

7º Simpósio em Metabolismo da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

– Comunicações Orais e Posters



> 1ª SESSÃO

Síndrome ou Doença Metabólica?

C. Hipólito-Reis

Professor Jubilado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

A *síndrome metabólica* é uma existência médica considerada no âmbito dos factores de risco da doença coronária, reconhecida já na Alemanha, com essa designação, entre as duas Grandes Guerras Mundiais. Em 1988, Reaven, nos EUA, enunciou-a formalmente, com o nome de *síndrome X*. Em 1999, num documento da WHO, a designação *síndrome metabólica* aparece expressa, e essa existência é definida, abrangendo os aspectos que até então lhe haviam sido dispersamente re-

conhecidos. Em 2001, o “Adult Treatment Panel III”, do “National Cholesterol Education Program”, nos EUA, apresenta-o com a mesma designação, e propõe-lhe também *diagnóstico* e *tratamento*. Estabelece-se e propaga-se, então, um duplo viés semântico relativamente a dois antecedentes genésicos, ambos de 1936: as considerações de Himsforth acerca dos efeitos da insulina sobre a glicemia e a primeira publicação de Selye sobre a *síndrome de stresse*, depois chamado *síndrome geral de adaptação*. Por motivos compreensíveis, tais desvios de origem foram geralmente aceites sem crítica, e a formulação realizada mantém-se com inércia própria, impedindo a consideração da entidade médica que é a *doença metabólica*, em que a *síndrome metabólica* se insere.

A diabetes *mellitus* do tipo 2 e a doença vascular cardíaca são devastadoras, constituem ameaças realmente crescentes e apresentam-se como sorvedouros financeiros dificilmente suportáveis. Os fantasmas destas duas doenças juntaram-se no da *síndrome metabólica*, e os da obesidade e da inflamação também não se fizeram esperar.

O desejo e a esperança de resolver os graves problemas implicados no conceito, o complexo criado pela inserção da *síndrome metabólica* no rol das doenças da “civilização moderna”, a sugestividade das perspectivas propostas, as inovações metodológicas, com as diferenças que existem entre si, e o prestígio e a conveniência da profusão literária gerada criaram sombras em que a evidência da doença desvaneceu e a justeza da própria *síndrome* foi posta em causa, sem que as soluções aparecessem.

Por isso, o intento de valorização da *síndrome metabólica* tem motivado múltiplas tentativas declaradas para estabelecer *pontes de ligação* com a *doença metabólica* fundamentadas nos processos bioquímicos que vão sendo descobertos, mas as aporias epistémicas intrínsecas da questão são ainda o maior obstáculo do desiderato.

Contudo, não é apenas pelo dito que a interrogação da epígrafe se demarca dos problemas bizantinos.

Do ponto de vista da medicina prática, a indefinição da *doença metabólica* como entidade tem impedido a procura do seu tratamento etiológico, deixando soltos e erráticos os tratamentos sintomáticos, por isso imprecisos, muitas vezes ineficazes e não raramente nóxios – tanto mais quanto os problemas vão sendo colocados nas limitações crescentes que a prática médica vai sofrendo, enredada nos meandros da cultura firmada em pressupostos como os da classificação dos fármacos pelas intenções dos usos mais frequentes, do princípio dos protocolos e do mito da medicina fundada na evidência.

Nesta comunicação:

- 1) aponto os conhecimentos bioquímicos que permitem definir a *doença metabólica* como entidade distinta de todas as outras, as quais sendo genericamente metabólicas não o são do mesmo modo específico, e tem variadas formas com evoluções próprias mantendo constantes os atributos que permitem o diagnóstico, o tratamento e o prognóstico, como é próprio das realidades médicas em que as síndromes se inserem;
- 2) considero os fundamentos simples da prática médica que permitem a evidência da doença e o seu reconhecimento precoce, condição da eficácia médica; e

3) apresento uma interpretação da natureza dos obstáculos epistémicos que têm impedido e continuam a impedir que a consideração da síndrome e a consideração da doença se acompanhem de modo explícito conciliando a investigação, designadamente a bioquímica, e a prática médica.

> 2ª SESSÃO

O Impacto da Cirurgia na Síndrome Metabólica

J. R. Preto

Unidade de Tratamento Cirúrgico de Obesidade, Serviço de Cirurgia Geral, Centro Hospitalar de São João, Porto, Portugal

A prevalência do excesso de peso e da obesidade têm vindo a aumentar constantemente. Segundo dados recentes da Direcção Geral da Saúde, estima-se que 1 milhão de portugueses têm critérios de obesidade, e 2 milhões, têm excesso de peso. A obesidade está associada a um risco aumentado de diabetes *mellitus* tipo II, hipertensão arterial, dislipidemia, doença cardiovascular, osteoartrite, numerosos cancros e a um aumento de mortalidade. Acrescenta a estes dados que, aproximadamente 30 % dos pacientes, apresentam já critérios de síndrome metabólica.

Os principais objectivos do tratamento da obesidade são a perda duradoura do excesso de peso, e a melhoria das co-morbilidades associadas. Tratamentos convencionais, tais como dieta, modificações de estilos de vida, exercício e farmacoterapia não permitem atingir resultados satisfatórios, no que diz respeito a perda de peso sustentada. O único tratamento eficaz da obesidade é a cirurgia. Os efeitos benéficos das cirurgias bariátricas contemporâneas na perda de peso, na melhoria e/ou cura das doenças associadas, na redução de mortalidade e na melhoria global da qualidade de vida dos doentes, estão bem documentados. O resultado alcançado, no que diz respeito às co-morbilidades associadas à obesidade, vai depender do tipo de cirurgia bariátrica realizada.

Esta apresentação pretende abordar os efeitos dos vários tipos de cirurgia bariátrica, sobre os componentes da síndrome metabólica (hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão), a perda de peso, a mortalidade e morbilidade peri-operatória e impacto a longo prazo, do risco cardiovascular.

A Perspetiva Endócrina da Cirurgia Bariátrica no Tratamento da Síndrome Metabólica e Suas Componentes

M. P. Monteiro

Unidade Multidisciplinar de Tratamento da Obesidade, Serviço de Cirurgia Geral do Centro Hospitalar S. João, Porto, Portugal

Metabolic syndrome (MS) is a condition frequently associated with obesity and defined by several criteria, such as visceral obesity, hypertension, altered fasting glucose and lipid metabolism. Insulin resistance is considered the central abnormality of MS and increases the lifetime risk of developing T2DM, cardiovascular disease and cardiovascular death, which justify the need to identify MS patients.

There is no single drug medication that targets MS. Lifestyle modifications with the aim of reducing the underlying causes: central obesity / overweight and insulin resistance are the cornerstones in the management of MS. Aggressive treatment with drug combination therapy targeted to each of the components of the MS is highly recommended as the benefits are well-known in the control on morbidity and mortality. Most dietary interventions do not achieve more than 10-15% weight loss that is often regained, while drugs rarely allow long lasting or sustained weight loss and MS remission.

In contrast, bariatric surgery, has proven to be effective in treating the different components of the MS in obese individuals. The mechanisms that could explain the efficacy of bariatric surgery in the reversibility of

MS include weight loss, the decrease in food intake, reduction of abdominal obesity and insulin resistance, reduction in fatty acid turnover, amelioration of the inflammatory response and improvement of endothelial function. Changes in incretin hormones after the surgical procedures may have a role that still requires being further investigated and could account specifically for the better results achieved after gastric bypass compared to restrictive procedures in diabetes remission. Our and other author data showed that obesity associated MS is reversible by weight loss attained through bariatric surgery and allows discontinuation of drug therapy for associated metabolic disturbances, while the extent of weight loss is the best parameter for predicting MS remission.

Papel do Nutricionista na Cirurgia Metabólica

C. Teixeira

Unidade de Nutrição e Dietética do Centro Hospitalar S. João, Porto, Portugal

Sendo a Cirurgia metabólica considerado o último recurso no tratamento da Obesidade grave, o seu tratamento tem de ser facultado por uma equipa multidisciplinar. O papel do Nutricionista nesta intervenção/ tratamento inicia-se no momento de uma primeira avaliação pré-operatória, mantém-se no internamento e prolonga-se no pós-operatório.

A Consulta de Avaliação Multidisciplinar no Tratamento Cirurgia de Obesidade do Centro Hospitalar S. João, nomeadamente a consulta de nutrição, obedece e cumpre as Normas de Boas Práticas da Direcção Geral da Saúde no Tratamento destes doentes.

Assim sendo, para além da avaliação nutricional do doente, o nutricionista, é responsável pela prescrição do plano alimentar adequado a estes doentes bem como pela monitorização do seu cumprimento. É, também da responsabilidade da equipa a prevenção e/ou diagnóstico e/ou tratamento das carências nutricionais que podem surgir nestes doentes.

> 3ª SESSÃO

Doença Cardíaca: Contribuição da Investigação do Coração em Desenvolvimento e em Reparação Para Novas Perspetivas Terapêuticas

P. Pinto-do-Ó

INEB & I3S, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto, Porto, Portugal

The SCmR – Stem-Cell Microenvironments in Repair/Regeneration Team intent to understand the role stem/progenitor cells allocated to specific tissue/organs might have on the regeneration in the adult organism. Perpetua's Team started by using the heart as model in this investigation; a series of in vivo and in vitro tools were established in the implementation of a new research line on cardiovascular repair/regeneration at INEB. The latter is presently represented by the integrative efforts applied to identify cells/molecular cues (cellular and non-cellular, e.g. extracellular matrix) implied in heart development and cardiac tissue (re) genesis, i.e. adult tissue remaking/regeneration. Pinto-do-Ó has been PI of several research projects, funded by the National Foundation for Science and Technology and contract-projects with the industry. New research lines addressing the biology of regenerative systems, e.g. hematopoietic system are presently being launched in the Team.

Estratégias Para Influenciar a Perda da Função Renal na Diabetes Tipo 2

M. Pestana

Departamento de Doenças Renais, Urológicas e Infecciosas, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Serviço de Nefrologia do Centro Hospitalar São João, Porto, Portugal

A doença renal diabética é atualmente a principal causa de Doença Renal Crónica (DRC), em todos os continentes e em todas as raças. Para tal contribui a pandemia da diabetes tipo 2 que se acompanha de DRC diabética em 20 a 40% dos doentes e que está associada a uma elevada morbidade e mortalidade cardiovascular. A DRC na diabetes tipo 2 manifesta-se habitualmente por albuminúria de dimensão variável, embora esteja cada vez mais bem descrita a apresentação desta doença apenas sob a forma de insuficiência renal. Com base em ensaios clínicos randomizados, a prevenção da DRC diabética focou-se sobretudo no controlo de dois factores de risco: a hiperglicemia e a hipertensão arterial. Em relação ao controlo da pressão arterial, é recomendada de forma inquestionável a utilização dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina ou dos antagonistas dos receptores AT1 da angiotensina, como fármacos de primeira linha, pelos seus efeitos nefroprotectores, independentes das suas acções sobre a pressão arterial. No entanto, o uso associado destes fármacos não mostrou acompanhar-se de benefícios acrescidos. Por outro lado, a evidência suporta que o controlo optimizado da glicemia se acompanha previsivelmente de um efeito renoprotetor, associado sobretudo à redução da albuminúria à qual pode somar-se um melhor controlo da pressão arterial. Seja como for, o controlo da hiperglicemia e da pressão arterial, não impede a progressão da DRC diabética em muitos doentes.

Têm vindo a ser recentemente descritos efeitos pleiotrópicos de diversos fármacos antidiabéticos, independentes do controlo glicémico, os quais poderão beneficiar nuns casos, e prejudicar noutros, quer a progressão da doença renal diabética quer o risco cardiovascular aumentado que lhe está associado. Por exemplo, os inibidores da DPP-4 como a saxagliptina e a linagliptina e os inibidores da SGLT-2 como a canagliflozina e a dapagliflozina, poderão reduzir a albuminúria, independentemente do controlo que exercem sobre a glicemia. Outros antidiabéticos, como a metformina e a pioglitazona, podem reduzir os níveis de lípidos, independentemente do controlo que exercem sobre a glicemia. Nos últimos anos, foi sugerido que o controlo da hiperfiltração glomerular, da dislipidemia e da obesidade poderia contribuir para atrasar a progressão da doença renal na diabetes tipo 2. A redução do peso na diabetes tipo 2 associa-se a redução da albuminúria e a um melhor controlo da glicemia e da pressão arterial. Por sua vez, o controlo da dislipidemia nos doentes diabéticos com nefropatia parece associar-se sobretudo a benefícios sobre o risco cardiovascular. Seja como for, os resultados dos estudos em que foram tentadas abordagens multidisciplinares para controlo destes factores de risco, não conseguiram impedir um risco residual importante de progressão da DRC diabética, o que impõe a continuidade no esforço de desenvolvimento de novos fármacos e em novas estratégias terapêuticas. Exemplos de mecanismos cuja modulação tem vindo a merecer atenção crescente nos últimos anos, pelas suas implicações na patogénese da DRC da diabetes tipo 2 são o stress oxidativo, a inflamação e a endotelina.

Oxigenoterapia Hiperbárica no Pé Diabético Compensa?

D. Martins-Mendes

Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal; I3S - Instituto de Investigação e Inovação em Saúde; Serviço de Medicina Interna e Consulta Multidisciplinar de Pé Diabético, Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, EPE, Portugal

Aproximadamente 8.3% da população mundial tem diabetes (DM). O pé diabético é um das complicações *major* da DM. Em Portugal, em 2013, foram efectuadas 1556 amputações por pé diabético (689 *major* e 867 *minor*). A oxigenoterapia hiperbárica (OHB) é uma modalidade terapêutica que tem sido usada em úlceras de pé diabético (UPD), não havendo, contudo, ainda consenso relativamente ao seu custo-efectividade.

Foi efectuado um ensaio clínico não randomizado com o objectivo de comparar o ambiente molecular sérico (marcadores angiogénicos, vasculogénicos e inflamatórios); avaliar a eficácia da oxigenoterapia hiperbárica (OHB) na redução e cicatrização de UPD, modelação de marcadores séricos e melhoria da microvascularização. Nesse estudo foram incluídos 3 grupos de participantes: a) um grupo sem UPD e dois com UPD sem melhoria após 8 semanas de tratamento convencional – b) tratados com OHB, c) não tratados com OHB. Compararam-se os sujeitos tratados com OHB com os não tratados em diferentes tempos. Dos resultados é de salientar que após 3 meses de OHB, ocorreu uma redução significativa do nível sérico de leucócitos e proteína C-reativa (PCR) e de todas as dimensões da UPD. Os pacientes com UPD apresentam níveis de *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) superiores que diminuem, com OHB, para valores semelhantes aos do grupo sem UPD. Por outro lado, no grupo submetido a OHB, o *Stromal Cell Derived Factor 1- Alpha* (SDF1- α) aumentou ao mês 3, voltando ao valor base aos 6 meses, o que levanta a hipótese de um aumento das células progenitoras endoteliais circulantes com o tratamento, efeito que parece parar com a suspensão do mesmo. Tendencialmente ocorre um aumento do número de vasos no leito da UPD após 1 mês de OHB. Na tentativa de melhorar a referenciação foram analisados todos os utentes submetidos a OHB por UPD em Portugal continental nos últimos 5 anos. Derivou-se um modelo que inclui as variáveis número de pulsos podológicos, área da UPD, Wagner II-V e UP prévia. Este modelo apresenta medidas de validade diagnóstica adequadas ao seu futuro uso, sendo necessária validação prospectiva.

Para avaliar a eficácia desta terapia nas UPD, realizámos uma revisão sistemática com meta-análise que incluiu 40 estudos: 11 ensaios clínicos randomizados, 8 não randomizados e 22 estudos observacionais. Concluiu-se que embora a qualidade metodológica dos estudos seja baixa, a evidência existente sugere que a OHB é eficaz na cicatrização das UPD, diminuindo significativamente o risco de amputações *major*. Estes resultados vão de encontro a diversas revisões sistemáticas publicadas recentemente.

Por tudo isto, as últimas orientações do *International Working Group on the Diabetic Foot*, emitidas em 2015, recomendam o uso de OHB, embora reconheçam a necessidade de mais estudos para avaliar qual o grupo de pacientes que beneficiará mais e de custo-eficácia.

> COMUNICAÇÕES ORAIS

Efeito dos Polifenóis nas Complicações Vasculares e Metabólicas Associadas à Diabetes Mellitus Tipo 2

R. Costa^{1,2}, R. Negrão^{1,2}, R. Soares^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ²Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Introdução: A diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é uma doença metabólica crónica com elevada taxa de morbidade e mortalidade a nível

mundial. O estado de hiperglicemia crónica associada a esta patologia é responsável por alterações metabólicas, stress oxidativo e disfunção endotelial. Na DM2 manifesta-se um paradoxo angiogénico ocorrendo, no mesmo organismo, um aumento da neovascularização em órgãos como o rim e a retina, e diminuição noutros órgãos, como o coração. No entanto, permanecem por esclarecer os mecanismos subjacentes a este paradoxo. O xanto-humol (XN) e a 8-prenilnaringenina (8PN) são polifenóis presentes na cerveja, que exercem efeitos distintos no endotélio, podendo ser potenciais moduladores da disfunção vascular. Estes compostos são também reconhecidos como importantes moduladores enzimáticos podendo interferir no metabolismo glicídico e lipídico que está desregulado na DM2.

Objetivo: Estudar o efeito da ingestão de polifenóis na modulação da angiogénese e do metabolismo, em animais diabéticos.

Metodologia: Para o estudo, 30 ratos C57Bl/6 foram divididos em 5 grupos experimentais: controlo (alimentados com dieta normal, ND); diabético (alimentados com dieta hipercalórica, HFD); etanol (HFD+ 0,1% etanol); XN (HFD+ 10 mg XN/L em 0,1 % etanol) e 8PN (HFD+10 mg 8PN/L em 0,1 % etanol) durante 20 semanas. Após este período, os animais foram eutanasiados e o sangue foi recolhido para dosear marcadores angiogénicos e metabólicos por ELISA. Os rins e o ventrículo esquerdo (VE) foram recolhidos para quantificar a densidade microvascular (MVD) por imunohistoquímica e para analisar a expressão de recetores e vias moleculares angiogénicas e metabólicas por Western Blotting. A comparação entre os diferentes grupos foi efetuada pela análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para $p < 0,05$.

Resultados: Os resultados obtidos demonstraram que o consumo de polifenóis parece regular o paradoxo angiogénico nos animais diabéticos. Após consumo dos polifenóis denotou-se uma diminuição da neovascularização e da expressão de VEGFR-2 e vias moleculares angiogénicas no rim, sendo este efeito estatisticamente significativo após tratamento com o XN. No VE, os polifenóis induziram um aumento destes parâmetros, sendo significativo nos animais tratados com a 8PN. O mesmo perfil de resultados, com diminuição pelo efeito do XN e aumento pela 8PN, foi obtido para a expressão da enzima PFKFB3, que ativa a via glicolítica nas células endoteliais em proliferação. Nos animais diabéticos tratados quer com o XN quer com a 8PN, observou-se uma diminuição dos níveis plasmáticos e teciduais de VEGF-B e do seu receptor e co-receptor, o VEGFR-1 e a neuropilina-1, uma via associada com a captação de lípidos a nível periférico.

Conclusão: O consumo de polifenóis parece exercer um efeito preventivo no desenvolvimento do paradoxo angiogénico, atuando de um modo distinto nos diferentes órgãos, nos quais preveniram também a desregulação metabólica associada à DM. Esta interação entre a angiogénese e o metabolismo pode constituir um importante alvo para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Este trabalho foi financiado por SFRH/BD/86895/2012 e UID/BIM/04293/2013.

Avaliação da Contribuição do Ferro Hepático Para o Desenvolvimento de Esteatohepatite Não-alcoólica (NASH) em Murganhos Alimentados com uma Dieta do Tipo Ocidental

S. S. Chambel, A. G. Santos, A. Santos-Gonçalves, T. L. Duarte
IBMC, Instituto de Biologia Molecular e Celular, Universidade do Porto, Porto, Portugal; I3S, Instituto de Investigação e Inovação em Ciência, Universidade do Porto, Porto, Portugal

O aumento da obesidade representa atualmente um problema alarmante de saúde pública nos países industrializados. A obesidade está associada a alterações fisiológicas no organismo e ao desenvolvimento de outros fatores de risco que aumentam a propensão da doença cardiovascular e da diabetes tipo 2. Estes fatores, que incluem obesidade abdominal, dislipidemia aterogénica, hipertensão e resistência à insulina, constituem a síndrome metabólica. A doença não-alcoólica

do fígado gordo (NAFLD) é a manifestação hepática da síndrome metabólica, consistindo na deposição exagerada de triglicéridos no fígado. O stress oxidativo provocado pela sobrenutrição pode favorecer o desenvolvimento da esteatohepatite não-alcoólica (NASH), uma patologia do fígado mais severa associada a esteatose, inflamação e função hepática comprometida. A proteína humana *HFE* desempenha um papel crucial na homeostasia do ferro sistémico. Os indivíduos homocigóticos para certas mutações no gene *HFE* desenvolvem Hemocromatose Hereditária (HH). Em humanos, a contribuição de mutações do gene *HFE* para o desenvolvimento de NAFLD é controversa, apesar de depósitos de ferro hepático aumentados serem frequentemente observados em pacientes com esta patologia.^(1,2) Pensa-se que a deposição excessiva de ferro poderá favorecer o agravamento da NAFLD e a progressão da NASH.⁽³⁾ De igual forma, pacientes com HH apresentam frequentemente esteatose hepática.⁽⁴⁾

Como a presença de esteatose e de sobrecarga de ferro hepático produzem uma combinação de fatores que podem resultar em stress oxidativo, investigou-se a potencial contribuição de mutações no gene *HFE* para o desenvolvimento de esteatose, inflamação e fibrose em murganhos *Hfe*^{-/-} com fundo genético C57Bl/6 às 8 semanas de idade, quando alimentados com um dieta com elevado teor de gordura e sacarose (HFD, Ssniff EF R/M TD88137) ou uma dieta normal (ND, Ssniff EF R/M CD88137) durante 4, 8 e 12 semanas (N=5 em cada grupo experimental). Verificou-se deposição de ferro na maioria dos hepatócitos, independentemente da dieta, bem como aumento do peso corporal e gordura visceral em animais alimentados com HFD ao fim de 12 semanas. Estes murganhos também desenvolveram esteatose hepática ligeira e microvesicular. Ao contrário de um estudo anterior,⁽⁵⁾ não foram observados sinais de doença severa do fígado gordo característicos da NASH humana, incluindo inflamação, degeneração de hepatócitos em balão, ou fibrogénese hepática. Uma vez que, em doentes de NAFLD, a manifestação da NASH poderá estar associada à existência de depósitos de ferro em células reticuloendoteliais,⁽²⁾ administrou-se ferro dextrano, em conjunto com 8 semanas de HFD, a murganhos wt e *Hfe*^{-/-} com a mesma idade (N=5-7 em cada grupo experimental). Foram avaliados parâmetros como lesão e deposição de ferro hepático, esteatose, inflamação e fibrose. Em murganhos wt e *Hfe*^{-/-} alimentados com HFD durante 8 semanas, observou-se o aparecimento de esteatose hepática ligeira, independentemente das injeções de ferro. A administração de ferro dextrano promoveu a deposição de ferro em hepatócitos e células de Kupffer em murganhos de ambas as estirpes, independentemente da dieta. Estes animais não apresentaram, porém, maior grau de esteatose, ou evidência de degeneração de hepatócitos em balão, inflamação ou fibrose.

Concluindo, a ausência do gene *HFE per se* ou em conjunto com a administração de ferro não foi suficiente para agravar a esteatose hepática ou despoletar a NASH em murganhos com fundo genético C57Bl/6 alimentados com HFD.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pelo FEDER através do Operational Competitiveness Programme – COMPETE e por fundos nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia com o projeto FCOMP-01-0124-FED-ER-028447 (PTDC/BIM-MET/0739/2012).

Referências

1. Valenti et al. 2010 Gastroenterol 138:905.
2. Nelson et al. 2011 Hepatol 53:448.
3. Corradini and Pietrangelo 2012 J Gastroenterol Hepatol 27:42.
4. Powell EE et al. 2005 Gastroenterol 129:1937.
5. Tan et al. 2011 Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 301:G865.

Efeito Anti-inflamatório do Exercício Físico num Modelo Animal de Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Preservada e Síndrome Metabólica

C. Schmidt¹, R. Ferreira², R. Ferreira-Nogueira², N. Gonçalves³, A. F. Silva³, D. Fontoura³, S. Leite³, I. Falcão-Pires³, A. Lourenço³, J. Oliveira¹, A. Leite-Moreira³, D. Moreira-Gonçalves^{1,3}

¹Faculdade de Desporto da Universidade do Porto, Porto, Portugal,

²Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal,

³Departamento de Fisiologia e Cirurgia Cardiorádica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal

Introdução: Os pacientes diagnosticados com insuficiência cardíaca (IC) e fração de ejeção preservada (ICFEP) representam cerca de metade da população com IC, apesar da heterogeneidade das características clínicas. Os mecanismos cardíacos e não cardíacos subjacentes à fisiopatologia da ICFEP ainda não estão totalmente compreendidos. Contudo, estes pacientes apresentam elevada prevalência de comorbilidades, tais como, obesidade, hipertensão arterial e diabetes *mellitus* que estarão associadas com um estado inflamatório crónico de baixo grau, existindo atualmente evidência de que este será um mediador determinante para o desenvolvimento da ICFEP. Sabe-se que o exercício físico tem efeitos pleiotrópicos em várias patologias, especialmente pelas suas propriedades anti-inflamatórias. No presente estudo procuramos avaliar se o efeito anti-inflamatório do exercício físico em animais com ICFEP e síndrome metabólica.

Métodos: Utilizaram-se ratos ZSF1 lean (n=8) e ZSF1 obese (n=16). Na 15ª semana de idade, os animais ZSF1 obese foram divididos aleatoriamente em dois grupos: um grupo submetido a um programa de exercício físico (ObEx; n=8) e um grupo sedentário (ObSed; n=8). O grupo ObEx foi submetido a um protocolo de treino aeróbio com intensidade moderada durante 5 semanas, 5 dias por semana, 60 minutos por dia, a uma velocidade de 20m/min. No final do protocolo foram colhidas amostras plasmáticas para a quantificação de marcadores inflamatórios.

Resultados: Os animais ObSed apresentaram uma elevação significativa das proteínas inflamatórias Interleucina-6 e Proteína C-reativa. O TWEAK não apresentou variações significativas em nenhum dos grupos. O exercício físico foi capaz de reverter estas alterações.

Conclusão: Com este trabalho verificámos que o exercício físico é capaz de diminuir os parâmetros inflamatórios associados a ICFEP e ao síndrome metabólico.

Financiamento: Bolsa da Comissão Europeia FP7-Health-2010; MEDIA-261409.

C. Schmidt é financiada por uma bolsa individual da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (BEX 0554/14-6).

D. Moreira-Gonçalves é financiado por um bolsa individual da Fundação para a Ciência e Tecnologia (SFRH/BPD/90010/2012).

Natural Mineral-rich Water Ingestion by High-fructose Fed Ovariectomized Sprague-Dawley Female Rats: Impact on Metabolism and Microbiome

J. K. Das¹, V. Gonzalez², D. Monleon², V. G. Marrachelli², J. M. Morales², M. J. Martins^{1,3}, M. C. Collado⁴

¹Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal,

²Metabolomic and Molecular Image Laboratory, Fundación de Investigación INCLIVA, Valencia, Spain,

³Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, University of Porto, Porto, Portugal,

⁴Department of Biotechnology, Institute of Agrochemistry and Food Technology, Spanish National Research Council (IATA-CSIC), Valencia, Spain

Background: Prolonged high-fructose intake is linked to increased risk of metabolic dysfunction (MetDys). The absence of estrogen signalling in females induces MetDys that could be aggravated by high-fructose diets. MetDys can be induced or aggravated by a low-mineral

status and, conversely, minerals-supplemented diet can ameliorate or revert back MetDys. Deviant microbial composition may lead to faulty energy harvest, resulting in MetDys. We have reported that intervention by Portuguese natural mineral-rich water ameliorates MetDys in high-fructose fed Sprague-Dawley male rats.

Methods: Ovariectomized (OVX) Sprague-Dawley female rats were fed a high-fructose diet, for 10 weeks, to further induce/aggravate MetDys. We simultaneously tested 10 weeks of treatment with the above mentioned natural mineral-rich water in OVX rats, with and without high-fructose diet. Both tap water-treated OVX and sham-operated tap water-treated groups were also considered. Metabolomic characterization, by nuclear magnetic resonance (NMR) and microbiota composition analysis (using qPCR with specific primers), in serum and/or faeces, were assessed.

Results: Metabolomic analysis of serum and faecal extracts showed that natural mineral-rich water ingestion is beneficial against ovariectomy effects. In addition on OVX rats, in serum and faecal extracts, parameters affected by a high-fructose diet seem to be partially reversed/modulated by the natural mineral-rich water treatment. Changes in fatty acid moieties, succinate, pyruvate, glycerol, creatine and glutamate suggested shifts in energy metabolism. In addition, differences in ethanol, acetoin, trimethylamines and ethanolamine suggested a shift in microbiota metabolism. Faecal butyrate levels increased in natural mineral-rich water-treated OVX rats compared to natural mineral-rich water-treated high-fructose-fed OVX rats. A similar pattern was observed for propionate, acetate and total sum of short chain fatty acids. *Akkermansia muciniphila*, *Enterococcus* genus, *Enterobacteriaceae* family and *Lactobacillus* group differed when considering sham-operated and tap water and natural mineral-rich water-treated OVX rats; *Akkermansia muciniphila* also differed when considering the two fructose-fed OVX groups and tap water-treated OVX group.

Conclusion: Our results indicated that intervention by natural mineral-rich water modulates the metabolic status of the host possibly by modifying the gut microbiota composition.

Acknowledgments to Unicer Bebidas, S.A.

This study was partially funded by FCT (UID/BIM/04293/2013).

Efeito de Polifenóis da Dieta na Captação de ¹⁴C-frutose por Células Caco-2

N. Andrade¹, J. R. Araújo³, A. Correia-Branco^{1,2}, J. V. Carletti¹, F. Martel^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ²Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Portugal, ³Institute Pasteur, INSERM U786, Unity of Molecular Microbial Pathogenesis, Paris 75015, França

A incidência de diabetes *mellitus* e de síndrome metabólico tem aumentado drasticamente nas últimas décadas e atualmente estas patologias constituem uma das principais causas de morte a nível mundial.^(2,4,5) Numerosas evidências têm vindo a demonstrar que o consumo de produtos ricos em frutose está intimamente relacionado com o desenvolvimento de síndrome metabólico⁽⁴⁾ e uma das mais importantes alterações nos hábitos alimentares que ocorreram nos últimos 30 anos foi o aumento substancial da ingestão deste açúcar.^(2,4) Os polifenóis têm sido largamente estudados devido aos efeitos benéficos que propiciam à saúde.⁽³⁾ Sabe-se que diversos polifenóis conseguem interferir com a absorção intestinal de glicose,⁽¹⁾ mas pouco se sabe relativamente ao efeito destes fitoquímicos na absorção intestinal de frutose.

Assim, o nosso objetivo foi verificar se os polifenóis conseguem diminuir a absorção de frutose a nível intestinal. Para isso, testamos o efeito agudo (26 min) e crónico (24h) de uma série de 27 polifenóis, pertencentes a diferentes famílias, na captação de ¹⁴C-frutose por células Caco-2, uma linha celular que mimetiza o epitélio intestinal absorptivo humano. Agudamente, vários polifenóis reduziram significati-

vamente a captação de ^{14}C -frutose pelas células Caco-2: o ácido ferrulico (10 μM), o ácido cumárico (10 μM), o ácido cafeico (10 μM), a delphinidina (100 μM), a cianidina-3-glicose (10 μM), a crisina (1 μM , 10 μM e 100 μM), a malvidina-3-glicose (100 μM) e o ácido proctocatenólico (10 μM) reduziram a captação em 15-20%, enquanto o ácido sinapínico (1 μM) e a catequina (10 μM) reduziram a captação em cerca de 10%. Cronicamente, a captação de ^{14}C -frutose também foi reduzida por vários polifenóis: a quercetina (100 μM), a crisina (100 μM) e a apigenina (100 μM) tiveram o efeito mais marcado (25% de redução), e outros polifenóis como a malvidina-3-glicose (10 μM e 100 μM), miricetina (100 μM), kaempferol (100 μM), naringenina (100 μM) e delphinidina-3-glicose (10 μM) reduziram a captação de ^{14}C -frutose em menor grau (15%). O combinado dos polifenóis que apresentaram um efeito crónico mais marcado (quercetina 100 μM + crisina 100 μM , quercetina 100 μM + apigenina 100 μM e crisina 100 μM + apigenina 100 μM) não foi superior ao efeito individual de cada um deles. O GLUT 5 é principal transportador envolvido na captação apical de frutose pelos enterócitos.⁽⁶⁾ Utilizando um inibidor específico do GLUT5 (L-Sorbose-Bn-OZO 10 μM) verificamos que a combinação desse inibidor com a quercetina 100 μM , a apigenina 100 μM ou a crisina 100 μM originou um efeito inibitório mais marcado na captação de ^{14}C -frutose do que apenas o inibidor ou o polifenol.

Assim, concluímos que diversos polifenóis são capazes de reduzir a captação de ^{14}C -frutose pelas células Caco-2. Isto sugere que esses compostos poderão reduzir a absorção de frutose a nível intestinal, com consequente efeito benéfico em termos de diabetes tipo II/síndrome metabólica. Os resultados obtidos com o inibidor do GLUT5 levam-nos a concluir que a frutose utiliza outro transportador para além deste para ser captada pelas células Caco-2, muito provavelmente o GLUT2.

Agradecemos ao Professor Arnaud Tatibouet da Universidade de Orléans, França, por nos ter fornecido o inibidor do GLUT5 e a CAPES, Ministério da Educação, Governo do Brasil, pelo financiamento do projeto.

Referências

1. Araújo J, Martel F. *Arq Med.* 2009; 23: 35-43.
2. Elliott S, et al. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 911-22.
3. Vauzour D, et al. *Nutrients.* 2010; 2: 1106-31.
4. Rutledge AC, Adeli K. *Nutr Rev.* 2007; 65: S13-23.
5. Robert H, Lustig MD. *J Am Diet Assoc.* 2010; 110: 1307-21.
6. Drozdowski LA, Thomson ABR. *World J Gastroenterol.* 2006; 21: 1106-31.

Alterações Cardíacas Desencadeadas por uma Dieta Hipercalórica na Pré-obesidade – Uma Cardiomiopatia Escondida?

N. Gonçalves¹, A. F. Silva¹, P. Rodrigues¹, E. Correia¹, C. Moura¹, C. Eloy², Jr. R. Roncon-Albuquerque¹, I. Falcão-Pires¹, A. F. Leite-Moreira¹

¹Departamento de Fisiologia e Cirurgia Cardioráquia, FMUP, Porto, Portugal, ²Instituto de Patologia e Imunologia Molecular, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Introdução: O impacto cardíaco da obesidade encontra-se descrito, contudo, o contributo das alterações metabólicas e/ou das substâncias libertadas pelo tecido adiposo permanece por definir. Neste estudo, pretendemos avaliar os efeitos cardíacos de uma dieta rica em hidratos de carbono, lípidos e sal, bem como as alterações do tecido adiposo num estado de pré-obesidade.

Métodos: Ratos Wistar foram alimentados com uma dieta normal (RD) ou uma dieta hipercalórica (HCD) durante seis semanas. No final do protocolo realizaram-se testes metabólicos, avaliação da estrutura e função cardíacas e colheita de tecidos para histologia e quantificação de ARN. (*vs RD p<0,05)

Resultados: O grupo HCD apresentou um peso corporal semelhante aos animais do grupo RD mas maior acumulação de tecido adiposo e

diâmetro dos adipócitos. A nível cardíaco, a HCD induziu hipertrofia dos cardiomiócitos, maior deposição de fibrose, aumento da rigidez e deterioração do relaxamento nos dois ventrículos. Adicionalmente, esta dieta alterou o perfil de adipocinas sintetizadas pelo tecido adiposo, potenciando um ambiente sistémico pró-inflamatório.

Conclusão: Antes do diagnóstico clínico de excesso de peso ou obesidade, a ingestão de uma HCD promove alterações diastólicas biventriculares. O ambiente pró-inflamatório originado pelo tecido adiposo hipertrofiado poderá ser o mecanismo desencadeador das alterações cardíacas detetadas. A nível clínico surge a necessidade de novos parâmetros ou biomarcadores para detetar precocemente as alterações cardíacas promovidas pela HCD.

	RD	HCD
Peso corporal (g)	321±8.1	336±10.0
Tecido adiposo/Comprimento da tibia (g/cm)	6.2±0.48	13.0±0.65*
Diâmetro dos adipócitos (μm^2)	325±2.7	349±3.0*
VE		
Diâmetro dos cardiomiócitos (μm^2)	381±4.9	440±7.7*
Fibrose (%)	5.1±0.46	12.3±0.89*
Tensão passiva dos cardiomiócitos (mN/mm ²)	2.5±0.3	4.1±0.6*
VD		
Diâmetro dos cardiomiócitos (μm^2)	278±3.7	304±4.3*
Fibrose (%)	5.6±0.31	8.0±0.56*
Tensão passiva dos cardiomiócitos (mN/mm ²)	2.4±0.2	3.6±0.5*
Tecido adiposo ARN (UA)		
Resistina	0.1±0.03	0.2±0.04*
Leptina	0.01±0.002	0.02±0.003*
VEGF	0.05±0.010	0.10±0.017*
TNF- α	0.04±0.008	0.07±0.008*
IL 1 β	0.06±0.014	0.16±0.034*

> POSTERS

Influência de Diferentes Concentrações de Ácido Fólico na Resposta de Células Trofoblásticas Humanas (Células BeWo) ao Stress Oxidativo

J. V. Carletti^{1,2}, C. R. Silva², A. Correia-Branco^{2,3}, N. Andrade², L. O. Pereira¹, F. Martel^{2,3}

¹Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, ²Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ³Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal

O ácido fólico (AF) é uma vitamina do complexo B essencial para o crescimento e desenvolvimento do feto. A importância desta vitamina durante a gravidez é bem demonstrada pelo facto de que a suplementação com folatos, durante este período, previne o baixo peso ao nascer e defeitos no tubo neural no recém-nascido (Lucock, 2000). No entanto, alguns estudos demonstram que a exposição perinatal a concentrações elevadas de AF pode levar a prole a desenvolver, ao longo da vida, obesidade e características de síndrome metabólica (Keating *et al*, 2015). Por outro lado, sabe-se que níveis aumentados de stress oxidativo estão relacionados com diversas complicações da gravidez tal como a diabetes gestacional (Lappas *et al*, 2011).

Neste estudo, o nosso objetivo foi investigar a influência de diferentes

concentrações de AF sobre o efeito do *stress oxidativo* (induzido pelo tert-butilhidroperóxido –TBH -100 µM, 24h) nos níveis de peroxidação lipídica e na viabilidade, proliferação celular e crescimento de culturas de células BeWo, um modelo celular de trofoblastos humanos. Utilizamos células BeWo cultivadas em meio de cultura com 3 concentrações distintas de AF (AF-excesso: 2.3 µM; corresponde à concentração *standard* de AF no meio de cultura; AF-fisiológico: AF 20 nM e AF-deficiência: AF 1 nM). Em condições AF-fisiológico, o TBH provocou um aumento marcado na peroxidação lipídica (para 300±46% do controlo; n=8) e uma redução muito significativa na proliferação celular (para 63±8% do controlo; n=10), no crescimento da cultura (para 72±4% do controlo; n=16) e na viabilidade celular (a atividade extracelular da enzima LDH aumentou para 672±136% do controlo; n=16). O efeito do TBH na peroxidação lipídica foi mais marcado nas células AF-excesso do que nas AF-fisiológico e o efeito do TBH no crescimento da cultura foi mais marcado nas células AF-excesso e menos marcado nas células AF-deficiência do que nas AF-fisiológico. De um modo semelhante, o efeito do TBH na proliferação celular foi mais marcado nas células AF-excesso do que nas AF-deficiência e o efeito do TBH na viabilidade celular foi maior nas células AF-excesso do que nas AF-fisiológico e AF-deficiência.

No seu conjunto, os nossos resultados demonstram que o excesso de AF no meio de cultura está associado a um efeito antiproliferativo e citotóxico e a um aumento na peroxidação lipídica em resposta ao TBH mais marcado, sugerindo que o excesso de AF torna as células mais sensíveis ao *stress oxidativo* e aos seus efeitos deletérios.

Referências

- Luccock M. Mol Genet Metab. 2000; 71: 121-38.
- Keating et al. J Endocrinol. 2015; 224(3): 245-59.
- Lappas et al. Antioxid Redox Signal. 2011; 15(12): 3061-100.

Rastreio *In Vitro* de Cianobactérias para Isolar Novos Compostos para o Tratamento de Comorbidades Relacionadas com a Obesidade

M. Castro¹, M. Preto¹, C. Marques^{2,3}, D. Pestana^{2,3}, V. Vasconcelos^{1,4}, R. Urbatzka¹

¹CIIMAR / CIMAR - Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental da Universidade do Porto, Porto, Portugal, ²Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal, ³CINTESIS, Centro de Investigação em Tecnologias e Sistemas de Informação em Saúde, Porto, Portugal, ⁴Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal

A obesidade tem vindo a aumentar gradualmente ao longo das últimas três décadas, em particular nos países ocidentais industrializados. A investigação recente tem-se focado na descoberta de produtos naturais para o tratamento da obesidade, e compostos de animais, plantas, fungos e fitoplâncton marinho mostraram promissoras propriedades anti-obesidade. Cianobactérias, conhecidas como algas verde-azuladas e como produtoras de cianotoxinas, produzem muitos metabólitos secundários com atividades biológicas relevantes, como por exemplo, agentes anti-cancerígenos aprovados pela "Federal Drug Agency" (FDA, EUA) para a sua utilização clínica.

O grupo Biotecnologia azul e Ecotoxicologia (BBE) no CIIMAR oferece uma coleção única de cianobactérias isoladas de amostras de água e de materiais sólidos a partir dos sistemas de água doce e marinha portuguesa. Seis estirpes de cianobactérias foram cultivadas e 60 fracções foram obtidas por fraccionamento dos seus extractos por meio de cromatografia líquida sob vácuo (VLC). Neste trabalho, exploramos a riqueza química desses procariontes através do rastreio das fracções de cianobactérias produzidas para actividade anti-obesogénica em células de (pré-)adipócitos usando uma abordagem de fracionamento

biomonitorizado. Foram utilizados dois ensaios baseados em células, i) a proliferação de pré-adipócitos 3T3-L1, e ii) a adipogénese de pré-adipócitos para adipócitos maduros. A proliferação foi avaliada por SRB, MTT e ELISA de BrdU. Os efeitos sobre a adipogénese foram avaliados através da coloração lipídica Oil Red O seguido por imagem e quantificação fotométrica.

Os efeitos mais fortes sobre a proliferação foram obtidos após a exposição a fracções de *Planktothrix planctonica* LEGEXX280 (E14028I) e *Aphanizomenon sp.* LEGE03283 (E14035 B); enquanto que os efeitos mais forte sobre a adipogénese foram obtidos a partir de fracções de *Synechocystis sp.* LEGE07211 (E14031 D) e *Oscillatoria limnetica* LEGE00237 (E14032H). As fracções mais promissoras foram seleccionados para posterior sub-fraccionamento com extracção em fase sólida (SPE) ou cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Sub-fração E14028 I7 8A + 9 E7 J1 é o resultado de sete fraccionamentos, que mostra atividade pró-proliferativa. O composto está agora isolado, apresentando apenas algumas impurezas. A sub-fração E14031 D7 exerceu fortes efeitos pró-adipogénicos e um outro sub-fraccionamento está sendo processado. O isolamento do composto terá lugar nas etapas seguintes.

O rastreio *in vitro* de 3T3-L1 das fracções de cianobactérias permitiu nos avançar no isolamento de compostos naturais com atividades pró-proliferativa e pró-adipogénicas. A estimulação da proliferação e diferenciação de adipócitos pode ser benéfica para acomodar o excesso de energia, e para reduzir comorbidades associadas à obesidade como diabetes, doença de fígado gordo ou doença cardíaca.

Este trabalho foi financiado pelo Projeto MARBIOTECH (referência NORTE-07-0124-FEDER-000047) enquadrado no Programa Integrado de IC&DT MARVALOR - Building research and innovation capacity for improved management and valorization of marine resources, suportado pelo Programa Operacional Regional do Norte (ON.2 - O Novo Norte), pelo projeto NovoMar (referência 0687-NovoMar-1-P), e por Financiamento Estratégico UID / multi / 04423/2013, através de fundos nacionais fornecidos pela FCT - Fundação de Ciência e Tecnologia e Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER). CM foi apoiado por uma bolsa de doutoramento do FCT (SFRH/BD/78367/2011).

The Role of MTHFR Polymorphisms in Breast Cancer Risk – A Meta-analysis

J. Costa^{1,4}, S. Oliveira^{1,4}, R. Oliveira^{2,3}, C. Prudêncio^{1,4}, R. Fernandes^{1,4}

¹Master of Science in Health Biochemistry, and Chemical and Biomolecular Sciences, School of Allied Health Technologies, Polytechnic Institute of Porto, Porto, Portugal, ²Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal, ³Biostatistics, Biomathematics and Bioinformatics, School of Allied Health Technologies, Polytechnic Institute of Porto, Porto, Portugal, ⁴Cancer Program – Metabolism, Nutrition and Endocrinology, i3S, Porto, Portugal

Introduction: Breast cancer incidence has been increasing by more than one million new cases every year and is a primary cause of cancer death among women worldwide. Methylentetrahydrofolate reductase (MTHFR) plays an important role in folate metabolism and as a regulator of DNA methylation, synthesis, and repair. MTHFR gene is polymorphic at nucleotides 677 (C®T) and 1298 (A®C), resulting in allozymes with decreased activity. Several studies have pointed to association between the MTHFR C677T polymorphism and breast cancer risk.

Objectives: The present study aims to contribute to the elucidation of the impact of any C677T breast cancer association through a meta-analysis study of published case control studies.

Methods: Pubmed, Google Scholar, Elsevier and Cochrane trials databases were searched for case control studies of associations between MTHFR C677T polymorphism and breast cancer risk. Odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (CIs) were estimated to assess the association.

Results and Discussion: MTHFR C677T polymorphisms may modify the association between intracellular folate levels and breast cancer risk. Homozygous women for the MTHFR 677T polymorphism may have a significantly increase of breast cancer risk.

Conclusion: These results suggest an association between MTHFR C677T polymorphism and risk of breast cancer development.

Endocrine Disruptors Levels and Mental Health Profile in Patients Undergoing Bariatric Surgery

J. Costa^{1,2}, D. Pestana^{1,2}, D. Teixeira², S. Norberto², G. Faria^{1,3}, E. Conceição⁴, S. Ramalho⁴, A. Pinto-Bastos⁴, L. Correia-Sá⁵, V. F. Domingues⁵, C. Delerue-Matos⁵, I. Brandão⁶, C. Calhau^{1,2}

¹CINTESIS – Center for Research in Health Technologies and Information Systems, Porto, Portugal, ²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, Centro de Investigação Médica, Porto, Portugal, ³General Surgery Department, Oporto Hospital Center, Porto, Portugal, ⁴School of Psychology, University of Minho, Campus Gualtar, Braga, Portugal, ⁵Requimte – Instituto Superior de Engenharia, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal, ⁶Faculty of Medicine, University of Porto, Hospital de São João, Porto, Portugal

Objectives: Obesity is a risk factor for the development of psychopathology, but the relation is bidirectional and the psychological characteristics have great impact on the development of the obesity. Organic pollutants, with endocrine disruptor activities have been described as metabolic disruptors. However, there is a gap on the knowledge concerning its neurobehavioral effects. The aims of this study were to assess the metabolic, psychometric and endocrine disruptors contamination profile of an obese women sample and to explore hypothetical relations between them.

Methods: This study was conducted in 39 obese women ranging from 23 to 62 years old undergoing bariatric surgery. Blood and adipose tissue (AT) samples (from visceral (vAT) and abdominal subcutaneous (scAT) localizations) were collected during surgery. In blood and AT depots, it was studied the presence of thirteen different POPs (organochloride compounds) by gas chromatograph coupled to an electron capture detector (GC-ECD).

Results: Our results showed significant correlations between plasma POP concentrations and psychometric scales. The Σ POPs in plasma correlated negatively with BIS-11 non-planned impulsivity scale, BSQ score and showed the same tendency, although not statistically significant, with EDE total score, suggesting that the individuals with lower impulsivity levels, with less dysfunctional concerns about body shape and less disordered eating behavior had higher levels of POPs present in plasma.

Conclusions: Further targeted investigation is required to better understand the possible causes for the associations found between POP levels and psychometric parameters, a valuable knowledge for better future environmental risk assessment and regulation.

This work was supported by Fundação para a Ciência e Tecnologia, Portugal (Fundo Social Europeu, Programa Operacional Potencial Humano da EU (POPH)) through the projects: PEst-OE/SAU/UI0038/2011; PTDC/MHC-PCL/4974/2012; and the grants SFRH/BD/46640/2008; IF/01219/2014; SFRH/BD/104159/2014.

Efeito e Fatores Preditivos da Variação do Glicerol Sanguíneo Induzido por Eletrolipólise Associada a Exercício Físico Moderado

M. Couto¹, A. Noites¹, R. Vilarinho¹, C. Melo¹, P. Monteiro², P. Carvalho¹, A. Moreira³, M. Amorim³, D. Costa⁴, N. Adubeiro⁴, L. Nogueira⁴, R. Santos⁵

¹Departamento de Fisioterapia, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto – Instituto Politécnico do Porto (ESTSP-IPP), Porto, Portugal, ²Departamento de Ciências Funcionais, ESTSP-IPP, Porto, Portugal, ³Departamento de Análises Clínicas e Saúde Pública, ESTSP-

IPP, Porto, Portugal, ⁴Departamento de Radiologia, ESTSP-IPP, Porto, Portugal, ⁵Departamento de Física, ESTSP-IPP, Porto, Portugal

Introdução: A acumulação de triglicérides no tecido adiposo abdominal acarreta risco acrescido para a saúde. Existem poucos estudos que demonstrem o efeito da eletrolipólise sobre o adipócito. A eletrolipólise poderá ser uma medida terapêutica coadjuvante ao exercício com o objectivo de potenciar a lipólise localizada. Assim torna-se pertinente reproduzir tais estudos, explorando se existem características individuais preditivas de mobilização lipolítica.

Objetivo: Verificar se a eletrolipólise acrescenta efeito ao exercício físico moderado na mobilização lipolítica. Verificar se existem características antropométricas preditivas da taxa de mobilização lipolítica decorrente da associação de exercício físico aeróbio moderado e eletrolipólise.

Métodos: Vinte e cinco participantes, normoponderais ou com excesso de peso, foram distribuídos aleatoriamente por dois grupos e estratificados por sexo. Os indivíduos foram randomizados em grupo placebo ($\sigma=3$; $\rho=9$) e grupo experimental ($\sigma=3$; $\rho=10$). Estes foram caracterizados com pregas adiposas (supra-iliaca e abdominal horizontal), bioimpedância, perfil lipídico sanguíneo, nível de actividade física (Questionário Internacional de Atividade Física - IPAQ) e ingestão calórica (Questionário de Frequência Alimentar - QFA). Os indivíduos foram ainda avaliados com DEXA e Glicerol sanguíneo. O protocolo teve a duração de 40 minutos (20+20min), onde se aplicou microcorrente a 10Hz e a 25Hz. No grupo placebo a intensidade foi nula (0 μ A). No grupo experimental a intensidade foi ajustada para ser inferior ao limiar de sensibilidade (no máximo até 1000 μ A). Foram usados os testes não paramétricos de Mann-Whitney para comparação entre grupos e Correlação de Spearman, com um nível de significância de 0,05.

Resultados: O grupo experimental apresenta uma mobilização lipolítica superior ao grupo placebo ($p=0,002$). Não se encontraram nesta amostra factores preditivos de mobilização lipolítica, no entanto foi encontrada uma relação negativa e moderada, não significativa ($r=-0,325$; $p=0,139$) da mobilização do glicerol, com o Rácio andróide/ginóide (DEXA), do grupo experimental.

Conclusões: Nesta amostra a eletrolipólise potencia a actividade lipolítica quando adicionada ao exercício físico moderado. Todavia não foram encontrados, nas variáveis estudadas através do DEXA, factores preditivos de mobilização lipolítica.

POPs' Effect on Metainflammatory Profile in a Portuguese Hypertensive Obese Women Sample

A. Ferro¹, D. Teixeira^{1,2}, D. Pestana^{1,2}, R. Monteiro^{2,3}, C. Santos¹, V. Domingues⁴, J. Polónia⁵, C. Calhau^{1,2}

¹CINTESIS – Center for Research in Health Technologies and Information Systems, Porto, Portugal, ²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, Centro de Investigação Médica, Porto, Portugal, ³Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ⁴Requimte – Instituto Superior de Engenharia, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal, ⁵Faculty of Medicine, University of Porto & Unit of Hypertension, Pedro Hispano General Hospital Matosinhos (Portugal), Porto, Portugal

Incidence and prevalence of obesity is increasing worldwide and it is associated with several metabolic diseases. The association of obesity and high blood pressure increases the probability of numerous cardiovascular events. Persistent organic pollutants (POPs) are man-made compounds derived primarily from industrial activities with a known metabolic disruption impact. There are some studies suggesting that POP exposure may be an additional factor to hypertension development in a younger age and to a greater severity of this condition. In this study, it was investigated the effect of POP exposure in the cardio-metabolic and inflammatory profile in an obese hypertensive women

population and whether the presence, or absence, of an antihypertensive therapy influence the observed effects. This study was conducted in 43 hypertensive premenopausal obese women (22 treated vs. 21 non-treated) with an age range of 22-59 years old undergoing bariatric surgery. All the included patients had diagnosed hypertension. Blood and adipose tissue (AT) samples (from visceral (vAT) and abdominal subcutaneous (scAT) localizations) were collected during bariatric surgery. In blood and AT depots, it was studied the presence of thirteen different POPs (organochloride compounds) by gas chromatograph coupled to an electron capture detector (GC-ECD). Median concentrations of Σ HCH (sum of hexachlorocyclohexane) (202.77 vs 56.03 ng/g, $p=0.045$) and of POPs (251.08 vs 68.84, $p=0.016$) in vAT were significantly higher in treated women. VAT Σ HCH and scAT Σ HCH and Σ POPs concentrations were positively correlated with systolic blood pressure in the non-treated group. Our findings suggest that the exposure of POPs and its accumulation in vAT and circulating in plasma may be related to a higher cardiovascular risk in hypertensive obese women with or without antihypertensive treatment, respectively. Assuming that circulating POPs derive from release of vAT, detecting concentrations in vAT may be useful to determine an earlier use of antihypertensive treatment to attenuate an ongoing deleterious process, either related to insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (T2DM), as cardiovascular events such as stroke, coronary events and heart and renal failure.

This work was supported by FCT (Fundo Social Europeu, Programa Operacional Potencial Humano da EU (POPH); PEst-OE/SAU/UI0038/2011; SFRH/BD/46640/2008, SFRH/BD/64691/2009), and Projetos de Investigação na Pré-graduação 2011, Universidade do Porto.

Síndrome Metabólica – O Melhor Tratamento!

M. Guedes¹, T. Bastos¹, L. Sousa²

¹Interna de Medicina Geral e Familiar, UCSP Sul, Pinheiro da Bemposta, ACES Entre Douro e Vouga II, Portugal, ²Assistente Graduada de Medicina Geral e Familiar, UCSP Sul, Pinheiro da Bemposta, ACES Entre Douro e Vouga II, Portugal

Enquadramento: A síndrome metabólica caracteriza-se por uma associação de vários fatores de risco de origem metabólica que poderão vir a condicionar doença cardiovascular, diabetes e várias neoplasias e o seu diagnóstico é clínico e por estudo analítico. A sua prevalência tem vindo a aumentar paralelamente à nova epidemia da obesidade nos países desenvolvidos proporcionado por alterações nos padrões de vida da população, sendo que em Portugal a sua prevalência está estimada nos 27,8 %. A primeira linha na prevenção e tratamento da síndrome metabólica passa por alteração do estilo de vida, nomeadamente uma alimentação saudável, realização de exercício físico, perda de peso e por fim adesão à terapêutica farmacológica.

Justificação: Com este caso pretendemos mostrar a importância do aconselhamento e da educação para a saúde na população com síndrome metabólica.

Descrição do Caso: Sexo feminino, 50 anos, casada, comerciante. Antecedentes pessoais: Perturbações depressivas, Hipertensão arterial, Dislipidemia, Arritmia Cardíaca e Obesidade. Medicação habitual: Bisoprolol 2,5 mg e Perindopril 4 mg.

Doente observada pela primeira vez por nós em 11/2012 por perturbação depressiva. Apresentava ao exame físico IMC de 32,8Kg/m², TA=158/81 mmHg e alterações do metabolismo dos lípidos com triglicérides de 180mg/dL e HDL de 51mg/dL. Estava medicada com bisoprolol 2,5mg por taquicardia associada a extrassístoles. Foi reavaliada passados 15 dias e manteve TA >140/86mmHg pelo que se iniciou perindopril 2mg. Doente volta no contexto de vigilância de HTA em 02/2013 apresentando perímetro abdominal de 104cm e TA=156/101mmHg referindo valores semelhantes no domicílio, pelo que se aumentou para perindopril 4mg. A 11/2013 teve nova consulta

e verificou-se resolução do quadro depressivo. Ao exame físico apresentava parâmetros semelhantes a consulta anterior. Visto a doente estar em perfeitas condições psicológicas foi feita uma intervenção a nível da importância da perda de peso, da adoção de uma alimentação saudável com diminuição de teor de sal, associada ao início de exercício físico. A doente mostrou-se motivada e verbalizou que tinha uma vida sedentária, desregrada a nível de alimentação, que o seu peso era demasiado e que percebia a importância de perder peso.

Após as alterações no estilo de vida que foram recomendadas a doente nos primeiros 3 meses perdeu 3Kg, diminuindo 8cm no perímetro abdominal. Foram reforçadas as medidas higieno-dietéticas já referidas, parabenizando a doente pelo feito. Em 01/2015 a doente apresentava-se com IMC=26,7Kg/m², TA=143/87mmHg e Pabd=88cm. A 04/2015 a doente recorre a consulta por se sentir "cansada". TA=110/70mmHg e FC=45bpm, IMC 25,9Kg/m². Pediu-se estudo analítico e marcou-se nova reavaliação dentro de 4 meses. A doente volta a 07/2015 apresentando IMC=25,2Kg/m², TA=127/78mmHg e FC=40bpm, estudo analítico normal, optou-se por suspender toda a terapêutica. Fez-se reavaliação passados 15 dias e os valores tensionais mantinham-se abaixo dos 130/80mmHg com FC=60 bpm, estando a doente assintomática.

Discussão: A primeira linha da prevenção e tratamento da síndrome metabólica – medidas higieno-dietéticas – deve ser sempre privilegiada, mesmo que isso implique aos profissionais de saúde um maior tempo de consulta e um maior número de reavaliações dos doentes. Os Cuidados de Saúde Primários têm um lugar de destaque no aconselhamento e na educação para a saúde dos doentes e da própria comunidade, sendo essencial o seu papel na prevenção desta síndrome e das suas complicações.

The Role of I-FABP as a Biomarker of Intestinal Barrier Dysfunction in a High-fat Diet Induced Obesity Model

E. Lau^{1,2,3*}, C. Marques^{4,5*}, M. Santoalha⁴, D. Carvalho^{1,2,3}, P. Freitas^{1,2,3}, C. Calhau^{4,5}

¹Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar São João, Porto, Portugal, ²Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ³Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Portugal, ⁴Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ⁵CINTESIS, Centro de Investigação em Tecnologias e Sistemas de Informação em Saúde, Portugal

**These authors equally contributed to this work.*

Intestinal fatty-acid binding protein (I-FABP) is expressed in epithelial cells of the mucosal layer of the small intestine tissue. When intestinal mucosal damage occurs, I-FABP is released into the circulation and its plasma concentration increases. In the context of obesity, the gut barrier integrity can be disrupted by dietary fat while intestinal permeability increases.

The aim of this study was to investigate whether I-FABP is a suitable plasma marker of intestinal injury and inflammation in obesity.

Twelve male Wistar rats were randomly divided into two groups of six animals each: standard (St) and high-fat (HF) diet fed groups. HF fed animals developed obesity, insulin resistance and presented increased plasma levels of proinflammatory cytokines (MCP-1 and IL1 β). The gut microbiota composition of these animals was also altered, with lower number of copies of *Bacteroidetes*, *Prevotella* and *Lactobacillus*, in comparison with those from St diet group. As a result, fecal lipopolysaccharide (LPS) concentrations were increased in HF fed animals. In the same line, the increased intestinal expression of TLR4 and MCP-1 in HF fed animals suggests that HF diet-induced dysbiosis may be behind the intestinal inflammation observed. However, in contrast to other intestinal inflammatory diseases, plasma I-FABP levels were decreased in HF fed rats whereas I-FABP expression in jejunum was increased. Cellular I-FABP expression could be augmented in this model to face

the increase in the fat content of the diet.

In conclusion, our results showed that in obesity plasmatic I-FABP should not be used as a marker of the low-grade chronic inflammatory status.

Financial support from Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) – PTDC/AGR-TEC/2227/2012 and SFRH/BD/93073/2013 - is gratefully acknowledged.

Ação Preventiva “Dia do Coração” na Unidade Básica de Saúde Dr. Lauro Corsi no Município de São Carlos-sp

R. B. Lanzotti, J. G. Duarte, J. C. Dias, M. S. Trevisan, A. J. Bomfim, L. C. Bettoni, K. C. Honorato
Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil

Introdução: A prevalência de obesidade tem aumentado em todo o mundo sendo um problema de saúde pública na maioria dos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Quando comparados aos indivíduos com peso normal, aqueles com sobrepeso possuem maior risco de desenvolver diabetes *mellitus* (DM), dislipidemia e hipertensão arterial (HAS), condições que favorecem o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como Acidente Vascular Encefálico (AVE).

Objetivo: Avaliar a composição corporal, índice de massa corporal e circunferência abdominal em adultos e idosos participantes das atividades de prevenção para o dia mundial do coração.

Método: A amostra foi composta por 46 indivíduos com idade entre 27 a 85 anos, sendo utentes da unidade de saúde, divididos em dois grupos conforme a faixa etária: grupo adultos (GA) com idade de 27 a 59 anos e grupo idosos (GI) com idade de 60 anos ou mais. Foi avaliada a circunferência abdominal (cm) e o índice de massa corporal (IMC; Kg/m²), a fim de identificar riscos de doenças cardiovasculares, além de medidas de composição corporal (percentagem de gordura corporal, massa muscular (kg), percentagem de água corporal) recorrendo a uma balança de bioimpedância *Ironmann Tetra Polar*[®]. A análise estatística foi realizada pelo Teste de Shapiro Wilks para verificação da normalidade, Teste de Mann-Whitney para os dados não-paramétricos e Teste t-student para os dados paramétricos (STATISTICA 7.0) (p≤0,05).

Resultados: Dos 46 indivíduos participantes, 73% eram mulheres (n=34) com média de idade de 59,15 anos (±15,98). As médias das variáveis no GA foram: IMC 28,64 (±6,86), circunferência abdominal 76,55 (±36,95), gordura corporal de 31,19 (±12,75), massa muscular 48,21 (±11,10) e água corporal 49,10 (±7,62) e gordura visceral 8,45 (±4,28). Já no GI, as médias das variáveis obtidas foram: IMC 27,17 (±5,73), circunferência abdominal 93,10 (±15,53), gordura corporal de 32,62 (±9,55), massa muscular 42,31 (±13,02) e água corporal 45,51 (±10,32) e gordura visceral 10,08 (±5,37). Não foram encontradas diferenças estatísticas.

Conclusão: Tanto adultos e idosos apresentam sobrepeso e não apresentam diferença em relação à composição corporal. Isso mostra o quanto a população tem hábitos irregulares e é propensa a doenças cardiovasculares e outras comorbidades. Evidência também o quão importante é a conscientização sobre a obesidade e a prática de atividade física em todas as etapas da vida. Além disso, de acordo com os resultados, ambos os sexos apresentaram alterações. Portanto, será importante, dentro da atenção básica de saúde, oferecer acompanhamento a todos os utentes do sistema de saúde, atingindo todas as faixas etárias, a fim de orientar sobre hábitos de vida saudável, com o intuito de promover a prevenção de doenças cardiovasculares, e ainda proporcionar maior qualidade de vida aos utentes afim de atingir um envelhecimento ativo e saudável.

Apoio: Pró-Reitoria de Extensão da Universidade Federal de São Carlos (ProEx).

Funcionalidade e Qualidade de Vida de Idosos Com e Sem Diabetes Mellitus Acompanhados numa Oficina de Prevenção de Quedas na Atenção Primária

R. B. Lanzotti, M. S. Trevisan, A. J. Bomfim, L. C. Bettoni, F. A. Vasileac, K. Gramani-Say
Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil

A diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é um problema de saúde pública por se tratar de um distúrbio crônico com elevadas taxas de morbidade e mortalidade, que afeta grande parte da população, tendo como causa fatores hereditários e ambientais. Além do impacto da doença sobre os sistemas renal, neurológico e cardiovascular, é conhecida a associação da DM2 com complicações que podem levar a incapacidade física, resultando num risco superior para quedas. As quedas são responsáveis por 20% a 30% dos ferimentos leves, além de corresponderem a 10-15% das consultas aos serviços de emergência. Especificamente, na população idosa, além de traumas e fraturas, a ocorrência de quedas apresenta como consequência a restrição da realização de atividades da vida diária, o aumento da dependência, do risco de institucionalização e internamento, o declínio global na saúde do indivíduo idoso, além do aumento do custo com cuidados de saúde pública. Deste modo, o acompanhamento de indivíduos idosos para monitorização das suas condições de saúde e prevenção da ocorrência de quedas desempenha um papel primordial na diminuição da morbidade, mortalidade e dos custos hospitalares.

Assim, pretende-se com o presente estudo comparar o equilíbrio, a marcha, a mobilidade, o medo de cair e a qualidade de vida de idosos diabéticos e não diabéticos participantes de uma oficina de prevenção de quedas na Atenção Primária da cidade de São Carlos, localizada no interior do estado de São Paulo, Brasil. Trata-se, portanto, de um estudo descritivo, de corte transversal e abordagem quantitativa, realizado com 26 participantes.

Os instrumentos utilizados para a coleta de dados foram: Performance Oriented Mobility Assessment (POMA), Berg Balance Scale (BERG), Teste Time Up and Go (TUG), Falls Efficacy Scale (FES) e Medical Outcomes Study 36 – Item Short (SF-36). A análise estatística foi realizada pelo Teste de Shapiro Wilks para verificação da normalidade, Teste de Mann-Whitney para os dados não-paramétricos e Teste t-student para os dados paramétricos (STATISTICA 7.0) (p≤0,05). Os participantes foram divididos em dois grupos: grupo diabético (GD n=13) composto por idosos que possuem DM2 e apresentam quedas nos últimos doze meses ou medo de cair, e grupo não-diabético (GND n=13) constituído por aqueles que não possuem a doença e apresentam quedas nos últimos doze meses ou medo de cair.

Em ambos os grupos houve a predominância de indivíduos do sexo feminino (61,5%), de etnia caucasiana (76,9%) e casados (GD=46,2%; GND=69,2%). Ademais, 15,4% dos idosos em ambos os grupos eram caídores e possuíam história de doença cardiovascular (GD=53,8%; GND=23,1%). A idade média do GD foi de 70,31 (±7,55) anos e do GND foi de 70,46 (±7,63) anos. Com relação aos testes POMA, BERG, TUG e FES não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Encontrou-se apenas diferença no Domínio Capacidade Funcional do SF-36 entre GD (72,38±25,39) e GND (78,85±19,70) (p=0,01). Algumas mudanças de funcionalidade geralmente ocorrem com o processo de envelhecimento, entretanto, a coexistência de uma doença crônica, como a DM2, contribui para a aceleração desse processo. A ausência de diferença nos testes POMA, BERG, TUG e FES entre os grupos mostra a importância da monitorização constante das condições funcionais mas também das dimensões da qualidade de vida durante o processo de envelhecimento.

Desta forma, mostra-se que o acompanhamento para a monitorização de condições de saúde e prevenção de quedas são importantes na atenção primária, devendo ser enfoque dos serviços de saúde, a fim de auxiliar a população idosa e seus familiares, com ênfase para os idosos com doenças crônicas associadas.

Relação entre Galectina-3 e Produtos de Glicação Avançada (AGE): O Caminho para Melhorar a Saúde Cardíaca em Diabetes Mellitus Tipo 2

C. Luís^{1,2}, R. Costa^{1,2}, I. Rodrigues^{1,2}, J. Gomes^{2,3}, C. Reis^{2,3}, R. Soares^{1,2}

¹Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal, ²Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, University of Porto, Porto, Portugal, ³Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, University of Porto, Porto, Portugal, ⁴Institute of Molecular Pathology and Immunology at University of Porto – IPATIMUP, Porto, Portugal

A Diabetes Mellitus (DM) é uma doença metabólica complexa de múltiplas etiologias com uma elevada prevalência em todo o mundo. DM tipo 2 é um tipo de DM, que se tornou uma preocupação global, dada a sua associação com o estilo de vida do século XXI. Poderá ser resultado de uma vida sedentária, dieta pobre e inadequada e stress global. Uma das consequências da DM são as complicações vasculares, principal causa de mortalidade e morbidade.

A galectina-3 (GAL3) é uma lectina membro de uma família evolutivamente conservada de lectinas de ligação a β -galactosidases solúveis, com diferentes ações metabólicas dependendo de, entre outros fatores, da sua localização e tecido alvo.

Tem vindo a ser progressivamente reconhecida como um importante modulador de diversas actividades biológicas e crucial na patogénese de inúmeras condições de doença, incluindo doenças auto-imunes, inflamatórias e metabólicas como a DM2, cancro e insuficiência cardíaca. Recentemente, a GAL3 adquiriu maior relevância ao apresentar-se com um preditor na insuficiência cardíaca e mortalidade,^(1,2) tornando-se um biomarcador útil na prática clínica. Para além de ser um biomarcador de doença, a GAL3 também é um mediador do desenvolvimento e progressão da insuficiência cardíaca. Sendo a fibrose um dos principais mecanismos de rigidez ventricular e disfunção diastólica e como a GAL3 possui propriedades pró-fibróticas e imunomodulatórias existe uma correlação entre os níveis desta lectina no plasma e a severidade da insuficiência cardíaca.

Uma das propriedades pró fibróticas da GAL3 é a sua ação promotora de síntese de colagénio que potencia a fibrose.

Os produtos de glicação avançada (AGE) são produtos de modificações posttranslacionais de proteínas, resultantes de uma reação não enzimática. Estão associados a doenças degenerativas e, a sua acumulação crónica, preferencialmente no colagénio está associada à idade. Na matriz extracelular é parte responsável pelo endurecimento do tecido, pela indução de aumento da pressão sanguínea e falha cardíaca, entre outras complicações metabólicas.

O presente estudo pretende interligar estes aspetos metabólicos, relacionando a expressão da GAL3 com a localização do colagénio e a quantificação de AGE no ventrículo esquerdo em modelo de rato diabético. Para tal, executaram-se técnicas de imunohistoquímica e Western Blot no estudo da expressão da GAL3. A quantificação de AGE foi realizada através de fluorescência e, o colagénio foi estudado por ensaios colorimétricos (Tricrómio de Masson).

Observou-se um aumento da expressão da GAL3 em modelo diabético, corroborado com um aumento do colagénio e de AGE.

Conclui-se que a GAL3 apresenta-se como um bom potencial biomarcador e até um bom alvo terapêutico, na medida em que vai atuar em múltiplas vertentes nas complicações vasculares e na insuficiência cardíaca. De forma indirecta, o seu silenciamento irá evitar a deposição de colagénio, diminuindo a acumulação de AGE, melhorando a ação da musculatura cardíaca.

Agradecimento: O estudo foi parcialmente financiado por FCT (UID/BIM/04293/2013).

Referências

- Pereira, A. R., Falcão, L. M. "Galectina-3: indicador de prognóstico. Alvo de intervenção terapêutica?" Revista Portuguesa de Cardiologia 34.3 (2015): 201-208.
- Boer, Rudolf A., et al. "Galectin-3: a novel mediator of heart failure development" 11 (2009): 811-817.

Coffee Diterpene Derivatives as Anti-angiogenesis Agent

M. Moeenfarid¹, A. Cortez⁶, V. Machado^{2,3}, P. Coelho^{2,3,4}, R. Soares^{2,3*}, A. Alves¹, N. Borges⁵, A. Santos^{3,5}

¹LEPABE, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal, ³I3S—Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Porto, Portugal, ⁴Ciências Químicas e Biomoléculas, Escola Superior de Tecnologias da Saúde do Porto, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal, ⁵Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ⁶Laboratório Nobre, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal

*Corresponding author: Raquel Soares; E-mail address: raqsoa@med.up.pt; Telephone: 225513624

Among the several compounds present in coffee, the coffee-specific diterpenes have been identified as important chemo-protective agents which possess anti-carcinogenic properties.⁽¹⁾ Diterpenes are pentacyclic alcohols present in considerable quantity (up to 20%) in coffee oil.⁽²⁾ Although large proportions (98%) of diterpenes exist esterified with various fatty acids - mainly palmitic acid, free diterpenes occur as minor components (0.7 to 3.5%).⁽³⁾ Although there is substantial research suggesting the anti-carcinogenic properties of coffee diterpenes, in particular free cafestol and kahweol, available data regarding their anti-angiogenic properties is still scarce. Few studies have demonstrated the anti-angiogenic properties of free cafestol⁽⁴⁾ and kahweol,⁽⁵⁾ however there is no study regarding the angiogenesis properties of diterpene esters, namely cafestol palmitate (CP) and kahweol palmitate (KP).

Given that angiogenesis plays an important role in many pathological conditions, including cancer growth and metastasis, the present study aimed to compare and characterize whether CP and KP could inhibit angiogenesis in an *in vitro* model. For this purpose, human microvascular endothelial cells (HMVECs) were incubated with 50 μ M of CP and KP. Subsequently, cell viability, cell migration, proliferation and apoptosis were assessed. In addition, capillary-like structures formation on Matrigel was also analysed.

According to our findings, both compounds inhibited angiogenesis steps on HMVECs, although a more significant effect was observed for KP. Incubation of HMVECs at concentration of 50 μ M of CP and KP, did not sustain toxic effects under MTS assay. However, incubation of cells with higher concentrations of CP and KP (75 and 100 μ M) decreased cell viability significantly ($p \leq 0.05$). Compared to control, a significant anti-proliferative effects on HMVECs assessed by bromodeoxyuridine (BrdU) was observed for both compounds. Moreover, treatment with CP and KP led to impairment of migratory capacity. Nevertheless, increase in apoptosis as tested by double-chamber and terminal transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay was observed for CP and KP, the effect was not statistically significant ($p \geq 0.05$). In addition, treatment of HMVECs with CP and KP led to decrease in the assembly of capillary-like structures on matrigel assay.

Taken together, these data indicate that CP and KP can be considered a promising strategy against angiogenesis-dependent disorders. Our findings further indicate that KP exerts more potent anti-angiogenic effects than CP, which may explain the more beneficial health effects reported for kahweol.

Acknowledgments: This study was partially funded by FCT (UID/BIM/04293/2013) and FEDER funds through the Operational Programme for Competitiveness Factors e COM-PETE, ON.2 e O Novo Norte E North Portugal Regional Operational Programme and National Funds through FCT – Foundation for Science and Technology, in the scope of the P2020 Partnership Agreement under the projects: UID/EQU/00511/2013-LEPABE and NORTE-07-0124-FEDER-000025 e RL2_Environment & Health and SFRH/BD/79318/2011.

Referências

- Cavin C, et al. Food and Chemical Toxicology. 2002; 40(8): 1155-63.
- Kitzberger CSG, et al. Journal of Food Composition and Analysis. 2013; 30(1): 52-7.

3. Moeenfarid M, et al. International Journal of Food Properties. 2015; 18(10): 2284-99.
4. Wang S, et al. Biochemical and Biophysical Research Communications 2012; 421(3): 567-71.
5. Cardenas C. A.R. PLoS One. 2011; 6(8): e23407.

O Efeito Pró-carcinogénico de 17 β -estradiol em Células MCF-7 Não é Dependente da Interferência com a Captação Celular de Glicose

C. Nunes^{1,2}, C. Silva^{1,2}, A. Correia-Branco^{1,2}, F. Martel^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal, ²Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal

O cancro da mama é um dos cancros mais frequentes na população, principalmente nas mulheres pós-menopausa, e a sua taxa de incidência tem vindo a aumentar ao longo dos anos. As células cancerígenas possuem, como uma das suas características, um aumento da captação de glicose associado a um aumento da produção de lactato mesmo em ambiente aeróbico – o efeito de Warburg.⁽¹⁾ Esta característica está associada a um aumento da expressão e atividade dos transportadores de glicose (da família GLUT) na membrana plasmática. O GLUT1 é um dos principais transportadores de glicose presente nas células de cancro da mama.⁽²⁾ O estrogénio é uma hormona com um papel importante no desenvolvimento e progressão da carcinogénese mamária.^(3,4) Anteriormente, foi demonstrado pelo nosso grupo que, o polifenol kaempferol tem um efeito antiproliferativo em células de cancro da mama (células MCF-7) dependente da inibição do GLUT1.⁽⁵⁾ Assim, decidimos estudar se o efeito do 17 β -estradiol é também dependente de alterações na expressão ou atividade do GLUT1.

Para isso, as células MCF-7 foram expostas a 10, 100 ou 300 nM 17 β -estradiol durante 24h, 48h e 72h, e foi avaliado o efeito do 17 β -estradiol na viabilidade celular (através da quantificação da atividade extracelular da enzima desidrogenase do lactato (LDH)), proliferação celular (através do ensaio de incorporação de ³H-timidina), crescimento da cultura (através do ensaio de sulforodamina B) e capacidade de migração celular (com o ensaio de *injury*). Foi também avaliado o efeito do 17 β -estradiol na produção celular de lactato para o meio extracelular (por colorimetria da oxidase/peroxidase do lactato). Por fim, o efeito do 17 β -estradiol na expressão do RNAm e na atividade do GLUT1 foi avaliado por PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR) e pela quantificação da captação de ³H-desoxi-D-glicose, respetivamente.

Verificou-se que o 17 β -estradiol (48h; 100 nM) induziu um aumento de 16 \pm 4% no crescimento da cultura, um aumento de 24 \pm 7% na proliferação celular e um aumento de 36 \pm 7% na viabilidade celular, sem contudo afetar significativamente a migração celular. O 17 β -estradiol (48h; 100 nM) originou também um aumento (de 38 \pm 9%) na quantidade de lactato produzido pelas células. Verificou-se também que o 17 β -estradiol (48h; 100 nM) não afeta a captação de 3H-desoxi-D-glicose (10 nM; 6 min), tanto na presença como na ausência de inibidores dos GLUTs (citocalasina B (50 μ M) e florizina (500 μ M)), o que permitiu concluir que o 17 β -estradiol não afeta nem a captação de glicose mediada pelo GLUT1 nem a que não é mediada por este transportador. Por fim, o 17 β -estradiol (48h; 100 nM) não teve efeito sobre os níveis de RNAm do GLUT1.

Em conclusão, o efeito positivo do 17 β -estradiol na proliferação e viabilidade das células MCF-7 não está relacionado com alterações na captação celular de glicose.

Referências

1. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. Nat Rev Cancer. 2011; 11(2): 85-95.
2. Rivenzon-Segal D, et al. Glycolysis and glucose transporter 1 as markers of res-

- ponse to hormonal therapy in breast cancer. Int J Cancer. 2003; 107(2): 177-82.
3. Cappelletti V, et al. Modulation of estrogen receptor-beta isoforms by phytoestrogens in breast cancer cells. Int J Oncol. 2006; 28(5): 1185-91.
4. Brooks SC, Locke ER, Soule HD. Estrogen receptor in a human cell line (MCF-7) from breast carcinoma. J Biol Chem. 1973; 248(17): 6251-3.
5. Azevedo C, et al. The anticarcinogenic effect of the dietary compound kaempferol in a human breast cancer cell line is dependent on inhibition of glucose cellular uptake. European Journal of Clinical Investigation. 2015; 45: 51.

Exercise-induced FNDC5/IRISIN Activation Drives Brown-like Adipocyte Phenotype in White Adipose Tissue: A New Therapeutic Target for Obesity?

S. Rocha-Rodrigues¹, I. O. Gonçalves¹, E. Passos², M. J. Salazar³, A. M. Gouveia³, A. Ascensão¹, J. Magalhães¹

¹CIAFEL - Research Centre in Physical Activity, Health and Leisure, Faculty of Sport, University of Porto, Porto, Portugal, ²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal, ³Department of Experimental Biology, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal

Irisin is a secreted fragment of FNDC5 from muscle in response to exercise. After release, IRISIN induces brown-like adipocyte phenotype in white adipose tissue, mediating a metabolic cross-talk between muscle and adipose tissue. Therefore, FNDC5/IRISIN activation in response to exercise seems to have therapeutic and preventive potential in obesity-related diseases.

Male Sprague-Dawley rats were randomly assigned into sedentary (SED), VPA and ET groups fed with two isocaloric diets, a standard diet (control) and high-fat diet (HFD) (35% or 70% Kcal-derived fat, respectively) as follows: SED35, VPA35, ET35, SED70, VPA70 and ET70 during 17 weeks. VPA-animals had free access to voluntary running wheel throughout the entire protocol. After 9 weeks of HFD regimen, animals from ET groups were submitted to an 8-wks treadmill-training program while maintaining dietary treatments. At the end of the protocol, fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5) and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC-1 α) in gastrocnemius muscle and brown-like adipocyte phenotype-related markers (PGC-1 α , *Cidea* and PRDM16) in epididymal adipose tissue were measured by Western Blot.

Seventeen weeks of HFD caused an increased visceral adiposity, an indicator of adipose distribution and function. In muscle tissue, HFD significantly increased PGC-1 α (SED70 vs. SED35) but did not alter FNDC5 protein levels. In epididymal adipose tissue, HFD induced a significant decrease in PGC-1 α protein expression and tend to decrease PRDM16 gene expression. Both VPA and ET reduced visceral adiposity, in standard diet and HFD-fed animals. After 17 weeks, VPA-animals showed no major alterations in skeletal muscle FNDC5, PGC-1 α , and in brown-like adipocyte phenotype-related markers. In contrast, a pronounced ET effect was observed by increases in heart/body weight ratio and skeletal muscle citrate synthase activity. Eight-weeks of treadmill running also increased muscle PGC-1 α and FNDC5 expression and epididymal brown-related markers (PGC-1 α , *Cidea* and PRDM16) in standard diet-fed animals, while in obese rats induced a significant increase in muscle FNDC5 and epididymal PGC-1 α expression and an increase in *Cidea* and PRDM16 gene expression with no statistical significance. FNDC5 expression was positively associated with brown-like phenotype-related markers.

Taken together, ET-related increase in skeletal muscle FNDC5 protein levels seems to contribute, at least in part, to induce brown-like adipocyte phenotype in visceral adipose tissue, which was also associated with a decrease in visceral adiposity.

This work was supported by the FCT: PTDC/DES/113580/2009-FCOMP-01-0124-FEDER-014705, AA; PEstOE/SAU/UI0617/2011, CIAFEL; SFRH/BD/89807/2012, SRR.

A Insulina Possui um Efeito Antiproliferativo em Trofoblastos Extravilositários Humanos de Primeiro Trimestre, com Consequências no Processo de Placentação

C. Silva^{1,2}, C. Nunes^{1,2}, A. Correia-Branco^{1,2}, J. R. Araújo³, F. Martel^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ²Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal, ³Institute Pasteur, INSERM U786, Unity of Molecular Microbial Pathogenesis, Paris, France

A placenta desempenha um papel fundamental durante a gravidez, estando envolvida na troca de nutrientes e produtos do metabolismo entre a mãe e o feto, funcionando como órgão endócrino responsável pela produção de várias hormonas essenciais à gravidez e conferindo proteção imunológica ao feto. Uma formação adequada da placenta – placentação – é portanto crucial para o sucesso da gravidez e alterações neste processo têm sido associadas a patologias da gravidez tais como a pré-eclâmpsia e restrição do crescimento intrauterino. A diabetes é a doença metabólica mais prevalente nas grávidas e está associada a diversas complicações maternas e fetais, tais como macrosomia, morte fetal e parto prematuro. Pouco se sabe sobre as consequências da diabetes materna no processo de placentação. Por esse motivo, decidimos investigar o efeito da exposição crónica a biomarcadores dos dois tipos mais frequentes de diabetes na gravidez, a diabetes *mellitus* tipo 2 e a diabetes *mellitus* gestacional (insulina, leptina, TNF- α e glicose) na placentação, utilizando uma linha celular de trofoblastos extravilositários humanos de primeiro trimestre (células HTR8/SVneo).

A exposição das células HTR8/SVneo durante 24h à insulina (1 nM ou 10 nM) e ao TNF- α (10 ng/l ou 100 ng/l) provocou diminuição na proliferação celular (avaliada pela incorporação de ³H-timidina). Em contraste, a leptina e glicose não provocaram alterações significativas neste parâmetro. Uma exposição mais longa (48h) à insulina (10 nM) causou uma diminuição bastante acentuada na proliferação celular (para 64 \pm 4% do controlo), e curiosamente um aumento (de 12 \pm 1%

após 72h de exposição. Por outro lado, a exposição ao TNF- α (100 ng/l) durante 48 e 72h mostrou-se desprovida de qualquer efeito significativo na proliferação celular. Relativamente à viabilidade celular (avaliada pelo método do MTT), apenas o TNF- α (100 ng/l; 24h) induziu um pequeno aumento (9 \pm 2%) neste parâmetro. Investigando mais profundamente o efeito da insulina, verificamos que a diminuição da proliferação celular induzida pela insulina (10 nM; 48h) foi semelhante em células com 4 e 7 dias de cultura. Curiosamente, observou-se um aumento no crescimento de cultura (avaliado pela quantificação de proteínas totais com o método SRB) após uma exposição à insulina (10 nM; 48h) em células com 4 e 7 dias de cultura. Adicionalmente, a exposição a insulina (10 nM; 48 h) não mostrou um efeito significativo sobre o índice apoptótico e a capacidade de migração celular. Além disso, verificou-se que o efeito antiproliferativo da insulina foi revertido pela exposição (48h) a inibidores específicos da via do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) (rapamicina; 100 nM), da via da cinase 3 dos fosfoinositídeos (PI3K) (LY 294002; 1 μ M) ou da via das cinases p38 ativadas por mitogénios (P38/MAPK) (SB 203580; 2,5 μ M). Finalmente, verificou-se que os polifenóis resveratrol (2,5 μ M) e quercetina (1 μ M), os ácidos gordos polinsaturados EPA e DHA (50 μ M), o ácido fólico (1 mM) e a sinvastatina (10 μ M) não foram capazes de reverter o efeito antiproliferativo da insulina.

Em conjunto, estes dados mostram um efeito antiproliferativo da insulina em células HTR8/SVneo e sugerem que a insulina provoca hiperplasia dessas células, uma vez que diminui o índice de mitose celular (tal como determinado com o ensaio de ³H-timidina) ao mesmo tempo que aumenta o conteúdo de proteína de cultura (tal como determinado com o ensaio de SRB). Além disso, os nossos dados sugerem que o efeito antiproliferativo da insulina envolve a ativação de vias intracelulares de mTOR, PI3K e p38/MAPK. Em conclusão, ao demonstrar que a insulina é um biomarcador de diabetes na gravidez, possui um efeito antiproliferativo e hiperplásico em trofoblastos extravilositários humanos de primeiro trimestre, os nossos dados sugerem que a hiperinsulinémia poderá provocar uma alteração no processo de placentação.