



COMUNICAÇÕES ORAIS (Sessão 6)

Sábado, 9 de março de 2019

(08h30 - 09h30)

SALA 6

(CO Sessão 6 - 31 a CO Sessão 6 - 36)

CO Sessão 6 - 31

Oral – Investigação Fundamental

OS EFEITOS BENÉFICOS DA DESNERVAÇÃO DO NERVO DO SEIO CAROTÍDEO NA OBESIDADE E NA HOMEOSTASIA DA GLUCOSE DEVEM-SE À INDUÇÃO DO *BROWNING* DO TECIDO ADIPOSEO

Melo B. F., Prego C. S., Sacramento J. F., Conde S. V.

CEDOC, Nova Medical School, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, Investigação Básica, Lisboa

Introdução: As opções terapêuticas para a obesidade e diabetes tipo 2 (DT2) são pouco eficazes a longo-prazo. Recentemente demonstrou-se que os corpos carotídeos (CBs) têm um papel chave na homeostasia da glucose, já que em modelos animais com patologias metabólicas, a atividade destes órgãos se encontra aumentada e que a abolição desta, através do corte do nervo do seio carotídeo (CSN), previne e reverte a resistência à insulina, a intolerância à glucose, o ganho de peso e da massa gorda corporal.

Objetivos: Investigar se os efeitos do corte do CSN na homeostasia da glucose e no ganho de peso e massa gorda corporal, estão relacionados com alterações na função e metabolismo dos tecidos adiposos branco (WAT) e castanho (BAT).

Métodos: Ratos *Wistar* foram submetidos a 10 semanas de dieta hipercalórica (HF; 5,1Kcal/g) ou controlo (CTL; 2,56 Kcal/g). Após as dietas, os animais foram divididos aleatoriamente e submetidos ao corte bilateral do CSN ou a um procedimento *Sham*. Após a cirurgia, os animais foram mantidos nas respetivas dietas durante 9 semanas. A sensibilidade à insulina, a tolerância à glucose, a ingestão calórica e o seu peso foram monitorizados. No WAT e BAT recolhidos foram avaliadas: 1) alterações morfológicas nos adipócitos; 2) o número e a actividade das mitocôndrias; 3) a expressão de proteínas envolvidas nas vias de sinalização inflamatória e de insulina e; 4) a captação de glucose, *in vivo*.

Resultados: A dieta HF aumentou a quantidade total de WAT (120%) bem como o perímetro dos adipócitos, no depósito perientérico (151%). Para além disso, diminuiu a expressão do receptor de insulina (IR) em 68% e aumentou a expressão dos receptores para IL-1 e IL-6 (30% e 179%, respectivamente) no BAT. Nos animais HF, o corte do CSN diminuiu o perímetro dos adipócitos (56%) e aumentou a captação de glucose no WAT (75%) e no BAT (67%). Para além disso, aumentou a expressão do IR no BAT (157%) e diminuiu a expressão dos receptores para IL-1 (57%) e IL-6 (47%). Finalmente, os animais HF com corte do CSN apresentaram um aumento nos adipócitos positivos para UCP1, quer no WAT (58%) quer no BAT (45%).

Conclusão: Com este trabalho conclui-se que o impacto da desnervação do CSN no ganho de peso e na homeostasia da glucose deve-se a uma melhoria no metabolismo do WAT e do BAT, através da indução do *browning* do tecido adiposo. Assim, a modulação da atividade do CSN poderá ser uma possível abordagem terapêutica para a obesidade e DT2.

CO Sessão 6 - 32

Oral – Investigação Fundamental

EFEITO DA INIBIÇÃO DA PROTEÍNA UCP1 NA RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL DO TECIDO ADIPOSEO EPICARDIAL EM DOENTES COM FALHA CARDÍACA

Santos D. ¹, Fonseca A. ¹, Nunzio G. D. ¹, Oliveira A. ¹, Burgeiro A. ¹, Lourenço N. ², Antunes M. ³, Carvalho E. ¹

1 - Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra, Investigador, Coimbra

2 - Centro de Informática e Sistemas, Departamento de Engenharia Informática da Universidade de Coimbra, Investigador, Coimbra

3 - Unidade de Cirurgia Cardiorrástica dos Centro Hospitalar e Universitário da Universidade de Coimbra, Médico Cirurgião, Coimbra

Introdução: As doenças cardiovasculares são a principal causa de morbidade e mortalidade na população diabética. O tecido adiposo epicardial (TAE) e um tipo específico de gordura que envolve o coração. Em condições fisiológicas é responsável pela secreção de várias biomoléculas com efeito protetor nos cardiomiócitos e artérias coronárias, regulando funções metabólicas e imunes. Alterações metabólicas nas células gordas podem modular a captação dos ácidos gordos, a sinalização da insulina e a captação da glucose em resposta à insulina, o que pode alterar o metabolismo cardíaco. Apesar do importante papel fisiológico do TAE no metabolismo cardiovascular, a sua influência no desenvolvimento de diversas patologias nunca foi estudada.

Métodos: Através de respirimetria de elevada resolução, usufruindo da tecnologia de OROBOROS, foi possível avaliar a contribuição da β -oxidação na respiração mitocondrial em diversos estádios da fosforilação oxidativa (OXPHOS) no tecido adiposo epicardial e subcutâneo (TAS) de indivíduos diabéticos e não diabéticos recolhidos de operações cardíacas no Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra.

Resultados: Em doentes não diabéticos o TAE apresenta um aumento da respiração mitocondrial ($p \leq 0,05$) quando comparado com o TAS, tanto num estado basal como após inibição da UCP1, através da adição de GDP. Este aumento é também observado ($p \leq 0,05$) na avaliação da OXPHOS mediada pela contribuição tanto a oxidação dos ácidos gordos como da via do NAD. Não foram observadas diferenças nos tecidos dos doentes não diabéticos. Verificou-se ainda um aumento da respiração mitocondrial ($p \leq 0,001$) em doentes não diabéticos, num estado basal com e sem inibição da proteína UCP1, quando comparados com doentes diabéticos. Quando apenas diferenças entre tecidos foram observadas, excluindo o efeito da doença, verificou-se um aumento da respiração mitocondrial do TAE ($p \leq 0,05$) no estado basal, OXPHOS mediada pela β -oxidação e pela via do NAD, após energização do complexo I, e no estádio máximo de não acoplamento.

Conclusão: Este estudo demonstra pela primeira vez, o aumento da respiração mitocondrial com a contribuição da via dos ácidos gordos, no TAE quando comparada com o tecido subcutâneo em doentes com falha cardíaca, mesmo quando a proteína UCP1 está inibida. A caracterização de TAE, pode contribuir para a descoberta de biomarcadores que podem funcionar como potenciais alvos terapêuticos na doença cardíaca.

CO Sessão 6 - 33

Oral – Investigação Fundamental

COMPOSTOS ANTI-GLICAÇÃO COMO ESTRATÉGIA TERAPEÚTICA PARA DOENÇA DE PARKINSON

Miranda H. V., Chegão A., Gomes B. F., Outeiro T. F.

CEDOC, NOVA Medical School, Universidade NOVA de Lisboa, Investigador, Lisboa

Introdução: Vários estudos têm demonstrado que a Diabetes Tipo II é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Em particular, em indivíduos novos que desenvolvem diabetes tipo II, representa um aumento de ~400% do risco de desenvolver doença de Parkinson e acelera a progressão desta patologia, para a qual não existem tratamentos curativos. A glucose, após transporte pela barreira hematoencefálica, é importada pelos neurónios e em conjunto com os seus sub-produtos reagem com grupos amina de proteínas de forma irreversível formando produtos avançados de glicação. Em condições de hiperglicemia, os neurónios são mais vulneráveis a estas modificações, e verificámos que a glicação da alfa-sinucleína, uma proteína chave na doença de Parkinson, induz neurodegeneração. É por isso essencial identificar estratégias anti-glicação que possam impedir a glicação da alfa-sinucleína e assim desenvolver uma nova abordagem terapêutica para a doença de Parkinson.

Objectivos: Neste estudo colocámos por hipótese que compostos supressores de glicação possam prevenir a toxicidade da alfa-sinucleína.

Material e Métodos: Neste estudo utilizámos um modelo celular de doença de Parkinson, baseado na sobreexpressão de alfa-sinucleína. De forma a potenciar a glicação, tratámos as células com metilglioxal (MGO), um sub-produto da glucose com elevado potencial glicante. Realizámos uma triagem de vários compostos anti-glicação e avaliámos a sua capacidade de prevenir a citotoxicidade, agregação e a resistência à degradação da alfa-sinucleína.

Conclusão: Verificámos que o MGO potencia a toxicidade e aumenta os níveis, estabilidade e agregação da alfa-sinucleína. Surpreendentemente, a metformina, um composto utilizado no tratamento da diabetes, reverteu vários fenótipos patológicos. Pensamos que esta proteção ocorre principalmente pelo aumento da capacidade de degradação da alfa-sinucleína. De futuro, iremos estudar a eficácia da metformina em modelos animais de doença de Parkinson. Concluímos assim que estratégias capazes de reduzir glicação apresentam potencial terapêutico para doença de Parkinson.

CO Sessão 6 - 34

Oral – Investigação Fundamental

GENÉTICA DE DIABETES TIPO I DE INÍCIO PRECOCE: NÃO SÓ OS SUSPEITOS DO COSTUME

Caramalho I.¹, Matoso P.², Sobral D.², Costa J.², Ligeiro D.², Fitas A. L.³, Limbert C.³, Gonçalves C. P.², Demengeot J.²

1 - Instituto Gulbenkian de Ciência, Investigadora, Oeiras

2 - Instituto Gulbenkian de Ciência, Oeiras

3 - Hospital D. Estefânia, Lisboa

A Diabetes Tipo 1 (DT1) diagnosticada em crianças com idade inferior a 5 anos – Diabetes Tipo 1 de início Precoce (DT1P)- é uma entidade clínica emergente e mais grave no contexto da epidemiologia de DT1 em países ocidentais, incluindo Portugal. A etiologia de DT1P permanece no entanto por esclarecer, o que impede o desenvolvimento de estratégias de diagnóstico e de intervenção terapêutica precoces.

Neste trabalho investigámos se DT1P é uma entidade genética distinta de DT1 juvenil. Com este objectivo, estabelecemos uma coorte de 102 crianças com DT1P seguidas no Hospital D. Estefânia, e procedemos à sua caracterização genética. Para comparação, foi analisada uma coorte de 104 doentes com DT1 juvenil com início mais tardio (onset diabetes >9 anos) e 172 indivíduos saudáveis. Amostras de DNA foram submetidas a tipagem de HLA classe II de alta resolução, a genotipagem com um painel de 120 SNPs associados a risco de DT1 e à sequenciação total do exoma.

Os nossos resultados demonstram que a maioria de doentes com DT1P apresentam uma carga de risco genético, conferida por haplótipos de HLA II e SNPs de susceptibilidade a DT1, semelhante a doentes com DT1 juvenil. Assim, variantes genéticas de risco a DT1 comuns não explicam a maior severidade de DT1P. Adicionalmente, identificámos variantes raras em genes imunoreguladores que deverão estar envolvidas na etiologia de DT1P, pelo menos num subgrupo de doentes.

O nosso trabalho indica que a arquitectura genética de DT1P é constituída não só por factores de susceptibilidade a DT1 frequentes e previamente conhecidos, mas também por variantes genéticas raras em genes responsáveis pelo início precoce e severidade de doença. A conclusão desta investigação irá permitir a identificação e confirmação de biomarcadores genéticos adicionais, preditivos de gravidade e início precoce de DT1, facilitando uma estratificação e acompanhamento clínico mais adequados destes doentes.

CO Sessão 6 - 35

Oral – Investigação Fundamental

A DELEÇÃO DA PARAOXONASE-1 AGRAVA A INTOLERÂNCIA À GLICOSE CAUSADA POR UMA DIETA HIPERCALÓRICA

Meneses M. J. ¹, Sousa-Lima I. ², Borges D. O. ³, Patarrão R. S. ³, Raposo J. F. ⁴, Macedo M. P. ⁵

- 1 - CEDOC e ProRegeM, NOVA Medical School/Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, Investigação, Lisboa
- 2 - CEDOC, NOVA Medical School/Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa e APDP – Centro para a Educação e Investigação, Investigação, Lisboa
- 3 - CEDOC, NOVA Medical School/Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa e Instituto Gulbenkian de Ciência, Investigação, Lisboa
- 4 - CEDOC, NOVA Medical School/Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa e APDP – Centro para a Educação e Investigação, Diabetologia, Lisboa
- 5 - CEDOC, NOVA Medical School, Universidade Nova de Lisboa, APDP - Centro para a Educação e Investigação, e Departamento de Ciências Médicas, Univ. Aveiro, Investigação, Lisboa

Introdução: O drástico aumento da prevalência da obesidade e doenças metabólicas, tais como a diabetes *mellitus* tipo 2 e a esteatose hepática não alcoólica, relaciona-se com o consumo excessivo de alimentos processados, ricos em gorduras saturadas e hidratos de carbono, que promovem um ambiente pró-oxidante e pró-inflamatório. A paraoxonase 1 (PON1), enzima produzida no fígado conhecida por saponificar ésteres oxidados e fosfolípidos, pode ser fulcral na manutenção da homeostasia. No entanto, o papel específico desta proteína na obesidade continua por investigar.

Objetivos: O presente trabalho tem como hipótese que a enzima PON1, devido aos seus efeitos antioxidantes, é capaz de proteger o fígado dos efeitos nocivos de uma dieta hipercalórica. O objectivo é determinar se a deleção global de PON1 agrava o perfil metabólico em modelos de obesidade induzida pela dieta.

Material e Métodos: Murganhos B6.129X1-Pon1^{tm1Lus/J}, (WT - controlo, HET - heterozigóticos e KO - *knockout*) foram expostos *ad libitum* a uma dieta hipercalórica (HFat - 58% KCal lípidos e 25% KCal sacarose), das 6 às 18 semanas de idade. No final do estudo, avaliaram-se a sensibilidade à insulina e tolerância à glicose. Foi feita a análise histológica ao fígado por coloração com hematoxilina & eosina.

Resultados: Durante as 12 semanas de exposição à HFat, não se observaram diferenças no peso dos animais dos diferentes grupos. Embora a glicémia em jejum também não tenha apresentado diferenças, a tolerância à glicose no fim do estudo estava diminuída nos animais *knockout* e heterozigóticos em HFat, sem que isso afetasse a sensibilidade à insulina. Análise dos níveis proteicos de PON1 no fígado mostram uma total deleção desta em KO e uma diminuição significativa dos níveis em HET, comparando com WT. A análise histológica do fígado permitiu observar um aumento de acumulação ectópica de lípidos em KO, comparando com WT, sendo possível a observação de vacúolos lipídicos aumentados

Conclusão: Os resultados obtidos sugerem que a deleção da PON1 está associada a um agravamento do perfil metabólico de animais em dieta hipercalórica, especificamente no que diz respeito à homeostasia da glucose e NAFLD. A partir dos resultados aqui descritos, pode-se inferir que a PON1 tem um papel na proteção contra os efeitos de uma dieta hipercalórica.

Agradecimentos: FEDER/COMPETE/FCT – Portugal (POCI-01-0145-FE-DER-007491; PD/BD/114256/2016; PTDC/BIM-MET/4265/2014; UID/Multi/04462/2013; LISBOA-01-0145-FEDER-022170).

CO Sessão 6 - 36

Oral – Investigação Fundamental

MODULAÇÃO DA GLIOXALASE-1 PELO GLP-1: IMPACTO NA CAPILARIZAÇÃO E SENSIBILIDADE À INSULINA DO TECIDO ADIPOSEO

Rodrigues T. ¹, Borges P. ¹, Carrêlo C. ¹, Mar L. ¹, Heickhoff H. ², Almeida B. ³, Marques D. ¹, Pires S. ⁴, Abrantes M. ⁴, Martins B. ⁵, Uriarte C. ⁶, Gomes P. ⁶, Silva S. ⁷, Seïça R. ¹, Matafome P. ⁸

- 1 - Instituto de Fisiologia e Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR), Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra (FMUC), Coimbra
- 2 - Instituto de Fisiologia e iCBR, FMUC, Centro de Obesidade, Hospital de Santiago, Setúbal, Coimbra/Setúbal
- 3 - Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal (APDP), Lisboa
- 4 - Instituto de Biofísica e iCBR, FMUC, Coimbra
- 5 - iCBR, FMUC, Coimbra
- 6 - Departamento de Cirurgia, Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, Coimbra
- 7 - iCBR, FMUC, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra
- 8 - Instituto de Fisiologia e iCBR, FMUC, Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra Health School (ESTeSC), Coimbra

Introdução e Objetivos: Foi demonstrado que a glicação altera a capilarização do TA em ratos obesos, contribuindo para a desregulação metabólica na obesidade. A hipótese deste estudo foi que a diminuição da actividade da enzima glioxalase-1 (GLO-1) no tecido adiposo pudesse correlacionar-se com a resistência à insulina em doentes obesos, podendo constituir um alvo terapêutico na obesidade e diabetes tipo 2. Uma vez que a gastrectomia vertical melhora a angiogénese do tecido adiposo e os níveis pós-prandiais de GLP-1, foi também colocada a hipótese que este poderia regular a actividade da GLO-1, favorecendo a angiogénese do TA.

Métodos: Foi avaliada a actividade da GLO-1 em amostras de tecido adiposo visceral de doentes obesos (diabéticos e não diabéticos) e foram determinados a insulinemia e os índices de insulino-resistência. O papel do GLP-1 na regulação da angiogénese e da GLO-1 foi avaliado num ensaio de angiogénese do tecido adiposo. *In vivo*, os níveis da GLO-1 e de factores angiogénicos e vasoactivos foram avaliados no TA epididimal de ratos diabéticos Goto-Kakizaki submetidos a gastrectomia vertical ou tratados com Liraglutido.

Resultados: A actividade da glioxalase foi significativamente menor no tecido adiposo de doentes obesos diabéticos e pré-diabéticos, em relação aos normoglicémicos, acompanhando o perfil observado para marcadores de disfunção do tecido adiposo, como a adiponectina. Além disso, os seus valores correlacionaram-se positivamente (p de Pearson = 0.18; $p=0.043$) com o aumento compensatório da função da célula beta nos doentes insulino-resistentes e o declínio progressivo nos doentes pré-diabéticos e diabéticos tipo 2. No ensaio de angiogénese do tecido adiposo, o GLP-1 aumentou a angiogénese de forma dependente da GLO-1. A expressão e actividade da GLO-1 foram ainda maiores no tecido adiposo epididimal dos ratos submetidos a gastrectomia vertical e tratamento com Liraglutido, associando-se a maiores níveis de factores angiogénicos e vasoactivos como o VEGF, VEGFR2, FGFR, HIF-2 α e eNOS, bem como da forma activada do receptor da insulina.

Conclusões: A diminuição da actividade da GLO-1 no tecido adiposo associa-se a resistência à insulina e pode ser um alvo do GLP-1 de forma a promover a capilarização do tecido e a sensibilidade à insulina. Estes mecanismos poderão constituir uma nova abordagem no tratamento da desregulação metabólica da obesidade e diabetes tipo 2.