ácidos graxos na cadeia de glicerol, principalmente com relação ao ácido graxo saturado em sn-2 que aumentou na ordem de 3,2 vezes quando comparado à OP e HLOP. O grupo OPI apresentou intolerância à glicose durante o ipGTT e maior área sob a curva de glicose durante o ipITT, maior ganho de peso e glicemia em jejum elevada quando comparado ao seu controle OP ao final do período experimental. Foi observado elevada expressão gênica de IL-1 β e IL-6 no tecido hepático do grupo OPI, quando comparado ao grupo OP. Os grupos hiperlipídicos HLOP e HLOPI não apresentaram diferenças entre si. Não houve diferença entre os grupos OPI e os grupos HLOP e HLOPI em grande parte das alterações observadas. Estes resultados parciais mostram que o consumo da gordura interesterificada na dieta normocalórica e normolipídica pode resultar em repercussões negativas tanto em parâmetros metabólicos, quanto na homeostasia de glicose, além de promover o aumento de marcadores inflamatórios no tecido hepático quando comparada a gordura não modificada.

Este trabalho é financiado pela FAPESP, CNPq e CAPES.

EXTRATO DE *CALOTROPIS PROCERA* INIBE A PRODUÇÃO HEPÁTICA DE GLICOSE VIA AMPK EM RATOS

Oliveira KA¹, Gomes MD¹, Vasconcelos RP¹, Abreu ES¹, Freitas PA¹, Sa HHPP¹, Freitas CDT², Ramos MV², Oliveira AC¹ - ¹UECE - Instituto Superior de Ciências Biomédicas, ²UFC - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Introdução: O extrato proteico da *Calotropis procera* (LP) apresenta diversas propriedades farmacológicas, incluindo efeito anti-inflamatório, antioxidante e antihiperlipidêmico. Entretanto, nenhum estudo avaliou o efeito do LP na produção hepática de glicose (PHG), principal mecanismo responsável pela homeostase glicêmica. Com isso, o estudo buscou verificar o efeito do LP sobre o controle glicêmico na PHG em ratos controle. **Métodos:** Os animais controle receberam uma dose única (5 mg/kg), por via intravenosa (i.v.), de LP ou salina (CTL) (nº 7839535/2016). Após 4 horas do tratamento, os animais foram eutanasiados e o fígado retirado para análise de western blot e PCR-RT da cinase de proteína ativada por AMP (AMPK) e fosfoenolpiruvatocarboxicinase (PEPCK), respectivamente. Também foram realizados testes *in vivo* de tolerância intraperitoneal à glicose e piruvato, bem como o efeito da administração do LP na glicemia alimentada nos tempos 0, 0,5, 1 e 2 horas e, coletado o sangue nos tempos 0 e 2 horas para a dosagem de insulina sérica. **Resultados e Discussão:** O tratamento com LP reduziu significativamente a glicemia dos animais nos tempos 2 e 4 horas, respectivamente $87,2 \pm 3,70$ e $90,75 \pm 13,30$ mg/dL em comparação ao grupo CTL, $115,6 \pm 8,73$ e $120,4 \pm 3,78$ mg/dL. Entretanto, ao avaliar a secreção de insulina sérica após 2 horas do tratamento não houve alteração (CTL: $14,16 \pm 0,68$ mUI/ml e LP: $14,96 \pm 0,55$ mUI/ml), indicando que o efeito do LP na glicemia não está relacionado com o aumento dos níveis de insulina. Além disso, o grupo LP melhorou a tolerância à glicose dos animais, apresentando significância no tempo 30 minutos ($105,2 \pm 12,4$ mg/dl versus $154,2 \pm 18,51$ mg/dl) e suprimiu a PHG, pela redução da tolerância ao piruvato significativa nos tempos 15 e 30 minutos, LP: $75,5 \pm 9,31$ e $52,5 \pm 12,05$ mg/dl, comparado ao CTL: $79,0 \pm 3,02$ e $84,5 \pm 7,49$ mg/dl. Somado a isso, houve inibição significativa da expressão gênica de PEPCK no grupo LP ($0,66 \pm 0,06$ UA) em relação ao grupo CTL ($1,14 \pm 0,22$ UA) e aumento da AMPK fosforilada ($1,342 \pm 0,21$ UA) em comparação ao controle ($0,4025 \pm 0,09$ UA). Com isso, o LP parece suprimir a PHG pela redução da gliconeogênese hepática por inibição da PEPCK e ativação de AMPK. Estes achados sugerem que o efeito do LP no controle glicêmico pode ser útil no tratamento do Diabetes. Entretanto, o mecanismo farmacológico do LP na modulação da PEPCK ainda deve ser esclarecido.

Citação bibliográfica:

Alencar, N.M.N., *Inflamm Res.*, 55, 559, 2006.
Bezerra, C.F., *ChemBiol Interact.* 274, 138, 2017.
Kang, O.H., *BMC Complement Altern Med.* 17, 341, 2017.
Roy, S., *J Ethnopharmacol.*, 102, 470, 2005.
Sharabi, K., *Mol Aspects Med.*, 46, 21, 2015.

Financiadoras: CAPES e CNPq.

Agradecimentos: Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas.

PT.21

Adequate glycemic control prevents cholesterol efflux impairment and lipid accumulation in macrophages induced by advanced glycated albumin

Machado-Lima A¹, Iborra RT², Okuda LS², Pinto RS³, Nakandakare ER², Corrêa-Giannella ML⁴, Passarelli M² - ¹Universidade São Judas Tadeu, ²Laboratório de Lípidos (LIM10), Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, ³Centro Universitário CESMAC, ⁴Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaios (LIM-18), Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo

Advanced glycation end products (AGE) predict the development of atherosclerosis. AGE-albumin from poorly controlled diabetes mellitus (DM) patients impairs macrophage cholesterol efflux by reducing ABCA-1. We analyzed if an adequate glycemic control (aGC) is able to prevent alterations in cholesterol efflux elicited by DM-albumin.

Serum albumin was isolated from type 2 DM patients before (bGC; HbA_{1c}=12.9±2.1%) and after adequate GC (aGC; HbA_{1c}=6.6±0.3%, p<0.05) by FPLC and AGE (mU/mg of albumin) determined by ELISA. Bone-marrow-derived macrophages were incubated with acetylated LDL and ¹⁴C-cholesterol (24h), and treated with bGC or aGC-albumin (1 mg/mL; 48h). Efflux was determined after incubation with apo A-I ou HDL₂ and lipid content by Oil Red O staining. The expression of genes that modulate lipid efflux was determined by RT-qPCR. Data (mean±SD) were compared by the Student T test.

The amount of AGE was 2.7 higher in bGC-albumin as compared to aGC-albumin (63.1 vs 23.5). Cholesterol efflux (%;n=3) was higher in cells incubated with aGC-albumin (5.5±0.6 and 11.1 ±1.2, respectively to apo A-I and HDL₂) as compared to bGC-albumin (2.8±0.7 and 4.4±0.8; p<0.05). Intracellular lipid content (µm²) was lower (p<0.05) in aGC-albumin-treated cells incubated with apo A-I (0.6±0.3) and HDL₂ (1.2±0.4) in comparison to bGC-albumin (2.8±0.4 and 2.6±0.03, respectively). *Abca1* expression was similar between groups, but *Nox4* and *Jak2* A was, respectively, reduced and increased by aGC-albumin in comparison to bGC-albumin. In DM, an adequate glycemic control reduces AGE-albumin, favors the expression of genes that modulate lipid flux and prevents disturbances in macrophage cholesterol efflux.

Funding: FAPESP, Brazil 2015/21072-5; 2012/19112-0

ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASE GLICÊMICA DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A PROGRAMAÇÃO METABÓLICA POR PRIVAÇÃO OU EXCESSO DE NUTRIENTES: PAPEL DOS ÁCIDOS BILIARES

Bonfim MF¹, Vettorazzi JF², Goncalves LM², Figueiredo MS², Lourenconi B², Ferreira SM², Carneiro EM² - ¹UNICAMP/Institute of Biology, ²UNICAMP

Introdução. A privação de aminoácidos é um fator determinante no processo de programação metabólica, e leva ao desenvolvimento de enfermidades na vida adulta, como obesidade e diabetes (1). Já a associação entre desnutrição e dieta hiperlipídica potencializa os efeitos deletérios da dieta (2). Diversas estratégias terapêuticas vêm sendo utilizadas no tratamento de alterações metabólicas, e os ácidos biliares (BA) têm se destacado por agirem como sinalizadores endócrinos (3). Em situações de privação ou excesso de nutrientes, a síntese e conjugação destes compostos encontra-se alterada, refletindo em prejuízos no metabolismo glicêmico (4). Contudo, a contribuição dos BA para a homeostase glicêmica em camundongos submetidos a privação de nutrientes associada a dieta hiperlipídica ainda não foi esclarecido. Com isso, nosso objetivo foi avaliar a síntese e concentração de BA hepático neste modelo, e sua contribuição na manutenção da homeostase glicêmica.

Métodos. Camundongos C57Bl/6 machos, com 21 dias de vida, receberam dieta controle (C- 12% de proteína) ou hipoproteica (R- 6% de proteína) por 6 semanas. Posteriormente, metade dos animais receberam dieta hiperlipídica (35% de gordura) por 8 semanas, formando os grupos CH e RH. Ao final do tratamento, os grupos C, CH, R e RH foram pesados e submetidos ao teste de tolerância a glicose e insulina. Posteriormente, os animais foram eutanasiados, o sangue coletado para dosagem de insulina, e o fígado removido para dosagem de ácidos biliares totais, e expressão gênica do FXR, HNF4 α , cyp7a1 e BAAT (relacionadas com síntese de BA).

Resultados. O tratamento com a dieta hipoproteica reduziu o peso corpóreo e aumentou a tolerância a glicose e sensibilidade a insulina no grupo R, além de reduzir a insulina plasmática. Os grupos CH e RH apresentaram aumento no peso corpóreo, intolerância à glicose e resistência à insulina, contudo foi observado um aumento da insulina plasmática apenas no grupo CH. A desnutrição, associada ou não a dieta hiperlipídica, reduziu a expressão do receptor para BA hepático FXR e do fator de transcrição HNF4 α . Apesar da desnutrição por si não alterar a expressão da enzima cyp7a1, o grupo RH apresentou uma redução na expressão da mesma. Além disso, a expressão da BAAT, relacionada com a conjugação de BA, foi menor nos grupos R e RH. Finalmente, a concentração hepática de BA totais foi menor nos grupos R e RH.

Discussão. Os efeitos deletérios da dieta hiperlipídica na homeostase glicêmica estão relacionados, em partes, a alterações na síntese e conjugação de BA. Frente a dieta hiperlipídica, ocorre um aumento na expressão de enzimas relacionadas a síntese de BA, efeito associado a um aumento da insulinemia que regula diretamente a expressão da cyp7a1. Já na presença da desnutrição previa, observamos uma redução na insulina plasmática que reflete em uma redução na expressão de enzimas chave na síntese de BA. A redução hepática de BA está, em partes, relacionada as alterações na homeostase glicêmica observadas neste modelo, uma vez que estes compostos regulam diretamente o metabolismo glicêmico.

Agradecimentos. FAPESP e CNPq

PT.23

Regulação do perfil fisiológico no ganho e perda de peso em fêmeas ovariectomizadas e a importância das sirtuínas 1 e 4

Camargo TF¹, Pacher KAS¹, Zanesco AM², Andrade TAM¹, Amaral MEC¹ - ¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Centro Universitário Hermínio Ometto FHO/Uniararas, ²Curso de Biomedicina, Centro Universitário Hermínio Ometto FHO/Uniararas, Araras, SP.

Introdução: Nas mulheres a falência da função ovariana está associada ao aumento da gordura visceral e conseqüentemente dietas são realizadas na tentativa de emagrecimento. Uma vez que a perda de peso é raramente mantida em um único esforço, o ciclo de peso (emagrecer e engordar) torna-se uma ocorrência comum. A restrição calórica (RC) estabelece-se como uma das dietas, pois traz benefícios ao regular o metabolismo por ação das sirtuínas. Nosso objetivo foi avaliar as alterações fisiológicas do ciclo de peso através da modulação de proteínas teciduais associadas ao gasto energético (proteínas da cadeia respiratória), ao estado redox (TBARS, grupos –SH, SOD1, SOD2 e catalase) e à RC (sirtuínas 1 e 4) num modelo animal de obesidade induzida pelo hipoestrogenismo.

Métodos: O estudo aprovado (CEA 017/2015) pelo Centro de Experimentação Animal da Uniararas, foi realizado em 24 fêmeas, Wistar de dois meses de idade, mantidas em gaiolas individuais. As fêmeas foram submetidas à cirurgia simulada (SHAM) e de ovariectomia (OVX) e divididas em 3 grupos: SHAM, OVX, OVXCiclado. Os grupos SHAM e OVX receberam ração comercial *ad libitum* por 16 semanas e o OVXCiclado foi realizado com 21 dias de ração comercial *ad libitum* e 21 dias em RC de 40% por duas vezes, e iniciou-se na 5ª semana após a cirurgia. Para a realização da RC foi realizado o cálculo diariamente com o peso da quantidade oferecida de ração e da quantidade que restou de ração das fêmeas OVX obtendo a quantidade de alimento ingerida pelo OVXCiclado. O peso dos animais foi controlado semanalmente. Seguindo o período experimental, as fêmeas foram eutanasiadas e os tecidos coletados para a análise das proteínas por western blotting, análises bioquímicas sorológicas e teciduais (TBARS e grupos-SH). A análise estatística foi feita pela ANOVA seguido do teste Bonferroni, $p < 0,05$.

Resultados: Os dados bioquímicos e as características corpóreas das fêmeas caracterizaram o OVXCiclado com dietas alternadas *ad libitum* e RC de 40% comparado ao OVX e SHAM. As fêmeas OVX adquiriram peso associado ao perfil lipídico alterado e caracterizaram a obesidade. Os grupos –SH, TBARS e as enzimas redutoras (SOD1, SOD2 e catalase) refletiram em benefícios do estado redox nos tecidos hepático, muscular, adiposo e hipotálamo em OVXCiclado *versus* OVX. Aumento das sirtuínas 1 e 4 coincidiu no aumento das proteínas da cadeia transportadora de elétrons principalmente, no tecido adiposo nos animais OVXCiclado *versus* OVX.

Discussão: O ciclo de peso em fêmeas ovariectomizadas favoreceu o estado redox sugerindo participação das proteínas SIRT1 e 4 e das proteínas da cadeia respiratória mitocondrial. As sirtuínas sugerem estabelecer comunicação de sinalização celular no controle da fosforilação oxidativa e do estado redox no ciclo de peso. Os dados encontrados são indícios de que mulheres hipoestrogênicas se submetidas as intervenções dietéticas para emagrecimento, serão vulneráveis as grandes alterações metabólicas.

Apoio Financeiro: PROpesq-Uniararas.

PT.24

Efeito da albumina glicada sobre a expressão do transportador de glicose GLUT4 em célula adiposa: potencial participação do fator transcricional NFkB

Michalani ML¹, Passarelli M², Machado UF¹ - ¹Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas, ²Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina

Introdução: A glicose é o principal carboidrato usado como fonte energética por todas as células do organismo e sua concentração sanguínea deve ser mantida em níveis estreitos. A homeostasia glicêmica está relacionada à captação periférica de glicose, principalmente pelos tecidos adiposo e muscular, no estado pós-prandial. Uma vez que a membrana plasmática é impermeável à glicose, são necessárias proteínas carreadoras, dentre os quais destaca-se o GLUT4 (codificado pelo gene *Slc2a4*), considerado um regulador-chave da homeostasia glicêmica, por ser insulino-sensível. A resistência à insulina é caracterizada pela habilidade diminuída de uma dada concentração de insulina exercer seu efeito biológico e isso implica em um menor clearance da glicose circulante e, por consequência, a perda da homeostasia glicêmica. A patogênese desse quadro está relacionada, dentre outros fatores, com redução na expressão de *Slc2a4*/GLUT4. O aumento da glicose circulante resulta numa acelerada formação dos produtos finais de glicação avançada (AGEs) que, quando interagem com o seu receptor RAGE, ativam a via do NFkB. Esse fator de transcrição pode estimular a transcrição gênica de fatores inflamatórios, bem como inibir a transcrição de genes como o do *Slc2a4*, contribuindo para um círculo vicioso de comprometimento da utilização da glicose pelos tecidos que expressam GLUT4. Embora os AGEs sejam bastante estudados na patogênese das complicações do diabetes, pouco se conhece sobre sua potencial contribuição ao dano induzido na captação de glicose. Esclarecer os mecanismos envolvidos nessa relação pode revelar um papel regulador dos AGEs, não apenas no desenvolvimento de complicações crônicas do diabetes, mas também na perda da homeostasia glicêmica.

Métodos: Adipócitos diferenciados da linhagem 3T3-L1 foram tratados com albumina bovina sérica sem modificações (controle) ou conjugada com glicolaldeído (glicada) em diferentes concentrações (0,4, 3,6 e 5,4 mg/mL) e durante diferentes períodos (24 e 72 horas). Foi avaliada a expressão dos mRNAs *Slc2a4*, *Nfkb1* e *Rela* por RT-qPCR e das proteínas GLUT4, p50 e p65, por Western blotting. O teste estatístico utilizado foi Teste *t* de Student não pareado bi-caudal.

Resultados: Em células 3T3-L1, a albumina glicada teve efeito tanto estimulador quanto inibidor da expressão de *Slc2a4*/GLUT4, caracterizando assim um efeito hormético. Em tempo curto e doses baixas, houve aumento da expressão do gene e da proteína, porém, em dose alta e tempo longo houve efeito inverso. Além disso, a albumina glicada teve efeito estimulador na expressão dos genes *Rela* e *Nfkb1*, indicando um aumento na atividade pró-inflamatória, o qual foi acompanhado por aumento do conteúdo nuclear das proteínas p50 e p65.

Conclusão: Os resultados indicam que, de maneira tempo/dose-dependentes, os AGEs podem induzir atividade pró-inflamatória no adipócito, reduzindo a expressão do GLUT4 e contribuindo para a perda da homeostasia glicêmica.

Entidade financeira: FAPESP (#2016/17002-4)

REACTIVE OXYGEN SPECIES GENERATED BY HIGH GLUCOSE IMPAIR FIBROBLAST MIGRATION THROUGH MICRORNA-31 OVEREXPRESSION

Gomes CC¹, Lima CR^{1,2}, Santos MF¹ - ¹University of São Paulo - Cell and Developmental Biology, ²University Cruzeiro do Sul - Biomedical Sciences

Background: Impaired migration of dermal fibroblasts is observed in individuals with Diabetes Mellitus, contributing to deficient wound healing. The mechanisms involved, however, are poorly understood. We have previously demonstrated that reactive oxygen species (ROS) produced by high glucose (HG) impair fibroblast migration, with reduced speed and directionality, increased number of protrusions and inhibition of adhesion maturation (Lamers et al. Plos One 6(8): e22865, 2011). MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs potentially involved in the regulation of cell migration, whose expression may be modulated by HG. MicroRNA-31 (miR-31) may be regulated by oxidative stress and is a potential regulator of cell migration. **Aim:** In this study we aimed to investigate the effects of HG on miR-31-5p expression in fibroblasts, as well as its role in cell migration. **Methods:** dermal fibroblasts obtained from normoglycemic and hyperglycemic rats (30 days after induction of diabetes with streptozotocin) and NIH-3T3 fibroblasts were used. Cells were grown under low glucose (5 mM) or HG (30 mM) for 3 days, with or without the antioxidant N-acetylcysteine (NAC). The expression of miR-31 was studied by real time RT-PCR and the migratory behavior was assessed by time-lapse. Functional studies were performed in transiently transfected NIH-3T3 cells overexpressing miR-31 (with miR mimics), or after reducing its expression with anti-miR. Western blotting for potential targets was also employed. **Results:** The expression of miR-31 increased about 3-fold in fibroblasts from hyperglycemic animals. In NIH-3T3, HG increased the expression of miR-31 by 50%, and NAC treatment prevented the increase of miR-31 as well as the increase of cellular protrusions. Cells exposed to HG showed increased number of short-lived simultaneous lamellipodia, reduced migration velocity and directionality. Lowered protein expression of Rho kinase 1 (Rock 1), Rock 2 and Radixin, potential targets of miR-31, was observed, whereas the protein expression of the integrin subunit $\alpha 5$ was not affected. Most of these effects were prevented with antioxidant treatment. The exogenous overexpression of miR-31-5p increased the number of non-productive cellular protrusions, reduced cell migration directionality and the levels of Rock 1, Rock 2 and Radixin proteins, without effects on cell velocity. Inhibition of miR-31-5p using anti-miR, on the other hand, increased cell directionality and the expression of Rock 1, Rock 2 and Radixin proteins. **Conclusion:** High glucose-induced reactive oxygen species increases the expression of miR-31-5p in NIH-3T3 cells. Potentially targeting Rock 1, Rock 2 and Radixin, this miR regulates protrusion formation and cell directionality (but not velocity), contributing to the impairment of fibroblast migration under high glucose conditions. Financial Support: CAPES, FAPESP (2015/19645-7), and CNPq (448052/2014-8, 310440/2015-7).

IMPROVEMENT OF GLYCEMIC CONTROL RESTORES ABCA-1 IN MACROPHAGES INCUBATED WITH ALBUMIN ISOLATED FROM DIABETIC SUBJECTS

Iborra RT¹, Machado-Lima A², Okuda LS³, Minanni³, Mello M³, Nakandakare ER³, Machado UF⁴, Corrêa-Giannella ML⁵, Passarelli MP⁶ - ¹Faculdade de Medicina da USP e Universidade São Judas Tadeu, ²Universidade São Judas Tadeu, ³Faculdade de Medicina da USP, ⁴Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB, Universidade de São Paulo, ⁵Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaios (LIM-18) Faculdade de Medicina da USP, ⁶Laboratorio de Lipides (LIM-10), Faculdade de Medicina da USP

Albumin is the major serum protein modified by advanced glycation (AGE) in diabetes mellitus (DM). AGE-albumin induces cholesterol accumulation in macrophages by increasing the degradation of ABCA-1 transporter by the proteasomal and lysosomal systems.

We aimed at investigating if the improvement of glycemic control in DM patients reverses the negative impact of AGE-albumin in macrophage ABCA-1.

Serum albumin was isolated by FPLC and alcoholic extraction from healthy controls (C-albumin; HbA1c 5.3±0.2%; n=6) and poorly controlled type 2 DM patients (DM-albumin; HbA1c 10.5±1.6%; n=6). In addition, albumin was isolated from a subgroup of DM patients (n=4) before (bGC-albumin; HbA1c 12.5±3.2%) and after adjusted glycemic control (aGC-albumin; HbA1c 6.35±0.7%). The glycation level of albumins was determined by ELISA (mU of AGE / µg of albumin). J774 macrophages were incubated along time with C or DM-albumins (2 mg/mL) in the presence of cycloheximide (400µg) to determine the ABCA1 decay rate calculated as the slope of the linear regression from time 0 to the end of incubation, and incubated with bGC-albumin or aGC-albumin to quantify ABCA1 protein expression by immunoblot.

Comparisons were done by Student t test.

DM-albumin presented higher levels of AGE (19.8±4.2) as compared to C (5.8±2.3) and increased the ABCA-1 degradation rate in macrophages (**20%; p<0.05**). As compared to bGC-albumin the ABCA1 protein content was **94%** increased in cells treated with aGC-albumin(**p<0.05**).

DM-albumin modified by AGE induces ABCA-1 degradation contributing to atherogenesis by impairing macrophage reverse cholesterol transport. This can be prevented by an adequate glycemic control that reestablishes ABCA-1 levels.

Funding: FAPESP, Brazil (2012/12088-7; 2015/21072-5)

PT.27

Aerobic exercise training reduces the receptor for oxidized low-density lipoprotein (LOX1) in the aorta of CETP-transgenic mice

Pinto PR¹, Iborra RT^{1,2}, Okuda LS¹, Silva KS¹, Ferreira GS¹, Gomes DJ¹, Machado-Lima A², Nakandakare ER¹, Machado UF³, Corrêa-Giannella ML^{4,5}, Catanozi S¹, Passarelli M¹ - ¹Hospital das Clinicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Laboratório de Lípidos LIM10, ²Universidade Sao Judas Tadeu (USJT), ³Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de Sao Paulo ICB-USP - Departamento de Fisiologia e Biofísica, ⁴Hospital das Clinicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaio LIM 18, ⁵Universidade Nove de Julho (UNINOVE). - Programa de Pós-Graduação em Medicina

Regular exercise prevents and reduces atherosclerosis mainly by the improvement in lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport and antioxidants. We aimed at investigating how aerobic exercise training modulates the expression of genes and proteins related to lipid flux and inflammation in macrophages and in the aorta of CETP-transgenic (CETP-tg) mice.

Three-month-old male CETP-tg mice (C57BL/6J background) were trained on a treadmill (15m/min; 30 min/day), during 6 weeks and a control group was kept sedentary. Plasma total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) and glucose were determined by enzymatic methods. The aortic arch and peritoneal macrophages were isolated from both groups immediately (time 0) or 48h after the last exercise session. *Pparg* (PPARgamma), *Nr1h3* (LXRalpha), *Nr1h2* (LXRbeta), *Abca1* (ABCA1), *Abcg1* (ABCG1), *Scarb1* (SR-BI), *Cd36* (CD36), *Olr1* (LOX1), *Ccl2* (MCP1), *Tnf* (TNF), *Il6* (IL6), *Il10* (IL10), and *Cat* (catalase) mRNA expression was analyzed by RT-qPCR. ABCA-1, SR-BI, LOX-1 and MCP-1 protein content in the aorta was determined by immunoblot and the ¹⁴C-cholesterol efflux in peritoneal macrophages was evaluated 48h after the last exercise session. Comparisons between groups were carried out by the Student t-test (mean±SE). Animal Care and Research Advisory Committee (Hospital das Clinicas of the University of São Paulo Medical School - CAPPesq #441/11).

Exercise training did not change body weight, plasma TC, TG, HDL-c, glucose and CETP activity. As compared to sedentary, in the trained group the macrophage expression of *Pparg* (p=0.003) and *Abca1* (p=0.012) was increased and of *Ccl2* (p=0.026) and *Il10* (p=0.043) was decreased at time 0h. A reduction in *Pparg* (p=0.025) and *Ccl2* (p=0.002) and an increased in *Cat* (p=0.001) occurred after 48 h. In the aorta, *Abca1* (p=0.003), *Scarb1* (p=0.008) and *Il6* (p=0.044) expressions were increased and *Tnf* (p=0.0009) and *Il10* (p=0.033) decreased at 0h. *Olr1* and *Ccl2* expressions were diminished in 0h (p=0.013 and p=0.047, respectively) and in 48h (p=0.043, p=0.019) respectively. The protein content of SR-BI (p=0.282) and MCP-1 (p=0.848) in the aorta was unchanged by exercise, while LOX-1 (p=0.008) was reduced. The protein levels of ABCA-1 in the aortic tissue were undetectable. There were no changes between sedentary and trained groups in the macrophage cholesterol efflux mediated by apo A-I (8h; p=0.654 and 24h;p=0.572) and by HDL₂ (8h;p=0.417 and 24h;p=0.232).

In conclusion, exercise training reduces the arterial content of LOX-1 in CETP-transgenic mice, which may contribute to reducing the uptake of modified LDL. Together with other beneficial actions of exercise, this may contribute to preventing the development of atherosclerosis in an animal model that resembles humans by the presence of CETP.

Funding: FAPESP, Brazil (2011/15153-1)

ALTERAÇÕES METABÓLICAS E FUNCIONAIS EM MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS DIABÉTICOS INSULINOPÊNICOS: REPERCUSSÃO DO TRATAMENTO COM INSULINAS NPH E GLARGINA

Okamoto MM¹, David-Silva A², Esteves JV³, Yonamine CY¹, Freitas HS³, Antunes VR³, Machado UF³ - ¹Instituto de Ciências Biomédicas da USP - Fisiologia e Biofísica, ²Centro Universitário São Camilo, ³Instituto de Ciências Biomédicas USP - Fisiologia e Biofísica

No diabetes a hiperglicemia crônica conduz a alterações metabólicas, funcionais e estruturais no músculo cardíaco. A hipoinsulinemia e a hiperglicemia no diabetes tipo 1 (DM1) induzem redução do gene *Slc2a4* e da proteína GLUT4, comprometendo a captação de glicose no cardiomiócito. Adicionalmente, estudos evidenciam a participação do SGLT1 (proteína transportadora de glicose acoplada ao sódio) no aporte de glicose celular, e da AMPK (proteína quinase ativada por adenosina monofosfato) na regulação da homeostase energética do cardiomiócito, os quais podem talvez estar comprometidos no DM1. Além disso, alterações em proteínas como SERCA2A (Ca²⁺ATPase de retículo sarco-endoplasmático 2a) e GSK3B (glicogênio sintase quinase 3-beta) também poderiam ocorrer no músculo cardíaco de animais diabéticos.

O presente estudo investigou o efeito do DM1 e do tratamento com insulinas NPH e glargina sobre controle glicêmico, conteúdo de glicogênio, GLUT4, SGLT1, AMPKA (AMPK alfa), PAMPKA (AMPK alfa fosforilada), GSK3B, PGSK3B (GSK3B fosforilada), GYS1 (glicogênio sintase) e SERCA2A no ventrículo esquerdo, e prováveis repercussões sobre atividade funcional do ventrículo esquerdo.

MÉTODOS:

Ratos tornados diabéticos com aloxana foram tratados com placebo (NaCl 0,9%), insulina NPH ou glargina (6U/dia) por 2 semanas, 21 dias após indução do diabetes. Animais não diabéticos foram usados como controles (C). Avaliamos: a) controle glicêmico por meio da glicosúria e frutossamina plasmática; b) peso corporal e do ventrículo esquerdo; c) glicogênio tecidual; d) GLUT4 e SGLT1 em membrana plasmática; e) proteínas PAMPKA, AMPKA, PGSK3B, GSK3B, GYS1 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:

Como esperado, o diabetes induziu: aumento (P<0.05) na glicosúria e frutossamina plasmática e redução (P<0.05) nos pesos corporal e do ventrículo esquerdo. Além disso, o DM reduziu a expressão de GLUT4, AMPKA, PGSK3B, SERCA2A, GYS1 e os 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, observou-se que a insulina glargina, comparada à NPH, foi significativamente (P<0.05) mais efetiva na regulação de frutossamina e GLUT4, além de ser o único tratamento capaz de reverter a dp/dT máxima (20%, P<0.05). Ainda, o tratamento de ratos diabéticos com insulinas glargina ou NPH promoveu aumento (P<0,05) no conteúdo de glicogênio e nas expressões de SGLT1, PAMPKA e GSK3B mesmo em comparação com animais não diabéticos.

CONCLUSÃO: No coração de ratos diabéticos observou-se redução em parâmetros moleculares relacionados à utilização de glicose e à homeostasia celular, o que se

acompanhou de redução na contratilidade e complacência cardíacas. Essas alterações foram revertidas por insulino terapia, destacando-se que a insulina glargina foi significativamente mais eficiente que a NPH no controle glicêmico e na recuperação da função ventricular.

Apoio Financeiro: FAPESP 2016/15603-0

PT.29

O ESTIMULO DA EXPRESSÃO DO TRANSPORTADOR DE GLICOSE *SLC2A4*/GLUT4 PELO RECEPTOR DE ESTRÓGENO ESR1 ENVOLVE A INTERAÇÃO COM A PROTEÍNA SP1.

Barreto-Andrade JN¹, Fátima LA¹, Campello RS¹, Guedes JAC¹, Freitas HS¹, Okamoto MM¹, Machado UF¹ - ¹Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - Fisiologia e Biofísica

Introdução: O estrógeno participa da regulação da glicemia, e desempenha importante papel no desenvolvimento/progressão da resistência à insulina. Esse papel do estrógeno envolve a regulação da expressão do transportador de glicose GLUT4 (codificado pelo gene *Slc2a4*) no tecido adiposo e no músculo. Essa regulação resulta do balanço entre os efeitos estimulador e inibidor da expressão do gene, mediados pelos receptores de estrógeno ESR1 e ESR2, respectivamente. Sabendo do efeito positivo sobre o GLUT4, decorrente da ativação do ESR1, nosso objetivo foi caracterizar o mecanismo molecular envolvido. Sabe-se que o fator transcricional SP1 (specific protein 1) atua de maneira cooperativa com o ESR1 na regulação de vários genes alvos de estrógeno, e esse fator é um potente estimulador do gene *Slc2a4*. Assim, investigou-se a possível participação do SP1 na regulação do gene *Slc2a4* pelo ESR1.

Métodos: Células adiposas 3T3-L1, diferenciadas, foram tratadas por 24 horas com 10 nM de 17 β -estradiol (E2), 10 nM de agonista de ESR1 (PPT) ou de 100 nM de agonista do ESR2 (DPN), esses últimos adicionados ou não com E2. Foram avaliados os mRNAs *Slc2a4* e *Sp1* (RT-qPCR); as proteínas GLUT4 total e conteúdo nuclear de ESR1, ESR2 e SP1 (Western blotting); atividade de ligação do SP1 no promotor do *Slc2a4* (EMSA); formação de complexos ESR1/SP1 no núcleo (imunoprecipitação).

Resultados: E2 e PPT aumentaram (25-50%) enquanto DPN reduziu (20-45%) a expressão de *Slc2a4*/GLUT4. Conteúdo nuclear de ESR1 e ESR2 não variou, porém o de SP1 aumentou (50-90%) em resposta ao PPT, adicionado ou não com E2. PPT também aumentou o conteúdo nuclear de complexos ESR1/SP1 e a ligação do SP1 no promotor do *Slc2a4*.

Conclusões: A ativação do receptor ESR1 em adipócitos aumenta o conteúdo nuclear de SP1, a formação de complexos SP1/ESR1 e a ligação do SP1 na região promotora do gene *Slc2a4*, levando a aumento da expressão de *Slc2a4*/GLUT4. Esse mecanismo poderá ser alvo de desenvolvimento de abordagens que aumentem a expressão do GLUT4, melhorando o controle glicêmico.

Keywords: Diabetes mellitus, *Slc2a4*, GLUT4, estrógeno, ESR1, SP1.

Financial support: FAPESP #2016/15603-0

PT.30

Recreational soccer or running training as a tool activity to prevent cardiovascular issues in type 2 diabetes

Sousa MV¹, Fukui R¹, Silva MER¹ - ¹FMUSP - LIM-18

Purpose: The impact of recreational soccer vs. running training, both combined with a caloric restricted diet, on cardiovascular health was analyzed in untrained patients with T2D.

Methods: Sixty (n=60) untrained T2D patients aged 47-74 years were randomized into a soccer+diet group (SDG; n=19), a running+diet group (RDG; n=19) and a diet group (DG; n=22). Training sessions were held for 40 min, 3 times per week for 12 weeks. Dual-energy X-ray, treadmill testing, fasting blood testing and blood pressure measurements were performed before and after 12 weeks.

Results: Maximal oxygen uptake increased ($P<0.05$) only in the training groups with an increase of 11.4% for SDG and 12.3% for RDG, while a decrease ($P<0.05$) was observed in DG (-5.7%) after 12 weeks. Body fat mass reduced ($P<0.05$) in all groups after 12 weeks with no differences between groups in the post-intervention period. Systolic blood pressure was lower ($P<0.05$) only in the SDG (124.2 ± 2.2 mmHg) than RDG (132 ± 2.6 mmHg) and DG (132.3 ± 3.4 mmHg) after 12 weeks with no changes in diastolic blood pressure for any of the groups. Baseline triglycerides, total cholesterol and VLDL-cholesterol levels were reduced only in training groups by 25% (37.3 ± 1.9 mg/dL), 13% (22.2 ± 0.2 mg/dL) and 24% (7.3 ± 1.8 mg/dL) in the SDG; and by 28% (50.6 ± 4.4 mg/dL), 10% (21.4 ± 0.5 mg/dL) and 28% (10.2 ± 0.8 mg/dL) in the RDG, respectively, after 12 weeks of training ($P<0.05$). The remainder blood lipids parameters was unaltered ($P>0.05$) in all groups after 12 weeks.

Conclusion: The combined use of recreational soccer and running training associated with diet intervention were effective in the promotion of large health profile than diet alone. However soccer training elicited slightly better benefits on cardiovascular issues than running+diet and diet alone.

PT.31

Safe and Effective lowering of Blood Glucose with Insulin Degludec/Liraglutide in Elderly Patients with Type 2 Diabetes Uncontrolled on Oral Antidiabetic Drugs and/or Insulin Glargine

Lingvay I¹, Sorli C², Linjawi S³, Abrahamsen TJ⁴, Lehmann L⁵, Liebl A⁵, Palmanhani MR⁶ - ¹DALLAS, TX, ²BILLINGS, MT, ³COFFS HARBOUR, AUSTRALIA, ⁴SOBORG, DENMARK, ⁵BAD HEIBRUNN, GERMANY, ⁶NOVO NORDISK - SAO PAULO, BRASIL

AIM: Analysis the safety and efficacy of Degludec/Liraglutide (IDegLira) in elderly (>=65 years) patients uncontrolled on metformin and/or pioglitazone (DUAL I) or Glargine (Iglar) (DUALV)

METHODS: DUAL I and DUAL V, 26 week trials, 14% and 26% respectively, of patients were >=65 years old (median 69,6 and 69,8 years; body weight: 82,1 and 84,3kg). Glycated hemoglobin (A1c) reduction was significantly greater for IdegLira vs comparators with more patients achieving A1c<7% (table). Fasting Glucose Plasma (FPG) reduction was similar for IdegLira vs insulin comparators of both trials but significantly greater for IdegLira vs comparators with more Lira in DUAL I. IdegLira was associated with weight loss vs weight gain with both Ideg and Iglar, but less than Lira (statistically significant difference for all). Confirmed hypoglycemia rates were similar vs Ideg in DUAL I and significantly lower vs Iglar in DUAL V. IdegLira was insulin-sparing vs both insulin comparators. Safety profiles were consistent with the entire trial populations.

CONCLUSION: In elderly patients IdegLira led to better glycemic control vs Lira and Ideg, the advantage of weight loss compared of with insulin alone, and low rates of hypoglycemia. DUAL I and DUAL V trials demonstrated the clinical benefits of IdegLira vs Degludec (Ideg) or Liraglutide (Lira) alone and vs, continued Iglar up titration in the elderly patients with T2D.

Table.

		Change in A1C from baseline, %	Change in FPG from baseline, mg/dL	Change in weight from baseline, kg	Confirmed hypoglycaemia	Daily insulin dose at end of trial, U	Patients with A1C <7%, %
DUAL I	Observed data	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Episodes/100 PYE	Mean (SD)	Proportion
	IDegLira (N=118)	-1.89 (1.06)	-69.5 (48.8)	-0.5 (3.1)	223.2	33 (13)	90.7
	IDeg (N=61)	-1.37 (0.89)	-68.9 (50.0)	2.1 (3.5)	246.6	44 (27)	75.4
	Lira (N=57)	-1.33 (0.95)	-27.5 (39.5)	-3.2 (3.6)	15.3	NA	66.7
	Estimate [95% CI], p IDegLira vs. IDeg	ETD: -0.54 [-0.80; -0.28], p<0.0001	ETD: -1.48 [-10.51; 7.55], NS	ETD: -2.59 [-3.65; -1.53], p<0.0001	ERR: 0.83 [0.48; 1.46], NS	ETD: -11 [-17; -5], p=0.0002	EOR: 3.29 [1.28; 8.46], p=0.0135
Estimate [95% CI], p IDegLira vs. Lira	ETD: -0.66 [-0.93; -0.39], p<0.0001	ETD: -36.6 [-45.98; -27.22], p<0.0001	ETD: 2.54 [1.44; 3.65], p<0.0001	ERR: 18.10 [5.04; 65.02], p<0.0001	NA	EOR: 6.48 [2.53; 16.61], p<0.0001	
DUAL V	Observed data	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Episodes/100 PYE	Mean (SD)	Proportion
	IDegLira (N=68)	-1.75 (1.03)	-40.5 (47.8)	-1.9 (2.7)	106.1	37 (11)	70.6
	Iglar (N=77)	-0.89 (0.82)	-45.9 (43.8)	1.3 (3.1)	400.5	54 (24)	37.7
	Estimate [95% CI], p IDegLira vs. Iglar	ETD: -0.71 [-0.95; -0.48], p<0.001	ETD: 2.08 [-7.71; 11.86], NS	ETD: -3.07 [-4.01; -2.13], p<0.001	ERR: 0.26 [0.14; 0.48], p<0.001	ETD: -17.05 [-23.12; -10.97], p<0.001	EOR: 5.52 [2.52; 12.10], p<0.001

Data based on the full analysis set, with the exception of the observed rates of confirmed hypoglycemia and insulin dose at end of trial, which are based on the safety analysis set. Missing data imputed using last observation carried forward. Confirmed hypoglycemia was defined as severe or plasma glucose <56 mg/dL. Change from baseline in HbA_{1c}, FPG, body weight and insulin dose are analyzed using an ANCOVA model, the number of confirmed hypoglycemic episodes are analyzed using a negative binomial regression model with a log link and the logarithm of the exposure time as offset, while the responder endpoints are analyzed using a logistic regression model with a logit link. ANCOVA, analysis of covariance; EOR, estimated odds ratio; ETD, estimated treatment difference; ERR, estimated rate ratio; FPG, fasting plasma glucose; IDeg, insulin degludec; Lira, liraglutide; N, number of patients; NA, not applicable; NS, not significant; PYE, patient-years of exposure; SD, standard deviation.

PT.32

Patient-reported Outcomes in Insulin degludec/Liraglutide(IdegLira)vs.Basal-Bolus Therapy in Patients with Type 2 Diabetes:DUAL VII Trial

Billings LK¹, Doshi A², GOUET D³, OVIEDO A⁴, Rodbard H⁵, Tentolouris N⁶, Busk AK⁷, Basse A⁷, Jodar E⁸, Palmanhani MR⁹ - ¹Evanston, IL, ²HOUSTON,TX, ³La ROCHELLE, FRANCE, ⁴BUENOS AIRES, AR, ⁵ROCKVILLE,MD, ⁶ATHENS,GREECE, ⁷SOBORG,DENMARK, ⁸MADRID,SPAIN, ⁹NOVO NORDISK - SÃO PAULO,BRAZIL

Aim:To evaluate the Patient-Reported Outcomes (PROs) in Insulin Degludec/Liraglutide(IdegLira) vs Basal Bolus (BB) therapy with Type 2 Diabetes(T2D)

Methods: In a 26 week, open label trial, 506 adult patients with type2 diabetes(T2D), glycated hemoglobin (A1c) 7-10% on metformin and 20-50 units insulin Glargine(Iglar) were randomized 1:1 to once daily IdegLira or Basal Bolus (Iglar+insulin aspart <+4 times a day) and metformin. Patients perceived health status and treatment experience were quantified using patient-reported outcomes.

Results:Treatment Related Impact Measure-Diabetes showed greater improvements in favor of IdegLira vs BB in all domains(table) and total score(estimated treatment difference(ETD) 6,50[95% CI 4.44;p<0,0001]. The greatest improvements were in diabetes management (likely driven by items on avoiding hypoglycemia/weight gain), treatment burden and compliance.Short Form health Survey 36 v2 (SF-36) ETD was in favor of IdegLira vs BB for the mental component summary(1,83[95% CI 0,26;3,40] p=0,023) driven by mental health (ETD 2,29[CI0,62;3.96] p=0,0074). Other SF-36 ETDs were not significant. In a motivation survey 26 weeks after randomization, 84% of idegLira patients were willing to say on study therapy vs 68,1% of BB patients (odds ratio 2,54[95%CI 1,63;3.98] p<0,0001).

Conclusion: IdegLira induced greater improvements in PROs, mainly in diabetes management and treatment burden, vs BB in patients with A1c 7-10% switched from metformin and Iglar. Patients on IdegLira had an equal reduction in A1c, lower burden of hypoglycemia, fewer injections/day, and weight loss vs BB.

	IdegLira+met observed mean change(n=252)	IdegLira+IAsp+met observed mean change(n=254)	Estimated treatment difference(ETD) (95%CI)	p-value
Diabetes management	16.7	6.8	10.76(7.62;13,90)	<0,0001
Treatment Burden	12.4	4.3	10.50(7.34;13,67)	<0,0001
Compliance	9.1	3.9	6.25(3.82;8.69)	<0,0001
Daily life	3.5	-0.4	4,23(1.09;7.37)	0,0083
Psychological health	5.7	3.0	2.77(0,32;5.21)	0,0268

PT.33

Efeito do extrato aquoso da *Bauhinia forficata* Link na prevenção do diabetes tipo 2 em modelo animal.

Gasparini P¹, Garofolo IC¹, Lellis-Santos C¹, Telles MM¹, Oyama LM², Silveira VLF², Caperuto LC¹ - ¹Universidade Federal de São Paulo - Departamento de Ciências Biológicas, ²Universidade Federal de São Paulo - Departamento de Fisiologia, Disciplina de Fisiologia da Nutrição

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é a doença não-transmissível mais comum, caracterizada pela produção desregulada de glicose hepática, deficiência parcial na produção de insulina e resistência a esse hormônio, que prejudicam a conservação da homeostase glicêmica. Estudos investigam o papel dos fitoterápicos no tratamento do DM2, uma vez que o poder das moléculas bioativas presentes nas plantas é capaz de reduzir danos causados por essa doença. Alguns trabalhos reportaram o efeito antidiabético da *Bauhinia forficata* Link (Bf), uma espécie de planta nativa da flora brasileira. Todavia, o mecanismo de ação da Bf não foi elucidado, sendo apresentado, somente, seu efeito biológico final no tratamento do DM. Esse fato está inserido em um cenário global de crescentes números de casos de DM2 e alto custo com a saúde pública relacionado à doença. Diante do exposto, torna-se apropriado que estudos abordem a prevenção do DM2 pela Bf, demonstrando o efeito final mediado por seus possíveis mecanismos de ação em tecidos sensíveis à insulina. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial preventivo do extrato aquoso obtido da decocção de folhas frescas da Bf em camundongos C57Bl/6J submetidos ao desenvolvimento do DM2 através de estreptozotocina (STZ) e dieta hiperlipídica (HFD), analisando a morfologia das ilhotas pancreáticas e a via de sinalização da insulina no fígado, músculo esquelético gastrocnêmio e no tecido adiposo retroperitoneal. A administração da Bf preveniu parcialmente o DM2 por conservar a glicemia em níveis intermediários, melhorar a sensibilidade à insulina e atenuar a intolerância à glicose. A Bf manteve a capacidade funcional das células- β sem diferença com a do grupo controle. Entretanto, alterações não foram observadas na média de áreas das ilhotas e no perfil lipídico em resposta à Bf. Em paralelo, o extrato da Bf proporcionou menor ganho de massa corporal sem alterar a ingestão energética total e reduziu a atividade da enzima transaminase glutâmica pirúvica. Demonstrou-se que a Bf conservou a razão pAKT/AKT no músculo gastrocnêmio, podendo estar relacionada à melhora na captação de glicose por esse órgão. Portanto, nossos resultados evidenciam a decocção da Bf como uma estratégia, com possível ação insulino-mimética, para a prevenção do DM2.

Palavras-chave: Decocção, HFD, STZ, tecidos sensíveis à insulina, pAKT/AKT.

Agradecimentos: Equipe do Laboratório de Fisiologia, FAPESP e CNPq.

PT.34

Persistent hyperinsulinemic hypoglycaemia of infancy: a case report

Gomes PM¹, Moreira MLM¹, Delai A¹, Foss-Freitas MC² - ¹Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - Departamento de Clínica Médica - Divisão de Endocrinologia e Metabologia, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - Departamento de Clínica Médica - Divisão de Endocrinologia e Metabologia

Case report: TRE, female, 16yo, admitted in 2008, presented with weakness and syncope during episodes of hypoglycaemia, with resolution of symptoms after feeding. She reported episodes of lethargy and absence crises since 3 months old, treated as epilepsy until 14yo. The diagnosis of hyperinsulinemic hypoglycaemia was confirmed (table 2). Noninvasive localization studies included abdominal computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), and transabdominal ultrasound (US) - were inconclusive at the time. We prescribed verapamil and frequent meals. The surgical team indicated subtotal pancreatectomy, refused by the patient's family. Then she lost follow up and returned with 20yo, pregnant, without any medications. We prescribed diazoxide during pregnancy, with partial clinical improvement of symptoms, but it was discontinued later due to its high cost and lack of approval by Anvisa. She later returned in 2016,. A selective pancreatic arterial calcium injection was performed (Table 1) and it confirmed diffuse insulin secretion by expanded islet beta cell mass. An endoscopic pancreatic ultrasonography with normal pancreatic biopsy and a somatostatin receptor scintigraphy were also performed. After discussion with the surgical team, she decided for subtotal pancreatectomy. The histological and immunohistochemistry analysis were compatible with the clinical hypothesis of diffuse nesidioblastose. She evolved well in the postoperative follow-up, with normalization of glycemic levels.

Discussion: The investigation of hypoglycaemia in seemingly healthy patients starts with documentation of the hypoglycaemic episode. The differential diagnosis includes exogenous hypoglycaemia and endogenous hyperinsulinism. The first hypothesis was excluded and laboratorial measures fulfilled the criteria for hyperinsulinemic hypoglycaemia (Table 2). The scans performed could not localize an insulinoma. The combination of different modalities of scans, both invasive or not, localizes most of the insulinomas preoperatively. However, about 4% of patients with endogenous hyperinsulinism will present with diffuse involvement and hypertrophy of islet cells, which is clinically indistinguishable from insulinomas. In uncertain cases between insulinoma and pancreatic cell hypertrophy, the selective pancreatic calcium infusion is an option. An endpoint greater than 2 to 5-fold increase in hepatic venous insulin levels over baseline regionalizes insulinomas with high sensitivity. Management of hypoglycaemia can be clinical, but in severe and refractory cases, subtotal pancreatectomy is necessary and helps improve the symptoms of hypoglycaemia.

Conclusion: The management of persistent hypoglycaemia in the adult can be challenging and the reported case illustrates the difficulties during follow-up and treatment, since the insulin diffuse secretion requires a more aggressive approach.

Patient consent: Written informed consent was obtained from the patient for publication of the submitted article

PT.35

Hypoglycemia in non-diabetic patients - experience of a tertiary service

Gomes PM¹, Delai A¹, Moreira MLM¹, Foss-Freitas MC² - ¹Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - Departamento de Clínica Médica - Divisão de Endocrinologia e Metabologia, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - Departamento de Clínica Médica - Divisão de Endocrinologia e Metabologia

INTRODUCTION: Hypoglycemia, defined by the Whipple triad, is uncommon in non-diabetics and requires careful evaluation. **OBJECTIVE:** To analyze cases of hypoglycaemia in hospitalized patients without Diabetes between January 2000 and June 2017 in a tertiary service. **METHOD:** Retrospective descriptive study of 32 cases of hypoglycemia by reviewing medical records. The patients had previous diagnosis of hypoglycemia in the health unit. At admission, we were excluded hepatic, renal and adrenal insufficiency, hypopituitarism, leukemia, and were collected blood glucose, insulin, proinsulin and peptide C. 59% of the patients performed 72 hours of prolonged fasting test. **RESULTS:** 62.5% of the patients were women; the average age was 42 years. Symptoms reported: loss of consciousness (62.5%), convulsions (43.7%), sweating (59.3%), tremors (50%), blurred vision (40%), mental confusion, palpitations (25%) and nausea (12.5%). Improvement of symptoms with feeding in 56.2% of the cases. The median time to diagnosis was 30.7 months. 15 patients had hypoglycemia in the supervised prolonged fasting test, with a mean of 18 hours for their occurrence. Laboratory hypoglycaemia was confirmed in 27 patients (84.3%), with mean blood glucose of 35.5 mg/dL and insulin of 55.6 uU/mL. The diagnoses were: 11 cases of insulinoma, 3 cases of primary hyperplasia of islets (IHP), 3 of factitious, 4 of endogenous hyperinsulinemia without insulinoma image, 2 due to inadvertent use of sulfonylurea, 2 after bariatric surgery, 1 of reactive hypoglycemia, 1 of hypoglycemia secondary to the production of IGFII per tumor (hemangiopericytoma with metastases to the liver) and 1 of persistent hyperinsulinemic hypoglycemia in adult (Nesidioblastosis). 2 patients lost follow-up, 2 had no confirmation of hypoglycaemia. Ten insulinoma patients, 3 HPI patients and 1 Nesidioblastosis were operated on. The insulinomas were located: 5 in the head (50%), 2 in the tail (20%), 1 in multiple sites (10%), 1 in the body (10%) and 1 was characterized by a proliferation of abnormal β cells throughout the entire pancreas. **CONCLUSION** Prolonged supervised fasting helped in the exclusion of factitious hypoglycemia. In cases of endogenous hyperinsulinemia, hypoglycemia was reached within a few hours of fasting. Neuroglycopenic symptoms were more prevalent than adrenergic, probably due to long-term symptoms. The literature reports a homogeneous distribution of insulinomas in the pancreatic segments, but in our sample we observed a higher prevalence in the head of the pancreas.

PT.36

RUTINA MELHORA PARÂMETROS DO EQUILÍBRIO REDOX HEPÁTICO

Freitas PA¹, Oliveira KA¹, Almeida DF¹, Magalhães LA¹, Vasconcelos RP¹, Nascimento JF¹, Santos NS¹, Brito LC², Oliveira AC¹ - ¹UECE - Instituto Superior de Ciências Biomédicas, ²UFC - Instituto de Educação Física e Esportes

Introdução: Estudos sobre compostos fenólicos relatam seus efeitos benéficos sobre diversas complicações metabólicas, melhorando o controle glicêmico, o perfil lipídico e o status antioxidante. Nesse contexto, a rutina, um flavonóide, encontrado em diversos vegetais, tem se destacado por sua ação anti-hiperglicemiante, anti-inflamatória, antioxidante e hepatoprotetora. Assim, o presente estudo teve por objetivo investigar os efeitos da rutina no equilíbrio redox hepático. **Métodos:** Este estudo foi realizado *in vivo* em 14 camundongos Swiss machos. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética sob o parecer nº 7292555/2017. A partir da 12^a semana, os animais foram divididos em dois grupos: o grupo controle (n=7), que recebeu dieta padrão e veículo (DP), e o grupo com dieta padrão e tratado com 10mg/dia de rutina (DPR), ambos por via oral. Após 4 semanas de tratamento, na 16^a semana de experimento, os animais foram eutanasiados com dióxido de carbono e o fígado foi retirado, pesado e coletado para avaliação do equilíbrio redox. **Resultados e Discussão:** O tratamento com rutina não alterou o peso do fígado. O tecido hepático dos animais do grupo que foi tratado com rutina, apresentou, em relação grupo controle, aumento do grupamento tiol ($77,81 \pm 8,25$ nmol DTNB versus controle: $119,4 \pm 6,05$) $p < 0,002$, e melhorou a defesa antioxidante com aumento significativo da atividade das enzimas antioxidantes catalase ($0,57 \pm 0,07$ U CAT/mg de proteína versus controle: $1,10 \pm 0,17$, $p < 0,01$), glutatona peroxidase ($0,07 \pm 0,006$ U GPx/mg de proteína versus controle: $0,10 \pm 0,005$, $p < 0,005$), e superóxido dismutase ($307,1 \pm 51,38$ U SOD/mg de proteína versus controle: $472,5 \pm 27,09$, $p < 0,01$). Conclui-se que a suplementação com a rutina melhorou a defesa antioxidante no tecido hepático de camundongos saudáveis.

Citação bibliográfica:

CenkNayki, GynecologicalEndocrinology, 22, 1, 2018.

[Ma JQ, ChemBiol Interact](#), 286, 26, 2018.

Aziza SA, Pak J BiolSci, 8, 964, 2014.

Ghorbani A, BiomedPharmacother, 96, 305, 2017.

Financiadora: CAPES, FUNCAP e CNPq.

Agradecimentos: Ao Mestrado Acadêmico de Nutrição e Saúde-UECE.

PT.37

Trabalho noturno induz síndrome metabólica e ativação do estresse de retículo endoplasmático por alteração da expressão dos CLOCK genes.

Ferraz RC, Beraldo RA, Coelho PO, Foss-Freitas MC

Introdução: Indivíduos saudáveis são aqueles que apresentam as relações temporais entre o seu organismo e o ambiente externo em sincronia com os seus ciclos circadianos. Os ritmos biológicos são capazes de modular muitos processos fisiológicos em maníferos, além disso, diversos genes estão sob influência do controle circadiano em diferentes tecidos.

Métodos: Neste estudo, demonstramos os efeitos bioquímicos e moleculares causado trabalho noturno em indivíduos que trabalham no ambiente hospitalar no período da noite comparado com indivíduos que trabalham em hospital no período diurno.

Resultados: O estudo mostra que os trabalhadores noturnos apresentam os níveis de Glicose, Hb1Ac e Triglicérides maiores que os trabalhadores diurnos. Os níveis de HDL dos trabalhadores noturnos é menor do que os níveis dos trabalhadores diurnos. No entanto não encontramos diferenças das concentrações de Colesterol e CRP. Os níveis de Cortisol dos trabalhadores diurnos não apresentaram diferença entre amostras colhidas as 7:00am e 7:00pm, no entanto verificamos que os níveis de cortisol dos trabalhadores noturnos no período das 7:00pm é menor do que o cortisol colhido as 7:00am. Observamos que os trabalhadores noturnos apresentam a pressão sistólica e diastólica mais elevada do que os trabalhadores diurnos. Observamos também que o BMI, circunferência da cintura e a relação cintura quadril é maior nos indivíduos que trabalham a noite. Ao avaliarmos a expressão gênica dos CLOCK genes, verificamos que as 7:00am os genes *Clock* e *Cry-1* apresentam-se elevados nos trabalhadores noturnos, entretanto as 7:00pm os genes *Clock*, *Bmal* e *Per-1* estão elevados nos trabalhadores noturnos e o gene *Cry-1* está elevado nos trabalhadores diurnos. Comparando as amostras coletadas as 7:00am com as coletadas as 7:00pm dos trabalhadores diurnos verificamos que os genes *Bmal* está reduzido as 7:00pm, no entanto os genes *Cry-1* e *Per-1* estão elevados as 7:00pm comparado a 7:00am. Analisando as amostras das 7:00am e das 7:00pm dos trabalhadores noturnos, observamos que os genes *Bmal* e *Per-1* estão elevados as 7:00pm e o gene *Cry-1* está aumentado as 7:00am. Analisando as amostras dos trabalhadores diurnos colhidas as 7:00am e comparando com as amostras dos trabalhadores noturnos as 7:00pm verificamos que os genes *Clock*, *Bmal*, *Cry-1* e *Per-1* apresentam-se elevados nos trabalhadores noturnos. Ao analisamos as amostras dos trabalhadores diurnos colhidas as 7:00pm e comparando com as amostras dos trabalhadores noturnos as 7:00am notamos que os genes *Clock* e *Bmal* estão elevados nos trabalhadores noturnos, no entanto os genes *Cry-1* e *Per-1* estão diminuídos nos indivíduos que trabalham no período noturno. Por fim constatamos que os trabalhadores noturnos apresentam a ativação do estresse de retículo endoplasmático, comprovado pela aumento das expressão gênica de *Eif2 α 3* e *Atf-6*, com a redução de *Grp78*. Observamos também a redução da expressão de *Nrf-2*, um importante protetor do estresse oxidativo.

Discussão: Juntos, estes dados demonstram que os indivíduos que trabalham no período noturnos em hospitais apresentam síndrome metabólica, além da alteração da expressão

genica dos CLOCK genes, favorecendo a ativação do estresse de retículo endoplasmático, comparados a indivíduos que trabalham no período diurno.

Diabetes Melito do Tipo 2 do Jovem: Diferenças e Semelhanças com Diabetes melito do Tipo 1 Adulto e Diabetes Melito tipo 2 clássico

Hirosawa RM¹, Dib SA¹ - ¹Centro de Diabetes, Escola Paulista de Medicina - UNIFESP

Introdução: Em algumas populações americanas e asiáticas tem se observado um aumento na prevalência de Diabetes Melito do tipo 2 no jovem (DM2J). O DM2J tem um caráter mais agressivo com menor resposta a metformina, evolução mais rápida para a dependência a insulina além do aparecimento precoce de complicações em relação ao Diabetes melito do tipo 1 (DM1) e ao Diabetes melito do tipo 2 (DM2) clássico. Até o momento não existem dados sobre o DM2J no Brasil. **Objetivo:** Analisar um grupo de DM2J brasileiro e compará-lo ao DM1 e DM2 em relação as características clínicas, metabólicas e a prevalência das complicações crônicas da doença. **Pacientes e Métodos:** DM2J foi definido como idade entre 18 e 39 anos ao diagnóstico de DM2, DM1 adulto e DM2 de acordo com os critérios da SBD e ADA (dados de prontuário eletrônico de um Centro de Diabetes Universitário. Análise Estatística-Sigma Stat e Excel $p < 0,05$. **Resultados:** A idade ao diagnóstico dos grupos DM2J ($n=61$), DM1 ($n=26$) e DM2 ($n=39$) foi, respectivamente de: $29,8 \pm 5,1$, $25,8 \pm 6,0$ e $50,5 \pm 8,4$ anos. A duração do DM foi de $22,3 \pm 12,1$ anos (DMJ), $13,5 \pm 7,5$ (DM1), $17,3 \pm 6,4$ (DM2). O IMC do DM2J, DM1 e DM2 foi de $31,9 \pm 5,5$, $23,7 \pm 3,3$ e $29 \pm 4,8$ Kg/m². A HbA1c (%) foi de $9,1 \pm 1,9$ (DM2J), $8,8 \pm 1,5$ (DM1) e $8,8 \pm 1,6$ (DM2). O DM2J vs DM1 apresentou uma porcentagem de microangiopatias (retinopatia (55,7 vs 26,9%, $p = 0,018$), nefropatia (55,7 vs 30,8%, $p = 0,019$) e neuropatia (62,3 vs 19,2% $p = 0,0002$). Os eventos cardiovasculares mostraram uma tendência de superioridade no grupo DM2J (27,9 vs 11,5% $p = 0,09$) em relação ao DM1. Quando comparado o grupo DM2J com DM2, a porcentagem de complicações tanto micro (retinopatia (55,7 vs 51,3% $p = 0,68$), nefropatia (55,7 vs 53,8%, $p = 1,0$), neuropatia (62,3 vs 51,3%, $p < 0,21$) como macro (27,9 vs 33%, $p = 0,66$) não foram significantes. **Conclusões:** O DM2J quando comparado ao DM1 adulto de faixa etária, tempo de diagnóstico da doença e controle glicêmico semelhantes se mostrou mais agressivo em relação às microangiopatias. Em relação ao DM2 clássico o DM2J foi semelhante apesar de mais jovem. O controle glicêmico e a pesquisa das microangiopatias devem ser intensificados desde o diagnóstico nesse tipo de diabetes, procedimentos que muitas vezes são relegados para um plano secundário talvez devido aos compromissos concomitantes e inerentes a essa fase da vida.

POLIMORFISMOS DO GENE HSD11B1 COMO PREDITORES DE RESISTÊNCIA À INSULINA E/OU DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES MICROVASCULARES NO DM1

Mori RC¹, Santos-Bezerra DP², Corrêa-Giannella ML², Machado UF¹ - ¹ICB1/USP - Depto de Biofísica e Fisiologia, ²Faculdade de Medicina da USP - LIM-18

INTRODUÇÃO: Os efeitos locais do cortisol dependem tanto das concentrações circulantes quanto de seu metabolismo pré-receptor, determinado pelas enzimas 11 β -hidroxiesteroide desidrogenases (11 β HSD), que interconvertem cortisona (inativa) a cortisol, adequando o suprimento hormonal aos tecidos alvo. A 11 β HSD1 (codificada pelo gene *HSD11B1*) tem sido relacionada à inflamação subclínica da obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Uma associação entre atividade noturna de 11 β HSD1 e concentração de proteína C reativa em plasma de crianças diabéticas do tipo 1 (DM1), sugere a 11 β HSD1 como um marcador precoce da inflamação subclínica também no DM1. Variações genéticas como *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) do gene *HSD11B1* associam-se ao DM2, resistência à insulina (RI) e síndrome metabólica. Considerando-se que a RI também é componente do DM1, ligado ao desenvolvimento/progressão de complicações crônicas macro e microvasculares, o gene *HSD11B1* pode ser um candidato a conferir suscetibilidade à RI e/ou complicações crônicas do DM1. Assim, o objetivo do estudo foi investigar, numa população de brasileiros DM1, a presença de SNPs do gene *HSD11B1* e a possível associação com fatores de risco para RI ou com a presença de complicações microvasculares.

MÉTODOS: 466 pacientes DM1, com idade mediana de 37 (30–46) anos, 25 (19–31) anos de diabetes e HbA1c de 8,4 (7,5 – 9,5) %, selecionados no Serviço de Diabetes do Hospital das Clínicas da FM/USP, foram genotipados para SNPs do gene *HSD11B1* (rs11799643, rs846906, rs17389016, rs4844880, rs846910) e avaliados quanto à presença de neuropatia periférica (NP, N=284), neuropatia autonômica cardiovascular (NAC, N=294), retinopatia diabética (RD, N=405) e estado de sensibilidade à insulina (N=234), calculando-se um *Insulin Resistance Syndrome score* (IRS score) e a taxa estimada de utilização de glicose (*estimated glucose disposal rate*, eGDR), com base em fatores de risco para RI: IMC, circunferência abdominal (CA), hipertensão arterial sistêmica (HAS), triglicérides, HDL, e HbA1c como indicador do controle glicêmico.

RESULTADOS: A presença de qualquer complicação microvascular diminuiu a eGDR ($p < 0,0009$), aumentou a frequência de HAS ($p < 0,0001$), além de aumentar a chance de desenvolvimento das demais complicações ($p \leq 0,020$). Os SNPs estudados não tiveram relação com a presença de NP ou NAC. Porém, o alelo raro T do rs11799643 [C/T] se associou a menor prevalência de RD (*Odds Ratio*= 0,52; $p=0,03$), sugerindo que este SNP confira proteção ao desenvolvimento de RD nesta população. O alelo raro T do rs846906 [C/T] associou-se a maior CA, IMC e prevalência de HAS e baixo eGDR, sendo, portanto, um alelo de risco à presença de RI (*Odds Ratio*= 0,79; $p < 0,0006$).

DISCUSSÃO: Os dados obtidos até o momento sugerem que SNPs em *HSD11B1* podem emergir como possíveis marcadores genéticos de propensão a uma ou mais complicações microvasculares no DM1, bem como à RI. Uma vez que a eGDR pode ser afetada pelo comprometimento da função renal, e considerando-se a importância do cortisol na fisiologia renal, avaliaremos também a função renal progressiva e atual dos participantes.

Apoio financeiro: FAPESP (2016/15603-0), PNPd/CAPES

A INSULINA MODULA A EXPRESSÃO DE FATORES QUE CARACTERIZAM O FENÓTIPO DE CÉLULA DELTA EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE CAMUNDONGOS C57/BL6

Ferreira SM¹, Santos GJ², Ortis F³, Santos C¹, Kurauti MA⁴, Costa-Junior JM¹, Vettorazzi JF¹ - ¹Unicamp - Centro de Pesquisa em Obesidade e Comorbidades/Departamento de Biologia Estrutural e Funcional/Instituto de Biologia, ²UFSC - Departamento de Ciências Fisiológicas/Centro de Ciências Biológicas, ³USP - Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento/Instituto de Ciências Biomédicas, ⁴UEM - Departamento de Ciências Fisiológicas/Centro de Ciências Biológicas

Introdução: A depleção, quase total, de células beta pancreáticas em modelos de animais jovens, leva a transdiferenciação de células delta para células beta. Logo após a morte das células beta, as células delta (1) param de expressar somatostatina e se dediferenciam, (2) entram no ciclo celular, proliferam e, (3) parte destas células se diferenciam em célula beta, sendo que a outra parte se diferencia em célula delta novamente. O fator de transcrição envolvido nessa dediferenciação da célula delta parece ser FOXO1. Como esse fator pode ser fosforilado e, assim, inibido pela AKT, nós hipotetizamos que a via da insulina atua como uma via de regulação da massa de célula delta. Assim, nosso objetivo foi avaliar o papel da insulina sobre as proteínas que caracterizam o fenótipo da célula delta: Hhex e Somatostatina (SST).

Métodos: Para isso, incubamos ilhotas isoladas de camundongos com 30 dias com (1) diferentes concentrações de insulina por 30 min, 3, 6 e 12 horas e avaliamos a expressão gênica de Hhex e SST, (2) inibidores da AKT (MK2206-5 μ M), da via MAPK/ERK (PD098059 – 50nM) e do Receptor de insulina (S961 – 400 nM) por 12 horas, e avaliamos as expressões de Hhex, SST, pFOXO1, pAKT, pERK e pCREB. Além disso, analisamos a tolerância à glicose (oGTT) e a insulinemia durante o oGTT em animais *knockout* para o receptor de Insulina em células delta (STT^{CRE}/IR^{loxP/loxP}). A ativação da enzima CRE recombinase foi induzida pela injeção intraperitoneal de três doses (75mg/Kg) consecutivas de tamoxifeno e, após 7 dias da última dose de tamoxifeno realizamos o oGTT.

Resultados e discussão: Ilhotas tratadas com insulina apresentaram aumento na expressão de Hhex e SST e uma correlação positiva entre a expressão dos dois genes. Já a inibição da AKT reduziu a expressão de Hhex, SST e pFOXO1. Por outro lado não observamos alteração na expressão de Hhex e SST quando inibimos a via da MAPK/ERK. Entretanto, quando inibimos o receptor de insulina observamos aumento na expressão de Hhex, SST, pERK e pCREB. Como a inibição do IR não foi célula específica, acreditamos que o efeito sobre a célula alfa, levou um aumento da secreção de glucagon e, conseqüentemente, um aumento na sinalização deste hormônio na célula delta, levando a um aumento de Hhex e SST. Nos camundongos STT^{CRE}/IR^{loxP/loxP} não observamos alteração no oGTT, porém observamos aumento na insulinemia. Como é sabido, a somatostatina inibe a secreção de insulina, assim, o aumento da insulinemia durante o oGTT nos indica que a redução da expressão do IR na célula delta pode estar reduzindo a somatostatina, que por sua vez deixa de sinalizar na célula beta, promovendo um aumento da secreção de insulina. Assim, concluímos que a insulina modula a expressão de Hhex e SST através da ativação da AKT e, de acordo com nossa hipótese, a insulina parece estar envolvida na manutenção da massa de célula delta.

PT.41

CARACTERIZAÇÃO DA ADIPOSIDADE EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA DE CUSHING

Batista SL¹, Araújo IM¹, Carvalho AL¹, Bastos CM¹, Alencar MAVSD¹, Nogueira-Barbosa MH², Elias Jr J², Salmón CEG³, Castro M¹, Moreira AC¹, Paula FJA¹ - ¹HC - FMRP - USP - Divisão de Endocrinologia do Departamento de Clínica Médica, ²HC - FMRP - USP - Divisão de Radiologia do Departamento de Clínica Médica, ³FFCLRP - USP - Departamento de Física

Introdução

O hipercortisolismo é listado entre as causas de obesidade, porém a distribuição de gordura e a composição corporal, nesta condição diferem significativamente da que ocorre na obesidade primária. A característica obesidade truncal, com acúmulo preferencial de tecido adiposo visceral e giba associada à hipotrofia de membros é típica de indivíduos com hipercortisolismo. O objetivo foi avaliar e comparar o compartimento adiposo de indivíduos controles, obesos e com doença de Cushing.

Métodos

Foram incluídos três grupos, todos formados por mulheres jovens pareadas por idade e altura: controle (C; n=27), obeso (O; n=16) e doença de Cushing (DC; n=10). Obtivemos o índice de massa gorda (IMG) e o índice de massa magra apendicular (IMMA), tanto pelos critérios de Baumgartner como da FNIH, através da composição corporal por absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA). Adicionalmente, avaliamos a adiposidade subcutânea (SAT) e visceral (VAT), bem como o teor de lipídeos intra-hepáticos (IHL), através da ressonância magnética de abdômen.

Resultados e discussão

Não houve diferença estatística de idade (C = 35,4 ± 8,9; O = 40,0 ± 8,4; DC = 36,8 ± 11,5 anos), e de altura (C = 1,65 ± 0,08; O = 1,59 ± 0,07; DC = 1,63 ± 0,04m). Como esperado, os grupos O e DC diferiram do grupo C em relação ao peso (C = 61,1 ± 7,8; O = 80,3 ± 17,1; DC = 90,3 ± 15,2Kg; p<0,01), IMC (C = 22,6 ± 2,6; O = 31,5 ± 5,2; DC = 34,0 ± 5,1Kg/m²; p<0,01) e circunferência abdominal (C = 78,8 ± 10,0; O = 99,5 ± 8,1; DC = 113,4 ± 12,1cm; p<0,0001).

Com relação aos dados de composição corporal por DXA, os grupos O e DC, quando comparados ao grupo C, apresentaram maiores valores de IMG (C = 7,99 ± 1,57; O = 13,81 ± 3,11; DC = 15,16 ± 3,59Kg/m²; p<0,01) e de IMMA pelos critérios de Baumgartner (C = 5,47 ± 0,73; O = 7,07 ± 1,03; DC = 6,89 ± 1,19Kg/m²; p<0,05), porém valores menores de IMMA pelos critérios da FNIH (C = 0,663 ± 0,104; O = 0,570 ± 0,062; DC = 0,541 ± 0,079m²; p<0,001).

Em relação aos dados obtidos por ressonância magnética, os grupos O e DC apresentaram maiores valores de SAT em relação ao grupo C (C = 18168,0 ± 8185,7; O = 38769,3 ± 14876,6; DC = 36771,2 ± 18261,7mm²; p<0,01). Contudo, na avaliação de VAT, percebemos que os três grupos foram diferentes entre si, sendo os maiores valores observados no grupo DC (C = 2393,1 ± 2313,4; O = 9568,9 ± 4095,0; DC = 14994,9 ± 6066,9mm²; p<0,0001). Ainda, a relação VAT/SAT foi maior nos grupos DC em relação aos grupos C e O (C = 0,12 ± 0,10; O = 0,28 ± 0,14; DC = 0,51 ± 0,37; p<0,0001).

Finalmente, em relação ao IHL, o grupo DC diferiu em relação aos grupos C e O (C = 1,6 ± 0,9; O = 8,6 ± 8,4; DC = 17,2 ± 15,5%; p<0,01).

Conclusão

As alterações de distribuição de gordura corporal observadas na doença de Cushing possuem aspectos distintos da observada na obesidade primária. Apesar de semelhantes nos parâmetros de composição corporal, os indivíduos com doença de Cushing apresentaram diferença significativa na adiposidade quando avaliados parâmetros obtidos por ressonância magnética.

CARACTERIZAÇÃO DAS DOENÇAS TIREOIDIANAS DO AMBULATÓRIO DE ENDOCRINOLOGIA DA SANTA CASA DE RIBEIRÃO PRETO

Menossi LB¹, Mendonça JGA¹, Silva TB¹, Batista SL¹ - ¹Centro Universitário "Barão de Mauá" - Faculdade de Medicina

Introdução

As doenças da tireoide são, entre as endocrinopatias, uma das patologias mais prevalentes. Entre elas, destaca-se o hipotireoidismo primário que acomete cerca de 10% dos indivíduos do sexo feminino.

O hipotireoidismo primário pode se apresentar com diversas manifestações sistêmicas, mas frequentemente é oligossintomático ou assintomático, sendo a etiologia mais frequente a tireoidite de Hashimoto. O tratamento baseia-se na administração de levotiroxina em dose única diária.

Embora menos frequentes, os hipertireoidismos acometem cerca de 1% da população. Aproximadamente, 80% dos casos de hipertireoidismos são atribuídos à Doença de Graves, mais comum em mulheres entre a segunda e terceira década de vida.

Os distúrbios da tireoide têm sua importância dado o amplo efeito que os hormônios tireoidianos possuem sobre o metabolismo ósseo, sistema cardiovascular, sistema nervoso e balanço energético.

Devido à importância das doenças tireoidianas, justificado pelo fato de que os distúrbios envolvendo a glândula tireoide configuram o segundo distúrbio endócrino mais frequente, avaliamos o perfil das doenças tireoidianas em pacientes do Ambulatório de Endocrinologia da Santa Casa de Ribeirão Preto.

Métodos

Realizamos um estudo transversal baseado em revisão de dados de 21 prontuários médicos de pacientes acompanhados no Ambulatório de Endocrinologia da Santa Casa de Ribeirão Preto.

Resultados e discussão

Dos 18 pacientes com hipotireoidismo, 66,7% foram do sexo feminino. A média de idade foi $62,0 \pm 15,1$ anos, o tempo médio de doença foi de $5,9 \pm 6,3$ anos, a média de IMC foi de $28,4 \pm 7,0$ kg/m². Os indivíduos apresentavam na primeira consulta um TSH médio de $17,2 \pm 25,3$ μ UI/mL e média de T4 livre de $1,2 \pm 0,8$ ng/dL. Todos os pacientes mantêm tratamento com levotiroxina, com dose média de $1,2 \pm 0,5$ μ g/Kg/dia.

Com relação à apresentação clínica, 61,1% dos pacientes apresentavam-se assintomáticos à primeira consulta. Nos paciente sintomáticos, a queixa mais frequente foi queda de cabelo/unhas quebradiças (22,2%), seguida de sonolência (16,7%), cansaço (11,1%), constipação (11,1%) e ganho de peso (11,1%).

Em relação à etiologia do hipotireoidismo, a maior parte dos pacientes apresentava tireoidite de Hashimoto (77,8%), seguida de hipotireoidismo pós-iodoterapia ablativa (5,6%) e hipotireoidismo central (5,6%).

A tireoide era palpável em 09 pacientes (50%) e não palpável em 6 pacientes

(33,3%).

Em relação aos 03 pacientes com hipertireoidismo, 2 eram do sexo feminino. A média da idade desses pacientes foi de $52 \pm 10,8$ anos, com tempo médio de doença de $2,5 \pm 1,6$ anos. A média de IMC foi de $24,5 \pm 1,8$ kg/m². Na primeira consulta, a média do TSH foi de $0,1 \pm 0,2$ μUI/mL e a média de T4 foi de $3,9 \pm 1,9$ ng/dL. Dois pacientes estão em tratamento com tiamazol.

Cada um dos três pacientes com hipertireoidismo apresentou sintomas diferentes na primeira consulta: um relatou que estava assintomático; outro apresentava exoftalmia, perda de peso, insônia, diarreia, taquicardia e intolerância ao calor; o terceiro teve como queixa apenas palpitação.

Em relação à etiologia do hipertireoidismo, dois pacientes tinham doença de Graves confirmada.

Conclusão

Como esperado, o hipotireoidismo por tireoidite de Hashimoto foi o distúrbio mais frequente, com predomínio do sexo feminino. Adicionalmente, nos indivíduos com hipertireoidismo, prevaleceu como etiologia a doença de Graves.

PT.43

Heme oxigenase- 1 atenua a lesão renal aguda induzida por contraste iodado em ratos com nefropatia diabética

Fernandes SM¹, Fonseca CD², Watanabe M³, Peres KB¹, Vattimo MFF¹ - ¹Escola de Enfermagem da USP, ²Escola de Enfermagem da Unifesp, ³Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas-FMU

Introdução: A hiperglicemia crônica favorece a incidência da nefropatia induzida pelo contraste iodado (NIC). A nefropatia diabética (ND) e a NIC envolvem mecanismos de lesão oxidativa e a indução da enzima de proteção e adaptação celular como heme oxigenase-1 (HO-1). O objetivo deste estudo foi avaliar o papel da HO-1 na função renal e perfil oxidativo em ratos diabéticos com renal aguda induzida por contraste iodado(CI). **Materiais e métodos:** Foram utilizados ratos Wistar, machos e adultos, pesando de 250 a 290 g, divididos nos grupos: **Citrato** (controle); **DM** - animais que receberam estreptozotocina (65 mg/kg); **DM+CI** - animais DM que, após 12 semanas, receberam CI (6 ml/kg, dose única); **DM+CI+H** -animais DM que receberam pré-condicionamento com Hemin (indutor de HO-1, 1 mg/kg), seguido da administração de CI. Foram avaliados parâmetros fisiológicos (ingestão de ração e água, peso, glicemia capilar, razão peso do rim e peso do animal), função renal (*clearance* de creatinina) e perfil oxidativo (peróxidos urinários, tióis no tecido renal, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico na urina). **Resultados e discussão:** Os animais diabéticos apresentaram hiperglicemia, perda de peso, polidipsia, poliúria e polifagia nas 12 semanas (p<0,05). A ND se caracterizou por redução da função renal e aumento de metabólitos oxidativos nos animais DM (p<0,05). A administração de CI promoveu redução adicional na função renal e aumento dos índices oxidativos (p<0,05). O HO-1 reverteu estes parâmetros (p<0,05). **Conclusão:** A indução de HO-1 manifestou papel renoprotetor na NIC, com efeito antioxidante e melhora da função renal de ratos com ND.

Grupos	n	Fluxo Urinário (ml/min)	Creatinina Sérica (mg/dl)	Clearance creatinina (ml/min)	Peróxidos Urinários (nmol/g de creatinina urinária)	TBARS urinário (nmol/g de creatinina urinária)	Tióis (nmol/mg de proteínas totais)
Citrato	5	0,011±0,0030	0,20±0,02	0,59±0,14	6,88±1,61	0,24±0,09	18,10±6,08
DM	5	0,045±0,036 ^a	0,58±0,19 ^a	0,30±0,07 ^a	31,93±12,71 ^a	1,59±0,42 ^a	18,56±5,95
DM+CI	5	0,062±0,016 ^{ab}	0,82±0,15 ^{ab}	0,15±0,05 ^{ab}	41,38±7,88 ^{ab}	3,44±0,5 ^{ab}	7,21±3,89 ^{ab}
DM+CI+H	5	0,089±0,018 ^{abc}	0,86±0,13 ^{abc}	0,41±0,04 ^{ac}	11,19±3,32 ^{abc}	0,82±0,18 ^{abc}	14,07±2,93 ^{abc}

Os valores foram apresentados em média ± desvio padrão.

^ap < 0,05 versus Citrato.

^bp < 0,05 versus DM.

^cp < 0,05 versus DM+CI.

PT.44

Caracterização da função renal e perfil oxidativo na nefropatia diabética em ratos nefrectomizados

Fernandes SM¹, Fonseca CD², Watanabe M³, Peres KB¹, Vasco CF¹, Pessoa EA⁴, Vattimo MFF¹ - ¹Escola de Enfermagem da USP, ²Escola de Enfermagem da Unifesp, ³Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas-FMU, ⁴Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP

Introdução: O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crônica que atinge mais de 250 milhões de pessoas em todo o mundo. Entre os pacientes acometidos por DM, de 20 a 30% desenvolvem nefropatia. A nefropatia diabética (ND) é caracterizada pela excreção de albumina na urina, aumento da pressão arterial e falência renal. O objetivo deste estudo foi avaliar a função e o perfil oxidativo renal de ratos diabéticos (indução por estreptozotocina) submetidos à nefrectomia. **Materiais e métodos:** Foram utilizados ratos Wistar, machos, adultos (250-300g) distribuídos nos grupos: **Citrato** (controle); **Nx+Citrato** (controle nefrectomizado); **DM** (65mg/kg de estreptozotocina-indutor do DM na veia caudal, dose única); **Nx+DM** (nefrectomia seguida de estreptozotocina como descrito). A função renal dos animais foi avaliada por meio do *clearance* de creatinina e verificação de albuminúria. O perfil oxidativo foi avaliado pelos métodos FOX-2 e TBARS na urina e tióis no tecido renal. **Resultados:** O êxito na reprodução do modelo de DM foi confirmado por meio dos resultados obtidos durante acompanhamento glicêmico semanal ao longo de 12 semanas e por sinais de polidipsia, poliúria e polifagia ($p < 0,05$). Os animais do grupo Nx+DM apresentaram microalbuminúria, redução da taxa de filtração glomerular com excreção de metabólitos oxidativos e redução de reserva antioxidante ($p < 0,05$). **Conclusão:** As características clínicas do DM foram confirmadas e a ND, com redução função renal e lesão oxidativa, sobressaiu no modelo de sobreposição de lesão Nx+DM.

Grupos	n	Albuminúria (mg/24h)	Creatinina sérica (mg/dl)	Clearance de Creatinina (ml/min/100g)	Peróxidos Urinários (nmol/g creatinina urinária)	TBARS urinários (nmol/g de creatinina urinária)	Tióis (nmol/mg de proteínas totais)
Citrato	7	0,75±0,30	0,22±0,04	0,54±0,14	7,0±2,8	0,24±0,07	18,8±4,9
Nx+Citrato	6	1,64±0,48	0,29±0,04	0,51±0,08	9,2±2,7	0,26±0,07	12,4±4,6
DM	6	3,02±1,95	0,55±0,18 ^{ab}	0,33±0,09 ^{ab}	32,9±11,6 ^{ab}	1,61±0,37 ^{ab}	18,5±5,9
Nx+DM	6	12,37±3,63 ^{abc}	0,64±0,05 ^{ab}	0,32±0,05 ^{ab}	46,2±21,8 ^{ab}	2,22±0,61 ^{ab}	7,4±2,9 ^{ac}

Os valores representam média ± desvio padrão

^ap <0,001 versus Citrato

^bp <0,001 versus Nx+Citrato

^cp <0,001 versus DM

AVALIAÇÃO DA VIA ANTI-INFLAMATÓRIA COLINÉRGICA NO FÍGADO DAS PROLES DE MÃES OBESAS E A RELAÇÃO COM O DESENVOLVIMENTO DA RESISTÊNCIA À INSULINA.

Costa SO¹, Souza CM¹, Lanza PG¹, Souza ACP¹, Santos T¹, Milanski M¹, Torsoni AS¹, Torsoni MA¹ - ¹UNICAMP - Faculdade de Ciências Aplicadas

Introdução: O consumo materno de dieta rica em gordura leva a ativação de vias inflamatórias nas fases iniciais do desenvolvimento. Isto leva ao aumento dos níveis de citocinas inflamatórias e danos para a sinalização da insulina. A prole de mães obesas apresenta maiores danos metabólicos após desafio inflamatório o que resulta em intolerância à glicose e maior ganho de peso se comparado a prole de mães magras. O sistema imune inato é capaz de restaurar a homeostase e regular a resposta inflamatória pela via anti-inflamatória colinérgica. Este sistema é dependente de acetilcolina liberada pelo nervo vago que irá inibir a produção de TNF e demais mediadores pró-inflamatórios. Assim, nesse trabalho avaliamos o efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica na modulação dos componentes da via anti-inflamatória colinérgica e na sinalização da insulina hepática da prole e em linhagem de hepatócitos de camundongo.

Métodos: Foi utilizado camundongos *Swiss* fêmeas que receberam dieta hiperlipídica 45% (HFD) e ração (SC) por um período de adaptação e posteriormente durante a gestação e lactação. As proles machos (28 dias) foram utilizadas para os demais experimentos (SC-O; HFD-O). Para avaliar a fosforilação e distribuição das proteínas, a nível basal e após desafio com PNU (IP), da via de sinalização colinérgica e outras vias inflamatórias no fígado foram realizados experimentos de *western blot* e Elisa. Para análise da relação entre a via colinérgica e a sinalização da insulina utilizamos a cultura de linhagem celular hepática de camundongos (Hepa-1c1c7 [ATCC® CRL-2026™]). A resistência à insulina foi induzida por LPS (ou ácido graxo saturado, palmitato) e posteriormente, o mesmo procedimento foi realizado na presença do agonista colinérgico (PNU ou nicotina). Empregamos a técnica de *western blot* e *real-time PCR* para avaliar proteínas da via da insulina e vias inflamatórias. **Resultados:** O conteúdo hepático do receptor $\alpha 7nAChR$ é menor no grupo HFD-O comparado ao grupo SC-O. Além disso, no grupo HFD-O o nível dos marcadores inflamatórios como conteúdo proteico das citocinas IL-1 β e IL-10 além do conteúdo de pSTAT3 também estão maiores se comparados ao grupo SC-O. Ao receberem estímulo farmacológico com PNU (IP), o fígado das proles SC-O e HFD-O não apresentou diferenças na fosforilação da proteína da via colinérgica, STAT3. Nos estudos com a linhagem de células hepáticas, o palmitato reduziu o efeito da insulina na fosforilação da AKT (pAKT) e este efeito foi prevenido pela administração de PNU ou nicotina. O LPS promoveu aumento de pAKT e pFOXO1 nas células tratadas com insulina. Além disso, o tratamento com palmitato e LPS aumentou significativamente os níveis de mRNA para TNF- α e IL-6.

Discussão: Esse estímulo da via da insulina pelo tratamento com LPS pode ser explicado devido ao aumento da expressão da citocina IL-6 nessas células, e essa é capaz de ativar a proteína AKT, através do *crosstalk* com a proteína STAT3. Portanto, a deficiência no receptor $\alpha 7nAChR$ como demonstrado pela prole após consumo materno de dieta hiperlipídica pode afetar a homeostase da glicose, desde que a incapacidade de prevenir a inflamação afeta negativamente a via de sinalização de insulina.

Apoio: FAPESP (n.2016/23484-1) e Capes.

PT.46

Efeito do Ciclo de peso sobre a modulação colinérgica em ilhotas pancreáticas de ratas hipoestrogênicas

Camargo TF¹, Pacher KAS¹, Zanesco AM², Andrade TAM¹, Barbosa-Sampaio HCL³, Amaral MEC¹ - ¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Centro Universitário Hermínio Ometto FHO/Uniararas, ²Curso de Biomedicina, Centro Universitário Hermínio Ometto FHO/Uniararas, Araras, SP., ³Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas Unicamp

Introdução: O hipoestrogenismo pode causar o aumento do peso e acúmulo de gordura visceral nas mulheres. Isto acontece pela falta dos hormônios ovarianos. Em animais o esgotamento dos hormônios ovarianos deixa as ratas hiperfágicas e obesas. Intervenções dietéticas são adotadas para reduzir o peso corporal, porém estágios de perda e posteriormente ganho de peso corporal são frequentes. Neste trabalho nós investigamos as adaptações estruturais e funcionais das ilhotas pancreáticas mediante o ciclo de peso, em animais hipoestrogênicos, através da secreção de insulina e expressão dos receptores M1 e M3.

Métodos: O estudo aprovado (CEA 017/2015) pelo Centro de Experimentação Animal da Uniararas, foi realizado em 24 fêmeas, Wistar de dois meses de idade, mantidas em gaiolas individuais e submetidas à cirurgia simulada (SHAM) e de ovariectomia (OVX) distribuídas em 3 grupos: SHAM, OVX, OVXCiclado. Os grupos SHAM e OVX receberam ração comercial *ad libitum* por 16 semanas e o OVXCiclado foi realizado com 21 dias de ração comercial *ad libitum* e 21 dias em RC de 40% por duas vezes, e iniciou-se na 5ª semana após a cirurgia. Para a realização da RC foi realizado o cálculo diariamente com o peso da quantidade oferecida de ração e da quantidade que restou de ração das fêmeas OVX obtendo a quantidade de alimento ingerida pelo OVXCiclado. Realizou-se o ip.GTT e o ip.ITT. Na eutanásia o pâncreas e o tecido adiposo foram coletados para as análises morfológicas (depósitos de ferro) e moleculares (investigação por western blotting dos receptores M1, M3, SOD1 e SOD2) e análise da secreção de insulina por ilhota isolada. A análise estatística realizada foi ANOVA seguida de Bonferroni.

Resultados: O ip.GTT e área sob a curva foram similares entre os grupos. O OVXCiclado foi mais sensível à insulina *versus* OVX. A glicemia de jejum e o tecido adiposo perirrenal foram reduzidos no OVXCiclado comparado ao OVX. A expressão proteica dos receptores muscarínicos M1 e M3, SOD1, SOD2 e a secreção de insulina induzida por carbacol foram maiores no OVXCiclado *versus* SHAM e OVX. Na concentração de 16,7mM de glicose a secreção de insulina foi menor para OVX e OVXCiclado *versus* SHAM. Foi observado depósitos de ferro nas ilhotas OVX *versus* SHAM e OVXCiclado.

Discussão: O ciclo de peso sugere adaptações das ilhotas pancreáticas à dieta imposta verificada pela resposta muscarínica exacerbada, associada ao aumento de defesas anti-oxidativas. Esta situação reflete em sensibilidade à insulina com menor glicemia e secreção insulínica estimulada por glicose. Ilhotas oriundas de animais OVX mostram falência da secreção de insulina estimulada por altas concentrações de glicose, depósito de ferro, deficiência dos mecanismos anti-oxidativos e insensibilidade à insulina. Finalmente, os resultados deste estudo mostram que a ovariectomia pode acelerar a falência da função das ilhotas pancreáticas e que o ciclo de peso foi capaz de restaurar pelo menos, em parte, as características destas ilhotas.

Apoio Financeiro: PROpesq-Uniararas.

PT.47 AVALIAÇÃO DO PAPEL DA ADIPONECTINA NO METABOLISMO DE ÁCIDOS GRAXOS DO TECIDO RENAL DE CAMUNDONGOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA

Beatriz Maria Veloso Pereira¹ & Alice Cristina Rodrigues¹

¹ Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Introdução: A obesidade é um fator de risco importante e independente para o desenvolvimento e progressão da doença renal crônica, condição que vem aumentando mundialmente e que pode culminar em perda total da função renal (Redon, Curr Hypertens Rep, v. 17, p.555, 2015). Associado a essa disfunção renal, está o metabolismo anormal de ácidos graxos no rim representado por um acúmulo tecidual de lipídeos e lipotoxicidade (Kume, J Am Soc Nephrol, v.18, p.2715, 2007). A adiponectina, secretada pelo tecido adiposo, exerce efeitos na sensibilização à insulina, metabolismo de lipídeos e processos inflamatórios ao interagir com seus receptores e está frequentemente diminuída em indivíduos obesos. No rim essa adipocina é especialmente importante na função de podócitos e proteinúria (Sharma, J Clin Invest, v.118, p.1645, 2008). Nesse estudo investigamos o papel da adiponectina no metabolismo lipídico e lesão renal induzida por dieta hiperlipídica. **Métodos:** Camundongos machos nocautes para o gene da adiponectina (AdipoKO) e seu background C57BL/6J (WT) foram submetidos à dieta controle ou hiperlipídica por um período de 8 semanas e a expressão de genes envolvidos na síntese e oxidação de ácidos graxos foi avaliada e associada com achados funcionais e histológicos. **Resultados:** Camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, independente do genótipo, aumentaram, em média, 31% ($p < 0.001$) seu peso corpóreo inicial comparado ao aumento de apenas 18% nos animais controles. Esse aumento do peso foi acompanhado por aumento em ambos depósitos de gorduras epididimal e retroperitoneal (aumento de 1,6 vezes; $p < 0.001$), maiores níveis de colesterol no soro (1,2 vezes; $p < 0.05$) e intolerância à glicose ($p < 0.05$). No rim de animais WT que receberam dieta hiperlipídica, a expressão de *Srebp-1* está diminuída ($P < 0,01$; vs dieta controle), enquanto nos animais adipoKO não foi diferente. A expressão de *Acc* (alvo da SREBP-1) não foi regulada pela dieta ou genótipo. Por outro lado, a *Fasn* (outro alvo da SREBP-1), mostrou-se aumentada nos animais AdipoKO, independente da dieta que receberam. Em contraste, os níveis de RNAm de *Ppara*, está diminuído nos animais WT e adipoKO que receberam dieta hiperlipídica ($p < 0,05$). Ao mesmo tempo, os níveis de ureia e creatinina não aumentaram e não houve hipertrofia glomerular e glomerulosclerose, apesar da albuminúria nos animais obesos. **Discussão:** O acúmulo de lipídeos no tecido renal pode ser resultado do desequilíbrio entre síntese (mediado pelo SREBP-1c e suas enzimas alvos incluindo ACC e FASN) e oxidação (mediada pelo PPAR α e suas enzimas alvo) de ácidos graxos. Após 8 semanas de dieta hiperlipídica, animais WT não apresentaram aumento de enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos, mas apresentaram uma diminuição da oxidação. Já os animais adipoKO mostraram uma maior propensão ao acúmulo de lipídios, já que além da expressão de *Fasn* ser maior em comparação aos animais WT, eles também apresentaram menor oxidação sob dieta hiperlipídica. Embora 8 semanas de dieta seja suficiente para dar início a uma alteração no metabolismo de ácidos graxos no rim, esse período de dieta não leva a alterações funcionais e histológicas significativas. **Financiamento:** Fapesp (2015/24789-8) e CAPES.