

Comunicações Orais
Quinta Feira, 28 de Fevereiro de 2008
(13h45)

Sala Neptuno
(C12 a C17)



SOCIEDADE PORTUGUESA
DIABETOLOGIA
PORTUGUESE
SOCIETY OF DIABETOLOGY

C12

INSULINO-RESISTÊNCIA PÓS-PRANDIAL ASSOCIADA COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA LIPÍDICA É CAUSADA POR DIMINUIÇÃO DA ACÇÃO DA HISS

Afonso R, Lauth W, Schafer J, Legare D, Macedo P

A associação entre obesidade e resistência à insulina está bem documentada, mas os mecanismos subjacentes permanecem por esclarecer. A sensibilidade à insulina no estado pós-prandial depende não só da acção directa da insulina, mas também da activação dos nervos parassimpáticos hepáticos (PSN), os quais estão envolvidos na síntese/acção da Substância Hepática Sensibilizadora da Insulina (HIS), responsável por 50-60% do aporte periférico de glucose. Neste trabalho testou-se a hipótese de que uma dieta rica em lípidos (HFD) leva a uma diminuição da sensibilidade à insulina pós-prandial, causada pela diminuição da acção da HISS.

Utilizaram-se ratos Sprague-Dawley, alimentados com: dieta controlo (STD, n=7); HFD durante 1 semana (HFD-A, n=6); ou HFD por 4 semanas (HFD-B, n=7). A sensibilidade à insulina foi testada no estado pós-prandial, à idade de 9 semanas, recorrendo ao RIST (teste rápido de sensibilidade à insulina), o qual mede a quantidade de glucose necessária (mg glucose/kg bw) para manter a euglicémia após administração de um bólus de insulina (50 mU/kg, iv). Foram efectuados 2 RISTs: um RIST controlo, seguido de um RIST pós-atropina (1 mg/kg, iv), a qual bloqueia os PSN, inibindo a via da HISS. A quantificação da componente da HISS foi feita por subtração do RIST controlo pelo RIST pós-atropina. A massa gorda corporal foi estimada por impedância bioeléctrica tetrapolar. A massa gorda visceral foi quantificada por pesagem das adiposidades perientérica, peri-renal e epididimal. Os protocolos foram aprovados pela Comissão de Ética Animal da Universidade de Manitoba, Canadá.

A sensibilidade à insulina nos animais STD (189.2 ± 5.3 mg glucose/kg bw) foi significativamente maior do que nos HFD-A (111.0 ± 4.1 mg glucose/kg; $p < 0.001$) e mais ainda do que nos animais HFD-B (69.3 ± 2.6 mg glucose/kg bw; $p < 0.001$ vs STD, HFD-A). A acção da insulina dependente da HISS também foi inferior nos animais HFD: STD, 113.3 ± 3.7 ; HFD-A, 43.3 ± 5.2 ; HFD-B, 5.4 ± 1.7 (mg glucose/kg bw; $p < 0.001$). A componente de acção directa da insulina (independente da HISS) não foi afectada pela dieta. A massa gorda corporal e visceral estavam ambas negativamente correlacionadas tanto com a acção total da insulina (RIST controlo, $r^2 = 0.82$ e $r^2 = 0.85$, respectivamente) como com a acção da insulina dependente da HISS ($r^2 = 0.81$ e $r^2 = 0.82$, respectivamente).

A obesidade induzida por uma dieta rica em lípidos (HFD) afecta a sensibilidade à insulina pós-prandial por diminuição da componente da HISS, permanecendo a componente independente inalterada. Observou-se ainda que o aumento da adiposidade está correlacionado com o decréscimo da acção da HISS e consequentemente com a acção total da insulina.

C13

ESTEATOSE HEPÁTICA NUM MODELO ANIMAL DE DIABETES TIPO 2 COM DISLIPIDEMIA

Sena C, Louro T, Nunes E, Matafome P, Proença T, Cipriano A, Seíça R

Este trabalho teve como objectivo estudar os efeitos hepáticos do antioxidante ácido lipóico (AL) em diferentes marcadores de stresse oxidativo e de inflamação, num modelo animal de diabetes tipo 2 com esteatose hepática. Estudámos o efeito do AL em ratos diabéticos tipo 2, os ratos Goto-Kakizaki (ratos GK) mantidos com dieta normal e dieta gorda, e comparámos com o grupo controlo de ratos não diabéticos, ratos Wistar, da mesma idade. A administração de dieta gorda neste modelo animal diabético não induziu quaisquer alterações dos marcadores bioquímicos da função hepática mas conduziu ao aumento sérico dos lípidos e de alguns parâmetros de stresse oxidativo (aldeído malónico no plasma e 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina na urina). Os níveis hepáticos de expressão do factor de necrose tumoral (TNF- α um marcador inflamatório) aumentaram com a dieta bem como os de triglicérides, colesterol e aldeído malónico em contraste com uma diminuição dos níveis de glutatona hepática. A análise da estrutura do fígado revelou a presença de esteatose hepática. O AL teve efeitos benéficos, prevenindo grande parte das alterações dos parâmetros avaliados por um mecanismo que aparentemente envolve a cinase dependente do AMP. Estes resultados sugerem que o aumento do consumo de gorduras induz esteatose hepática que se associa a hiperlipidemia e aumento do stresse oxidativo e da inflamação e os antioxidantes como o ácido lipóico têm efeito benéficos na prevenção de todos estes processos.

C14

POTENCIAL TERAPÊUTICO PARA REVERSÃO DA RESISTÊNCIA À INSULINA DEPENDENTE DA HISS

Paula Macedo M, Fernandes A, Afonso R, Patarrão R, Ribeiro R

A potenciação do sinal parassimpático hepático em conjunto com o aumento dos níveis do glutatióno (GSH) hepático que ocorrem no estado pós-prandial leva ao aumento da síntese/secreção da HISS (substância hepática sensibilizadora da insulina), e consequentemente à potenciação da sensibilidade à insulina. A mimetização da potenciação desta via pôde ser obtida até à data através de diferentes abordagens, sendo estas olhadas como possíveis alvos terapêuticos. Esta potenciação requer o bom funcionamento da via colinérgica hepática assim como da sintase do monóxido de azoto (NO) em conjunto com o GSH hepático, cujos valores estão diminuídos no estado de jejum e aumentam no estado pós-prandial.

Por outro lado a resistência à insulina dependente da HISS (HDIR) por experimentação directa é obtida por ablação cirúrgica dos nervos parassimpáticos hepáticos (em animais), ou por intervenção farmacológica em diferentes passos da via da síntese/secreção da HISS (tanto em animais como em humanos). A HDIR é observada em vários modelos patológicos, tais como, o modelo patológico de posicionamento crónico de uma banda no ducto biliar, ratos expostos a uma dieta rica em álcool bem como os respectivos filhos, ratos expostos a uma dieta rica em sacarose ou em lipídios assim como ratos espontaneamente hipertensos.

A hipótese discutida neste trabalho é de que intervindo nos diferentes passos da via de síntese/secreção da HISS é possível reverter a HDIR. É possível mimetizar ou potenciar o sinal parassimpático, fazendo uso de agonistas colinérgicos, inibidores da acetilcolinesterase; ou de dadores de NO e de GSH. Estes compostos, já testados em animais, estão correntemente a ser avaliados para uso terapêutico.

C15

RELEVÂNCIA DA ACTIVIDADE E EXPRESSÃO DO SINTASE DE MONÓXIDO DE AZOTO NA OBESIDADE E NA IDADE

Fernandes A, Videira P, Ribeiro R, Afonso R, Paula Macedo M

O fígado tem um papel preponderante na sensibilidade à insulina, devido à libertação da Substância Hepática Sensibilizadora da Insulina - HISS, sendo responsável em parte pela captação de glucose no músculo esquelético, no estado pós-prandial. A síntese/secreção da HISS depende do monóxido de azoto (NO) hepático. Tanto na idade como na obesidade observa-se insulino-resistência dependente da HISS. Colocámos assim como hipótese de que na obesidade e/ou idade exista um decréscimo da actividade e expressão do sintase de monóxido de azoto (NOS) que se relaciona com a resistência à insulina observada nestas patologias.

Ratos Zucker fa/fa (OZR) e respectivos controlos (Zucker fa/+ (LZR)) foram utilizados, com 9 e 52 semanas. Três grupos experimentais foram efectuados. No primeiro grupo foi feito um estudo de obesidade. No segundo grupo foi feito um estudo de envelhecimento, e no terceiro grupo um estudo de obesidade e envelhecimento. Foi determinada a actividade hepática da NOS pela formação de 3H citrulina, e expressão das isoformas deste enzima (eNOS, iNOS e nNOS) por RT-PCR em tempo real. Todos os protocolos seguem as normas comunitárias (86/699/EC).

Relativamente ao estudo da obesidade observamos que os ratos obesos com 9 semanas de idade apresentam um decréscimo da actividade hepática da NOS quando comparados com os seus controlos (OZR 9 sem: 3.3 ± 0.3 pmol/mg protein/min, n=8 vs LZR 9 sem: 7.5 ± 0.5 pmol/mg proteína/min, n=10; $P < 0.001$). O estudo da idade revelou que há também um decréscimo da actividade deste enzima com a idade (LZR 9 sem: 7.5 ± 0.5 pmol/mg proteína/min, n=10 vs LZR 52 sem: 5.6 ± 0.2 pmol/mg proteína/min, n=14, $p < 0.05$). No terceiro estudo observámos que os ratos obesos apresentam já um decréscimo da NOS hepática às 9 semanas que não se agrava com a idade. Relativamente à expressão deste enzima observamos que as isoformas eNOS e nNOS não se alteram em nenhum dos três estudos. A iNOS encontra-se alterada com a idade, apresentando-se 183.6 \pm 70.4 vezes mais expressa quando comparada com os animais de 9 semanas. Concluímos assim que os animais obesos apresentam um decréscimo da actividade da NOS, independentemente da idade. Por não se observar nenhuma alteração na expressão das isoformas da NOS nestes animais, estes estudos indicam-nos que o decréscimo observado na actividade é devido a uma alteração pos-traducional. Relativamente ao estudo da idade, existe um aumento acentuado na expressão da iNOS com o envelhecimento, sugerindo uma associação entre idade e o processo inflamatório. Neste animais o decréscimo observado na actividade da NOS no fígado parece ser um factor preponderante na insulino-resistência observada.

C16

SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA À DIABETES TIPO I NA POPULAÇÃO PORTUGUESA

Rolim MI¹, Boavida JM², Duarte R², Pina R², Valadas C², Pratas S², Carvalho R², Vieira R¹, Ligeiro D³, Rosário Sancho M³, Manuela Catarino M⁴, Penha-Gonçalves C¹

Introdução: A Diabetes Tipo I é uma doença auto-imune, multifactorial e poligénica, que leva à destruição irreversível das células Beta, produtoras de insulina, dos ilhéus pancreáticos de Langerhans.

Estudos genéticos recentes têm associado um número significativo de genes a diferentes patologias auto-imunes. A maioria desses genes codifica moléculas que participam nas vias da estimulação antigénica das células T e nas vias de activação das células T.

Objectivos: Neste estudo analisamos um grupo de 78 doentes portugueses com Diabetes Tipo I e, avaliamos um total de 60 "single nucleotide polymorphisms" (SNPs) em 17 genes que codificam para a via de sinalização do receptor das células T (TCR), para a via co-estimulatória das células T e para a via da citocina IL-2. Este grupo de doentes também foi genotipado para os genes do Complexo Major de Histocompatibilidade classe II (DQA1, DQB1 e DRB1).

Material e Métodos: "Transmission Disequilibrium Tests" revelaram que, para além dos génotipos do sistema Antígeno Leucocitário Humano (HLA), outros genes associados à activação de células T contribuem para a susceptibilidade genética à Diabetes Tipo I na população portuguesa.

Conclusão: Os nossos resultados são comparados a análises destes genes candidatos para a Diabetes Tipo I que foram realizados noutras populações. Estes resultados preliminares serão sujeitos a confirmação após expansão da colecção de amostras.

C17

PREVALÊNCIA DE POLIMORFISMOS DE RISCO CARDIOVASCULAR E SUA ASSOCIAÇÃO COM COMPLICAÇÕES MICROVASCULARES NUMA POPULAÇÃO DE ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO I

Melo M, Fagulha A, Barros L, Santos J, Carvalheiro M

Objectivos: Estudar a prevalência de vários polimorfismos associados a um risco cardiovascular acrescido numa população de adolescentes com diabetes mellitus tipo I. Avaliar a existência de uma relação entre a presença de determinados alelos e a existência de complicações microvasculares.

Material e Métodos: Seleccionaram-se aleatoriamente indivíduos seguidos na Consulta de Diabetologia Pediátrica e da Adolescência do nosso Serviço. Foram estudados os seguintes polimorfismos: ACE Ins/Del, Apo B R3500Q, Apo E2,3,4, MTHFR C677T e A1298C, PAI 4G/5G, ITGB3 PL(A1)/(A2) e FGB G/A-455. Avaliou-se a prevalência dos vários génotipos nos grupos de doentes com e sem complicações microvasculares (nefropatia e retinopatia). Considerou-se a média do valor de A1C apresentada pelos doentes no último ano de seguimento (DCA 2000) e o último perfil lipídico realizado no máximo 6 meses antes da última consulta.

Resultados: Foram estudados 33 doentes. A amostra apresentava um discreto predomínio do sexo feminino (54,5%), uma média de IMC de 21,8±5,3 kg/m², uma média de A1C de 8,2±1,6% e uma duração média da diabetes mellitus de 9,1±5,3 anos. Quatro doentes (12,1%) apresentavam hipertensão, cinco doentes (15,2%) apresentavam nefropatia incipiente e três doentes (9,1%) retinopatia de fundo. As frequências de heterozigotia encontradas para cada um dos polimorfismos foram: ACE Ins/Del – 19 (57,6%); Apo B R3500Q – 0; Apo E 2,3,4 – 9 (27,3%); MTHFR C677T – 14 (42,4%); MTHFR A1298C – 13 (39,4%); PAI 4G/5G – 17 (51,5%), ITGB3 PL(A1)/A2 – 11 (33,3%), FGB G/A-455 – 15 (45,5%). Não foi encontrado nenhum caso de homozigotia para o polimorfismo. O polimorfismo ACE Ins/Del foi mais frequente de uma forma estatisticamente significativa nos grupos de doentes com hipertensão (p<0,001), nefropatia (p=0,001) e retinopatia (p<0,001). Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos outros polimorfismos estudados.

Conclusões: A prevalência dos polimorfismos estudados esteve de uma forma global dentro da esperada para uma população europeia caucasiana, embora alguns casos (ACE, PAI) tenha sido superior ao previsível. O polimorfismo ACE Ins/Del foi mais frequente no grupo de doentes com hipertensão, nefropatia e retinopatia, apontando mais uma vez estes dados para um papel relevante deste polimorfismo na determinação dos valores da pressão arterial e susceptibilidade para complicações microvasculares. A reduzida dimensão da amostra pode estar na base de não terem sido encontradas outras diferenças relevantes. O conhecimento deste génotipo e dos outros polimorfismos poderá permitir uma abordagem terapêutica mais global do risco de complicações macro e microvasculares.

(1) Instituto Gulbenkian de Ciência.

(2) Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal.

(3) Centro de Histocompatibilidade do Sul.

(4) Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da Universidade de Coimbra.