

ENDOCRINOLOGIA

eP2023

A expressão do mir-30e-5p está diminuída no plasma e na urina de pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e doença renal do diabetes

Cristine Dieter; Taís Silveira Assmann; Nathália Rodrigues de Faria Corrêa; Aline Rodrigues Costa; Bianca Marmontel de Souza; Andrea Carla Bauer; Daisy Crispim
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A doença renal do diabetes (DRD) é uma complicação microvascular que afeta 40% dos pacientes com diabetes mellitus (DM). Evidências sugerem um papel importante dos microRNAs (miRNAs) no desenvolvimento da DRD. Neste contexto, miR-15a-5p e miR-30e-5p regulam a expressão da proteína desacopladora 2, uma proteína mitocondrial que diminui a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelas mitocôndrias. Como a superprodução de EROs é um fator chave na patogênese da DRD, a desregulação desses dois miRNAs pode estar envolvida na patogênese da mesma. **Objetivos:** Comparar as expressões dos miR-15a-5p e miR-30e-5p no plasma e urina de pacientes com DM tipo 1 (DM1) e DRD (casos) e pacientes com DM1 sem DRD (controles) e realizar análises de bioinformática para investigar seus genes alvos e vias de regulação. **Métodos:** As expressões dos miR-15a-5p e miR-30e-5p foram analisadas no plasma e urina de 17 controles com DM1 e 23 casos com DM1 e DRD (12 com DRD moderada e 11 com DRD severa) utilizando PCR em tempo real. A DRD foi classificada usando-se os níveis de excreção urinária de albumina (EUA) e a taxa de filtração glomerular estimada (TFGe). As análises de bioinformática foram realizadas com o software Cytoscape. **Resultados:** A expressão de miR-30e-5p foi diminuída no plasma de pacientes com DRD comparado aos controles [DRD severa: 0,53 mediana (0,25 - 0,84, 25-75% percentis), DRD moderada: 0,25 (0,08-0,82) e DM1 controles: 2,42 (0,51 - 4,33), $p=0,003$]. Na urina, a expressão de miR-30e-5p foi diminuída apenas no grupo DRD severa comparado aos outros grupos [DRD severa: 0,34 (0,05-0,85), DRD moderada: 3,92 (0,23-9,66) e DM1 controles: 2,96 (0,99 - 5,97), $p=0,017$]. Nenhuma diferença foi encontrada na expressão de miR-15a-5p entre os grupos. As expressões de miR-15a-5p e miR-30e-5p se correlacionaram negativamente com os níveis de EUA ($r=-0,459$, $p=0,016$ e $r=-0,617$, $p=0,0001$, respectivamente). Nenhuma correlação foi encontrada entre esses miRNAs e os níveis de TFGe ou creatinina. Análises de bioinformática indicam que 2197 genes são alvos do miR-15a-5p e 2208 do miR-30e-5p. Além disso, esses genes participam de vias relacionadas à angiogênese, apoptose, diferenciação celular, estresse oxidativo e hipóxia. **Conclusões:** O miR-30e-5p está diminuído no plasma e urina de pacientes com DRD. Análises de bioinformática sugerem que o miR-15a-5p e o miR-30e-5p regulam genes envolvidos em mecanismos-chave relacionados à patogênese da DRD.

eP2025

A expressão de genes associados à lipólise está diminuída no tecido adiposo subcutâneo de pacientes com obesidade

Mayara Souza de Oliveira; Jakeline Rheinheimer; Milene Moehlecke; Cristiane Bauermann Leitão; Andrea Carla Bauer; Bianca Marmontel de Souza; Daisy Crispim
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: No tecido adiposo, o excesso de energia é estocado na forma de triglicerídeos, dentro dos adipócitos. Os principais genes envolvidos na hidrólise de triglicerídeos (lipólise) são os hormônio-sensíveis lipase (HSL/LIPE), adipose triglyceride lipase (ATGL/PNPLA2) e seu ativador comparative gene identification-58 (CGI-58), e também o modulador de CGI-58, o perilipin-1 (PLIN1). Evidências tem sugerido que a lipólise é prejudicada no quadro de obesidade, podendo ser responsável pela lipotoxicidade e resistência à insulina. Dessa forma, alterações na expressão de genes relacionados à lipólise podem estar associadas à obesidade. **Objetivo:** Comparar as expressões dos genes PLIN1, PNPLA2, LIPE e CGI58 no tecido adiposo subcutâneo (SAT) de indivíduos com diferentes categorias de IMC e também correlacionar os níveis de expressão desses genes com variáveis clínicas e laboratoriais associadas à obesidade. **Métodos:** Biópsias de SAT foram obtidas de 59 pacientes que realizaram cirurgia bariátrica ou cirurgia abdominal eletiva. Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com o IMC: Grupo 1 (IMC ≤ 25 kg/m², n = 8); Grupo 2 (IMC: 30 – 39,9 kg/m², n = 22); e Grupo 3 (IMC ≥ 40 kg/m²; n = 29). As expressões de PLIN1, PNPLA2, LIPE e CGI58 foram quantificadas por PCR em tempo real, usando o gene HPRT1 como referência. **Resultados:** As expressões de LIPE, PNPLA2, CGI58 e PLIN1 foram significativamente menores no SAT de pacientes com obesidade (grupos 2 e 3) em comparação com indivíduos eutróficos (grupo 1) (todos os $p < 0,05$). Além disso, as expressões dos genes PLIN1, LIPE e CGI58 se correlacionaram negativamente com IMC, circunferência da cintura, % de massa livre de gordura e hemoglobina glicada na amostra total. As expressões de todos os genes foram negativamente correlacionadas com os níveis de triglicerídeos. As expressões de LIPE e CGI58 também foram negativamente correlacionadas com os níveis de insulina. Enquanto que somente a expressão do gene LIPE foi negativamente correlacionada com HOMA-IR (homeostasis model assessment-insulin resistance) e taxa metabólica basal e positivamente correlacionada com os níveis de colesterol HDL. **Conclusão:** As expressões dos genes relacionados à lipólise se encontram diminuídas no SAT de pacientes com obesidade, além de estarem correlacionadas com IMC, circunferência de cintura, parâmetros de composição corporal e perfil glicêmico e lipídico.

eP2028

O alelo a do polimorfismo RS4636297 no MIR-126 está associado com proteção para retinopatia diabética

Eloísa Toscan Massignam; Cristine Dieter; Felipe Mateus Pellenz; Luís Henrique Canani; Daisy Crispim
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A retinopatia diabética (RD) é uma importante complicação crônica do diabetes mellitus (DM) e é a principal causa de novos casos de cegueira em adultos. Diversos estudos sugerem que o fator genético tenha um importante papel no desenvolvimento dessa complicação, porém, mais estudos são necessários para desvendar a genética dessa doença. MicroRNAs (miRNAs) são uma classe de pequenos RNAs não-codificantes que regulam a expressão dos genes codificadores de proteínas. Vários miRNAs têm sido

descritos como tendo expressões alteradas em pacientes com RD, incluindo o miRNA-126. Este miRNA está envolvido na regulação da resposta inflamatória, diminuindo a adesão de leucócitos às células endoteliais através da regulação negativa da expressão de VCAM-1. Polimorfismos em genes codificadores de miRNAs (miRSNPs) podem levar a alterações funcionais no miRNA correspondente e, assim, interferir na patogênese de diversas patologias. Portanto, miRSNPs no gene miR-126 poderiam estar associados à susceptibilidade para RD. Entretanto, até o momento, apenas um estudo avaliou a associação entre o miRSNP rs4636297 (G/A) no gene miR-126 e a RD. Objetivo: Investigar a associação entre o polimorfismo rs4636297 no miRNA-126 e a RD em pacientes com DM tipo 1 (DM1). Métodos: Este estudo incluiu 196 casos (pacientes com DM1 e RD proliferativa ou não-proliferativa moderada ou grave) e 219 controles (pacientes com DM1 há ≥ 10 anos e sem RD). O miRSNP rs4636297 foi genotipado através de ensaio de discriminação alélica por PCR em tempo real. Resultados: As frequências genotípicas do polimorfismo rs4636297 (G/A) no gene miR-126 estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg no grupo controle. A frequência do alelo A foi de 40% no grupo caso e 46% no grupo controle. Além disso, encontrou-se uma associação significativa desse alelo com proteção para RD nos três modelos de herança genética testados: recessivo ($p = 0,023$), aditivo ($p = 0,001$) e dominante ($p = 0,003$). A maior proteção para RD foi observada quando se levou em consideração o modelo aditivo (A/A vs. G/G; RC = 0,080; IC 95% 0,018 – 0,362), após ajuste para níveis de colesterol e hemoglobina glicada, presença de hipertensão e de doença renal do diabetes. Conclusão: O presente estudo demonstrou, pela primeira vez em uma população brasileira, que o genótipo A/A do polimorfismo rs4636297 no miR-126 parece estar associado com proteção para RD. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERGS, FIFE.

eP2029

O polimorfismo RS2910164 (G/C) no gene MIR-146A não está associado com retinopatia diabética em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1

Eloísa Toscan Massignam; Cristine Dieter; Felipe Mateus Pellenz; Luís Henrique Canani; Daisy Crispim
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A retinopatia diabética (RD) é uma importante complicação microvascular do diabetes mellitus (DM). Diversos estudos sugerem que fatores genéticos tenham uma grande contribuição no desenvolvimento dessa patologia; entretanto, a maioria dos estudos de associação entre polimorfismos genéticos e RD tem demonstrado resultados conflitantes. Assim, a identificação de novos polimorfismos genéticos associados à RD é fundamental para uma melhor compreensão da patogênese dessa complicação crônica do DM. Nesse contexto, atualmente vem se estudando polimorfismos em genes codificadores de microRNAs (miRSNPs), que podem alterar a biogênese desses microRNAs (miRNAs) ou suas ligações aos seus mRNA alvos, consequentemente, modificando a expressão dos genes alvos e interferindo na suscetibilidade para uma determinada doença, como a RD. Até o momento, apenas um estudo avaliou a associação entre o miRSNP rs2910164 no miR-146a e a RD. Este miRNA regula negativamente a expressão do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), que regula múltiplas vias de sinalização envolvidas na indução da inflamação, resposta imune e apoptose. O miR-146a também regula a expressão da fibronectina, uma proteína envolvida na produção de matriz extracelular. Essas vias têm um papel importante no desenvolvimento da RD. Objetivo: Avaliar a associação do miRSNP rs2910164 (G/C) no gene miRNA-146a com a RD em pacientes com DM tipo 1 (DM1). Métodos: Foram analisados 196 casos com DM1 e RD (proliferativa ou não-proliferativa moderada ou grave) e 219 controles com DM1 há mais de 10 anos, mas sem RD. O polimorfismo de interesse foi genotipado através de ensaio de discriminação alélica por PCR em tempo real. Os padrões de herança dominante, recessivo e aditivo foram testados. Resultados: As frequências genotípicas do polimorfismo rs2910164 (G/C) no gene miR-146a estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg no grupo controle. As frequências genotípicas e alélicas desse miRSNP não diferiram entre casos e controles ($p = 0,412$ e $p = 0,977$; respectivamente). Também não se observou associação desse miRSNP com RD quando analisado os diferentes modelos de herança, mesmo após o ajuste para covariáveis (níveis de colesterol e hemoglobina glicada, presença de hipertensão e de doença renal do diabetes). Conclusão: O presente estudo não encontrou associação entre o polimorfismo rs2910164 no gene miR-146a e a RD em uma população brasileira. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERGS, FIFE.

eP2030

The effect of transcranial direct current stimulation associated with hypocaloric diet on glucose homeostasis in overweight or obese adults

Amanda Farias Osório; Carina de Araújo; Raquel Crespo Fitz; Gabriella Richter da Natividade; Paula Nunes Merello; Pedro Schestatsky; Fernando Gerchman
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Background: Obesity is associated with the development of insulin resistance and diabetes mellitus. Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a non-invasive neuromodulation technique that provides a safe, painless and inexpensive method to induce neuroplasticity and has already been used to treat diseases such as depression and drug addiction. Previous studies suggested that tDCS may increase insulin sensitivity and reduce glucose levels. Aim: To test the effect of repetitive active transcranial direct current stimulation (tDCS) over the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) associated with a hypocaloric diet (HD) on glucose homeostasis in overweight or obese adults. Method: We selected in a RCT double-blind study, overweight or obese adults with different degrees of glucose tolerance to complete a 4-week (20 sessions; five consecutive weekdays) of fixed-dose tDCS (2mA, 20min) delivered over the right DLPFC associated with a standard HD. Subjects were randomly assigned (1:1) and stratified by sex to active tDCS group (AG) or sham tDCS group (SG). Changes on the glycemic and insulinemic response were assessed in a 4h liquid meal tolerance test (LMTT), performed before (t0) and after (t20) the 4-week intervention. Plasma glucose and insulin concentrations were used to determine glucose and insulin AUCs, indices of insulin sensitivity (MISI, Matsuda Insulin Sensitivity Index), insulin secretion (ISI, Insulin Secretion Index), and pancreatic β -cell function (DI, Disposition Index). Data were analyzed with generalized estimating equations adjusted for age, carbohydrate intake, and weight loss (%). Results: Twenty eight participants were randomized (79% obese; 29% IGT, 4% T2D; 37.6 [5.8] years). Changes over the time (mean [95%CI]) for FPG was higher in AG than in SG ($\Delta t20-t0 = -7.8 [-14.0, -1.6]$ vs. $\Delta t20-t0 = -0.9 [-4.0, 2.1]$ mg/dL; $p = 0.043$) after the intervention. Likewise, the MISI was improved in AG compared with SG ($\Delta t20-t0 = 3.2 [1.5 \text{ to } 4.9]$ vs. $\Delta t20-t0 = 0.5 [-1.5, 2.5]$ pmol $-1 \times$ mmol -1 ; $p = 0.044$). There were no significant differences between groups in fasting insulin, glucose and insulin AUCs, ISI, or DI over the study. Conclusions: Repetitive active tDCS over the right DLPFC may be a promising non-invasive technique that could be used to improve glucose homeostasis in overweight or obese individuals on a low-calorie diet.