

CO.01

Lesões no DNA e capacidade de resposta celular de gestantes e recém-nascidos expostos à hiperglicemia

Moreli JB¹ - ¹Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

CO.02

EVENTOS PRECOSES DA VIDA, PADRÕES ALIMENTARES E O PERFIL GLICO-LIPÍDICO NA VIDA ADULTA NO NUTRITIONISTS' HEALTH STUDY – NUTRIHS

Eshriqui I¹, Ferreira SRG¹ - ¹USP - Faculdade de Saúde Pública

Introdução: Eventos precoces da vida, como o aleitamento materno (AM), são fatores potencialmente associados a desfechos de saúde na vida adulta como diabetes e doença cardiovascular. Se AM, padrões alimentares (PA) atuais e marcadores glico-lipídicos associam-se entre si em adultos é controverso, parcialmente devido ao confundimento residual¹. O objetivo deste estudo foi avaliar associações entre duração do AM, PA e perfil glico-lipídico em mulheres adultas jovens. **Métodos:** Nesta coorte histórica foram coletadas informações retrospectivas sobre o AM de 587 mulheres, participantes do NutriHS, entre 17-45 anos, sem diabetes ou câncer. Excluiu-se uso de medicamento para controle glicêmico (n=1) ou lipídico (n=1) das respectivas análises. O AM total foi categorizado em <6 vs ≥6 meses; <12 vs ≥12 meses; ou <6 vs ≥6-<12 vs ≥12 meses nas análises com marcadores glicídicos, lipídicos e consumo alimentar, respectivamente, sendo as últimas categorias consideradas como referência. AM “predominante” foi categorizado em <3 vs ≥3 meses (referência), segundo a idade da introdução de fórmula, leite ou outro alimento. Marcadores bioquímicos sanguíneos foram determinados para 184 participantes. Glicemia e insulina de jejum (método imunoenzimático) foram usadas para cálculo do HOMA-IR. Triglicérides (TG), colesterol total e frações foram dosados por método enzimático colorimétrico, exceto LDL. Regressão logística foi usada para estimar a razão de chance (OR) de classificar-se no maior tercil dos marcadores glicídicos [T3 vs. T1+T2 (ref)], ou nos dois maiores [T2+T3 vs. T1 (ref)] dos lipídicos e do escore do PA saudável (identificado por análise fatorial por componentes principais). Os ajustes utilizados foram sugeridos pelo diagrama acíclico causal (DAG), construído no DAGitty. Escolaridade materna, peso ao nascer e diabetes gestacional foram considerados para desfechos do metabolismo glico-lipídico, e escolaridade materna, IMC pré-gestacional e tipo de parto quando o desfecho foi PA.

Resultados: Mulheres classificadas no T3 de glicemia e insulina apresentaram, respectivamente, valores entre 86-116 mg/dL e 10,4-82,5 UI/L, enquanto os tercis mais altos de TG e colesterol não-HDL equivaleram respectivamente a 63-495 e 101-223 mg/dL. Cerca de 82% nasceram com peso adequado, 30% receberam AM por <6 meses e 68% eram eutróficas na atualidade. Mulheres amamentadas por <6 meses tiveram menor chance de apresentar alta adesão ao padrão saudável (OR=0,57; P=0,045) e maior chance de serem classificadas no tercil mais alto de insulina (OR=2,64; P=0,016), mas não de HOMA-IR (OR=1,49; P=0,324). AM predominante <3 meses associou-se a maior chance de apresentar valores mais altos de insulina (OR=2,28; P=0,043) e HOMA-IR (OR=2,38; P=0,034). AM total <12 meses associou-se à chance de classificação nos dois terços superiores de TG (OR=2,08; P=0,045). Não foram observadas associações significantes do AM com glicemia, colesterol total e frações.

Discussão: Mulheres jovens que receberam AM total ou predominante por menor tempo associaram-se a menor adesão ao PA saudável e piores indicadores do metabolismo glicídico e lipídico. Tais achados são compatíveis com possível efeito protetor tardio do AM contra o desenvolvimento de resistência à insulina.

Citação: ¹Owen et al. Proceedings of the Nutrition Society, 70, 478 (2011)

Agradecimentos: FAPESP

CO.03

DESENVOLVIMENTO RENAL EM UM AMBIENTE MATERNO HIPERGLICÊMICO: FOCO SOBRE A ESTRUTURA E FUNÇÃO RENAL FETAL

Morais MRPT¹, Barrence FAC¹, Favaro RR², Zorn TMT¹ - ¹USP - Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, ²Friedrich-Schiller-Universität Jena

Introdução: Os mecanismos de reprogramação do desenvolvimento renal em gestações complicadas por diabetes (gestacional ou não) vêm sendo amplamente estudados desde o estabelecimento da teoria do fenótipo poupador proposta pelo epidemiologista inglês David. J. P. Barker na década de 90. Contudo, pouco ainda é conhecido sobre os efeitos da hiperglicemia materna sobre a diferenciação renal, e função dos rins ainda durante a vida fetal. O presente estudo tem investigado os efeitos da hiperglicemia materna severa sobre a estrutura (histológica e ultraestrutural) e função dos rins de fetos pré-termo, usando um modelo de gestação complicada por diabetes mellitus tipo 1 (DM1) em camundongos. **Métodos:** Neste estudo, foram utilizados camundongos *Swiss* fêmeas com 60 dias de idade, nos quais o DM1 foi induzido por meio da administração de Aloxana (40,0 mg/kg por via IV). Fêmeas com glicemia $\geq 400,0$ mg/dL foram selecionadas para o grupo de mães diabéticas, e fêmeas normoglicêmicas constituíram o grupo controle. As fêmeas foram acasaladas com machos normoglicêmicos 30 dias após a indução, e foram coletados fetos no 19º dia de desenvolvimento (E19.0). Os rins fetais foram dissecados e processados para microscopia de luz e eletrônica de transmissão; para avaliar a função renal fetal, foi coletado líquido amniótico (LA) de cada feto, e analisado em *pool* por grupo, para determinar a concentração de glicose, proteínas, ureia e creatinina. **Resultados:** Detectou-se que 83,0 % dos fetos de mães diabéticas apresentaram restrição e assimetria de crescimento intrauterino ($P < 0,05$) em comparação aos fetos de mães normoglicêmicas. A análise estereológica dos rins dos fetos do grupo de mães diabéticas mostrou: redução significativa do volume renal total em 35,9 % ($P < 0,0001$); redução do número médio de néfrons/rim (diferenciados: 39,8 %; indiferenciados: 56,2 %; $P < 0,0001$); aumento do volume corpuscular médio em 26,4 %; $P < 0,01$). A análise ultraestrutural revelou alterações na barreira de filtração glomerular dos fetos de mães diabéticas, tais como: espessamento da membrana basal glomerular em 18,6 % ($P < 0,0001$); expansão dos pés terminais dos podócitos (em 49,7 % em largura; $P < 0,0001$). Alterações na matriz extracelular (MEC) glomerular também foram identificadas e sugerem um desbalanço significativo na síntese e degradação de proteínas da MEC nos rins dos fetos de mães diabéticas, como: superexpressão de colágeno tipo IV; aumento da área de marcação para laminina; reduzida ativação de gelatinases; e superexpressão de inibidores teciduais de metaloproteinases de MEC. A análise do LA mostrou a ocorrência de oligodrâmnio nos fetos de mães diabéticas, e aumento da concentração de glicose (60,4 vezes; $P < 0,01$) e ureia (1,9 vezes; $P < 0,05$) no pool de LA do grupo diabético. **Conclusão:** Os resultados mostram que a hiperglicemia materna compromete a nefrogênese e a remodelação da MEC glomerular, e prejudica a função renal ainda período fetal. Apoio financeiro: FAPESP (#2015/03525-2).

CO.04

EPIGENETIC REGULATION OF SLC2A4 GENE IN DIABETES: A NEW TARGET TO IMPROVE GLYCEMIC CONTROL

Yonamine CY¹, Alves-Wagner AB¹, Esteves JV¹, Okamoto MM¹, Corrêa-Giannella ML², Giannella-Neto D³, Machado UF¹ - ¹USP - Department of Physiology and Biophysics, ²USP - Laboratory of Carbohydrates and Radioimmunoassay, ³University Nove de Julho

Introduction: The main characteristic of diabetes mellitus is the loss of glycemic homeostasis. In this process, skeletal muscle plays a key role and the maintenance expression of the GLUT4 glucose transporter (encoded by the Slc2a4 gene) is fundamental. Epigenetic regulations of Slc2a4 have never been investigated in diabetes; and resveratrol, suggested as an insulin sensitizer, could modulate 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, and the possible participation of SIRT1.

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 in 4-hour-food restricted animals. On the 60th day of treatment the animals were anesthetized with sodium thiopental (7 mg/kg body weight), blood from the left ventricle of the heart was collected for biochemical analysis and the gastrocnemius muscle was removed for gene and protein expression of Slc2a4/GLUT4, and for epigenetic regulations.

Results: T2D mice developed obesity, increased concentrations of plasma glucose, fructosamine and insulin, 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, and that was partially reversed by resveratrol. Methylation status of cytosines at CCGG sites of the Slc2a4 gene promoter region was unaltered. On the other hand, chromatin immunoprecipitation assay evinced that diabetes reduced the content of H3K9me3 in the Slc2a4 promoter, which was reversed by resveratrol; effects that may explain the observed regulations in Slc2a4 gene expression. Additionally, although the nuclear SIRT1 content did not alter in T2D, the resveratrol treatment increased it, indicating that the epigenetic machinery was, at least partially, regulated by SIRT1.

Conclusions: In summary, the present study reveals the occurrence of epigenetic regulation in the Slc2a4 gene in muscle of diabetic animals, with emphasis on histone H3 PTMs, which was reversed by resveratrol treatment, possibly by a SIRT1-mediated mechanism. Together, the results could explain beneficial effects of resveratrol in glycemic homeostasis of T2D patients.

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

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

CO.05

ACCURACY OF FLASH GLUCOSE MONITORING SYSTEM IN HOSPITALIZED PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Wajman SD¹, Naldi M¹, Salles JEN¹, Parente EB¹ - ¹Faculty of Medical Sciences of Santa Casa de São Paulo - Endocrinology Unit

Background and aims:

According to the World Health Organization, there are 422 million people with Diabetes Mellitus (DM) and this disease is responsible for several deaths¹. The prevalence of DM in hospitalized patients can achieve 30%, depending on reference, and hyperglycemia or hypoglycemia are responsible for patient's complications during hospitalization²⁻⁴.

Nowadays, capillary tests (CT) are used worldwide for glucose monitoring while the patient is at the hospital. Since there are new technologies of glucose monitoring, we tested the accuracy of the flash glucose monitoring (FGM) system compared to the CT in hospitalized patients with type 2 DM (T2DM). At the present moment, this is the first study to perform this comparison in hospitalized patients.⁸

Methods:

This is a prospective, open label, non-randomized controlled trial. Inclusion criteria: T2DM inpatient at Santa Casa de Misericórdia de São Paulo hospital over 18 years old. Exclusion Criteria: patients with hypovolemic distress or sepsis, Type 1 DM and pregnant women. Hypoglycemia was defined as glucose < 70mg/d and hyperglycemia > 180mg/dL. Time on range was the period that the glucose was between 100-180mg/dL. Patients were submitted to the flash glucose monitoring system and at the same time to the standard capillary tests four times a day (pre-prandial and bedtime). The sensor was removed after 14 days or earlier if the patient was discharged before two weeks. To evaluate the accuracy of FGM, the four points of CT curve was built for each patient and compared at each point with the value of FGM individually. A difference of 20% from FGM to CT was considered acceptable. Statistics were performed using SPSS version 13, p<0.05 was considered significant; Wilcoxon test was used to compare the number of hypo and hyperglycemia between the two methods.

Results: Eight from 30 patients were included, 5 women, 60.63 ± 11.7 years old, body mass index (BMI) 25 ± 6.6 kg/m²; 10.8 ± 6.6 years of DM. The mean glucose by CT at hospital admission was 204.75 ± 40.8 mg/dl, and at discharge was 164.41 ± 43.5mg/dl. The mean glucose by FGM was 157.50 ± 51.9 mg/dl during a mean of 9.5 ± 3 days of hospitalization. The mean A1c in blood was 8.5 ± 3.4 % while the estimated A1c by FGM was 6,7 ± 1.6%. The accuracy of FGM was calculated by using a difference between FGM and CT values, divided by the CT. At the first day, 94.4% of FGM values had < 20% variation from CT, although at the 9th day this number decreased to 56.3 %. Regarding the day period, 59.7% of pre-breakfast, 53.1% of pre-lunch, 58% of pre-dinner and 69.1% of bedtime values by FGM were comparable to CT. The number of hypoglycemia by CT was 0.65 ± 1.4 per patient while by FGM was 7.3 ± 5.8, p=0.034. The number of hyperglycemia by CT was 15 ± 9.9 per patient while by FGM was 12 ± 8.5, p=0,017. The time in range measured by FGM was 37,7% while 26,75% was below and 35,5% was above.

Conclusion:

FGM system is a reliable tool to be used for glucose monitoring in clinical hospitalized patients, although its accuracy decreases along the days of its use. It is a better tool than CT for hypoglycemia diagnosis and maybe it could be considered to be used in hospital glucose monitoring devices because of patient's safety.

Bibliographic references:

1. <http://www.who.int/diabetes/en/> < acessado em 11 de junho de 2017 >
2. Gómez, Ana M. et col. Continuous Glucose Monitoring Versus Capillary Point-of-Care testing for inpatient Glycemic Control in Type 2 Diabetes Patients Hospitalized in the General Ward and Treated with a Basal Bolus Insulin Regimen. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2016. Vol 10 (2) 325-329. DOI 10.1177/1932296815602905
3. Krinsley JS. Association between hyperglycemia and increased hospital mortality in a heterogeneous population of critically ill patients. *Mayo Clin Proc.* 2003;782:1471– 1478.
4. Bogun, Magdalena et al. Inpatient Management of Diabetes and Hyperglycemia *Clinical Therapeutics* , Volume 35 , Issue 5 , 724 – 733, Disponível em <https://secure.jbs.elsevierhealth.com/action/showCitFormats?pii=S0149-2918%2813%2900180-X&doi=10.1016%2Fj.clinthera.2013.04.008&code=clithe-site>
5. Stagnaro-Green A, Barton MK, Linekin PL, Corkery E, deBeer K, Roman SH. Mortality in hospitalized patients with hypoglycemia and severe hyperglycemia. *Mt Sinai J Med.* 1995;62(6):422-426.
6. Ana Maria Gomez, MD and Guillermo E. Umpierrez, MD, CDE. Continuous Glucose Monitoring in Insulin-Treated Patients in Non-ICU Settings. *Journal of Diabetes Science and Technology* 2014, Vol. 8(5) 930–936; DOI: 10.1177/1932296814546025
7. Rajesh Rajendran, MBBS, AHEA, MRCP (UK) and Gerry Rayman, MD, FRCP (UK). Point-of-Care Blood Glucose Testing for Diabetes Care in Hospitalized Patients: An Evidence-Based Review *Journal of Diabetes Science and Technology* 2014, Vol. 8(6) 1081–1090; DOI: 10.1177/1932296814538940
8. Fokkert MJ, vanDijk PR, Edens MA, et al. Performance of the FreeStyle Libre Flash glucose monitoring system in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus. *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2017;5: e000320. doi:10.1136/bmjdr-2016-000320

CO.06

Composição corporal por DXA e suas associações com peso ao nascer e marcadores cardiometabólicos em mulheres jovens no Nutritionists Health Study - NutriHS

Valente AMM¹, Almeida-Pititto B², Ferraro AA³, Oliveira IE², Folchetti LGD¹, Silva IT¹, Ferreira SRG¹ - ¹USP - Faculdade de Saúde Pública, ²UNIFESP, ³USP - Faculdade de Medicina

INTRODUÇÃO: A composição corporal por densitometria (CC-DXA), ao fornecer parâmetros de massa muscular e o tecido adiposo visceral (VAT), auxilia na avaliação de anormalidades crônicas como a sarcopenia e distúrbios cardiometabólicos (CM)^{1,2}, para as quais é desejável a identificação de fatores de risco precoces. Os objetivos deste estudo foram avaliar se o peso ao nascer (PN) associa-se aos parâmetros da CC-DXA e se tais parâmetros associam-se a marcadores CM.

MÉTODOS: Esta análise transversal foi conduzida no baseline do NutriHS, uma coorte de estudantes e egressos de Cursos de Nutrição. 163 participantes (24,5±5,8 anos) responderam questionário sobre eventos precoces da vida e coletaram dados antropométricos, de performance muscular, composição corporal e densitometria óssea por DXA (LunarGE®) e amostra sanguínea. Por regressão linear múltipla testaram-se associações do PN (exposição), com os desfechos: circunferência da panturrilha (CPant), preensão palmar (handgrip) e função muscular, índice de massa magra apendicular (IMMA) e densidades e conteúdos minerais ósseos (DMO e CMO). Associações entre gordura visceral – VAT (exposição) e os desfechos IMC, circunferências do pescoço (CPesc) e abdominal (CA), glicemia, insulina, HOMA, lípidos e marcadores CM foram testadas por regressão logística.

RESULTADOS: As médias de PN, IMC e CA foram 3174±427g; 23,2±3,7kg/m² e 77,5±9,0cm, respectivamente, enquanto a do VAT foi 233,9±322,6g. Na regressão linear univariada, o **PN** associou-se significativamente à CPant, handgrip, IMMA e CMO de coluna lombar e fêmur. Nos modelos múltiplos, ajustados para confundidores, a associação permaneceu para CPant (r²=0,11; p=0,007) e IMMA (r²:0,11; p=0,008). Nas análises de correlação, o **VAT** associou-se com IMC (r:0,62; p<0,001); CA (r:0,64; p<0,001); CPesc (r:0,60; p<0,001); triglicérides (r:0,30; p<0,001); HDL-c (r:- 0,25; p=0,002); IL-6 (r:0,31; p<0,001); IL-10 (r:0,17; p=0,040); selectina-E (r:0,25; p=0,02) e leptina (r:0,27; p<0,001). Na regressão logística ajustada para confundidores, o **VAT** associou-se ao HOMA-IR (OR:3,13; IC95%: 1,30-7,55) e ao HOMA-[Símbolo] (OR:3,40; IC95%:1,41-8,21).

DISCUSSÃO: A associação do PN, indicativo da qualidade do ambiente intrauterino, a marcadores de saúde osteomuscular denota a importância da prevenção de distúrbios desta natureza em fases precoces do desenvolvimento. O VAT, associado diretamente a marcadores CM mesmo em mulheres jovens e saudáveis, sugere seu papel na identificação precoce do risco.

REFERÊNCIAS:

1-Miazgowski, T; Kucharski, R; Soltysiak, M; et al. Visceral fat reference values derived from healthy European men and women aged 20-30 years using GE Healthcare dual-energy x-ray absorptiometry. PLoS One; 12(7): e0180614, 2017.

2-Batsis J.A., Mackenzie T.A., Barre L.K., et al. Sarcopenia, sarcopenic obesity and mortality in older adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey III. Eur J Clin Nutr. 2014; 68: 1001–1007

CO.07

Doença cardiovascular precoce em um dos pais é um fator de risco para obesidade e risco cardiovascular em DM1 masculinos

Valente F¹, Valente T¹, Crispim F¹, Bittencourt C¹, Piveta VM¹, França JI², Moises RC¹, Dib SA¹ - ¹Unifesp - Centro de Diabetes, ²Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

Introdução: A obesidade está aumentando nos diabéticos tipo 1 (DM1) no mundo todo. No seguimento do estudo EDIC, pacientes DM1 que estavam no quartil de maior ganho de peso no grupo de tratamento intensivo tiveram incidência de desfecho cardiovascular (CV) similar aos pacientes do grupo convencional. O objetivo do nosso estudo foi identificar características ligadas ao sobrepeso (SP)/obesidade (OB) e fatores de risco (FR) CV durante o tratamento de vida real em DM1.

Pacientes e Métodos: Avaliamos parâmetros antropométricos, laboratoriais e análise genética (FTO rs9939609 e visfatina rs9770242) de 181 DM1 do Centro de Diabetes da Universidade Federal de São Paulo, dividindo-os de acordo com sexo e IMC.

Resultados: Dos 181 DM1 (idade 23.55±5.51 anos, duração do DM 12.09±7.16 anos, A1c 8.87±1.87%), 87 eram do sexo feminino - 64.4% com peso normal (PN), 26.4% SP e 9.2% OB – e 94 do masculino (77.7% PN, 14.9% SP e 7.4% OB). **Masculino:** o grupo OB tinha idade superior (29.4±3.7 anos OB vs 23.2±5.8 SP vs 22.5±5.3 PN, p=0.0097), TG maiores (180.3±140.2 mg/dL OB vs 74.4±34.4 SP vs 87.0±57.1 PN, p=0.0279), mais parentes de 1º grau com hipertensão (100% OB vs 57.1% SP vs 50.7% PN, p=0.0319), mais parentes de 1º grau com doença CV precoce (28.6% OB vs 7.1% SP vs 2.7% PN, p=0.0236), mais negros (57.1% OB vs 7.1% SP vs 7% PN, p=0.0136), maior PA diastólica (85±8.37 mmHg OB vs 78.93±9.24 SP vs 73.42±9.64 PN, p=0.0090) e menor eGDR (5.35±1.87 OB vs 6.81±1.9 SP vs 7.85±1.67 PN, p=0.0033). O grupo de PN teve PA sistólica menor (134±12.96 mmHg OB vs 126.43±10.99 SP vs 112.81±13.07 PN, p<0.0001). Não houve diferença na A1c (8.5±1.4% OB vs 8.3±1.01% SP vs 8.76±1.77% PN, p=0.8462), dose total de insulina/kg/dia (0.67±0.3 U OB vs 0.89±0.28 SP vs 0.9±0.26 PN, p=0.1143), duração do DM (15.3±8.6 anos OB vs 11.4±6.9 SP vs 11.3±7.0 PN, p=0.5497), atividade física (p=0.7307), adiponectina de alto peso molecular (HMW) (7.44±4.02 µg/mL OB vs 5.20±3.82 SP vs 7.93±5.15 PN, p=0.1955), visfatina (1.86±0.98 ng/mL OB vs 4.4±5.4 SP vs 3.2±3.3 PN, p=0.4483), presença do alelo A do gene FTO (50% OB vs 76.9% SP vs 59.4% PN, p=0.4004) e do alelo T do gene da visfatina (83.3% OB vs 84.6% SP vs 95.7% PN, p=0.1406).

Feminino: o grupo OB apresentou mais parentes de 1º grau com obesidade (62.5% OB vs 47.8% SP vs 25.5% PN, p=0.0324) e os grupos SP e OB tiveram menor eGDR (5.44±2.35 OB vs 6.13±2.12 SP vs 8.0±2.09 PN, p=0.0002). Não encontramos diferenças na A1c (9.03±1.81% OB vs 9.49±2.78 SP vs 8.94±1.74 PN, p=0.962), dose total de insulina/kg/dia (0.82±0.27 U OB vs 0.80±0.26 SP vs 0.87±0.26 PN, p=0.394), duração do DM (12.25±3.73 anos OB vs 14.61±6.28 SP vs 11.8±7.77 PN, p=0.1075), atividade física (p=0.5878), adiponectina HMW (10.24±10.68 µg/mL OB vs 16.1±16.29 SP vs 12.86±13.65 PN, p=0.4586), visfatina (2.67±1.44 ng/mL OB vs 2.27±1.48 SP vs 2.17±1.51 PN, p=0.6667), presença do alelo A do gene FTO (62.5% OB vs 85.7% SP vs 64.8% PN, p=0.1875) e do alelo T do gene da visfatina (100% OB vs 95.2% SP vs 90.7% PN, p=1).

Conclusão: Encontramos que, ao contrário do FTO e adipocinas, ter um dos pais com doença CV precoce é um FR para a obesidade em DM1 masculinos durante o tratamento insulínico de vida real e está associada a outros FRCV. Então, a história

familiar deve ser valorizada desde o início da história natural desses pacientes no alerta para o desenvolvimento de obesidade.

CO.08

Advanced glycated apoAIV is less efficient in reducing inflammation in macrophages and unable to prevent the reduction in *Abca1* and *Abcg1* mRNA induced by LPS

Okuda LS¹, Iborra RT¹, Pinto PR¹, Patel M², Machado UF³, Rye KA², Passarelli M¹ -
¹Laboratorio de Lipides, LIM10, Hospital das Clinicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo, ²Faculty of Medicine, University of New South Wales, ³Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - Departamento de fisiologia e biofísica

Advanced glycation end products impair the HDL and apo AI antiatherogenic properties. We examined the anti-inflammatory and cholesterol efflux capacity of advanced glycated apoAIV (AGE-apoAIV) in macrophages. Recombinant apoAIV (*E. coli*) was glycated in vitro by incubating with 1mM glycolaldehyde, 37°C, 24h; control (C) apoAIV was incubated with PBS alone. Cholesterol-overloaded bone marrow-derived macrophages (BMDM) were treated with C or AGE-apoAIV (50 µg/mL, 48h) and further stimulated with lipopolysaccharide (LPS; 1 µg/mL; 24h). TNF was determined by ELISA, and *Tnf*, *Abca1* and *Abcg1* expression by RT-qPCR (n=9). LDL and ¹⁴C-cholesterol-enriched-BMDM were incubated with C or AGE-apoAIV (50 µg/mL; 8h; n=6) to determine cholesterol efflux. One-way ANOVA or Student t test compared data expressed as mean ± SD.

In comparison to cells treated with LPS alone (8.6 ± 2.1 ng/mL), TNF secretion was reduced by C (0.3 ± 0.08 ng/mL) and AGE-apoAIV (2.0 ± 0.8 ng/mL), although AGE-apoAIV was less efficient than C (p <0.05). The same was observed regarding *Tnf* mRNA level that was diminished 14.3 and 5 times by, respectively, C and AGE-apoAIV. The reduced expression of *Abca1* and *Abcg1* induced by LPS was recovered by C-apoAIV but not by AGE-apoAIV, remaining 50% reduced as compared to C-apoAIV -incubated cells. Cholesterol efflux (%) was similar between C (25 ± 4.5) and AGE- apoAIV (25 ± 3.2).

Advanced glycation disturbs the anti-inflammatory property of apoAIV and its ability in preventing the reduction of *Abca1* and *Abcg1* expression, induced by LPS in macrophages. This may contribute to atherogenesis in diabetes mellitus.

Funding: FAPESP, Brazil (2016/15603-0;2015/21072-5;2013/02854-7; 2013/23392-1)

CO.09

Intestinal Microbiota Changes in Mild Obese Diabetic Patients After Duodenal Jejunal Bypass

Cortez RV¹, Petry TB², Fonseca RP³, Sanabani SS^{3,4}, Martinez M¹, Sarian T², Cohen R², Salles JE⁵, Taddei CR^{1,6} - ¹USP - Department of Clinical and Toxicological Analyses, ²Hospital Alemão Oswaldo Cruz - Center for Obesity and Diabetes, ³HCFMUSP - Department of Pathology, ⁴USP - São Paulo Institute of Tropical Medicine, ⁵School of Medical Sciences Santa Casa, ⁶USP - School of Arts, Science and Humanities

INTRODUCTION

The gut microbiota is as an important modulator of type 2 diabetes (T2D). Environmental and genetic factors interact to control the host intestinal microbiota, triggering metabolic disorders such as obesity and insulin resistance. The objective of this study was to identify the fecal microbiota in adult T2D patients and to assess changes in its composition after metabolic surgery.

METHODS

21 patients were enrolled in a randomized controlled study divided into two arms. One group underwent duodenal-jejunal bypass surgery with minimal gastric resection (DJBm) and the other group received standard care; both groups were followed for 12 months. Fecal samples were collected at baseline and after 6 and 12 months. Fecal microbiota was analyzed using high throughput sequencing with V4 *16S rRNA* primers.

RESULTS

The fecal microbiota in DJBm group (*Bacteroides*, *Akkermansia* and *Dialister*) exhibited increased abundance and diversity compared with standard care group. This data suggests that DJBm increases microbial richness and abundance, mainly for those bacteria related to weight loss and metabolic control, providing better understanding of the role of the microbiota in T2D regulation and its changes after metabolic surgery.

DISCUSSION

In this cohort, the phyla profile was similar to the literature (1,2). Firmicutes remains the dominant phyla at baseline, however Bacteroidetes increased after surgery; Verrucomicrobia was also increased in the surgery group. Intestinal microbiota changes were evident after DJBm compared to standard care. After DJBm, there was an increase

of diversity and richness of *Bacteroides*, *Akkermansia*, and *Dialister*. However, the individual results showed unique profiles, in accordance to observations of inter-individual microbial variability (3). Therefore, we have consistent data suggesting the role of DJBm to increase microbial richness and abundance, mainly for those bacteria related to weight loss and metabolic control (*A. muciniphila*) (4,5).

Financial support – CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) n° 479842/2013-2 to CRT.

REFERENCES

1. Backhed, F. Addressing the gut microbiome and implications for obesity. Internatl Dairy Journ 2010;20(4):259-261.
- 1 Ley, RE et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. Nature 2006;444:1022–1023.
- 1 Eckburg, PB et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science. 2005;10(308-5728):1635-8.
- 1 Dao, MC et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. Gut 2016;65:426-436.
- 1 Greer, RL et al. *Akkermansia muciniphila* mediates negative effects of IFN γ on glucose metabolism. Nat Commun. 2016;14(7):13329.

CO.10

PAPEL DOS TELÔMEROS NA LIPODISTROFIA PARCIAL FAMILIAR DO TIPO 2

Ramalho FNZ¹, Moscardini I¹, Beraldo RA¹, Leite MN², Lemos BS³, Frade MAC², Calado RT³, Freitas MCF¹ - ¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Divisão de Endocrinologia, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Divisão de Dermatologia, ³Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Divisão de Hematologia

INTRODUÇÃO: As lipodistrofias são um grupo de doenças caracterizadas por perda de gordura corporal. Dentre as formas genéticas, a mais prevalente é a autossômica dominante do tipo 2, mais formalmente FPLD2 (do inglês, *Familial Partial Lipodystrophy Type 2*), denominada também como variante de Dunnigan ou síndrome de Dunnigan, caracterizada por uma mutação envolvendo especificamente as lâminas A e C ou gene *LMNA*. Comumente, a mutação causadora de FPLD2 envolve o códon R482W, e em menor frequência, o códon R644C (1). Evidências sugerem que a alteração dessas proteínas enfraquece a integridade e a estrutura do envelope nuclear, o que deterioraria a estrutura do núcleo do adipócito, conduzindo em última instância à morte celular prematura. Além disso, foi visto que lâminas A e C ligam-se a sequências teloméricas (2,3). Nesse contexto, o objetivo do presente estudo é investigar o tamanho do telômero e avaliar a relação entre telômeros e lâminas A e C em indivíduos portadores de Lipodistrofia Parcial Familiar do tipo 2.

MÉTODOS: O estudo está sendo realizado no laboratório de Diabetes Mellitus do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HC-RP), com pacientes com FPLD selecionados no Ambulatório de Diabetes desse mesmo hospital e indivíduos saudáveis recrutados voluntariamente como controles. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-RP (Parecer nº 2.501.481/2017). Foram feitas análises bioquímicas de lipoproteínas séricas e glicemia. Amostras de pele foram coletadas para realização de imunohistoquímica para detecção das lâminas A/C com anticorpo monoclonal específico. Foi extraído DNA genômico do sangue periférico para avaliar, através da técnica de Southern Blotting, o comprimento dos telômeros. Por fim, a atividade da telomerase foi avaliada com um kit comercial que combina PCR e técnicas de ensaio imunoenzimático.

RESULTADOS PARCIAIS: Foi observado ausência de diferença significativa entre as faixas etárias dos pacientes controles (37.25 ± 5.40) e dos portadores das mutações R644C (46.40 ± 1.2) e R482W (40.20 ± 6.59). No entanto, percebemos diferença significativa entre o Índice de Massa Corporal (IMC) dos pacientes portadores da mutação R644C (28.28 ± 1.30) e da mutação R482W (22.94 ± 0.91 , $P < 0.05$), bem como entre os níveis de triglicérides dos pacientes portadores da mutação R482W (271.8 ± 66.47 , $P < 0.05$) em relação ao grupo controle (98.0 ± 26.73).

DISCUSSÃO: Os resultados preliminares demonstram que a mutação R482W determina provavelmente um perfil de doença mais agressivo, visto pela maior perda de gordura corporal e pela alteração de parâmetros bioquímicos e metabólicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies. *N Engl J Med* 350(12): 1220–34. 2004

Gonzalez-Suarez et. al. Nurturing the genome: A-type lamins preserve genomic stability. *Nucleus*. 1:129-35. 2010

Huang S et. al. Accelerated telomere shortening and replicative senescence in human fibroblasts overexpressing mutant and wild-type lamin A. *Exp Cell Res* 314:82-91. 2008

FINANCIAMENTO: FAEPA - Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do HCFMRP-USP

CO.11

ASSOCIATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION WITH CARDIOVASCULAR RISK FACTORS AND NEW ONSET DIABETES IN PATIENTS WITH HYPERTENSION

Triches CB¹, Mayer S², Quinto BMR², Batista MC³, Zanella MT¹ - ¹UNIFESP - Endocrinology Division, ²UNIFESP - Nephrology Division, ³Hospital Israelita Albert Einstein - Research and Education Institute

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-cholesterol 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.

Key words: Asymmetrical Dimethylarginine – cardiovascular risk factors – type 2 diabetes mellitus– metabolic syndrome – cardiovascular disease– cardiovascular death.

The study was approved by the Ethics and Research Committee (no. 116.001/97988, Ministry of Health, Brazil). All patients provided written informed consent. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and with the Brazilian National Ministry of Health Resolution CNS 196/96.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

CO.12

Aumento de Cintura Abdominal Está Associado a Aumento de Filtração Glomerular em uma AMOSTRA de Pacientes Hipertensos e Não Diabéticos

Lobo SMV¹, Monteagudo PT¹, Triches CB¹, Zanella MT¹ - ¹UNIFESP - Disciplina de Endocrinologia

Introdução: A hiperfiltração glomerular é a fase inicial da doença renal crônica que afeta pacientes obesos e pacientes diabéticos¹. A hiperinsulinemia característica dos estados de resistência à insulina e a hiperglicemia são condições que favorecem o aumento de reabsorção de sódio nos túbulos proximais e o aumento da filtração glomerular por dilatação da arteríola aferente^{2,3}. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre as variações da filtração glomerular e variações nas condições de resistência à insulina e de glicemia em uma população de hipertensos não diabéticos.

Métodos: Foi feita análise prospectiva de 97 de 213 indivíduos de uma população seguida no Centro de Metabologia Cardiovascular da UNIFESP entre 2004 e 2014. Pacientes não diabéticos, hipertensos e em uso de IECA ou BRA foram divididos em 2 categorias: grupo 1 (G1), com 30 participantes que apresentaram aumento da taxa de filtração glomerular (TFG) estimada pelo CKDEPI > 1mL/min/1,73m² por ano e o grupo 2 (G2), com 67 indivíduos que perderam ou que mantiveram função renal (variação de CKD EPI ≤ 1mL/min/1,73m²). Foram analisados dados antropométricos (índice de massa corporal – IMC, peso, cintura abdominal - CA), pressão arterial (PA), glicemia, HDL, triglicérides e microalbuminúria.

Resultados: o tempo de seguimento foi 5,9 ± 1,1 anos, não sendo diferente entre os grupos. A média de idade no G1 foi 60,1 ± 8,9 anos e no G2 foi 59,9 ± 9,7 anos (*ns*) e o IMC na linha de base foi 30,1 ± 6,1kg/m² no G1 vs 29,3 ± 5,5 kg/m² no G2 (*ns*). No G1 havia 76,6% de pacientes com obesidade ou sobrepeso e no G2, 83,5% (*ns*). A TFG do G1 no início do seguimento era menor do que no G2 (74,9 ± 11,3 vs 84,8 ± 15,7 mL/min/1,73m² p 0,001). Ao final do seguimento a TFG no G1 era maior (87,33 ± 11,2 vs 80,9 ± 16,7 mL/min/1,73m² p 0,029). A média da variação de CKD EPI do G1 foi 12,45 ± 5,6 mL/min/1,73m² vs -3,90 ± 7,65 mL/min/1,73m² no G2 (p<0,001). Não houve diferença entre os grupos em relação à presença de microalbuminúria na linha de base nem ao final do seguimento. O G1 apresentou maior aumento de CA em relação ao G2 (8,1 ± 8,1cm vs 4,7 ± 6,1cm p 0,032). Foi observada associação entre variações de TFG e de cintura ($r_s=0,281$, p 0,013), mas somente nos indivíduos com IMC>25kg/m². Não houve diferença entre o G1 e G2 quanto a outros parâmetros de resistência à insulina (HDL, triglicérides) nem em relação à variação de glicemia. 43,3% dos pacientes do G1 e 26,9% no G2 se tornaram diabéticos, mas essa diferença não atingiu significância estatística. A variação do CKDEPI no grupo que se tornou diabético foi 2,3 ± 11,0 vs -0,6 ± 10,1 mL/min/1,73m² no outro grupo (*ns*). No grupo DM o aumento de CA foi 6,5 ± 7,3cm vs 5,4 ± 6,7cm no grupo não DM (*ns*).

Discussão: O aumento do estado de resistência à insulina parece ter impacto no aumento da filtração glomerular nos néfrons remanescentes de uma população de hipertensos com sobrepeso/obesidade, apesar do bloqueio do sistema renina angiotensina aldosterona.

Referências

1. De Cosmo S et al. Nephrol Dial Transplant. 28: 29. 2013
2. Palatini P. Nephrol Dial Transplant 27:1708. 2012
3. Naderpoor N et al. Sci Rep. 7:45522. 2017.

CO.13

Tratamento com protocolo de restrição calórica em indivíduos portadores de diabetes mellitus tipo 2, reduz os níveis de glicemia de jejum e Hb1Ac, reverte a dislipidemia e controla a hipertensão arterial.

Ferraz RC¹, Beraldo RA¹, Marfori L, Gomes P, Suen V, Foglietti R, Foss MC, Foss-Freitas MC¹ - ¹School of Medicine of Ribeirao Preto University of Sao Paulo - Department of Internal Medicine Division of Endocrinology and Metabolism

Introdução: A restrição calórica tem se mostrando como uma ótima intervenção no combate as doenças metabólicas em diferentes espécies, de leveduras à mamíferos. Entretanto os dados clínicos e moleculares sobre a restrição calórica em seres humanos não estão bem estabelecido, necessitando de estudos mais complexos e detalhados a fim de compreender melhor o mecanismo de atuação dessa intervenção.

Métodos: Utilizando abordagem nutricional personalizada e rigidamente controlada, nós submetemos indivíduos portadores de diabetes mellitus tipo 2 com controle metabólico inadequado a restrição alimentar durante 27 dias na Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

Resultados: Após o tratamento mostramos uma redução dos níveis de glicemia de jejum em 61,93%, acompanhado da redução de 17,97% de Hb1Ac. Os níveis de colesterol total diminuíram 42,87% juntamente com os valores de triglicérides em 52,42%. Em média os participantes do tratamento apresentaram uma redução do peso corporal de 7,2%, destaca-se que a redução da perda de peso esta relacionada a redução de 17% da massa gorda com a manutenção da massa magra. Consistente com os resultados metabólicos observamos, também, que todos os indivíduos portadores de hipertensão arterial apresentaram redução na pressão arterial sistólica e diastólica, que foi normalizada em 37,6% e 52,4%, respectivamente. Ao analisarmos a expressão gênica do tecido adiposo subcutâneo dos indivíduos participantes do estudo observamos a ativação de SIRT1 e SIRT3 ($p=0.0007$ e $p=0.0366$) com um conseqüente aumento de PGC1 α ($p=0.0010$), além da modulação de sensores metabólicos como AMPK e GCN2 ($p< 0.0001$ e $p=0.0004$). Notamos também um aumento de adiponectina ($p< 0.0001$) e ATF4 ($p=0.0022$).

Discussão: Nossos resultados demonstram que a restrição alimentar controlada e personalizada é capaz de reduzir os níveis glicêmicos e lipídicos, além de normalizar a pressão arterial sistêmica. Ainda encontramos que a restrição alimentar modulou a expressão gênica de diversas vias metabólicas importantes para o reequilíbrio da homeostase metabólica nessa população. Futuros experimentos serão feitos para elucidar os mecanismos de ação da restrição calórica em pacientes que apresentam diabetes mellitus tipo 2.

CO.14

AUMENTO DA EXPRESSÃO DO hsa-miR-518d-3p E hsa-miR-618 NO SORO DE INDIVÍDUOS COM DM1 COM COMPLICAÇÕES CRÔNICAS MICROVASCULARES

Santos-Bezerra DP¹, Santos AS¹, Admoni SN¹, Perez RV¹, Pelaes TS¹, Passarelli M², Machado UF³, Queiroz MS⁴, Silva MER¹, Corrêa-Giannella ML^{1,5} - ¹Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil - Laboratório de Carboidrato e Radioimunoensaio, LIM-18, ²Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil - Laboratório de Lípidos, LIM-10, ³Departamento de Fisiologia e Biofísica - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, ⁴Divisão de Endocrinologia do Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil, ⁵Programa de Pós-Graduação em Medicina - Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil

Introdução: As alterações epigenéticas têm sido reconhecidas na patogênese das complicações crônicas do diabetes (DM); vários estudos já mostraram que períodos de hiperglicemia resultam em anormalidades permanentes nos tecidos-alvo das complicações, fenômeno conhecido como “Memória metabólica”. Um dos mecanismos epigenéticos é o controle da expressão gênica por meio de microRNAs (miRNAs), pequenos RNAs não codificantes que reprimem a tradução de RNA mensageiros (mRNA)-alvos. A hipótese do presente estudo é que o perfil sérico de miRNAs seja diferente entre indivíduos com DM tipo 1 (DM1) com e sem complicações crônicas, refletindo mecanismos regulatórios suscetíveis a modificações pela hiperglicemia crônica. **Métodos:** Para caracterizar e comparar o perfil de miRNAs sérico, o soro de 10 pacientes pré-selecionados dentre os pacientes acompanhados no Ambulatório de Diabetes do HCFMUSP foi coletado; Grupo 1, cinco pacientes sem complicações microvasculares [sem doença renal diabética (DRD) sem polineuropatia sensitivo-motora distal (NP), sem neuropatia autonômica cardiovascular (NAC) e sem retinopatia diabética (RD)] e Grupo 2, cinco com pacientes com complicações microvasculares [com DRD, com NP, com NAC e RD grave]. O perfil de miRNAs foi caracterizado com o uso do estojo comercial que utiliza sondas de hidrólise baseadas no sistema *Taqman Low Density Arrays* para a análise da expressão de 381 miRNAs. Os cinco miRNAs diferencialmente expressos entre os dois grupos com maior diferença estatística (518-3p, 34a-5p, 126-5p, 425-5p e 618) foram validados no soro de 47 indivíduos com DM1, 20 sem complicações microvasculares e 27 com complicações microvasculares.

Resultados: Do total de 381 miRNAs avaliados, 193 estavam expressos no soro dos pacientes com DM1, sendo que um total de 21 miRNAs estavam superexpressos no grupo com complicações microvasculares. Dos cinco miRNAs validados, dois foram confirmados como diferencialmente expressos entre os dois grupos de pacientes estudados, o 518d-3p e o 618. **Discussão:** O miR-518d-3p tem como alvo o mRNA do proliferador de peroxissoma alfa (PPARA), que tem

papel crítico na homeostase lipídica e na inflamação e cuja menor expressão foi demonstrada na retina de animais com DM1 e DM2. O miR-618 tem como um dos alvos o mRNA do *TXNIP*, que interfere com a atividade antioxidante da tiorredoxina e cuja menor expressão já foi observada em indivíduos com DM1 e complicações crônicas.

Agradecimentos: Projetos Temáticos FAPESP 2012/04831-1 e 16/15603-0 e CNPq - 162789/2015-7

miRNAS POTENCIALMENTE REGULADORES DO GLUT4: ALTERAÇÕES DE EXPRESSÃO EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS DIABÉTICOS

Esteves JV¹, Yonamine CY¹, Pinto-Júnior DC¹, Gerlinger-Romero F², Okamoto MM¹, Machado UF¹ - ¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - Departamento de Fisiologia e Biofísica, ²Institute for Physical Activity and Nutrition, Deakin University - School of Exercise and Nutrition Sciences

Introdução: Diabetes é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia associada a prejuízos na captação de glicose, em que a redução na expressão da proteína GLUT4 (codificada pelo gene *SLC2A4*), desempenha papel fundamental.

Recentemente, um novo elemento vem sendo relacionado à etiopatogenia e à fisiopatologia do diabetes, os microRNAs (miRNAs), que são um grupo de pequenos RNAs envolvidos na regulação da expressão gênica, geralmente afetando a estabilidade e degradação de mRNAs. Entretanto, a participação de miRNAs envolvidos na redução da expressão de GLUT4, conseqüentemente na redução da captação de glicose, sobretudo em músculo esquelético, é pouco conhecida. Assim, o objetivo desse trabalho foi investigar a expressão de miRNAs potencialmente reguladores da expressão de *Slc2a4*/GLUT4 em músculo esquelético de ratos diabéticos.

Métodos: Ratos Wistar machos (70 dias) foram tornados diabéticos pela administração de estreptozotocina (50 mg/kg, i.v.). Após 13 dias, 3 grupos foram formados: não-diabético (ND) e diabético tratado com placebo (DP) ou insulina (DI) (Insulina NPH, 6U/dia). O tratamento foi conduzido por 7 dias, totalizando 21 dias de diabetes. Ao final do período experimental, variáveis metabólicas foram avaliadas e os músculos sóleos foram removidos para avaliar a expressão do mRNA *Slc2a4* e diferentes miRNAs por RT-qPCR e da proteína GLUT4 por Western blotting. Uma abrangente análise *in silico* foi conduzida para determinar os miRNAs candidatos a regularem a expressão de *Slc2a4*.

Resultados e Discussão: Os animais diabéticos apresentaram perda de peso e de massa muscular, glicosúria, hiperglicemia e aumento de frutossamina plasmática; a insulino terapia melhorou estas variáveis. O diabetes reduziu a expressão do mRNA *Slc2a4* (~55%) e da proteína GLUT4 (~77%); a insulino terapia restaurou esse prejuízo. A análise *in silico* indicou 651 miRNAs candidatos a regularem *Slc2a4*, e destes, vinte foram avaliados. Sete miRNAs foram modulados pelo diabetes ($P < 0,05$ a $P < 0,001$), sendo dois *upregulated*, miR-29b-3p (~118%) e miR-29c-3p (~51%); e cinco *downregulated*, miR-93-5p (~39%), miR-150-5p (~32%), miR-199a-5p (~30%), miR-345-3p (~23%) e miR-532-3p (~26%). Exceto pelo miR-150-5p, a insulino terapia reverteu as demais alterações. Além disso, miR-29b/c-3p correlacionaram-se negativamente com GLUT4, e positivamente com glicemia, glicosúria e frutossamina, sugerindo uma possível relação causal; enquanto que miR-199a-5p e miR-532-3p correlacionaram-se positivamente com GLUT4 e também com as variáveis metabólicas, sugerindo uma regulação indireta sobre o mRNA *Slc2a4*. No último caso, demonstrou-se que o miR-199a-5p tem como alvo o NFkB1, um repressor do gene *Slc2a4*, o qual diminuiu no diabetes, explicando, pelo menos parcialmente, o efeito indireto sobre GLUT4. Em suma, o diabetes aumenta a expressão de miR-29b-3p e miR-29c-3p, e reduz a expressão de miR-199a-5p e miR-532-3p; o primeiro efeito, potencialmente age diretamente na tradução do mRNA *Slc2a4*, e o segundo, potencialmente age indiretamente, via NFkB, na transcrição do gene. Como conseqüência, a proteína GLUT4 diminui, o que reduziria a captação de glicose pelo músculo, contribuindo para

a hiperglicemia do diabetes.

Financiamento: FAPESP (#2017/19449-9 e # 2016/15603-0).

CO.16

SECREÇÃO E SINALIZAÇÃO PERIFÉRICA DA INSULINA EM MODELO ANIMAL HIPERCOLESTEROLÊMICO (LDLR^{-/-}).

Souza JC¹, Vanzela EC¹, Carneiro EM¹, Oliveira HCF¹, Boschero AC¹ - ¹UNICAMP - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

Introdução: Estudos clínicos e experimentais mostram uma forte relação entre distúrbios no metabolismo lipídico, resistência à insulina e desenvolvimento de diabetes mellitus do tipo 2 (DM2). Recentemente, meta-análises também apontam que o uso de drogas hipolipemiantes da classe das estatinas podem aumentar o risco de desenvolvimento de DM2. Neste trabalho investigamos as alterações na secreção e sinalização periférica da insulina em camundongos (LDLR^{-/-}), bem como os efeitos do uso da sinvastatina na homeostase glicêmica destes animais. **Métodos:** Camundongos wild-type (WT) e LDLR^{-/-}, com 4 meses de idade foram alimentados com dieta padrão durante todo o período experimental. Os animais foram divididos em grupos que receberam Sinvastatina (40mg/Kg) ou veículo (carboxymethyl-cellulose 0.5%) por gavagem oral durante 30 ou 60 dias. Ao final do período experimental foram realizados os testes de tolerância a glicose (oral) e insulina (intraperitoneal). Os animais foram mortos por decapitação e as ilhotas pancreáticas isoladas e utilizadas para ensaios de secreção estática de insulina (radioimunoensaio), medida do conteúdo de colesterol (teste fluorimétrico), e expressão de proteínas (western-blot). Nos ensaios de sinalização insulínica os animais receberam 0.75U/kg de insulina via injeção portal e os tecidos foram processados para análises da expressão da pAKT. **Resultados:** Camundongos LDLR^{-/-} apresentaram menor tolerância a glicose, redução da secreção insulínica e aumento da expressão proteica de marcadores de estresse de retículo (Bip, pPERK e XBP1s) comparados ao grupo WT. O tratamento com sinvastatina por 30 dias reduziu o conteúdo de colesterol nas ilhotas pancreáticas ($3,959 \pm 0,2499$ vs $2,989 \pm 0,100$, $p < 0.05$), os marcadores Bip e s-XBP1, melhorou a secreção de insulina ($1,652 \pm 0,15$ vs $2,058 \pm 0,19$, $p < 0.05$, LDLR^{-/-} vs LDLR^{-/-} Sinv respectivamente) e não alterou significativamente a fosforilação da AKT no fígado e músculo. Com 60 dias de tratamento a secreção de insulina se manteve semelhante a observada com 30 dias porém, observamos redução significativa ($p < 0.05$) da fosforilação da AKT em músculos. **Conclusão:** O aumento nos níveis de colesterol nas ilhotas pancreáticas, prejudicam a secreção de insulina e ativam vias de estresse de retículo endoplasmático. O uso da Sinvastatina, promoveu a redução dos níveis de colesterol nas ilhotas dos LDLR^{-/-}, diminuiu marcadores de estresse de retículo e melhorou a secreção de insulina tanto em machos como fêmeas. O tratamento prolongado com Sinvastatina afetou negativamente o processo de sinalização insulínica no músculo, causando resistência à insulina, o que pode a longo prazo contribuir para o surgimento do DM. **Auxílio financeiro:** FAPESP (Projetos: 23370-2; 15/12611-0), CNPq e Capes.

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THIOREDOXIN INTERACTING PROTEIN (TXNIP) GENE IN THE DIFFERENTIATION OF EMBRYONIC STEM CELLS INTO INSULIN-PRODUCING CELLS

Leal-Lopes C¹, Lojudice FH², Sogayar MC¹ - ¹USP - Departamento de Bioquímica, ²USP - NUCEL

INTRODUCTION: Alternative therapies involving cell replacement have raised great expectations for the treatment of type 1 diabetes mellitus (T1DM). Since islet transplantation is based on islet isolation from pancreas of cadaveric donors, which are frequently in great shortage and demand, an interesting alternative therapy for T1DM would be the engraftment of insulin-producing cell (IPCs) differentiated from embryonic stem cells (ESCs). Understanding the mechanisms that lead to the differentiation of ESCs into IPCs lays the foundation for the existence of renewable tissue for diabetic patients' therapy. This study aims to analyze the process of pancreatic beta-cell differentiation, at the molecular level, through functional analysis of the Txnip gene, which is repressed during this process (LOJUDICE, 2008), and to validate the results using the zebrafish model. **METHODS:** We promoted murine ESCs (mESCs) differentiation into IPCs through a five-step protocol. The expression of Txnip at all stages was quantified by qRT-PCR. The ability of IPCs to secrete C-peptide was evaluated by ELISA. Lentiviral vectors for inhibition of Txnip gene expression were produced and used to establish genetically modified mESC lines. These lines were phenotypically characterized. Also, Txnip expression was inhibited on zebrafish lines using morpholinos and the pancreatic development was evaluated through confocal microscopy. **RESULTS:** IPCs were obtained from mESCs through the beta-pancreatic differentiation protocol. These cells are able to secrete C-peptide and we confirmed the downregulation of the Txnip gene during the beta-cell differentiation protocol. Txnip knockdown promoted the differentiation of IPCs with higher expression of β -cell markers and better responsiveness to glucose stimulus. Using the zebrafish model, it was showed that Txnip inhibition is able to increase endocrine cell mass during pancreas development by the stimulation of progenitor cells present on the extra-pancreatic duct. Furthermore, Txnip knockdown drives endocrine differentiation toward a β -cell phenotype. **DISCUSSION:** Txnip knockdown controls the expression of miRNAs, such as miR-204, increasing the expression of key β -cell transcription factors, like MafA (XU et al., 2013). The zebrafish model allowed the elucidation of Txnip knockdown role during pancreas organogenesis, showing that, on the context of Nkx2.2a expressing progenitor cells, MafA induced expression may drive the differentiation towards endocrine cells. Due to this mechanism, we hypothesize that Txnip inhibition may drive the differentiation of progenitor cells towards a β -cell phenotype, corroborating Txnip potential to stablish renewable tissue for diabetic patients' therapy.

ACKNOWLEDGEMENTS: Fapesp, Capes, CNPq, BNDES

KEY WORDS: Type 1 Diabetes Mellitus, Embryonic Stem Cells, Thioredoxin-interacting protein

REFERENCES: LOJUDICE, F. H. Identificação de genes diferencialmente expressos durante diferenciação de células-tronco e caracterização de células progenitoras mesenquimais. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2008. XU, G. et al. Thioredoxin-interacting protein regulates insulin transcription through microRNA204. Nature medicine, v. 19, n. 9, set. 2013.

CO.18

BLOCKING iNOS AND ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS SYNERGISTICALLY IMPROVES INSULIN RESISTANCE IN MICE.

Zanotto MT, Quaresma FG, Guadagnini D, Weissmann L, Santos CA, Vecina JF, Calisto K, Santos A, Prada PO, Saad MJA

Objective

Recent data show that iNOS has an essential role in ER stress in obesity. However, whether iNOS is sufficient to account for obesity-induced ER stress and Unfolded Protein Response (UPR) has not yet been investigated. In the present study, we used iNOS knockout mice to investigate whether high-fat diet (HFD) can still induce residual ER stress-associated insulin resistance.

Methods

For this purpose, we used the intraperitoneal glucose tolerance test (GTT), euglycemic-hyperinsulinemic clamp, western blotting and qPCR in liver, muscle, and adipose tissue of iNOS KO and control mice on HFD.

Results

The results of the present study demonstrated that, in HFD fed mice, iNOS-induced alteration in insulin signaling is an essential mechanism of insulin resistance in muscle, suggesting that iNOS may represent an important target that could be blocked in order to improve insulin sensitivity in this tissue. However, in liver and adipose tissue, the insulin resistance induced by HFD was only partially dependent on iNOS, and, even in the presence of genetic or pharmacological blockade of iNOS, a clear ER stress associated with altered insulin signaling remained evident in these tissues. When this ER stress was blocked pharmacologically, insulin signaling was improved, and a complete recovery of glucose tolerance was achieved.

Conclusions

Taken together, these results reinforce the tissue-specific regulation of insulin signaling in obesity, with iNOS being sufficient to account for insulin resistance in muscle, but in liver and adipose tissue ER stress and insulin resistance can be induced by both iNOS-dependent and iNOS-independent mechanisms.

Acknowledgements

We would like to thank Luis Janeri, Jósimo Pinheiro, Dioze Guadagnini, and Andrey Santos for their technical assistance.

We also acknowledge the financial support from State University of Campinas (FAEPEX), CEPID, OCRC (Centro de Pesquisa em Obesidade e Comorbidades), INCT (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Obesidade e Diabetes) and from FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) and CAPES/CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

CO.19

FACTORS ASSOCIATED TO REDUCED BONE MINERAL DENSITY IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Faro FN¹, Parente EB¹, Medeiros MA¹, Oliveira MMB¹, Asato MT¹, Salles JEN¹ -
¹Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

INTRODUCTION: Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is associated with increased fracture risk besides higher Bone Mineral Density (BMD), compared to non-diabetic controls. Factors influencing fracture risk are well established in literature, however studies on BMD have shown contradictory results. Objective: Evaluate risk factors for BMD variation and fractures in T2DM.

METHODS: This cross-sectional study included patients aged 18 years and older with T2DM and lumbar and femoral BMD measurement by dual energy X-ray absorptiometry (DXA) in the last year. Data was collected from medical records from July 2016 to June 2017. Exclusion criteria was secondary causes of osteoporosis. SPSS 13.0 was used for statistical analysis.

RESULTS: A total of 117 patients, 86.3% female, 63.8 ± 8.21 years, 69% overweight, 78.6% hypertension, 83.8% dyslipidemia and 97.4% were menopause women (86.7% without hormone therapy replacement). Duration of diabetes was 15.69 ± 9.99 years, 74.3% were using insulin, 26.5% with macrovascular complications (16.2% heart attack, 9.4% stroke and 12% peripheral artery disease) and 71.8% with microvascular complications (46.5% retinopathy, 49.6% neuropathy and 38.6% albuminuria). Mean glycated hemoglobin (HbA1c) was 7.7% ± 1.52. Osteopenia was present in 36.8% and osteoporosis in 22.2%. Only 5 (4.3%) presented clinical fracture.

BMD and fracture risk had no correlation to HbA1c. BMD was inversely correlated to age (femoral neck e total hip), microvascular complications (lumbar e femoral neck), albuminuria (femoral neck), neuropathy (lumbar and femoral neck) and peripheral artery disease (femoral neck). Higher BMD was correlated to male gender (lumbar) and higher Body Mass Index (three sites). In multiple analysis, microvascular complication was the only variable associated to BMD (total hip; p = 0.03).

CONCLUSION: The prevalence of fractures in our population was lower than the literature and not correlated to A1c levels. Underdiagnosis of spine fractures might have contributed to this result. The positively correlation of higher Body Mass Index and male gender is in accordance with previous data. We observed negative correlation between microvascular complications and BMD that could be explained by the negative influence of diabetic microangiopathy on bone metabolism. We emphasize the early treatment of T2DM to prevent microvascular complications and reduced BMD and suggest to consider performing DXA in patients with T2DM and microvascular complications. Limitations of our study were non-evaluation of bone microarchitecture and asymptomatic fractures.

BIBLIOGRAPHY:

1. Chen H, *et al.* Diabetes Res Clin Pract. 2013.
2. Leidig-Bruckner G, *et al.* BMC Endocrine Disorders. 2014.
3. Lim Y, *et al.* Osteoporos Int. 2016.

4. Shanbhogue V, *et al.* Lancet Diabetes Endocrinol. 2017.
5. Shanbhogue V, *et al.* Eur J Endocrinol. 2016.

CONTROLE DA BIOGÊNESE MITOCONDRIAL E ESTADO REDOX EM TECIDOS ALVO DA INSULINA.

Lima TI¹, Silveira LR¹ - ¹UNICAMP - Centro de Pesquisa em Obesidade e Comorbidades

Introdução: A capacidade de sincronizar vias metabólicas a estímulos ambientais é um aspecto central da homeostase em mamíferos. Dentro desse contexto, o controle molecular da função mitocondrial representa um aspecto fundamental e defeitos na integridade desse sistema podem levar a severas perturbações à homeostase celular levando a um amplo espectro de doenças como a obesidade e o diabetes tipo 2. O controle transcricional do metabolismo energético é um processo dinâmico que depende da ação coordenada de fatores de transcrição, enzimas modificadoras de cromatina e co-reguladores transcricionais. Co-reguladores podem agir como interruptores transcricionais ativando ou reprimindo a atividade de receptores nucleares. Entretanto, em células do músculo esquelético, o mecanismo integrado de co-reguladores na função mitocondrial ainda não foi elucidado.

Métodos: Realizamos silenciamento e expressão dos co-reguladores, ensaios de bioenergética mitocondrial, ensaios de transativação (PPRE), imunoprecipitação de cromatina (ChIP), perfil transcricional e análises *in silico* para avaliar o papel dos co-reguladores no controle da homeostase mitocondrial.

Resultados: Neste estudo, demonstramos que o co-ativador PGC-1 α e o co-repressor NCoR1 são importantes mediadores do metabolismo energético e da homeostase redox mitocondrial em células musculares. Nossos resultados sugerem que os efeitos desses co-reguladores são mediados pela transativação do elemento responsivo de PPAR (PPRE) em promotores de seletos grupos de genes. Ainda, a indução da capacidade oxidativa e da defesa antioxidante pelo silenciamento de NCoR1 ou pela expressão de PGC-1 α atenua a produção de espécies reativas de oxigênio e a morte celular induzida por estresse metabólico.

Discussão: Essas evidências sugerem que o equilíbrio entre a ativação e a repressão transcricional em promotores contendo PPREs exerce um papel central na função mitocondrial em células musculares esqueléticas. Coletivamente, os resultados deste estudo indicam que o antagonismo entre os co-reguladores PGC-1 α e NCoR1 é um componente central no controle da função mitocondrial representando uma interface promissora para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para o tratamento e prevenção da disfunção metabólica.

Entidades financiadoras: FAPESP, CNPQ, CAPES.

CO.21

HETEROGENEIDADE CLÍNICA E GENÉTICA DOS PACIENTES COM VARIANTES NO GENE *HNF1B*

Dotto RP¹, Reis AF¹ - ¹UNIFESP - Departamento de Medicina - Disciplina de Endocrinologia

O gene *HNF1B* foi associado com doença renal cística pouco tempo após ser reconhecido como causador de “maturity onset diabetes of the young” (MODY). A síndrome secundária as mutações neste gene receberam a denominação inicial de “Síndrome de Cistos Renais e Diabetes” por Bingham et al. Entretanto, com o aumento de casos publicados, demonstrou-se quadro clínico mais amplo e muito variável, sendo que o DM em geral não é o primeiro fenótipo a surgir e acomete cerca de 45% dos pacientes, com mais de 79% em uso de insulina. Destaca-se uma parcela grande dos pacientes com mutação no *HNF1B* que possuem alterações em inúmeros órgãos e sistemas como fígado (elevação de enzimas), rins (além de cistos, alterações funcionais e morfológicas), pâncreas (além de DM, insuficiência exócrina e alterações morfológicas), e trato genital (alterações morfológicas). Em função deste quadro muito heterogêneo e multisistêmico Faguer e colaboradores desenvolveram um escore com pontuações baseada nos dados clínicos e laboratoriais para melhorar a performance de recrutamento dos indivíduos com suspeita de mutações no gene. As mutações genéticas relacionadas com *HNF1B* são divididas em duas categorias: rearranjos micro cromossomais (principalmente grande deleção de 1.2 a 1.5 Mb do 17q12) e as mutações pontuais. A ocorrência de grandes deleções ocorre em torno de 50% dos casos, enquanto que as mutações pontuais (missense, anti-sense, sítio de splice, ou pequenas deleções ou inserções) são localizadas principalmente no domínio de ligação do DNA. Destaca-se que as mutações *de novo* são encontradas em pelo menos 50 % dos casos. Existem evidências de correlação genótipo/fenótipo nas alterações de função renal e perfil metabólico do DM, onde aqueles indivíduos com grandes deleções apresentam menor IMC e mais frequentemente em uso de insulina.

A melhor compreensão dos aspectos genéticos e clínicos dos pacientes com mutações no gene *HNF1B* pode propiciar uma melhor abordagem médica destes indivíduos com maior entendimento prognóstico, maior detalhamento dos órgãos e sistemas potencialmente afetados e, sobretudo, na maior acurácia na escolha terapêutica.

Bingham C, Am J Hum Genet, 68,219, 2001.

Dubois-Laforgue D, Diabetes Care, 40,1436, 2017.

Faguer S, Kidney Int, 86,1007, 2014.

Hattersley AT, Diabetologia, 60,769,2017.

Verhave JC, J Am Soc Nephrol, 27,345,2016.

Financiamento: FAPESP – Processo 2015/05123-9 (AFR), CNPQ - Processo Bolsa 160044/2013-8 (RPD)

GENE EXPRESSION PROFILE OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS (PBMC) OF RECENT-ONSET TYPE 1 DIABETES (T1D)

Santos AS¹, Chevillard C², Gonfinetti NV³, Kalil J⁴, Cunha-Neto E⁵, Silva MER¹ -

¹Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaios-LIM 18, ²Aix-Marseille Université - INSERM/AMU UMR,

³Instituto Castro de Medicina - Clínica Médica, ⁴Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Disciplina de Imunologia e Alergia- LIM 60 e Laboratório de Imunologia - Instituto do Coração- FMUSP- Universidade de São Paulo, ⁵Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo / Instituto do Coração - Disciplina de Imunologia e Alergia- LIM 60 e Laboratório de Imunologia - Instituto do Coração- FMUSP- Universidade de São Paulo

Introduction: Type 1 diabetes mellitus (DM1A) is characterized by the autoimmune destruction of insulin-secreting β -cells, mediated by T auto reactive infiltrating cells, inflammatory cytokines and immunological mechanisms. However, little is known about the expression of genes and pathways dysregulated in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with T1D.

Objective: to investigate the gene expression profiles of circulating PBMC in recent-onset T1D patients (up to 6 months of diagnosis) in comparison with controls in the context of putative disease-related pathobiological processes and pathways.

Methods: expression of mRNA from PBMC of 12 T1D patients, 16.4 \pm 8.9 years and age-matched 12 healthy controls, 15.0 \pm 8.1 years, ($p > 0.05$) was evaluated with the Whole Human Genome Microarray Kit Agilent (58341 probes) and analyzed by GeneSpring software with a fold change cutoff of 1.5 and adjusted P value < 0.05 ; pathways analysis was performed with the software Ingenuity Pathway Analysis (IPA).

Results: 223 genes (259 probes) were differentially expressed between T1D patients and controls, of which 129 (58%) were upregulated, while 94 (42%) genes were downregulated in T1D. The interactions between the differentially expressed genes evidenced expression patterns of 30 networks. The 10 most significantly enriched (most discriminating) canonical pathways between groups were those related to tumor necrosis factor (TNF) pathway and cell cycle regulation (cellular growth, mitosis, survival, apoptosis, DNA repair and genomic stability). Pathways analysis indicated there was a trend for activation of inflammatory pathways like TNF receptors (TNFR1 and TNFR2) associated with increased expression of genes TNFAIP3 (TNF alpha induced protein 3), TNFRSF12A (OX40 receptor, TNF receptor superfamily member 12A), CDC42 (cell division cycle 42) and reduction of IKBKB (inhibitor of nuclear factor kappa B kinase subunit beta), favoring also NF κ B signaling.

Discussion: our data suggest a proinflammatory activation profile dependent on TNF receptor pathway and inflammatory NF κ B signaling in peripheral blood mononuclear cells, which could play a role in T1D pathogenesis.

Supported by EFSD (European Foundation for the Study of Diabetes)

Reference: Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. Nature. 2010; 464:1293-300.

CO.23

IMPORTÂNCIA DA REGULAÇÃO NEURAL DA GLICONEOGÊNESE

Delfino HBP¹, Garófalo MAR¹, Zanon NM¹, Kettelhut IC^{1,2}, Navegantes LCC¹ -

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Departamento de Fisiologia,

²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Departamento de Bioquímica & Imunologia

Introdução: Grande parte do conhecimento da regulação da produção hepática de glicose está restrita à ação de hormônios pancreáticos e adrenais. No entanto, muito pouco se sabe acerca dos mecanismos moleculares envolvidos na regulação neural dos genes e enzimas chaves da gliconeogênese em situações de estresse. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar o papel da inervação simpática na regulação da gliconeogênese hepática em roedores expostos ao frio. **Métodos:** Para isso, foram utilizadas duas técnicas experimentais de desnervação simpática: a simpatectomia química em camundongos provocada pela administração de 6-hidroxidopamina (100 mg.kg⁻¹.dia⁻¹; 1°, 2° e 7° dia de vida pós-natal; i.p.) e a desnervação local dos nervos hepáticos em ratos provocada por fenol (95%). **Resultados:** A exposição de camundongos ao frio (4°C), durante uma, três ou seis horas, provocou hiperglicemia, depleção do conteúdo de glicogênio hepático e ativação da gliconeogênese, estimada pela elevada atividade da glicose-6-fosfatase e da fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) e da expressão dos genes codificadores de tais enzimas (G6pc e Pck1). Concomitantemente, verificou-se que a exposição ao frio provocou um intenso aumento na expressão do Nr4a1 e do PGC1- α , dois genes-alvos de CREB que participam do complexo de ativação transcricional dos genes que codificam as enzimas gliconeogênicas estudadas. A simpatectomia não afetou a depleção dos estoques de glicogênio hepático provocado pelo frio, mas causou hipotermia e reduziu o aumento do conteúdo hepático de noradrenalina, bem como preveniu a hiperglicemia, sendo este efeito associado à redução da expressão dos genes G6pc, Pck1 e Nr4a1, e inativação das enzimas glicose-6-fosfatase e PEPCK, em todos os tempos estudados. A simpatectomia não interferiu nas concentrações plasmáticas de corticosterona, insulina e glucagon. Resultados bastante semelhantes foram observados em ratos submetidos à lesão dos nervos hepáticos com fenol e expostos ao frio durante 24 horas. Tanto a adrenalectomia (remoção bilateral das glândulas adrenais) como a adrenodemedulação (remoção bilateral da porção medular das glândulas adrenais) não alteraram o efeito estimulatório do frio na atividade das enzimas gliconeogênicas e na expressão de seus genes codificadores, em camundongos. **Discussão:** Nossos resultados mostram que a inervação noradrenérgica do fígado assume um papel crucial e independente de hormônios adrenais e pancreáticos na ativação da gliconeogênese hepática em resposta ao frio agudo, em camundongos, por meio da regulação da atividade transcricional dos genes-alvos de CREB.

Agradecimentos: FAPESP (15/20700-2) e CNPq.

CO.24

THE BILE ACID TUDCA MODULATES GLUCAGON SECRETION ON PANCREATIC ALPHA CELLS

Vettorazzi JF¹, Bru-Tari EM², Soriano S³, Borck PC¹, Soares GM¹, Lubaczeuski C¹, Boschero AC¹, Nadal A², Quesada I², Carneiro EM¹ - ¹UNICAMP - Department of Structural and Functional Biology, ²Miguel Hernández University - Institute of Bioengineering and the Biomedical Research Center in Diabetes and Associated Metabolic Disorders, ³University of Alicante - Department of Physiology, Genetics and Microbiology

Introduction. Type 2 diabetes (T2D) is an epidemic that affects 9% of total world population, and is related to the onset of cardiac disease, renal failure, blindness, etc (1). T2D is characterized by a decreased insulin secretion by pancreatic β cells and impaired insulin signaling on peripheral tissues (2). Despite insulin is the mainly hormone involved in T2D dysfunction, glucagon secretion and α cell mass are increased in this pathology, which contributes to hyperglycemia (3). Molecules which could interact with glucagon secretion also are important to T2D treatment. Bile acids have emerged as new endocrine signaling molecules that regulate glucose, lipid, and energetic metabolism (4). The taurine conjugated bile acid TUDCA regulates insulin secretion, signaling and degradation (5, 6), however the effect of this compound on glucagon secretion is unknown.

Methods. Here, using isolated pancreatic islets from C57Bl6 mice and the α cell line α TC1-9, we clarify the effects of TUDCA on glucagon secretion. Glucagon secretion were analyzed by Elisa, ionic channel activity by Patch-Clamp records and calcium influx by fluo-4 fluorescence.

Results. The exposure of pancreatic islets and α TC1-9 cell line to 50 μ M TUDCA reduces glucose induced glucagon secretion. This effect is associated, at least in part, by increased activity of ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP}) in a population of alpha cells which culminates in reduced calcium oscillations. Moreover, the inhibition of the receptor S1PR2, as well as the downstream proteins Pi3K and Akt, blunted the effect of TUDCA on glucagon secretion.

Discussion. The bile acid TUDCA contributes to glucose homeostasis by increasing insulin secretion, as well as by increased insulin signaling (5, 6). Here, we demonstrated that TUDCA also modulates alpha cell function, reducing glucagon secretion by altering electrical activity and calcium influx. This effect is due to the activation of S1PR2/Akt pathway, both also implicated on insulin signaling. In this context, TUDCA seems to be a promising target in the treatment of hyperglucagonemia observed in T1D and T2D, contributing to reduced glucagon secretion and normoglycemic maintenance.

Financial support. FAPES and CNPq

Bibliographic references

1. Dixon CJ. *Gait Posture*. 2017 58:325-332.
2. Cnop, M. *Diabetes*, 2005. 54 S97-107.
3. Dunning, B.E. *Endocr Rev*, 2007. 28(3): p. 253-83.
4. Chiang, J.Y. *Compr Physiol*, 2013. 3(3): p. 1191-212.
5. Vettorazzi, J.F. *Metabolism*, 2016. 65(3): p. 54-63.
6. Vettorazzi JF. *Sci Rep*. 2017 Nov 1;7(1):14876.

O PAPEL DA UROCORTINA 2 NA HIPERTROFIA MUSCULAR

Lautherbach NES¹, Gonçalves DAP², Paula-Gomes S², Silveira WA¹, Zanon NM¹, Pereira MG³, Miyabara EH³, Navegantes LCC¹, Kettelhut IC² - ¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Departamento de Fisiologia, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - Departamentos de Bioquímica/Imunologia, ³USP - Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas

Introdução: Estudos demonstram que a Urocortina 2 (Ucn2) exerce efeitos anti-atrófico e hipertrófico no músculo esquelético de roedores, no entanto, os mecanismos intracelulares responsáveis por estes achados ainda não foram esclarecidos. O presente trabalho investiga o papel da Ucn2 nas vias de sinalização envolvidas no controle do metabolismo de proteínas em músculo esquelético. **Métodos:** Músculos *soleus* e EDL de ratos Wistar e camundongos C57BL6 foram isolados e incubados (2h) com diferentes concentrações de Ucn2 para investigar a taxa de degradação proteica através da liberação de tirosina no meio. Músculos tibialis de camundongos foram transfectados com o plasmídeo expressando Ucn2 por 14 dias e, em seguida, processados para determinar os níveis de fosforilação de alvos *downstream* do AMPc bem como componentes da via de sinalização da insulina por western blot. A síntese proteica *in vivo* foi analisada pelo método SUNSET após administração (i.p.) de puromicina. Para análise da função muscular *in vivo* os camundongos foram anestesiados e o nervo ciático foi conectado a um eletrodo. O tendão do músculo *tibialis* anterior foi conectado a um transdutor de força acoplado a um computador para obtenção dos dados referentes à força gerada pela contração muscular. **Resultados:** A Ucn2 e a isobutilmetilxantina (IBMX), inibidor não seletivo das fosfodiesterases do AMPc, exerceram efeito antiproteolítico *in vitro* em músculos *soleus* e EDL de ratos normais. Já a co-incubação com Ucn2 e IBMX não provocou redução adicional na proteólise total. A superexpressão *in vivo* da Ucn2 (14 dias) promoveu crescimento muscular e este efeito foi atenuado quando as quinases Akt e ERK1/2 foram bloqueadas. A hipertrofia induzida pela Ucn2 *in vivo* foi acompanhada de um aumento na taxa de síntese proteica, bem como nos níveis de fosforilação de S6. Além disso, a superexpressão *in vivo* da Ucn2 reduziu a perda de força muscular tetânica e aumentou a resistência à fadiga em músculos tibialis anterior e estes efeitos foram abolidos quando as quinases ERK1/2 foram inibidas. A Ucn2 *in vivo* também aumentou os níveis de fosforilação de Akt/Foxo1,3, PKA e CREB, bem como o conteúdo proteico de Epac, efetor clássico do AMPc. **Discussão:** Os resultados *in vitro* sugerem que os efeitos anti-atróficos da Ucn2 são mediados pelo AMPc, uma vez que a co-incubação de Ucn2 e

IBMX não causou qualquer redução adicional na proteólise total, sugerindo que ambas as drogas compartilham este mesmo mediador intracelular. Os nossos resultados demonstram que a hipertrofia causada pela Ucn2 aumenta a força de contração e a resistência à fadiga musculares melhorando, dessa forma, a função muscular. Além disso, foi demonstrado que as quinases Akt e ERK1/2 são mediadoras centrais do efeito hipertrófico induzido pela superexpressão da Ucn2 e que a melhora na função muscular induzida pela Ucn2 parece envolver apenas a participação de ERK1/2. Os resultados sugerem ainda um possível *cross-talk* entre as vias de sinalização AMPc/PKA/CREB e PI3K/Akt que pode ser mediado pela proteína Epac. **Apoio financeiro:** CAPES, CNPq e FAPESP.

INSULIN-DEGRADING ENZYME (IDE): UM POTENCIAL ALVO TERAPÊUTICO PARA O DIABETES?

Kurauti MA¹, Boschero AC¹ - ¹UNICAMP - Obesity and Comorbidities Research Center

Atualmente, um dos principais tratamentos farmacológicos para o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) consiste em agentes que estimulam as células β a secretarem insulina. Embora esses agentes secretores aumentem efetivamente a concentração de insulina circulante, este tipo de abordagem terapêutica pode sobrecarregar as células β . Assim, uma estratégia interessante seria inibir a degradação da insulina, o que poderia elevar a insulinemia, poupando as células β da sobrecarga. Diversos grupos de pesquisa vêm desenvolvendo inibidores específicos para a principal enzima responsável pela degradação da insulina, a IDE (*insulin-degrading enzyme*). Além da insulina, a IDE também degrada outros peptídeos como o glucagon, a amilina e o amiloide β [1, 2]. Dessa forma, a inibição da IDE deve ser específica para a degradação apenas de determinados substratos como a insulina e a amilina, sem alterar a degradação do hormônio contrarregulatório, o glucagon. Em 2014, foi desenvolvido o inibidor 6bk que, quando administrado em camundongos, aumenta rapidamente as concentrações de insulina e amilina melhorando a tolerância à glicose; porém, este inibidor, também eleva as concentrações de glucagon tardiamente [1]. Em 2015, foi desenvolvido o inibidor NTE-1, que quando administrado em camundongos aumenta as concentrações plasmática de insulina e amilina, mas não de glucagon [3], sendo, portanto, mais promissor no tratamento do Diabetes tipo 2. Ambos os trabalhos sugerem que a inibição seja rápida e de curta duração, que atue apenas durante o período pós-prandial auxiliando na rápida captação de glicose pelos tecidos. Uma inibição crônica da IDE poderia, além de contribuir para o desenvolvimento e/ou manutenção de uma hiperinsulinemia crônica, elevar os níveis de amilina as quais podem formar uma estrutura insolúvel, o amiloide, cujo acúmulo pode acarretar a morte das células β . Assim, a ativação da IDE também poderia ser benéfica, atuando principalmente na prevenção do Diabetes tipo 2, evitando a instalação de uma hiperinsulinemia crônica e a formação das placas de amiloide nas células β . Em resumo, podemos considerar duas abordagens distintas utilizando a IDE como alvo terapêutico no combate ao Diabetes tipo 2: para o tratamento dessa patologia, uma inibição rápida e de curta duração da IDE, apenas no período pós-prandial, seria a melhor abordagem; e para a prevenção dessa patologia, a ativação da IDE, através de intervenções como o exercício físico, poderia ser, neste caso, a melhor estratégia.

Entidades Financiadoras: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Citações Bibliográficas:

1. Maianti JP et al. Anti-diabetic activity of insulin-degrading enzyme inhibitors mediated by multiple hormones. *Nature*. 2014;511(7507):94-8. doi: 10.1038/nature13297.
2. Farris W et al. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(7):4162-7. doi: 10.1073/pnas.0230450100.
3. Durham TB et al. Dual Exosite-binding Inhibitors of Insulin-degrading Enzyme

Challenge Its Role as the Primary Mediator of Insulin Clearance in Vivo. *J Biol Chem.* 2015;290(33):20044-59. doi: 10.1074/jbc.M115.638205.

CO.27

Hepatocyte Nuclear factor 4 α (HNF4 α) as a target to treat DM.

Santos GJ^{3,2,1}, Ferreira SM², Ortis F⁴, Scharfmann R¹, Boschero AC² - ¹Institut Cochin, ²UNICAMP - Department of Functional and Structural Biology, ³UFSC - Department of Physiological Sciences, ⁴University of Pennsylvania - Department of Genetics

O Diabetes Mellitus (DM) é uma síndrome metabólica de etiologia múltipla, caracterizado por hiperglicemia crônica. É resultante da depleção total (Tipo 1) ou parcial (Tipo 2) das células β , associado, ou não, à resistência à insulina (RI). São alvos para o tratamento do DM processos que promovam a restauração da massa funcional de célula β . Esses processos de regeneração envolvem diferenciação e transdiferenciação celular. O HNF4 α é um fator de transcrição importante para células β pancreáticas, pois, além de participar do controle do gene da insulina, regula a expressão de genes relacionados com o metabolismo da glicose. Além disso, sabe-se que o HNF4 α é crucial no aumento da massa de células beta em resposta ao estresse, como na prenhez. Entretanto, mesmo sabendo de seu papel na morte celular em hepatócito, pouco se sabe do seu envolvimento na apoptose na célula β pancreática. No tangente a processos de regeneração, sabe-se que o HNF4 α pode participar de processos de transdiferenciação, onde a expressão endógena deste fator de transcrição em células α a transformam em células β funcionais. Assim, sabendo que o HNF4 α (1) participa de processos de morte celular, (2) controla processos de aumento compensatório da massa de célula β e, (3) atua diretamente em processos regenerativos, o objetivo deste trabalho é desvendar possíveis mecanismos, dependente de HNF4 α , que possam ser usados para tratar o Diabetes Mellitus. Avaliamos a expressão gênica de HNF4 α em ilhotas isoladas tratadas com mix de citocinas pró-inflamatórias, por 24 horas, e em ilhotas de animais treinado. Em animais selvagens e *knockout* para o HNF4 α , avaliamos o teste de tolerância à glicose (GTT), o teste de tolerância à insulina (ITT), a insulinemia durante o GTT, a secreção de insulina de ilhota isolada, e a expressão de HNF4 α em ilhotas e fígado. Além disso, avaliamos a expressão de genes determinantes no fenótipo de células insulares na linhagem de célula β humana Endo- β H1 tratadas com siRNA para HNF4 α . Em ilhotas tratadas com citocinas, observamos aumento no HNF4 α e observamos a redução do mesmo em ilhotas de animais treinados. Nos animais transgênicos observamos maior tolerância à glicose, maior insulinemia durante o GTT e maior secreção de insulina em ilhotas isoladas, sem alteração no ITT e uma tendência redução da expressão de HNF4 α nas ilhotas. Nas células Endo- β H1 observamos uma modulação de vários fatores de transcrição específicos para a célula β . Além disso, de maneira surpreendente, observamos um aumento de 10x na expressão de Glucagon em células Endo- β H1. Também observamos que a inibição do HNF4 α com siRNA modulou a resposta das células à apoptose induzida por citocinas pró-inflamatórias. Assim, concluímos que o HNF4 α parece ser importante na indução da apoptose de ilhotas pancreáticas, e está envolvido com processos relacionados com a regeneração de célula secretora de insulina.

CO.28

Secreção residual de insulina em portadores de DM1 de longa duração

Hirosawa RM¹ - ¹Faculdade de Medicina de Botucatu

CO.29

12-lipoxygenase activity in brown fat contributes to cold adaptation by biosynthesizing a lipid mediator that promotes glucose uptake

Leiria LO¹, Wang CH¹, Lynes MD¹, Yang K¹, Shamsi F¹, Sato M¹, Chen EY², Huang TL¹, Clermont A¹, Hirshman MF¹, Goodyear LJ¹, Blucher M³, Cypess AM⁴, Kiebish M², Tseng YH¹ - ¹Harvard Medical School - Section on Integrative Physiology and Metabolism, ²BERG, ³University of Leipzig - Department of Medicine, ⁴National Institutes of Health

Oxygenases and its products oxylipins has been shown to contribute for the cold adaptation and to increase fuel utilisation in brown fat. To identify novel brown fat (BAT)-secreted lipids with a role in cold adaptation and glucose metabolism, we performed lipidomics in serum from female or male mice exposed to cold or thermoneutrality for 1 hour or 1 week. We consistently found a cold-induced increase in the serum levels of three lipids originated from the oxidative activity of 12-Lipoxygenase (12-LOX). Of the three lipids, 12-HEPE was the only one that did not increase in the serum of cold exposed *Myf5^{+CRE}/Bmpr1a^{flox}* mice, a model of brown fat paucity. Indeed, 12-HEPE was exclusively increased in the BAT but not in white fat after cold exposure. 12-LOX expression was increased in BAT of mice exposed to cold, while its chemical inhibition was enough to blunt the cold-induced increase in 12-HEPE serum levels and also to make the animals cold intolerant, suggesting this lipid biosynthesis and secretion relies on 12-LOX activity in the BAT and that this mechanism is required for the cold adaptation. 12-HEPE was found to be ~8 fold increased in the serum from human subjects who received an oral single dose of 200 mg of the β 3-adrenergic receptor agonist Mirabegron, and it positively correlated with BAT glucose uptake (PET-CT). 12-HEPE also negatively correlated with body mass index in a cohort of healthy and obese subjects (n=60). Obese mice treated with 12-HEPE exhibited remarkably improved glucose tolerance and insulin sensitivity due to higher glucose uptake into the BAT. 12-HEPE increased the *in vivo* glucose uptake in BAT, skeletal muscle and white fat. In the same line, 12(S)-HEPE also increased the *in vitro* glucose uptake in both human and mouse brown and white adipocytes and in C2C12 cells. Also using *in vitro* strategies, we found that Alox12 Knockout (KO) brown adipocytes displayed impaired capacity to take-up glucose, whereas the 12-LOX re-expression using a 12-LOX cDNA, rescued the glucose uptake capacity of these cells. In line with this, we found a lower glycolytic capacity in Alox-12 KO cells, which was also rescued by the 12-LOX re-expression. Moreover, we found that the 12-HEPE glucose uptake effect was prevented by a G_sPCR inhibitor Mellitin and also by the PI3K and mTORC2 inhibitors, Wortmannin and Torin1, respectively. Either G_qPCR or G_iPCR inhibitors were not able to block 12-HEPE activity in brown adipocytes. In conclusion, 12-LOX is required for the cold adaptation by biosynthesizing and releasing its metabolite 12-HEPE, which is a cold-induced BATokine that promote glucose uptake into the tissues by interacting with a G_sPCR and triggering an PI3K/mTORC2/AKT/Glut-4 pathway.

Financial Support: American Diabetes Association (ADA) and National Institutes of Health (NIH)

CO.30

Abnormal mitochondrial structure and function in IL10 deficiency

Lima-Júnior JC^{1,2}, Souza GF^{1,2}, Assis AM^{1,2}, Gaspar JM^{1,2}, Rocha AL³, Gaspar RS^{2,4}, Ferrucci DL³, Lima TP², Victório SC^{1,2}, Pareja JC⁵, Brunetto SQ⁶, Ramos CD^{2,7}, Geloneze B^{2,5}, Mori MA³, Costa-Carvalho BT⁸, Ropelle ER^{2,4}, Velloso LA^{1,2} -

¹UNICAMP - Department of Internal Medicine, ²UNICAMP - Obesity and Comorbidities Research Center, ³UNICAMP - Department of Biochemistry and Tissue Biology, ⁴UNICAMP - CEPECE - Research Center of Sport Sciences, ⁵UNICAMP - Department of Surgery, ⁶UNICAMP - Biomedical Engineering Center, ⁷UNICAMP - Department of Radiology, ⁸UNIFESP - Division of Allergy-Immunology and Rheumatology

Introduction Inflammation is the most relevant mechanism linking obesity with metabolic disease. It impacts on the structure and function of tissues involved in metabolism. The brown adipose tissue has emerged as an important component of whole body energy homeostasis controlling energy expenditure through the regulation of thermogenesis. However, little is known about the impact of systemic inflammation on the structure and function of the brown adipose tissue. *Results* Here we show that IL10 knockout mice, a model of systemic inflammation, presents severe structural abnormalities of brown adipose tissue mitochondria, which are round-shaped with loss of cristae structure, increase fragmentation and increased proportion of fusion-deficient short form of OPA1, a protein involved in mitochondria dynamics. IL10 deficiency leads to cold intolerance and impaired UCP1-dependent respiration in isolated mitochondria. The reduction of systemic inflammation with an anti-TNF monoclonal antibody partially rescues the structural but not the functional abnormalities of brown fat mitochondria. We show that both in humans and mice, IL10 transcripts correlate with mitochondrial, lipid metabolism and caspase gene expression through transcriptome-based bioinformatics analysis by using human and mice databases. Additionally, we identified two sisters presented with early Crohn's disease who were homozygous for a synonymous mutation located at last base pair of exon 4 of the IL10RA gene [c537G>A: p.T197T (splicing)]. Both sisters and their parents were subject to whole-blood transcriptome analysis (RNA-seq). RNA-seq analysis identified a subset of upregulated genes known to participate in the inflammatory/stress-related signaling pathways, like TNF, oxidative stress and signaling pattern recognition receptor activity. Similarly, we performed RNA-seq analysis on the BAT from WT and IL10 KO mice and we identified that IL10 regulates several metabolic pathways. *Discussion* Thus, IL10 and systemic inflammation play a central role in the regulation of brown adipose tissue by controlling mitochondrial structure and function.

CO.31

Advanced glycation end-products induce kidney injury in non-diabetic rats: role of oxidative stress

Thieme k¹, Silva KS², Fabre NT¹, Catanozi S², Monteiro MB¹, Santos-Bezerra DP¹, Costa-Pessoa JM³, Oliveira-Souza M³, Machado UF⁴, Passarelli M², Corrêa-Giannella ML^{1,5} - ¹HCFMUSP - Laboratório de Carboidrato e Radioimunoensaio (LIM-18), ²HCFMUSP - Laboratório de Lípidos (LIM-10), ³USP - Laboratório de Fisiologia Renal, ⁴USP - Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo, ⁵Universidade Nove de Julho - Programa de Pós-Graduação em Medicina

Introduction: The advanced glycation end-products (AGEs) are compounds derived from the Maillard reaction, in which reducing sugars react nonenzymatically with amino groups of proteins, nucleic acids or lipids. Although the first studies addressing AGEs signaling had been focused on its participation in the development of diabetic nephropathy, growing evidence suggests that this signaling pathway may also participate in the pathogenesis of non-diabetic kidney diseases. Considering the participation of redox imbalance in AGEs deleterious effects, the aim of this study was to evaluate the renal effects of chronic exposure to AGEs in the absence of diabetes and the potential beneficial impact of the antioxidant N-acetyl cysteine (NAC).

Methods: Wistar rats received intraperitoneally 20 mg/kg/day of albumin modified (AlbAGE) or not (AlbC) by advanced glycation for 12 weeks and oral NAC (AlbAGE+NAC and AlbC+NAC, respectively). Biochemical, urinary and renal morphological analyses; carboxymethyl-lysine (CML, an AGE), CD68 (macrophage infiltration), and 4-hydroxynonenal (4-HNE, marker of oxidative stress) immunostaining; intrarenal mRNA expression of genes belonging to pathways related to AGEs (*Ager*, *Ddost*, *Nfkb1*), renin-angiotensin system (*Agt*, *Ren*, *Ace*), fibrosis (*Tgfb1*, *Col4a1*), oxidative stress (*Nox4*, *Txnip*), and apoptosis (*Bax*, *Bcl2*), and measurement of reactive oxidative species (ROS) content were performed.

Results: AlbAGE significantly increased urine protein-to-creatinine ratio; glomerular area; renal CML content and macrophage infiltration; expression of *Ager*, *Nfkb1*, *Agt*, *Ren*, *Tgfb1*, *Col4a1*, *Txnip*, *Bax/Bcl2* ratio; and 4-HNE and ROS contents. Some of these effects were attenuated by NAC concomitant treatment.

Conclusion: NAC treatment attenuates the deleterious renal effects elicited by chronic exposure to AGEs, through the decrease in renal tissue oxidative stress. Because long-term restriction of dietary AGEs is difficult to achieve in practice, NAC could be tested in situations in which AGEs actively participate in the progression of kidney disease. Since there are many glomerular effects, further studies will evaluate the effects of AGEs in cultured podocytes.

Acknowledgments: This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) to Karina Thieme (2014/17251-9), Karolline S. Silva (2012/18724-2), Nelly T. Fabre (2013/00713-7) and Marisa Passarelli, Ubiratan Fabres Machado and Maria Lúcia Corrêa-Giannella (2012/04831-1).