

Ana Sofia Miguel Fresco

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel dos MicroRNAs no Diagnóstico e Tratamento da Diabetes *Mellitus* Tipo 2 e suas Complicações” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Liliana Ribeiro, da Dra. Judite Neves e da Professora Doutora Alexandrina Mendes e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Sofia Miguel Fresco

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel dos MicroRNAs no Diagnóstico e Tratamento da Diabetes Mellitus Tipo 2 e suas Complicações” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Liliana Ribeiro, da Dra. Judite Neves e da Professora Doutora Alexandrina Mendes e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Sofia Miguel Fresco, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013130563, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel dos microRNAs no tratamento e prevenção da Diabetes *Mellitus* tipo 2 e suas complicações” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 5 de setembro de 2018.

Assinatura

Ana Sofia Miguel Fresco

Agradecimentos

À Dra. Mariana Pinho e a toda a equipa da Farmácia Oudinot, em particular à Dra. Liliana Ribeiro e ao Dr. Hugo Costa, pelo acolhimento e paciência, pelo exemplo e ensinamentos transmitidos.

À Dra. Judite Neves e Direção de Produtos de Saúde do Infarmed, em particular à Dra. Ana Sofia Santos e Dra. Sara Rangel, pelos incentivos diários e confiança depositada, e por me fazerem sentir parte da equipa.

À Professora Doutora Alexandrina Mendes, pela simpatia, disponibilidade e sabedoria na orientação da minha monografia.

Aos meus professores do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, por toda a dedicação e conhecimentos transmitidos ao longo dos anos.

Aos meus colegas de estágio no Infarmed Joana, Teresa, Kevin, Bruno e Patrícia pelos sorrisos constantes e por terem tornado cada dia inesquecível.

À Maria Terrível pela companhia nas formações e no dia-a-dia da Farmácia Oudinot.

Ao Tiago e à Clara, por terem aceitado o desafio de fazer a minha imagem de capa.

Aos meus amigos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por todos os momentos vividos nestes cinco anos.

À Ana Lúcia, à Inês e à madrinha Joana por serem o melhor de Coimbra. Pelo apoio nos momentos mais difíceis e pelas gargalhadas e conversas intermináveis nos dias felizes. Se estiverem de acordo, levo-as para a vida.

À Ana Raquel, à Ana Filipa e à Betty pelos jantares, lanchinhos e partilhas de angústias e de sonhos. Não esquecerei tudo o que fizeram por mim.

Ao Paulo por me fazer crescer e ter confiança em mim, por me ajudar a olhar a vida de forma mais tranquila, por me lembrar de ter fé em Deus e por nunca me deixar desistir. A ele, um obrigada muito especial.

Por fim, um agradecimento aos meus pais e irmão pelo apoio incondicional ao longo deste percurso, por me orientarem nos momentos de indecisão ou desânimo e por todo o carinho e amor. Sem eles nada disto seria possível.

Índice

Resumo	5
Abstract	6
Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	7
Lista de Abreviaturas	8
1. Introdução	9
2. Farmácia Oudinot	9
3. Análise SWOT	10
3.1. Pontos Fortes	10
3.2. Pontos Fracos	15
3.3. Oportunidades	16
3.4. Ameaças	18
4. Considerações Finais	20
Anexos	21
Anexo 1 – Parte do conteúdo da apresentação “Técnicas de venda”	21
Anexo 2 – Folheto preparado para o rastreio de fatores de risco cardiovascular	21
Anexo 3 – Feira da Saúde	22
Bibliografia	24
Parte 2 – Relatório de Estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.	25
Lista de Abreviaturas	26
1. Introdução	27
2. INFARMED, I.P. e DPS	28
3. Análise SWOT	28
3.1. Pontos Fortes	
3.2. Pontos Fracos	31
3.3. Oportunidades	32
3.4. Ameaças	34
4. Conclusão	35
Anexos	36
Anexo I – Organograma do INFARMED, I.P.	36
Anexo II – Manual de Acolhimento	37
Anexo III – Algumas informações contidas no Manual de Acolhimento	37
Bibliografia	39

Parte 3 – Papel dos microRNAs no diagnóstico e tratamento da Diabetes Mellitus tipo 2 e suas complicações.	40
Lista de Abreviaturas	41
1. Introdução	43
2. Diabetes <i>Mellitus</i> – Definição, Sinais e Sintomas	44
2.1. Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 1	45
2.2. Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2	46
2.3. Diabetes Gestacional.....	47
2.4. Outros tipos de diabetes	48
3. Epidemiologia.....	49
4. Métodos e critérios de diagnóstico.....	50
4.1. Glicemia em jejum e PTGO	50
4.2. Hemoglobina Glicada (HbA1c)	51
4.3. Confirmação do diagnóstico	51
4.4. Pré-diabetes: definição e critérios de diagnóstico	51
5. Complicações associadas.....	52
5.1. Neuropatia periférica	53
5.2. Nefropatia	53
5.3. Cardiopatia	54
5.4. Retinopatia	54
6. Mecanismos Fisiopatológicos.....	55
6.1. Patogênese da DMT2.....	55
6.2. Patogênese das Complicações Crônicas.....	59
7. MicroRNAs.....	61
7.1. MiRNAs relevantes e seu contributo para a DMT2.....	63
7.2. Potencial utilidade dos microRNAs.....	66
8. Conclusões e perspectivas futuras.....	71
Anexos	73
Anexo 1 – Complicações da diabetes.....	73
Anexo 2 – Disfunções da mitocôndria e stress do retículo endoplasmático	76
Anexo 3 – Mecanismos na origem das complicações crônicas da diabetes.....	74
Anexo 4 – miRNAs envolvidos na sensibilidade e resistência à insulina	75
Anexo 5 – Exemplos de miRNAs envolvidos na DMT2.....	76
Bibliografia.....	80

Resumo

O presente documento, elaborado no âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” integrada no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, inclui os relatórios relativos ao período de estágio na Direção de Produtos de Saúde (DPS) do INFARMED I.P. e ao período de estágio na Farmácia Oudinot em Aveiro. Cada um dos relatórios de estágio tem por base uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), tendo sido elaborada uma lista de pontos positivos e negativos, de âmbito quer interno, quer externo ao estágio.

O documento inclui ainda a monografia intitulada “Papel dos microRNAs no diagnóstico e tratamento da Diabetes *Mellitus* tipo 2 e suas complicações”. A Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DMT2) é caracterizada por hiperglicemia causada essencialmente por resistência periférica à insulina. Atualmente, não existe nenhum biomarcador aceitável para a deteção precoce da DMT2 e simultaneamente continua a ser necessário identificar estratégias terapêuticas mais vantajosas que as existentes. Os microRNAs controlam a expressão génica. A sua desregulação pode estar na origem de alterações em vários mecanismos fisiológicos. Estes têm demonstrado potencial na terapêutica de várias doenças, entre as quais a DMT2. Alguns microRNAs apresentam níveis plasmáticos que variam com a progressão da DMT2 e/ou suas complicações, podendo, no futuro, ser usados como biomarcadores desta doença.

Palavras-chave: Farmácia Oudinot, Infarmed, Direção de Produtos de Saúde, Análise SWOT, Diabetes *Mellitus* tipo 2, microRNA, complicações, biomarcadores, alvos terapêuticos.

Abstract

This document includes reports of two internships accomplished under the scope of the course “Curricular Internships” which is part of the integrated master's degree in Pharmaceutical Sciences. These internships took place in Infarmed I.P.'s Direção De Produtos de Saúde (DPS) and in Farmácia Oudinot, located, the latter, in the city of Aveiro. Each one of the reports is based upon a SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats) analysis, under which it has been made a list of positive and negative aspects, both in and out of the internship's reach.

This document also includes a monography named “Papel dos microRNAs no diagnóstico e tratamento da Diabetes *Mellitus* tipo2 e suas complicações” (Role microRNAs play in the diagnosis and treatment of Type 2 Diabetes *Mellitus* and its complications). Type 2 Diabetes *Mellitus* (T2DM) is characterized by hyperglycemia caused as a result of peripheral resistance to insulin. Currently, there is not any acceptable biomarker for a beforehand detection of T2DM, while it is still necessary to identify improving therapeutical strategies. MicroRNAs control gene expression. Their deregulation may cause changes in a multitude of physiological mechanisms. These have been showing to be potentially useful for the therapeutics of various diseases, including the T2DM. Some microRNAs display plasmatic levels which vary as T2DM and/or its complications progress in time, which opens the possibility for them to be used as biomarkers for this disease in the future.

Keywords: Farmácia Oudinot, Infarmed, Direção de Produtos de Saúde, SWOT Analysis, Type 2 Diabetes *Mellitus*, microRNA, complications, biomarkers, therapeutic targets.

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

IMC – Índice de massa corporal

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento não sujeito a receita médica

MNSRM-EF – Medicamento não sujeito a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia

MSRM – Medicamento sujeito a receita médica

PVP – Preço de venda ao público

RGPD – Regulamento Geral de Proteção de Dados

SWOT – Do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

1. Introdução

A realização de estágio curricular em farmácia comunitária representa o culminar da formação académica do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF). Este tem como objetivo a consolidação dos conceitos teóricos adquiridos ao longo de cinco anos de curso, no seio de uma equipa multidisciplinar e em contacto direto com o utente. Não só é importante para aplicação de conhecimentos, como também para a aquisição de experiência profissional, desempenhando um papel fundamental na preparação para o mercado de trabalho.

Escolhi realizar o meu estágio na Farmácia Oudinot por estar situada na principal avenida de Aveiro, o que me possibilitaria o contacto com um público diversificado, e por ter obtido boas referências de colegas e utentes.

O presente relatório descreve o meu estágio curricular realizado de 2 de abril a 18 de junho de 2018, com duração de 649 horas, orientado pela Dra. Liliana Ribeiro e coorientado pelo Dr. Hugo Costa.

2. Farmácia Oudinot

A Farmácia Oudinot foi fundada em 1958 no centro da cidade de Aveiro, tendo sido transferida para a avenida principal em 2016, o que lhe deu maior visibilidade. A direção técnica da farmácia pertence à Dra. Mariana Lopes Pinho, que lidera uma equipa constituída por cinco farmacêuticos, dois técnicos de farmácia e uma auxiliar.

É uma farmácia de grandes dimensões, sendo que a parte acessível aos utentes está organizada em várias secções: higiene oral, puericultura, dispositivos médicos e dermocosmética. Por detrás dos cinco balcões de atendimento, encontram-se expostos alguns medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF) e suplementos alimentares.

Existem ainda dois gabinetes onde são avaliados parâmetros bioquímicos e tensão arterial, e administrados injetáveis. Estes gabinetes são o espaço onde decorre, às segundas-feiras, o serviço de nutrição, promovido pela farmácia e desenvolvido por uma profissional competente para o efeito. Por fim, a zona de *backoffice* inclui o gabinete da direção técnica, laboratório e armazém.

3. Análise SWOT

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Localização e Horário de Funcionamento da Farmácia

A Farmácia Oudinot situa-se na avenida Lourenço Peixinho, que faz a ligação entre a estação de comboios e o Rossio, a zona que considero mais turística da cidade. Na mesma avenida localizam-se vários estabelecimentos comerciais, escritórios e prédios destinados a habitação. Existe uma grande afluência de pessoas à farmácia devido à sua localização, quer sejam clientes fidelizados, maioritariamente habitantes daquela zona, quer utentes esporádicos e turistas de passagem.

Pelo exposto, os utentes da farmácia constituem uma população bastante heterogénea do ponto de vista etário, social e económico. Esta diversidade revelou-se uma mais valia para o meu estágio, permitindo-me interagir com situações e necessidades distintas, levando-me a adaptar o meu atendimento a cada pessoa.

A Farmácia Oudinot está aberta, de segunda a sexta-feira, das 8h30 às 20h, e aos sábados entre as 9h e as 19h. Dividi o meu estágio em dois períodos: inicialmente estagiei entre as 8h30 e as 18h30 e, mais tarde, entre as 10h e as 20h. Ao longo do dia, varia o número e o tipo de utentes que procuram a farmácia, assim como as tarefas a realizar no *backoffice*, tendo sido muito vantajosa a alternância de horários do meu estágio.

Nos dias em que a farmácia esteve de serviço, apesar de não ter alterado o meu horário normal, pude observar que tipo de medicamentos é mais procurado e de que forma é realizado o reforço de *stock*.

Pude ainda assistir ao procedimento de fecho do receituário do mês de junho, circunstância que considere muito útil na minha formação como farmacêutica.

3.1.2. Equipa técnica

A equipa técnica da Farmácia Oudinot é muito jovem e dinâmica, na qual, todos são profissionais responsáveis, competentes e dedicados, espelhando o papel importante do farmacêutico na comunidade onde está inserido. Reconheci o empenho de toda a equipa em zelar pelo bem-estar dos utentes, e em intervir ativamente e de forma responsável na comunidade.

Outro aspeto interessante é a forma como as diversas tarefas estão distribuídas pelos trabalhadores. A gestão de *stocks* e encomendas diárias, a gestão do material de laboratório,

o controlo da humidade e temperatura, a divulgação de iniciativas e atualização das redes sociais, o tratamento de contentores da VALORMED, o procedimento de fecho do mês, o controlo dos estupefacientes e psicotrópicos, entre outros exemplos, são responsabilidades distribuídas de forma equilibrada por todos os colaboradores. Também esta é uma característica que contribuiu para a minha evolução, dado que sempre que surgia uma dúvida referente a alguma destas tarefas, era imediatamente esclarecida pelo responsável da mesma. Apesar desta distribuição de tarefas, todos os farmacêuticos e técnicos tinham conhecimentos suficientes para desenvolver qualquer uma das mesmas, quando o seu responsável não estava presente, o que considerei importante para uma gestão eficaz da farmácia.

3.1.3. Organização do Programa de Estágio - Diversidade de tarefas

O meu estágio na Farmácia Oudinot foi constituído por uma componente em que realizei várias tarefas de *backoffice*, e por uma componente de atendimento ao público, que me permitiram adquirir uma boa perceção do modo de funcionamento de uma farmácia comunitária.

- Gestão de encomendas, devoluções e armazenamento dos produtos

As encomendas diárias são realizadas com base na definição de *stocks* mínimos e máximos para determinados medicamentos e produtos de saúde, consoante o respetivo histórico de vendas. As encomendas diretas - encomendas de grande volume, negociadas diretamente com os laboratórios - facilitam, geralmente, o acesso a melhores condições comerciais.

Na primeira fase do meu estágio, foram-me atribuídas as tarefas de dar entrada às encomendas que chegam, tendo em conta os prazos de validade, Preço de Venda ao Público (PVP) e conferindo os preços de venda unitários e número de unidades, com base na fatura da respetiva encomenda. Separava as reservas em locais específicos para tal, etiquetava os MNSRM e arrumava todos os produtos nas prateleiras e gavetas destinadas a cada um.

Durante este período, também aprendi a realizar devoluções e a regularizar as mesmas através de notas de crédito. Era ainda responsável por arquivar faturas e outros documentos resultantes das atividades da farmácia.

Estas tarefas revelaram-se muito úteis, dado que me permitiram memorizar a forma como estão armazenados os produtos, aperceber-me de que produtos existem permanentemente na farmácia e quais são encomendados esporadicamente, rever e

consolidar as indicações terapêuticas de cada medicamento e familiarizar-me com os seus nomes comerciais, fundamental para um bom atendimento. Por último, estas atividades possibilitaram a minha familiarização com o *software* Sifarma 2000®, indispensável ao desempenho de todos estes procedimentos e, mais tarde, a um atendimento rápido, seguro e eficaz.

- Realização de testes bioquímicos

Ainda durante esta primeira fase de estágio, a minha orientadora, Dra. Líliliana Ribeiro, ensinou-me os procedimentos através dos quais se realizam os testes bioquímicos. Revi comigo como realizar de forma correta testes de glicémia e medições da tensão arterial e ensinou-me a determinar os níveis de hemoglobina, colesterol total, HDL e LDL, os níveis de triglicéridos e ácido úrico, através do equipamento Callegari® CR3000. Ao longo do estágio apliquei várias vezes estes conhecimentos, sentindo-me no final apta a realizar todos estes testes com segurança.

- Preparação de medicamentos manipulados e reconstituição de preparações extemporâneas

A Farmácia Oudinot, tal como indicado nas *Boas Práticas de Farmácia Comunitária*¹, dispõe de um laboratório que oferece condições para preparar diversos medicamentos manipulados. Tive a oportunidade de elaborar alguns destes medicamentos com a supervisão da minha orientadora, e perceber o procedimento de registo e controlo de qualidade associado.

No laboratório, estão disponíveis um dossier onde são efetuados os registos dos manipulados, a Farmacopeia Portuguesa, e o Prontuário Terapêutico, que devem ser consultados aquando da preparação de cada manipulado. Por fim, revi o procedimento de cálculo do preço do manipulado, de acordo com a Portaria n.º 769/2004, de 1 de Julho.²

Durante o estágio, ajudei a preparar alguns manipulados simples, entre os quais uma pomada de enxofre e um xarope de trimetropim. Também tive a oportunidade de reconstituir vários antibióticos, nomeadamente Clavamox® ES, Clamoxyl® e Zhitromax®.

- Manuseamento e conferência de receituário

Ainda durante os primeiros meses de estágio, comecei a ter contacto com o receituário. Os vários colegas explicaram-me quais os procedimentos a seguir para os vários tipos de receita (eletrónica sem papel, eletrónica em papel e manual), qual o plano de comparticipação, o que fazer quando os utentes tinham planos complementares, e outras

informações acerca do receituário. Ensinaaram-me ainda a conferir as receitas em papel, tendo em atenção a data da prescrição e validade, a assinatura do médico prescriptor, os medicamentos dispensados e o número de embalagens, o número de utente ou de beneficiário, o número da receita, a comparticipação aplicada, justificação da exceção para a prescrição em papel, e ainda, o carimbo da farmácia e assinatura do farmacêutico.

- Formação para o atendimento dos utentes

Os colaboradores da farmácia transmitiram-me conhecimentos úteis para o atendimento de utentes. Disponibilizaram-me fluxogramas de indicação farmacêutica, disponíveis na ANFonline³ e, ainda uma apresentação sobre técnicas de venda (Anexo I), para além de estarem sempre disponíveis para responder a qualquer dúvida e curiosidade que demonstrasse.

Adicionalmente, para estar apta a esclarecer qualquer utente que iniciasse uma terapêutica com um dispositivo de inalação, uma farmacêutica disponibilizou-se para me lembrar como se utilizavam os inaladores e o que deveria transmitir ao utente, de forma a garantir a sua correta utilização.

- Atendimento dos utentes

Após aproximadamente dois meses de trabalho no *backoffice*, comecei a fazer os primeiros atendimentos. Inicialmente, com maior supervisão dos colaboradores e, mais tarde, com mais independência, sem nunca deixar de consultar os colegas quando necessitava de algumas indicações. Aos poucos, após a insegurança inicial, senti-me mais competente no atendimento: mais imediata nas questões a colocar e nas respostas a dar, mais rápida a fazer uma ou outra pesquisa no Sifarma 2000[®] ou noutra fonte de informação e a realizar encomendas instantâneas.

Em relação a este ponto, queria sublinhar a importância da confiança depositada em mim e na minha colega estagiária e a seriedade com que encararam as nossas dúvidas, durante este período. Considero que foi o período fundamental do meu estágio, que me fez crescer não só a nível profissional, mas também pessoal.

3.1.4. Existência de CashGuard[®]

Sensivelmente a meio do meu período de estágio, foi instalado na farmácia o sistema de CashGuard[®]. Tendo como comparação as semanas anteriores, pude verificar que este sistema oferece uma gestão eficiente do dinheiro resultante das vendas da farmácia, reforça a segurança nas operações efetuadas, facilita o fecho de contas do dia, elimina os erros

inerentes à devolução de trocos e diminui o tempo despendido nestas ações. O CashGuard® evidenciou-se como um sistema muito útil na gestão financeira da farmácia.

3.1.5. Intervenção na Comunidade

A Farmácia Oudinot participa ativamente na educação para a saúde da comunidade. Por este motivo, logo no primeiro mês de estágio, participámos num rastreio de glicémia, tensão arterial, índice de massa corporal (IMC) e percentagem de massa gorda, promovido por uma empresa local. No mês seguinte, organizámos uns dias de rastreio de fatores de risco cardiovascular, para o qual me propuseram e à minha colega estagiária a elaboração de um folheto informativo (Anexo 2).

Mais tarde, participámos na Feira da Saúde, promovida por uma escola básica vizinha, como já tinha ocorrido em anos anteriores. Também nesta feira, nós, estagiárias, tivemos um papel muito ativo, preparando folhetos e a exposição que fizemos. Centrámos-nos na importância da proteção solar, nos cuidados a ter com cada tipo de pele, acne e na problemática da pediculose (Anexo 3).

Além das atividades acima descritas, promovemos alguns rastreios, com profissionais de saúde especializados, relacionados com a deteção de problemas, tais como doença venosa e o cancro da pele.

Desta forma, percebi a influência positiva que a farmácia pode ter no bem-estar da comunidade onde está inserida, o que me interpelou a ser mais pró-ativa e interveniente no meio à minha volta.

3.1.6. Aplicação de Conhecimentos e Desenvolvimento de Competências

Durante os cinco anos de estudo na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), adquiri conhecimentos em diversas áreas.

No decorrer do estágio em farmácia comunitária, muitos conhecimentos adquiridos anteriormente foram revistos e consolidados, sentindo-me capaz de os associar com muito mais facilidade do que anteriormente, devido à sua aplicação prática e imediata. O raciocínio crítico desenvolvido ao longo do MICF e os conhecimentos base que adquiri, foram, sem dúvida, essenciais no trabalho diário que desempenhei no estágio.

Ao longo deste período, fortaleci outras competências, tais como, autonomia no desempenho de várias funções, capacidade de comunicação com os utentes e os colegas, entre outras.

Houve ainda ocasião de praticar a minha comunicação em inglês, devido ao facto de a farmácia estar situada numa zona turística. Desenvolvi, também, a capacidade de adaptar o meu discurso consoante o público-alvo, característica que considero imprescindível nesta profissão.

Todas estas competências me enriqueceram como pessoa e como técnica e constituem uma mais valia para o meu futuro profissional, qualquer que ele seja.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Adaptação ao novo ritmo de trabalho

Um dos aspetos que mais me surpreendeu durante o estágio, foi a diversidade de tarefas a desempenhar pelo farmacêutico, ao longo do dia. Noutras experiências profissionais que tive, o trabalho era mais rotineiro, havendo muitos momentos de pausa e centrando-se muito mais em tarefas repetitivas, desenvolvidas ao computador, sem grande exigência física. Pelo contrário, na farmácia não há momentos mortos: dar entrada a encomendas, arrumar medicamentos, estar atento ao que é necessário repor nos expositores e gavetas, atender cada utente... No fim das primeiras semanas, já estava mais habituada ao ritmo de trabalho; no entanto, o cansaço e algumas dores musculares estiveram sempre presentes. Se, por um lado, considero este um dos aspetos mais difíceis do trabalho em farmácia comunitária, por outro, a sensação de realização e dever cumprido no fim de cada dia é muito compensadora.

3.2.2. Lacunas no conhecimento prévio

Apesar do suporte científico fornecido pelo plano curricular académico albergar muitos conhecimentos necessários à realização do estágio, nalgumas áreas de atuação do farmacêutico, senti algumas lacunas. Senti necessidade de saber mais, principalmente no que respeita aos MNSRM, suplementos, produtos de higiene oral, produtos de dermofarmácia e cosmética, oftalmologia, puericultura e ginecologia.

As dificuldades referidas foram, no entanto, parcialmente superadas devido a pesquisa autónoma, na atenção aos produtos aquando da receção de cada encomenda, através de várias formações e pela prontidão e disponibilidade dos colaboradores da farmácia em me acompanhar e auxiliar.

3.2.3. Insegurança no aconselhamento ao utente

O farmacêutico é, muitas vezes, o profissional de saúde de eleição para o aconselhamento do utente, relativamente a vários problemas de saúde.

No início do período de atendimento, sentia-me bastante insegura quanto ao aconselhamento a prestar, particularmente no que toca aos suplementos alimentares, produtos de dermocosmética, de higiene oral e produtos de uso veterinário, dada a falta de experiência e a variedade existente no mercado. Nestas ocasiões pedia opinião aos meus colegas, que me indicavam quais as questões mais importantes a colocar ao utente e quais as alternativas disponíveis na farmácia. Assim, aos poucos, familiarizei-me com diversas situações apresentadas e aumentei a minha confiança no atendimento, apesar de continuar a sentir que apenas com mais experiência de trabalho, poderei atingir um desempenho completamente seguro e abrangente.

3.2.4. Falta de experiência

Tendo sido este o primeiro contacto com o mundo da farmácia comunitária, é expectável que surjam erros associados a inexperiência. Ocorreram alguns erros a dar entrada a encomendas, entre outros, mas aos poucos, foram diminuindo de frequência, tornando-se esporádicos e de menor importância.

Para a minimização destes erros contribuiu, em grande medida, o sentido de iniciativa, o interesse e contínua aprendizagem, e a equipa de colaboradores da farmácia, que sempre renovou a confiança em mim, mesmo depois de alguns erros, me orientou e permitiu que adquirisse a experiência necessária para melhorar.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formação Contínua

O célere desenvolvimento científico e tecnológico exige aos profissionais de qualquer área uma contínua atualização de conhecimentos. Isto é particularmente importante na área da saúde, com a evolução contínua da investigação e da indústria farmacêutica e o lançamento de novos fármacos.

Na Farmácia Oudinot, tive a oportunidade de participar em várias formações ministradas por delegados de informação médica, enquadradas nas áreas de suplementação alimentar, incontinência urinária, nutrição, oncomicoses, entre outras. Nestas ações de formação, a apresentação de muitos produtos e a descrição das suas principais

características e vantagens, contribuiu para a aquisição de um conhecimento mais aprofundado e uma maior segurança no aconselhamento dos mesmos.

Adicionalmente, a Diretora Técnica sugeriu-nos ainda que realizássemos uma formação de *e-learning* relativa ao novo Regulamento Geral de Proteção de Dados (RGPD)⁵, o que constituiu uma oportunidade importante de atualização sobre esta nova lei que tem impacto na gestão de utentes da farmácia.

Esta possibilidade de formação contínua de que beneficiam os estagiários e os colaboradores da farmácia constitui um meio de constante atualização e revisão de conhecimentos anteriores, possibilitando um serviço de qualidade à população.

3.3.2. Participação em Formações Complementares

Durante o estágio, foi-nos dada a liberdade de participar nas formações complementares, promovidas pelas várias indústrias farmacêuticas e de cosmética, que considerássemos importantes para a nossa formação. Assim, tive a oportunidade de participar, com a minha colega de estágio, em diversas formações, desde *Rene Furterer*, *Klorane*, *GSK*, *Vichy*, entre outras marcas cosméticas, até uma formação sobre sarampo.

Destaco as formações das marcas de cosmética como uma das oportunidades mais importantes do meu período de estágio, dado que os meus conhecimentos nesta área eram insuficientes para o aconselhamento ao balcão, e estas formações ajudaram-me muito a começar a integrar alguns conceitos importantes para este fim.

3.3.3. Sistema de Receita Eletrónica sem papel

As receitas eletrónicas sem papel vieram simplificar a dispensa de medicação nas farmácias pela maior rapidez, eficácia e segurança do processo, promovendo uma menor ocorrência de troca de medicamentos no ato da dispensa e o controlo da validade das linhas de prescrição. Traz a possibilidade aos cidadãos, de optarem por levar apenas parte dos produtos prescritos e aceder aos restantes noutras ocasiões.

A desmaterialização das receitas, para além de constituir uma medida sustentável para o ambiente⁶, vem diminuir significativamente o tempo dedicado pelos colaboradores da farmácia à conferência e validação do receituário.

Pelo exposto, o contacto com receitas eletrónicas desmaterializadas durante o meu estágio, constituiu uma ótima oportunidade de aprendizagem para o meu futuro profissional.

3.3.4. Sifarma 2000®

Apesar de considerar que este sistema possui algumas características que dificultam a sua utilização, nomeadamente, a incapacidade para consultar o histórico do utente enquanto se dispensa uma receita, os vários erros que ocorrem, ou a interface pouco intuitiva, o programa informático Sifarma 2000® simplifica e agiliza o atendimento e todos os processos relativos às encomendas.

Uma das ferramentas do Sifarma 2000® que considerei mais interessante, é a possibilidade de criar fichas de cliente, sempre com o devido consentimento informado do utente. Estas fichas têm, entre outros objetivos, a função de manter o histórico de medicação dos utentes. Através do registo de vendas, é possível identificar quais os medicamentos dispensados em ocasiões anteriores e, desta forma, perceber de forma rápida, qual o medicamento pretendido, o que facilita o atendimento, considerando a grande variedade de medicamentos genéricos existentes no mercado.

Estas fichas são ainda úteis quando surge uma dúvida quanto à toma de determinado medicamento, havendo também a possibilidade de associar a essa ficha uma componente de acompanhamento, a qual permite, entre outras funcionalidades, alertar para interações medicamentosas, alergias, contraindicações e duplicações na medicação, específicas daquele utente.

A prática e familiaridade com o Sifarma 2000® que fui adquirindo ao longo do estágio, constituem uma competência valiosa para o meu futuro profissional, dado que este *software* é o mais utilizado pelas farmácias portuguesas e constitui a principal ferramenta de trabalho na farmácia.

3.4. Ameaças

3.4.1. Receitas Manuais

Durante o período em que estagiei na farmácia, apercebi-me das dificuldades criadas pela prescrição de receitas manuais e surpreendi-me por ainda serem muito comuns. Apesar de o seu uso ser imprescindível em caso de falência informática e numa ou outra situação específica, considero que não deveriam existir tantas exceções que justifiquem o seu uso, dado os inconvenientes que acarreta. De facto, principalmente numa fase de pouca experiência e escasso conhecimento dos medicamentos existentes no mercado, senti algumas dificuldades no momento de compreender a caligrafia do médico prescritor, bem como na interpretação da designação, dose e posologia do medicamento, o que implicou consultar os meus colegas diminuindo a eficiência do atendimento.

3.4.2. Conceito de Medicamentos Genéricos na sociedade

Constatai que ainda existem muitos utentes pouco esclarecidos quanto ao conceito de medicamento genérico, o que leva a que, algumas vezes, demonstrem desconfiança em relação à segurança e eficácia deste tipo de medicamentos e continuem a optar pelos medicamentos de marca, apesar dos custos mais elevados.

Foi muito frequente solicitarem a minha opinião sobre a eficácia do genérico em detrimento do de marca, ao que respondi terem a mesma eficácia e segurança. Apesar de algumas vezes ter notado uma mudança de opinião no utente, na maioria dos casos continuei a sentir alguma reserva em relação aos genéricos.

De forma a colmatar esta falta de esclarecimento, é fundamental uma maior dedicação dos profissionais de saúde à educação do utente no que respeita aos medicamentos genéricos, para que possam tomar uma opção consciente e informada.

3.4.3. Desvalorização do Medicamento

Uma outra ameaça de que me apercebi, durante o estágio, foi a frequência com que os utentes solicitam medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), muitas vezes, com alguma insistência. Argumentam que é muito dispendioso ir a uma consulta e/ou que não dispõem de tempo para tal, referindo ainda, no caso dos medicamentos comparticipados, que o valor da comparticipação não compensa a ida ao médico. Perante estas situações, procurei explicar a importância de ser observado por um médico para que seja prescrito o medicamento adequado, considerando o histórico clínico. Expliquei ainda que, por vezes, são necessários ajustes de doses e/ou posologia, e, nos casos em que era possível e seguro, apresentei alternativas não sujeitas a receita médica.

3.4.4. Parafarmácias

Nas grandes superfícies comerciais, é comum a existência de grandes espaços de venda de MNSRM. Devido ao volume de compras que lhes é permitido realizar, é possível obterem para os MNSRM um preço de custo consideravelmente mais baixo comparativamente às farmácias, traduzindo-se, conseqüentemente, num preço de venda ao público inferior. Desta forma, mantêm uma posição competitiva em relação às farmácias.

Considero que esta situação pode constituir uma ameaça, não só para a farmácia, mas também para a segurança do utente. De facto, apesar de os medicamentos comercializados nestes espaços serem, obrigatoriamente, MNSRM, não deixam de ser medicamentos, pelo que, da sua toma, podem advir riscos, muitas vezes devidos à sua toma concomitante com outros medicamentos. O farmacêutico é o profissional de saúde que consegue antever e

evitar estes riscos ou, no mínimo informar o utente que os mesmos podem ocorrer, pelo que, a meu ver, a autorização de venda de medicamentos sem a presença de um farmacêutico, deveria ser reavaliada.

3.4.5. Medicamentos Esgotados

Uma realidade da qual não estava bem ciente, antes do meu período de estágio, era a da existência de vários medicamentos esgotados, a nível nacional. Apesar de a Farmácia Oudinot fazer esforços por os adquirir, tendo o cuidado de fazer encomendas de medicamentos de esgotados a vários fornecedores diferentes, muitas vezes estes não chegavam, ou chegavam apenas depois de alguns meses, não sendo possível dar resposta a algumas prescrições médicas.

Durante a realização do estágio contactei com alguns destes casos. Um dos exemplos foi o Gluart[®], Dolenio[®] e outros medicamentos, cujo princípio ativo é a glucosamina, na dose de 1500 mg. Tentámos apresentar alternativas, como a toma de saquetas com a mesma dosagem, sendo que, só após alguns meses, conseguimos adquirir novamente o medicamento. O mesmo se passou com o Doce alívio[®], Nausefe[®], entre outros.

4. Considerações Finais

Após terminar o estágio em farmácia comunitária, percebo a importância da obrigatoriedade desta experiência, como conclusão do MICF. De facto, os conhecimentos adquiridos durante os cinco anos de curso não ficariam completos, sem o suporte de uma experiência prática, que permitisse a sua aplicação em situações concretas. Por outro lado, mais do que em qualquer outro ramo da área farmacêutica, as exigências do dia-a-dia de uma farmácia comunitária, promovem o desenvolvimento de várias competências, não só profissionais como também pessoais e humanas, que contribuem para uma preparação íntegra e abrangente para qualquer atividade profissional futura.

Por fim, deixo um especial e sincero agradecimento a cada membro da equipa da Farmácia Oudinot: por me terem inspirado a ser mais confiante e competente, pelos conhecimentos transmitidos, por me terem demonstrado a importância que um farmacêutico pode ter na vida dos utentes e acima de tudo, por me terem acompanhado, com paciência, num processo de crescimento, que nem sempre foi fácil. Um bem-haja a todos!

Anexos

Anexo I – Parte do conteúdo da apresentação “Técnicas de venda”

- **Características:** O que o produto/serviço “é” ou “tem”.
- **Vantagens:** O ganho que proporciona a um cliente em geral.
Ex: “Este creme tem acção seborreguladora.”
- **Benefícios:** O ganho que responde exactamente a uma necessidade expressa pelo cliente.
Ex: “Este creme vai fazer com que fique sem brilhos na testa e com a pele menos oleosa.”

Competências Técnicas

```
graph TD; Contacto --> Fochar_a_Venda[Fochar a Venda]; Contacto --> Pesquisar_Necessidades[Pesquisar Necessidades]; Fochar_a_Venda --> Ajudar_a_decidir[Ajudar a decidir]; Pesquisar_Necessidades --> Apresentar_Solucoes[Apresentar Soluções]; Ajudar_a_decidir --> Sinais_de_Interestee[Sinais de Interesse]; Apresentar_Solucoes --> Demonstrar_o_Produto[Demonstrar o Produto]; Sinais_de_Interestee --> Gestao_de_Objecoes[Gestão de Objecções]; Demonstrar_o_Produto --> Argumentar_Beneficios[Argumentar Benefícios]; Gestao_de_Objecoes --> Argumentar_Beneficios; Argumentar_Beneficios --> Sinais_de_Interestee;
```

9 Etapas

Anexo 2 – Folheto preparado para o rastreio de fatores de risco cardiovascular

A HIPERTENSÃO NÃO DÓI!

Rastreio gratuito
Tensão Arterial e Glicémia
Dias 28, 29 e 30 de Maio

Sabia que..
Em Portugal existem dois milhões de hipertensos, dos quais apenas:
- 50% sabe que sofre desta patologia
- 25% é medicado
- 11% tem a tensão efetivamente controlada

A hipertensão arterial ocorre quando o sangue exerce uma força excessiva sobre as artérias de forma continuada ao longo do tempo.

Quais os fatores de risco?
- Tabagismo
- Diabetes
- Excesso de peso
- Dislipidémia
- Antecedentes familiares
- Stress

Quais as consequências a longo prazo?
- Doença cardíaca
- AVC
- Insuficiência Renal
- Glaucoma

*Evolui sem sintomas, mas com riscos...
...por isso o ideal é prevenir*

Quais as medidas de prevenção?
- Alimentação saudável (maior consumo de legumes e frutas e menor ingestão de gorduras e sal)
- Moderação do consumo de álcool e café
- Atividade física regular

- Com a ajuda da sua farmácia, vigiar com regularidade diversos fatores de risco (medir a tensão, glicémia, colesterol...)

Quais os cuidados a ter com a medicação?
- Cumprir as doses e horários indicados pelo médico
- Não iniciar nem interromper a terapêutica por iniciativa própria (Estes medicamentos não curam a hipertensão arterial, pelo que se deixar de os tomar os valores sobem novamente)
- Existem alguns medicamentos e produtos naturais que podem alterar os valores da pressão arterial, pelo que aquando da aquisição destes produtos deve informar o profissional de saúde que é hipertenso.

Anexo 3 – Feira da Saúde

Não esquecer!

Seja qual for o teu tipo de pele...

...Usa sempre protetor solar!

Ao contrário do que muitas vezes se pensa, este não é um cuidado apenas para quando vamos à praia. É importante proteger a pele todos os dias do fotoenvelhecimento provocado pelo sol, mesmo quando o tempo está enublado!

Existem protetores solares em diversas formulações (gel, creme, emulsão) adequados aos diferentes tipos de pele. Para os mais preguiçosos e que não querem usar vários produtos, existem ainda cuidados hidratantes já com fator de proteção incluído.



QUAL O MEU TIPO DE PELE?






FARMÁCIA OUDINOT
Avenida Dr. Lourenço Peixinho 145,
Aveiro.
Tel: 234423644

 <p>Pele Seca</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Baça e áspera ❖ Por vezes com descamação e/ou vermelhidão ❖ Sensação de repuxar após o banho ❖ Poros não visíveis <p><i>Sugestão de Ritual</i></p> <p>Água Micelar OU Leite de Limpeza + Tónico</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Creme Hidratante/Nutritivo Textura Rica</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Máscara Hidratante (1 a 2x por semana)</p> 	 <p>Pele Normal</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Brilho saudável e toque aveludado ❖ Poros pouco visíveis  <p><i>Sugestão de Ritual</i></p> <p>Água Micelar OU Espuma de Limpeza</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Creme Hidratante</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Esfoliante (1 a 2x por semana)</p>	 <p>Pele Mista</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Oleosidade e brilho mais concentrados na zona T (testa, nariz e queixo) e restantes zonas secas ou com pele normal ❖ Poros dilatados na zona T ❖ Acne ocasional 	 <p>Pele Oleosa</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Excesso de oleosidade e brilho em todo o rosto ❖ Poros dilatados ❖ Tendência acneica <p><i>Sugestão de Ritual</i></p> <p>Água Micelar OU Gel de Limpeza</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Creme Hidratante Textura Fluida OU Creme Matificante</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Cuidados específicos para pele acneica (no caso de existir acne)</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Esfoliante (1 a 2x por semana)</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Máscara Purificante (1 a 2x por semana)</p> 
---	---	--	--

SOCORRO, TENHO ACNE!



Sabias que...

A acne afeta 85 a 100% da população em algum momento da sua vida



Com a acne surgem pontos negros ou "borbulhas", muitas vezes logo no rosto! Importa tratar o mais cedo possível para não ficarem marcas e para te sentires bem contigo próprio!



O aparecimento de acne na adolescência:



Formas de manifestação da acne:

- Comedões abertos (pontos brancos)
- Comedões fechados (pontos negros)
- Pápulas (saliências vermelhas)
- Pústulas (espinhas)
- Nódulos (saliências maiores, sólidas e dolorosas)
- Lesões quísticas (nódulos de conteúdo purulento)

Para além do rosto, pode haver outras zonas afetadas...



Quais os cuidados a ter?

De manhã e à noite em todo o rosto
 - Limpar e tonificar a pele com produtos para pele oleosa/acneica (água micelar, gel, espuma).
 - Hidratar, regular a produção de gordura e acalmar a pele com produtos oil free.

Na zona a tratar
 - Aplicar um produto com ação purificante e que reduza a proliferação bacteriana.

- Disfarçar as lesões (existem lápis e sticks corretores, bem como cremes com cor)
Consultar um dermatologista

- Pode ser necessário um tratamento mais específico, com recurso a medicamentos.



Proibido espremer!

Espremer as borbulhas pode deixar marcas no rosto, que demoram ainda mais a desaparecer.



O sol engana!

O bronzeado disfarça a acne, mas seca a pele levando a que seja produzida ainda mais gordura. Todos os dias de manhã deves aplicar protetor solar! Existem protetores oil free, com formulações adequadas para pele oleosa.



Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. C-N009-00, - **Norma específica sobre o uso responsável do medicamento** (2018). Boas práticas de farmácia comunitária. [Acedido a 8 de agosto de 2018]. Disponível em https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/of.c_n009_00_normas_especiificas_sobre_o_uso_responsayvel_do_medicamento_20306560945afd9cdbf10f3.pdf
2. INFARMED I.P. - **Portaria n.º 769 / 2004, de 1 de Julho** (2004). Legislação Farmacêutica Compilada, p. 4-7. [Acedido a 13 de agosto de 2018]. Disponível em http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_769-2004.pdf/a0b1c512-ac77-42d4-9b06-8b1f3da9fb4d
3. ASSOCIAÇÃO NACIONAL DAS FARMÁCIAS – **ANFOnline** (2013). [Acedido a 8 de agosto de 2018]. Disponível em https://www.anfonline.pt/_layouts/15/AnfOnline.Pages/Public/Access/Login.aspx?ReturnUrl=%2F_layouts%2F15%2FAuthenticate.aspx%3FSource%3D%252F&Source=%2F
4. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Curso Inicial de Vacinas e Administração de Medicamentos Injetáveis**. [Acedido a 8 de agosto de 2018]. Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/eventos/formacao-continua-curso-inicial-de-vacinas-e-administracao-de-medicamentos-injetaveis/>
5. **Regulamento Geral de Proteção de Dados**. - Jornal Oficial da União Europeia. Serviço das Publicações da União Europeia, Luxemburgo, 2016. ISSN 1977-0774.
6. **Nova Receita Eletrónica**. [Acedido a 13 de agosto de 2018]. Disponível em <http://www.receitaeletronica.pt/#/>

Parte 2

Relatório de Estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.

Lista de Abreviaturas

AC – Autoridade competente

ACSS – Administração Central do Sistema de Saúde

AFP – Associação de Farmácias de Portugal

ANF – Associação Nacional das Farmácias

APIFARMA – Associação Portuguesa da Indústria Farmacêutica

APOGEN – Associação Portuguesa de Medicamentos Genéricos e Biossimilares

CDM – Código de dispositivo médico

CEE – Comunidade Económica Europeia

COEN – Do inglês, *Compliance and enforcement group*

DIV – Dispositivo de diagnóstico *in vitro*

DM – Dispositivo médico

DPS – Direção de Produtos de Saúde

EEE – Espaço Económico Europeu

EM – Estado Membro

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SPMS – Serviços Partilhados do Ministério da Saúde

SWOT – Do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

I. Introdução

Ao longo dos anos de formação na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), temos contacto e adquirimos conhecimentos relacionados com vários ramos de atuação do farmacêutico, tais como análises clínicas, farmácia hospitalar, farmácia comunitária, investigação, assuntos regulamentares, farmacovigilância, marketing farmacêutico, entre outros. A rematar este percurso, é de louvar a possibilidade, concedida pela FFUC, de realizarmos, não só o estágio curricular em farmácia comunitária, mas também um estágio numa área à nossa escolha, de forma a desenvolvermos competências num outro ramo da atividade farmacêutica, que tenha despertado particular interesse.

Deste modo, tendo em consideração as unidades curriculares que mais me estimularam, não tive qualquer dúvida em optar por um estágio de três meses na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED, I.P.). Após alguma pesquisa, o setor dos Dispositivos Médicos despertou-me curiosidade, pelo que escolhi realizar o meu estágio na Direção de Produtos de Saúde (DPS).

O referido estágio decorreu no INFARMED, I.P., em Lisboa, com início a 8 de janeiro e término a 29 de março de 2018, sob orientação da Doutora Judite Neves (Diretora da DPS).

Com este relatório, através de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), pretendo abordar os pontos fortes e fracos do meu estágio e as oportunidades e ameaças com as quais me deparei, no decorrer do mesmo.

2. INFARMED, I.P. e DPS

O INFARMED, I.P. (doravante, Infarmed) é um instituto público dotado de autonomia administrativa, financeira e património próprio, integrado na administração indireta do Estado. Tem jurisdição sobre todo o território nacional, com colaboração de órgãos próprios nas Regiões Autónomas dos Açores e Madeira.

Com sede em Lisboa, tem como missão “regular e supervisionar os sectores dos medicamentos, dispositivos médicos e produtos cosméticos, segundo os mais elevados padrões de proteção da saúde pública, e garantir o acesso dos profissionais da saúde e dos cidadãos a medicamentos, dispositivos médicos, produtos cosméticos, de qualidade, eficazes e seguros”¹. Foi criado em 1993, aquando da adesão à Comunidade Económica Europeia (CEE), tendo completado 25 anos no mês de janeiro do presente ano, ao longo dos quais foi crescendo nas suas atribuições e notoriedade quer a nível nacional como internacional.

A DPS tem como responsabilidades a supervisão do mercado de produtos de saúde, que inclui dispositivos médicos, produtos cosméticos e de higiene corporal, a fiscalização de fabricantes, grossistas e outros agentes intervenientes no circuito dos produtos de saúde e a gestão do sistema de alertas de vigilância da União Europeia. Todas estas atividades executadas pelo núcleo de Dispositivos Médicos, pela Unidade de Vigilância dos Produtos de Saúde e pelo núcleo de Produtos Cosméticos, de forma a garantir a boa representação a nível nacional e internacional do INFARMED, I. P.¹

3. Análise SWOT

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Acolhimento

O primeiro aspeto positivo que pretendo realçar é o modo como os estagiários são acolhidos no primeiro dia de estágio. Fomos convocados para uma reunião com o Dr. José Viana (pertencente à Direção de Recursos Humanos), na qual nos foi explicada a estrutura, organização e política da qualidade do Infarmed e os direitos e deveres dos estagiários, entre os quais, o horário a cumprir e aspetos relacionados com a assiduidade. Informaram-nos sobre alguns motores de busca e *softwares* da instituição e alguns serviços disponíveis dentro do Parque da Saúde, nomeadamente o serviço de refeitório do próprio Infarmed. Foi-nos entregue, ainda, um Manual de acolhimento (Anexo 2), o livro “INFARMED O futuro preparado”² e um bloco de notas, o que demonstrou o empenho e preocupação no

acolhimento aos estagiários. Por fim, visitámos o edifício principal do Infarmed e fomos conduzidos ao nosso departamento.

Já na Direção de Produtos de Saúde, fomos apresentados a toda a equipa e forneceram-nos material de estudo e consulta, não sem antes nos darem uma breve formação sobre dispositivos médicos e as tarefas que iríamos desempenhar. Assim, explicaram-nos que íamos colaborar na avaliação do registo de dispositivos médicos (DM) e dispositivos de diagnóstico in vitro (DIV) com a finalidade de lhes atribuirmos um código de dispositivo médico (CDM), para que pudessem ser adquiridos pelos hospitais ou centros de saúde, de forma segura.

3.1.2. A equipa de codificação da DPS

A equipa de codificação da DPS foi sofrendo alterações durante o período de estágio: inicialmente, eram treze os trabalhadores com os quais começámos a trabalhar, sendo que três destes eram estagiários. Entretanto, a equipa alterou-se: entraram novos estagiários e saíram alguns, mais antigos. Apesar desta inconstância, considero que a experiência de trabalhar com esta equipa foi uma das mais enriquecedoras do estágio, dada a comunicação e relação que se mantiveram entre todos os membros. Iniciávamos cada dia de trabalho com uma reunião segundo a metodologia Kaizen, na qual avaliávamos se os objetivos para o dia anterior tinham sido cumpridos, estabelecíamos novos objetivos individuais e coletivos para esse dia e discutíamos os casos mais complicados do dia anterior. Com estes casos discutidos, aprendi imenso e apercebi-me do quão vastos eram os conhecimentos de cada membro da equipa. Aos poucos, percebi também que cada um tinha a sua área de especialidade dentro da codificação: um deles tinha muita experiência com fabricantes portugueses, outro tinha muitos conhecimentos sobre DIVs, sendo que aprendi a consultar a pessoa certa para cada dúvida que surgia.

Outro aspeto muito positivo, relativamente à equipa da codificação, foi a forma como nos acolheram profissionalmente no seu dia-a-dia. Senti que nos consideravam colegas e nos confiavam tarefas de grande responsabilidade. Tinham em conta a nossa opinião e ajudavam-nos sem nunca nos diminuírem pela pouca experiência que tínhamos. Desta forma, senti-me responsável por corresponder às expectativas, o que me ajudou a assumir uma postura ainda mais séria e profissional perante as tarefas que me atribuíram.

3.1.3. Enquadramento Legislativo

Um dos fatores que considero que diferencia um estágio no Infarmed, de qualquer outro estágio, é a facilidade com que adquirimos uma noção bastante completa e ampla da legislação em vigor, relativa aos medicamentos e produtos de saúde. No meu caso, ao consultar decretos-lei e diretivas referentes aos DMs, e ao aplicá-las a casos concretos, fui

adquirindo naturalmente alguns conhecimentos sobre a legislação de DMs em Portugal, o que poderá ser uma grande mais valia para o meu futuro profissional. Notei que a área dos DMs é, atualmente, de grande interesse e a legislação tem evoluído no sentido de tornar o seu comércio mais seguro e controlado. Tomar consciência de que a legislação relativa aos produtos de saúde evolui, não é estática, mas sim dinâmica, foi cativante e aumentou a minha consideração por esta área.^{3,4}

3.1.4. O contacto com entidades externas:

Durante o período em que estagiei na DPS, contactei diariamente com empresas distribuidoras e fabricantes nacionais, o que considero ter sido uma oportunidade única, que me trouxe uma visão mais abrangente da realidade do país e me fez desenvolver competências de comunicação e autonomia.

Adicionalmente, com a finalidade de discutir uma não conformidade relacionada com um produto de um fabricante de outro Estado Membro (EM) da União Europeia, entrei em contacto com a Autoridade Competente (AC) desse mesmo EM, através de um COEN (*Compliance and Enforcement Group*), o que foi, para mim, um privilégio, dado poder estar envolvida nesta ação de supervisão a nível europeu.

3.1.5. A supervisão de mercado:

No seguimento do que referi anteriormente, uma das responsabilidades da DPS é supervisionar os produtos de saúde que já são comercializados e alertar o fabricante ou, no caso de este não ser português, alertar a AC do respetivo país para alguma não conformidade relacionada com o produto de forma a ser reposta a conformidade¹. Assim, durante o estágio, sempre com a supervisão de algum dos trabalhadores da DPS, pude gerar ações no sentido de corrigir documentação desatualizada ou incoerente, informação referente a fabricantes registados de forma incorreta, entre outras, o que me motivou muito para a área da supervisão de mercado e me fez desenvolver espírito crítico e de atenção ao pormenor. Tudo isto me ajudou a crescer a nível profissional ao longo do tempo.

3.1.6. Auditoria Interna:

Curiosamente, durante o período de estágio, deparámo-nos com uma auditoria interna ao nosso departamento. Todos os trabalhadores tiveram o cuidado de rever a política de qualidade do Infarmed (Anexo 3), tal como alguns procedimentos de trabalho. Foi uma ocasião única e de muita importância para mim, dado que me fez contactar com uma realidade que poderia ser intimidante. A auditoria revelou-se como uma oportunidade de melhoria, de lembrar tudo aquilo que poderia garantir uma melhor qualidade de trabalho,

de forma a manter os elevados padrões de segurança e proteção da saúde, que são esperados desta Autoridade.

3.1.7. O 25º aniversário do Infarmed

Logo na segunda semana de estágio, dia 15 de janeiro, celebraram-se os 25 anos do Infarmed, com uma cerimónia que contou com a presença do Diretor Executivo da Agência Europeia de Medicamentos, Guido Rasi, a Presidente do Conselho Diretivo do Infarmed, Maria do Céu Machado, a Secretária de Estado da Saúde, Rosa Matos e a Presidente da Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, Belén Crespo. Foi ainda inaugurada uma exposição interativa sobre a história e áreas de atuação do instituto⁵.

Na audiência, composta por cerca de 400 participantes, estiveram presentes antigos membros do Conselho Diretivo do Infarmed, os bastonários das Ordens Profissionais, representantes da Administração Central do Sistema de Saúde (ACSS), dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS), da Direção-Geral da Saúde, das Administrações Regionais de Saúde, dos hospitais e outras instituições públicas, membros da APIFARMA, da APOGEN, da ANF e da AFP, e outros convidados⁵.

Termos participado nesta cerimónia foi muito enriquecedor e pertinente, dado que pudemos ter uma visão da história do Infarmed e constatar a importância do Infarmed no setor da saúde em Portugal e na Europa.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do estágio

Estagiar no Infarmed, durante três meses, é sem dúvida uma oportunidade única e considero-me grata à faculdade por ter possibilitado tal acontecimento. Considerando o número de horas legalmente exigidas para a realização do estágio curricular em farmácia comunitária, é claro que a realização de um segundo estágio só é possível por um breve período de tempo, dada a necessidade de finalizar a Unidade Curricular onde estes se inserem, até 30 de setembro. No entanto, foi exatamente no último mês de estágio que me senti totalmente apta a desempenhar as funções que me foram atribuídas e, neste sentido, seria interessante poder prolongar o período de estágio, de modo a que o departamento pudesse receber algum retorno da formação dada e a que pudéssemos adquirir mais algumas competências que advêm da contínua aplicação dos conhecimentos a situações práticas.

3.2.2. Escassez de formações

Um dos aspetos que considero mais negativo no meu estágio, foi a redução do número de formações facultadas pela DPS, comparativamente a anos anteriores. De facto,

excetuando uma pequena formação sobre DM e outra sobre DIV, ministradas por membros da equipa de codificação da DPS, logo na primeira semana de estágio, não nos foi concedida mais nenhuma oportunidade de alargarmos os nossos conhecimentos na área dos Produtos de Saúde. Considero que, dada a escassez de recursos humanos da DPS, foi dada prioridade às tarefas práticas que nos foram propostas e não se investiu tanto na nossa formação teórica, que, a meu ver, seria de uma enorme relevância e pertinência.

3.2.3. Falta de contacto com a área regulamentar dos Produtos Cosméticos e com a Vigilância de Dispositivos Médicos

Na sequência dos pontos anteriores, quer por limitações temporais, quer por falta de recursos humanos, não foi possível desenvolver qualquer tipo de trabalho integrado na Unidade de Vigilância ou no núcleo de Produtos Cosméticos, constituindo esta, uma ocorrência que me desapontou, uma vez que teria tido interesse em contactar com estas áreas dado que não são contempladas de uma forma detalhada nos conteúdos programáticos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

3.3. Oportunidades

3.3.1. Enfoque político na área dos Dispositivos Médicos

Ao longo dos anos, o setor dos medicamentos tem sido alvo de mais atenção e precaução a nível regulamentar. Os DMs são menos regulados, nomeadamente no que concerne à sua introdução no mercado e à supervisão após introdução no mercado. No entanto, nos últimos anos, tem-se verificado uma alteração neste cenário. No dia 5 de maio de 2017, foi publicado no Jornal Oficial da União Europeia o novo Quadro Regulamentar Europeu aplicável ao setor dos Dispositivos Médicos, nomeadamente alguns regulamentos que revogam as anteriores diretivas em vigor, referentes aos Dispositivos Médicos e Dispositivos de Investigação In Vitro. “Estes regulamentos vêm reforçar áreas relevantes, tais como a investigação clínica, a designação e supervisão das atividades dos organismos notificados, os procedimentos de avaliação de conformidade, a vigilância e fiscalização do mercado, assim como, introduzir novos requisitos dedicados à promoção da transparência e da rastreabilidade dos dispositivos médicos”. Encontramo-nos ainda num período de transição, mas já é palpável o impacto destes novos regulamentos, que poderão estar na origem de um acréscimo da procura por profissionais na área regulamentar, especializados em dispositivos médicos.^{3,4}

3.3.2. Melhoria do software e interoperabilidade entre os sistemas de informação

Inicialmente, um ponto que considerei muito negativo foi a difícil interoperabilidade entre a plataforma de registo dos fabricantes nacionais (FABDM) e a plataforma SDIV, onde os distribuidores registam os seus produtos. É extremamente difícil relacionar os registos das duas plataformas, o que torna os processos muito morosos. Por outro lado, as próprias plataformas são pesadas, lentas e o sistema falha bastantes vezes. Adicionalmente, a plataforma SDIV exige o registo de marca e modelo para atribuição de código CDM, sendo sensível a espaços, o que muitas vezes gera duplicação de códigos e incoerências entre registos do mesmo produto, mas de distribuidores diferentes. No entanto, tomei conhecimento que nos próximos meses, serão lançadas novas plataformas que possibilitarão agilizar o processo de atribuição de CDM e diminuirão os erros associados.

3.3.3. Reforço da cooperação e harmonização europeia:

No decorrer do estágio, dei conta que, muitas vezes, as diferentes AC interpretam e aplicam de forma diferente a regulamentação existente. A título de exemplo, menciono a alínea 4.3. do anexo IX do Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de Junho: “4.3 - Todos os dispositivos invasivos de tipo cirúrgico para utilização a curto prazo pertencem à classe IIa, excepto no caso de se destinarem: 4.3.1 - Especificamente a controlar, diagnosticar, monitorizar ou corrigir disfunções cardíacas ou do sistema circulatório central e a entrar em contacto directo com estas partes do corpo, casos em que pertencem à classe III”⁶.

Diversas vezes, fui confrontada por fabricantes de outros países que argumentavam que o seu dispositivo deveria ser classificado como IIa, dado que não controlava, diagnosticava, monitorizava ou corrigia disfunções cardíacas ou do sistema circulatório central mas apenas entrava em contacto direto com o mesmo, sendo que a DPS defendia que entrar em contacto com o sistema circulatório central seria o suficiente para ser considerado de classe III e avaliado pelo Organismo Notificado, como tal.⁶

Ora, a comunicação com as ACs dos vários países pertencentes ao Espaço Económico Europeu (EEE), poderá ser melhorada de forma a diminuir discrepâncias na interpretação dos requisitos regulamentares, para que seja possível aplicar os mesmos critérios na avaliação dos dispositivos, e consequentemente, haja garantia da qualidade e segurança dos mesmos.

3.4. Ameaças

3.4.1. Falta de recursos humanos na Direção de Produtos de Saúde

Um aspeto que considerei preocupante, foi o número reduzido de trabalhadores na DPS, considerando a quantidade de atividades ao encargo desta Direção. O facto de não abrirem concursos públicos está a implicar a diminuição da produtividade da Direção e o aumento do tempo de resposta da mesma perante entidades externas. O impacto da falta de recursos humanos foi visível durante a minha passagem pela DPS, uma vez que a bolsa concedida a duas trabalhadoras da área da codificação terminou durante esse período, e as respostas aos vários pedidos de atribuição de CDM, por parte dos diversos *stakeholders*, foram-se atrasando progressivamente. Pelo exposto, penso que esta é uma das principais ameaças com que me deparei durante os três meses de estágio, no Infarmed.

3.4.2. Stakeholders muito heterogéneos e pouco esclarecidos

À medida que desempenhava as minhas funções, fui contactando com algumas empresas que apresentavam evidentes dificuldades no registo dos seus DM, o que, a meu ver, indica falta de formação dos técnicos responsáveis pelos referidos registos. Considero que este será um ponto a melhorar, dado que os recursos gastos na avaliação dos registos dos DMs, diminuiriam e a atribuição do CDM seria feita num menor espaço de tempo.

Por outro lado, deparei-me, muitas vezes, com técnicos especializados em áreas em nada relacionadas com os DMs, a executar este tipo de trabalho, o que poderá estar na origem da falta de formação referida. A confirmar esta suspeita, constatei que os DMs registados por profissionais com experiência na área do medicamento ou até com formação em assuntos regulamentares, se encontravam, muitas vezes, mais conformes com os requisitos legais.

3.4.3. Possível relocação do INFARMED, I.P. para a cidade do Porto

Como é do conhecimento geral, em novembro de 2017, por decisão do Governo, anunciou-se a transferência da sede do Infarmed para a cidade de Porto⁷. Apesar de ainda se encontrarem em negociação, é provável que assim aconteça. A meu ver, isto pode ser uma ameaça, quer para a instituição, que irá perder recursos humanos e terá que investir na formação de novos trabalhadores, quer para a continuidade de estágios curriculares deste tipo. No entanto, poderão advir também, várias oportunidades, particularmente no que toca à abertura de novos concursos públicos, entre outras.

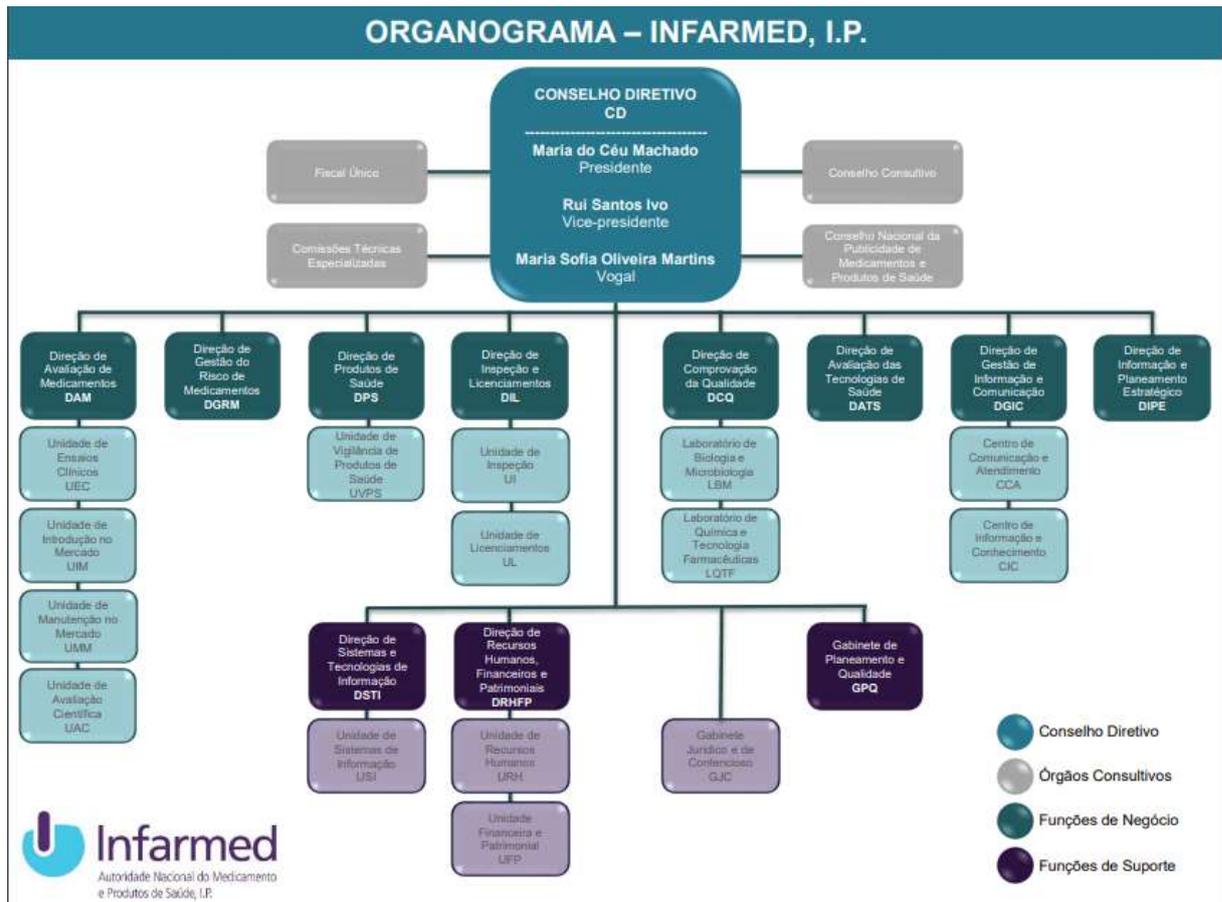
4. Conclusão

Concluído este estágio, encontro-me enriquecida quer a nível pessoal, quer a nível profissional. Desenvolvi competências de comunicação, espírito crítico, autonomia na resolução de problemas e espírito de equipa, ferramentas que serão uma mais-valia no meu futuro profissional. Alarguei os meus conhecimentos relativos à área dos Dispositivos Médicos, quer a nível da legislação em vigor em Portugal, quer no que toca aos conhecimentos que advêm do contacto com os *stakeholders*.

Pelos motivos apresentados, considero que estagiar no Infarmed e, em particular, na DPS, constitui uma oportunidade única, pela qual estou muito grata, quer à FFUC, quer à própria instituição que tão bem me soube acolher e ensinar.

Anexos

Anexo I – Organograma do INFARMED, I.P.

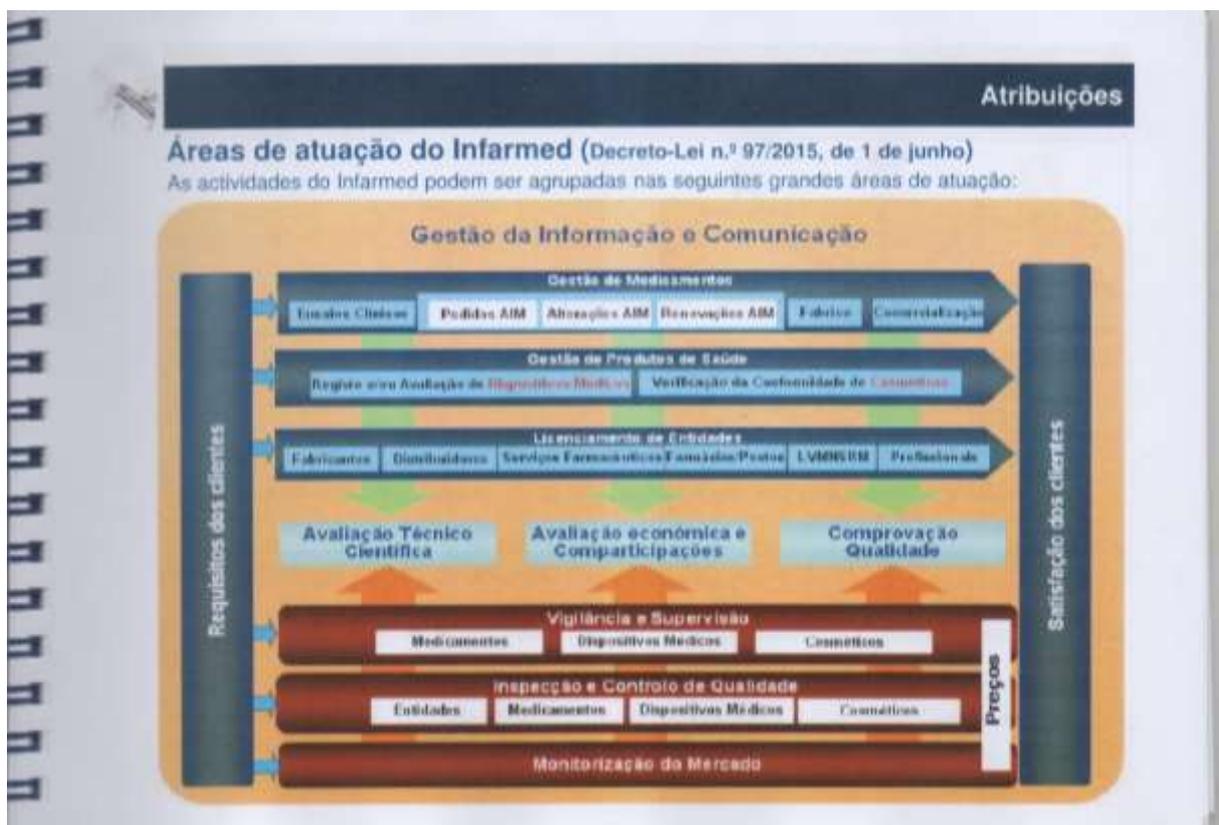


Anexo 2 – Manual de Acolhimento

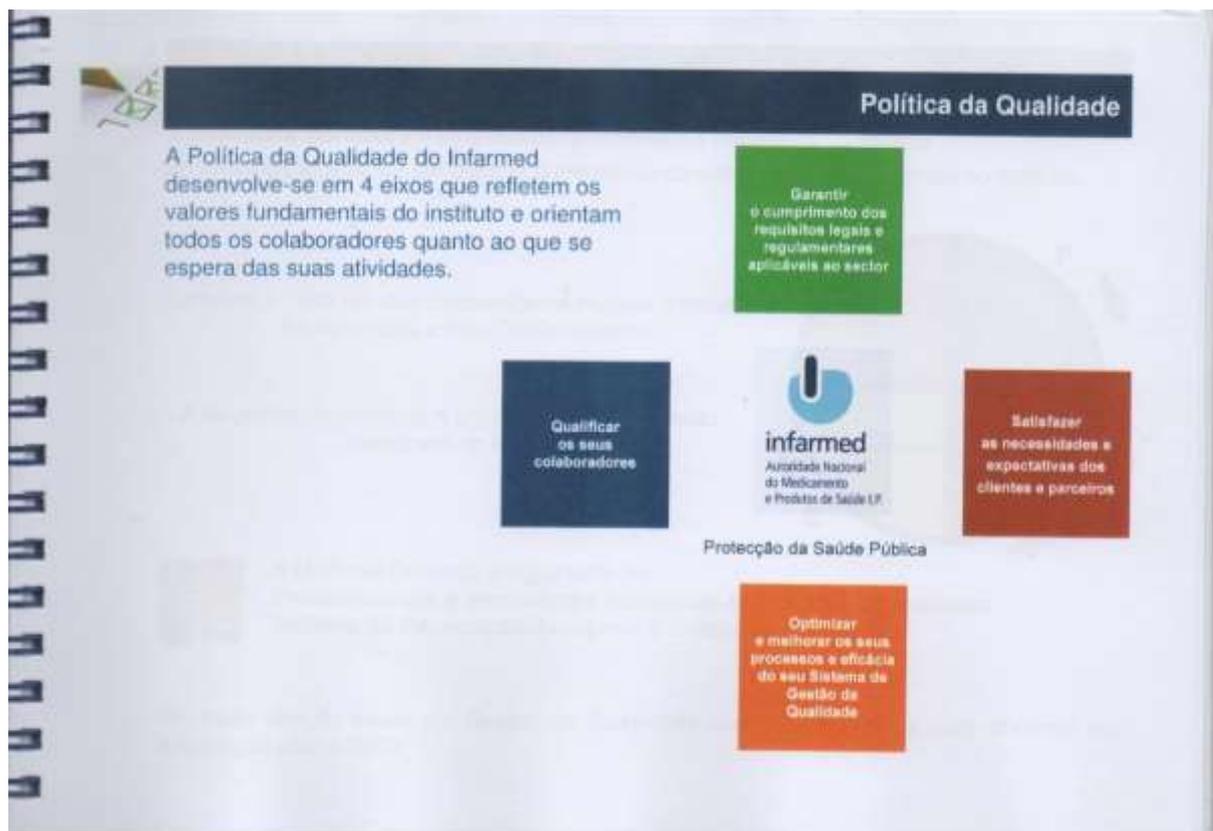


Anexo 3 – Algumas informações contidas no Manual de Acolhimento

- Áreas de Atuação do Infarmed



- Política de Qualidade



- Direitos e deveres do estagiário

The document, titled 'Direitos e Deveres do Estagiário', outlines the expectations for interns. It is divided into two main sections: 'Direitos' (Rights) and 'Deveres' (Duties). The 'Direitos' section lists the supervision by a coordinator and the receipt of a certificate. The 'Deveres' section details the need for respect, confidentiality, non-disruption of work, and personal safety.

Direitos

- O estagiário estará sob a direção e supervisão de um **coordenador de estágio** da direção onde estiver alocado.
- O estagiário obterá, no final do estágio, um **certificado** comprovativo da frequência.

Deveres

- O estagiário deverá tratar com **respeito e urbanidade** o seu coordenador, o técnico que o acompanhará e os demais colaboradores do Infarmed.
- Não deverá transmitir** a terceiros informações sobre o equipamento, estratégias e técnicas de gestão e demais conhecimentos inerentes à organização, de que tome conhecimento por ocasião do estágio.
- Deverá atuar por forma a que a sua aprendizagem **não perturbe o desenrolar da atividade** normal do Infarmed, nem o trabalho dos seus colaboradores.
- Deverá estabelecer e manter um **seguro de acidentes pessoais** que o proteja contra riscos de eventualidades que possam ocorrer durante e por causa das atividades correspondentes ao estágio, bem como nas deslocações entre a residência e o Infarmed (Se não for assegurado pela Faculdade/Universidade).

Bibliografia

1. INFARMED I.P. - **Infarmed Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.**,2016. [Acedido a 7 de agosto de 2018]. Disponível em <http://www.infarmed.pt/>
2. INFARMED I.P. - **INFARMED: O futuro preparado**. 1ª Ed. Porto Editora, 2015. ISBN: 978-972-0-06359-5.
3. INFARMED I.P. - **Nova legislação aplicável aos Dispositivos Médicos**. Circular Informativa N.º 047/CD/100.20.200 (2017).
4. INFARMED I.P. - **Período transitório aplicável aos novos Regulamentos dos Dispositivos Médicos e dos Dispositivos Médicos para Diagnóstico In Vitro**. Circular Informativa N.º 059/CD/100.20.200 (2018).
5. INFARMED I.P. - **Especial 25º Aniversário**. *Infarmed Newsletter*. (2018). [Acedido a 7 de agosto de 2018]. Disponível em <http://app10.infarmed.pt/prontuario/index.php>
6. INFARMED I.P. - **Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de Junho**. Legislação Farmacêutica Compilada (2009).
7. LARGUESA, A. - **Governo muda sede do Infarmed para o Porto em 2019**. *Jornal de Negócios*. (2017). [Acedido a 7 de agosto de 2018]. Disponível em <https://www.jornaldenegocios.pt/economia/saude/detalhe/governo-muda-sede-do-infarmed-para-o-porto>

Parte 3

**Papel dos microRNAs no diagnóstico e tratamento da
Diabetes *Mellitus* tipo 2 e suas complicações.**

Lista de Abreviaturas

Adv – Adenovírus

AGE – Do inglês, *Advanced Glycation End Product*

AGJ – Anomalia da Glicemia de Jejum

AGNE – Ácido gordo não esterificado

AMO – Do inglês, *AntimiRNA oligonucleotide*

AMPK – Proteína cinase ativada por AMP

DAG – Diacilglicerol

DCC – Doença Cardíaca Coronária

DM – Diabetes *Mellitus*

DMG – Diabetes *Mellitus* Gestacional

DMT1 – Diabetes *Mellitus* Tipo 1

DMT2 – Diabetes *Mellitus* Tipo 2

DPN – Do inglês, *Diabetic periferic neuropathy*

DRFQ – Diabetes relacionada com a fibrose quística

DRG – Do inglês, *Dorsal root ganglio*

GAD – Descarboxilase do ácido glutâmico

GLP-1 – Do inglês, *Glucagon-like peptide 1*

GIP – Do inglês, *Glucose-dependent insulinotropic polypeptide*

HbA1c – Hemoglobina Glicada

HK2 – Hexocinase 2

IFN γ – Interferão-gama

IMC – Índice de Massa Corporal

IRS – Do inglês, *Insulin receptor sbstrate*

lncRNA – Do inglês, *Long non coding RNA*

miR – microRNA

miRNA – microRNA

MODY – Do inglês, *Maturity-Onset Diabetes of the Young*

mRNA – RNA mensageiro

ND – Nefropatia diabética

PAI-1 – Do inglês, *Plasminogen activator inhibitor - 1*

PCR – Do inglês, *Polimerase Chain Reaction*

PKC – Proteína Cinase C

PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral

RAGE – Recetor de AGEs

RD – Retinopatia diabética

RE – Retículo endoplasmático

RISC – Do inglês, *RNA induced silencing complex*

ROS – Do inglês, *Reactive oxygen species*

SFRP4 – Do inglês, *Secreted frizzled - related protein 4*

SMIT 1 – Do inglês, *Sodium-myo-inositol transporter*

sncRNA – Do inglês, *Small non coding RNA*

TDG – Tolerância Diminuída à Glicose

TFG – Taxa de filtração glomerular

TNF α – Fator de necrose tumoral α

UCP2 – Do inglês, *Uncoupling protein 2*

UPR – Do inglês, *Unfolded protein response*

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

I. Introdução

A diabetes *Mellitus* (DM) é uma das doenças metabólicas mais comuns a nível mundial, sendo caracterizada por hiperglicemia com duas causas principais: insuficiente produção de insulina pelo pâncreas, na origem da DM tipo I (DMT1), ou resistência periférica à insulina, nomeadamente a nível das células musculares esqueléticas, hepatócitos e adipócitos, definindo a DM tipo 2 (DMT2). Não obstante, em estados avançados de DMT2 pode ocorrer exaustão das células- β pancreáticas e a consequente diminuição da produção de insulina.¹

Atualmente, não existe nenhum biomarcador aceitável para a deteção precoce da DMT2, e considerando que alterações no estilo de vida, a nível da alimentação e exercício físico, podem evitar o desenvolvimento desta doença e suas complicações, é necessário investigar novos biomarcadores mais precoces e preditivos que os conhecidos.² A patogénese da DMT2 envolve fatores genéticos e epigenéticos e, apesar de muito estudada, ainda há aspetos a esclarecer e continua a ser necessário identificar estratégias terapêuticas mais eficazes que as existentes.^{1,3}

Os microRNAs (miRNAs) controlam a expressão génica através da sua ligação aos RNAs mensageiros (mRNA) alvos, impedindo a síntese proteica. Desta forma, são capazes de controlar processos celulares importantes e a sua desregulação pode estar na origem de alterações em vários mecanismos fisiológicos.^{4,5}

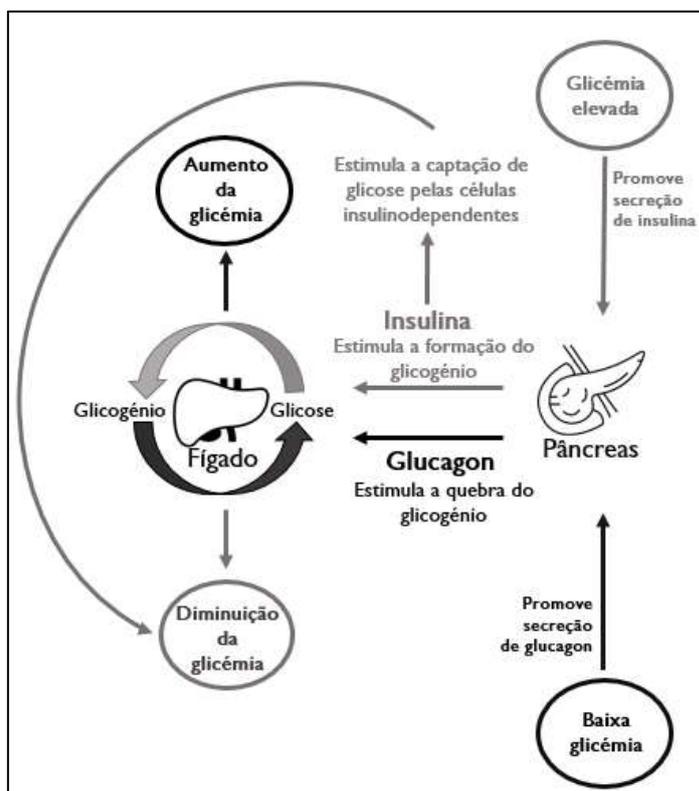
A relação de alguns miRNAs com a DMT2 e o desenvolvimento das suas complicações tem vindo a ser demonstrada e é atualmente aceite a sua importância na regulação de vários processos relacionados com esta patologia, constituindo não só potenciais alvos terapêuticos, mas podendo, eles próprios, vir a ser agentes terapêuticos. Além disso, os microRNAs podem ser libertados das células e, por serem estáveis na circulação sanguínea e apresentarem níveis plasmáticos variáveis a par com a progressão da doença, poderão ter muito potencial como biomarcadores da DMT2 e suas complicações.^{6,7}

Existem ainda alguns obstáculos ao desenvolvimento de métodos de diagnóstico e tratamento eficazes e seguros tendo por base o conhecimento das funções dos microRNAs que poderão ser superados dentro dos próximos anos.^{3,8} Neste trabalho apresentaremos resumidamente a fisiopatologia da DMT2 e o papel dos miRNAs nesta patologia e suas complicações, identificando alguns daqueles que poderão ter interesse como biomarcadores e/ou alvos terapêuticos.

2. Diabetes Mellitus – Definição, Sinais e Sintomas

A insulina, uma hormona essencial à vida, é segregada pelas células- β pancreáticas em resposta a níveis elevados de glucose no sangue (Fig.1), e estimulada através do sistema nervoso parassimpático e de algumas hormonas entéricas durante a digestão de uma refeição. Níveis sanguíneos elevados de determinados aminoácidos também estimulam a

Figura 1- Produção e ação da insulina e glucagon.



Em resposta ao aumento da glicémia, o pâncreas segrega insulina que estimula o fígado a produzir glicogênio a partir da glicose, e a captação de glicose pelas restantes células insulino-dependentes, reduzindo, deste modo, os níveis de glicose no sangue. Em caso de hipoglicémia, é segregado glucagon que, por sua vez, estimula a glicogenólise hepática, aumentando os níveis plasmáticos de glicose. (Adaptado de Referência 1)

forma a que o cérebro e os restantes tecidos não insulino-dependentes obtenham a glicose de que necessitam.⁹

A Diabetes é um conjunto de várias doenças metabólicas caracterizadas por elevados níveis de glicose no sangue – hiperglicémia – que resultam de defeitos na secreção de insulina, no seu mecanismo de ação ou em ambos os processos. A hiperglicémia crónica da diabetes está muito associada a danos a longo prazo, disfunção e falência de vários órgãos, entre os quais, o coração, olhos, rins, nervos e vasos sanguíneos, onde ocorrem a maior parte das complicações crónicas associadas à diabetes.¹⁰

A classificação e diagnóstico da diabetes são complexos e têm vindo a ser discutidos durante várias décadas, mas atualmente, considera-se que existem quatro principais tipos de diabetes: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional e outros tipos específicos de diabetes.¹¹

2.1. Diabetes Mellitus tipo I

Este tipo de diabetes resulta de uma destruição autoimune das células- β do pâncreas, através de uma reação imunitária mediada por células. É possível detetar esta destruição através do aparecimento de alguns biomarcadores: autoanticorpos contra a insulina, autoanticorpos contra a GAD 65 (descarboxilase do ácido glutâmico – uma enzima que atua na síntese do GABA que, por sua vez, participa na regulação da função das células- β), e autoanticorpos contra as tirosina-fosfatases IA-2 e IA-2 β (envolvidas na sinalização celular nos ilhéus de Langerhans).¹²

A velocidade de destruição das células- β é muito variável, sendo mais rápida nalguns indivíduos (principalmente crianças e adolescentes) e lenta noutros (na sua grande maioria, adultos). Alguns indivíduos, particularmente crianças e adolescentes, apresentam, muitas vezes, cetoacidose como primeira manifestação da doença¹⁰: A deficiência de insulina, presente na DMT1, estimula a lipase que hidrolisa os triglicéridos acumulados no tecido adiposo, aumentando a concentração plasmática de ácidos gordos livres. No fígado, estes ácidos gordos são esterificados a acil-coenzima A, cuja oxidação na mitocôndria das células hepáticas, produz corpos cetónicos. A taxa de formação destes corpos cetónicos pode exceder a taxa a que os mesmos são usados nos tecidos periféricos, tendo como consequência o desenvolvimento de cetonemia e cetonúria. Se a excreção urinária de cetonas estiver comprometida, devido a desidratação, por exemplo, origina-se um estado metabólico designado por cetoacidose. As manifestações clínicas da cetoacidose incluem fadiga, náuseas e vômitos, dor abdominal severa, um odor frutado característico, e respiração pesada. Um estado de cetoacidose persistente pode desencadear uma depressão no Sistema Nervoso Central que poderá levar a uma situação de coma.¹²

Outros indivíduos, apresentam uma ligeira hiperglicemia, que se transforma em hiperglicemia e/ou cetoacidose severa, aquando de uma infeção ou outro tipo de situação passível de provocar *stress*. Por fim, ainda existem alguns indivíduos cujas células- β mantêm uma atividade residual suficiente para prevenir a cetoacidose durante vários anos, acabando, muitas vezes, por deixar de produzir insulina, tal como os anteriores.¹⁰

Este tipo de diabetes ocorre normalmente na infância e adolescência, mas pode manifestar-se em qualquer idade. A destruição autoimune das células- β é muito dependente da predisposição genética do indivíduo e está também relacionada com alguns fatores ambientais que ainda não se encontram bem definidos. A maior parte destes doentes são magros e a fisiopatologia deste tipo de diabetes não está associada à obesidade.¹⁰

Algumas formas de diabetes tipo I são de etiologia desconhecida. Isto é, alguns indivíduos têm insulinopenia permanente e têm tendência para cetoacidose, mas não existem evidências de doença autoimune. Estas situações são muitas vezes referidas como diabetes idiopática.¹⁰

A terapia da DMT1 baseia-se essencialmente em tecnologias de entrega de insulina que atinge perfis cada vez mais semelhantes com o perfil fisiológico normal, suplementadas com a administração de análogos de GLP-1 (glucagon-like peptide 1)¹³. Simultaneamente, faz-se um controlo rígido da glicémia através do uso de tecnologias cada vez mais precisas e imediatas de medição de glicémia.¹⁴

2.2. Diabetes Mellitus tipo 2

A Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) é a mais comum, representando aproximadamente 90% de todos os casos de diabetes a nível mundial.^{1,15} É caracterizada por resistência à insulina, algumas vezes associada a uma ligeira deficiência na síntese de insulina. Apesar de este tipo de diabetes não estar associado a destruição autoimune das células- β , a secreção de insulina não é suficiente para compensar a resistência à insulina. Neste tipo de diabetes, não é frequente ocorrer cetoacidose espontânea, sendo que, quando ocorre, é normalmente associada à presença de infeções e outras doenças.¹⁰

A maior parte dos doentes com este tipo de diabetes são obesos e a própria obesidade causa resistência à insulina. Mesmo os diabéticos que não são considerados obesos, tendo em conta os critérios que atualmente definem excesso de peso, muitas vezes têm uma elevada percentagem de massa gorda, distribuída principalmente, na região abdominal.¹⁰

Os sintomas associados à DMT2 incluem sede excessiva, poliúria, cansaço, feridas de difícil cicatrização, infeções recorrentes, sensação de dormência nas mãos e pés, entre outros. O desenvolvimento destes sintomas é moroso, pelo que o seu diagnóstico é tardio e o início da doença muito difícil de determinar.¹

O seu controlo assenta, essencialmente, em dois pilares: através de intervenções farmacológicas, principalmente no uso de antidiabéticos orais, e/ou através de uma abordagem não farmacológica, que engloba alterações no estilo de vida, através da aquisição de hábitos saudáveis, tais como dieta adequada e prática de exercício físico.¹⁶

Atualmente, existem numerosos antidiabéticos orais que atuam através de diversos mecanismos com o objetivo de reduzir a resistência à insulina, diminuir a produção hepática de glicose, aumentar a secreção de insulina pelo pâncreas, quer direta ou indiretamente, ou, ainda, diminuir a reabsorção de glucose nos rins.¹³ No entanto, a longo prazo, é frequente os doentes deixarem de responder de forma positiva aos antidiabéticos orais por o pâncreas se tornar incapaz de produzir insulina, passando a necessitar da administração de insulina.³

Os fármacos existentes têm permitido controlar a doença de forma eficaz, mas continuam a ser muitíssimo frequentes as situações em que os diabéticos desenvolvem complicações macro e microvasculares, que diminuem quer a sua qualidade de vida, quer a sua longevidade. Muitas vezes, isto deve-se a um diagnóstico tardio, dado que a DM é uma doença silenciosa e os meios existentes para este mesmo diagnóstico são escassos e pouco eficientes, como será exposto adiante.³

2.3. Diabetes Gestacional

Quando a hiperglicemia é detetada no primeiro ou segundo trimestres da gravidez, e não está associada a DMT1 ou DMT2 pré-existente, estamos em presença de Diabetes Mellitus Gestacional (DMG).¹⁷

A DMG aumenta o risco de complicações durante a gravidez, incluindo macrosomia fetal, hipoglicemia e hipocalcemia neonatal, pré-eclampsia, nascimento prematuro, e/ou através de cesariana. Também aumenta o risco de complicações pós-parto, quer para a mãe quer para o recém-nascido, incluindo desenvolvimento tardio de diabetes e doenças cardiovasculares. O risco de desenvolver DMG é maior em mulheres obesas e naquelas que apresentavam um Índice de Massa Corporal (IMC) elevado antes da gravidez.¹⁷ A hiperglicemia materna, verificada na DMG, altera a morfologia e fisiologia da placenta, provocando alterações na expressão génica placentária relacionada com inflamação e stress crónico.¹⁷

2.4. Outros tipos de diabetes

Atualmente são conhecidos alguns casos específicos que não se enquadram em nenhum dos tipos de diabetes expostos anteriormente. Entre estes, o MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) e a Diabetes neo-natal advêm de defeitos monogênicos das células- β ¹⁸ e representam menos de 3% dos diabéticos.¹

Indivíduos com fibrose quística apresentam muitas vezes uma complicação, designada por diabetes relacionada com a fibrose quística (DRFQ) que difere das DMT1 e DMT2 por estar associada a um estado nutricional precário e presença de infecções e inflamação, características da fibrose quística, que podem estar na origem de uma insuficiente ação da insulina.¹⁸

São conhecidas, ainda, situações pós transplante em que o indivíduo desenvolve diabetes em resposta a esse transplante. Os fatores de risco que levam a este estado de diabetes pós transplante incluem, não só os fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes normais (idade avançada, histórico familiar, etc.), mas também o uso de imunossuppressores, entre os quais alguns corticoides. Apesar de ser muito frequente em determinados tipos de transplantes haver um aumento dos níveis de glicemia, este valor geralmente normaliza ao fim de algum tempo, sendo que são poucos os casos em que os indivíduos desenvolvem o referido tipo de diabetes.¹⁸

Por fim, algumas infecções e substâncias químicas, como venenos e fármacos como os glucocorticoides e hormona tiroideia, podem induzir danos nas células- β e estar na origem do desenvolvimento de uma situação de diabetes.¹⁰

3. Epidemiologia

A nível global, a diabetes é uma das maiores preocupações do século XXI, no que toca à saúde. Está entre as 10 principais causas de morte e, juntamente com a doença cardiovascular, cancro e doença respiratória, contribui para 80% de todas as mortes prematuras.¹

Estima-se que 87-91% dos diabéticos apresentem DMT2, 7-12% DMT1 e 1-3% um dos outros tipos de diabetes, sendo que a maior parte das crianças e adolescentes têm DMT1.¹ Prevê-se que, em 2045, 693 milhões de pessoas entre os 18-99 anos, serão diabéticas, sendo que o aumento mais acentuado será devido ao aumento da DMT2 nos países atualmente menos desenvolvidos, cuja economia evolua para um nível mais elevado.¹ De facto, a prevalência da DMT2 tem vindo a aumentar. Este aumento é devido ao envelhecimento da população, desenvolvimento económico e aumento da urbanização que contribui para o aparecimento de estilos de vida sedentários e consumo de alimentos pouco saudáveis.¹

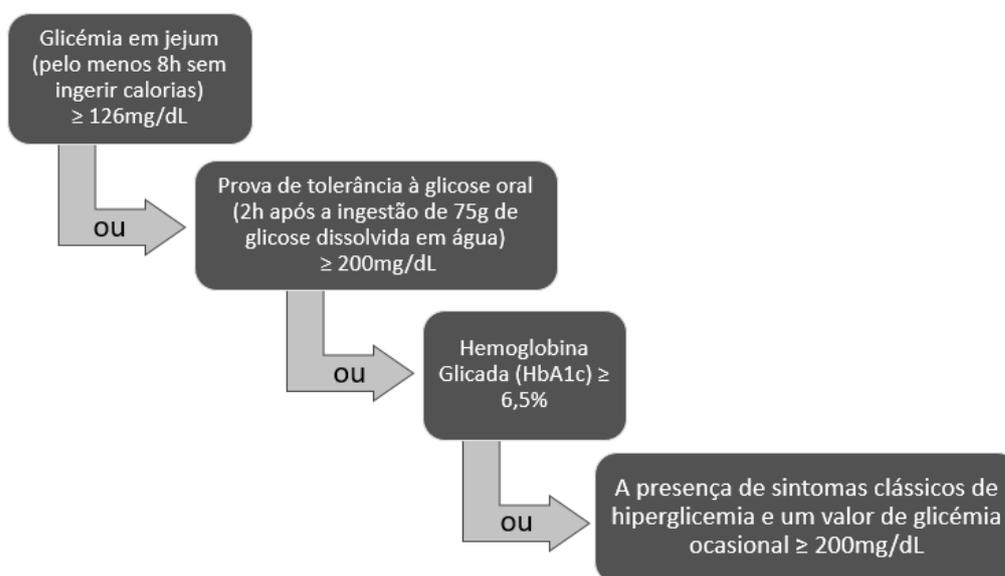
A distribuição geográfica da DMT2 difere da do tipo I, uma vez que contrariamente ao que acontece na DMT1, a prevalência da DMT2 é inferior nas áreas rurais de países em desenvolvimento, intermédia nos países desenvolvidos e elevada nalguns grupos étnicos, particularmente naqueles que adotaram um estilo de vida ocidental e que apresentam alguns dos seguintes fatores de risco: idade avançada, obesidade, sedentarismo e histórico familiar, sendo ainda mais relacionada com a predisposição genética do que a DMT1.^{10,19}

Existe uma ligeira diferença relativamente à distribuição da DMT2 por sexo, sendo que, a nível mundial, existem, aproximadamente mais 14 milhões de homens com DMT2 do que mulheres. A prevalência e incidência deste tipo de diabetes aumenta, ainda, com o avanço da idade, quer nos homens quer nas mulheres.¹⁹

4. Métodos e critérios de diagnóstico

O diagnóstico da diabetes pode ser feito com base em medições da glicose plasmática, quer em jejum, quer ocasional e, ainda, através da Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO); ou ter por base a análise da hemoglobina glicada (HbA1c) (Fig.2).

Figura 2- Critérios para o diagnóstico da Diabetes



Um resultado positivo, quer no teste da glicémia em jejum, quer na prova oral de tolerância à glicose ou mesmo na análise da Hemoglobina Glicada, deve ser confirmado com um segundo teste, sendo que o diagnóstico da diabetes só é definitivo na presença de dois resultados positivos ou no caso de um indivíduo apresentar sintomas clássicos de hiperglicemia e um valor de glicémia ocasional $\geq 200\text{mg/dL}$. (Adaptado de Referências 15 e 18)

4.1. Glicémia em jejum e PTGO

O teste de **glicémia em jejum** é realizado após um período de, pelo menos, 8 h sem ingestão de calorias. Considera-se que um valor $\geq 126\text{ mg/dL}$ é indicativo de uma situação de diabetes.^{15,18}

Já a **Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO)** consiste na medição da glicémia 2h após a ingestão de 75 g de glicose dissolvida em água, sendo que um valor $\geq 200\text{ mg/dL}$ será um indicador para o diagnóstico de diabetes.¹⁸

Apesar de, muitas vezes, estes dois testes não serem concordantes, tal como acontece entre a análise da HbA1c e qualquer um dos testes baseados na glicose plasmática, todos eles podem ser usados para diagnosticar a diabetes. No entanto, numerosos estudos vieram confirmar que, comparada com a medição da glicémia em jejum e com a HbA1c, através da POTG conseguimos diagnosticar um maior número de pessoas com diabetes.¹⁸

4.2. Hemoglobina Glicada (HbA1c)

A HbA1c, é formada através da adição não-enzimática de moléculas de glicose à hemoglobina presente nos glóbulos vermelhos.¹⁸ O teste de HbA1c deve ser realizado de acordo com uma metodologia certificada e consiste na medição da proporção da hemoglobina glicada no sangue. O seu valor deve estar abaixo dos 6,5%.^{15,18}

Este teste traz várias vantagens em relação aos anteriores, nomeadamente o facto de não ser necessário que a colheita seja feita em jejum, a hemoglobina glicada ter alta estabilidade no período pré-analítico e, ainda, a vantagem de não sofrer grandes variações durante situações de stress ou doença. No entanto, é menos sensível do que os anteriores e, considerando o valor de referência de 6,5%, identificamos menos um terço dos casos de diabetes do que considerando o valor de 126 mg/dL numa medição de glicémia em jejum. Além disso, os custos associados a esta análise são muito superiores e, nos países em desenvolvimento, a sua acessibilidade é escassa.¹⁸

Os indivíduos diabéticos realizam este teste de forma semestral ou trimestral, uma vez que este reflete os níveis de glicémia durante os 3 meses anteriores à colheita (120 dias é o tempo de vida médio de um glóbulo vermelho).¹⁸

4.3. Confirmação do diagnóstico

A menos que haja um diagnóstico clínico claro, isto é, um doente apresentar sinais de crise hiperglicémica ou sintomas caraterísticos de hiperglicemia e uma glicémia ocasional \geq 200 mg/dL, é necessário um segundo teste para confirmar o diagnóstico de diabetes. É recomendado que este segundo teste seja realizado imediatamente a seguir ao primeiro, utilizando uma nova amostra de sangue.^{15,18}

Assim, se, por exemplo, o valor de HbA1c for de 7% e o resultado seguinte for de 6,8%, o diagnóstico está confirmado. Da mesma forma, se em dois testes diferentes (HbA1c e glicémia em jejum, por exemplo) obtivermos resultados acima dos valores de referência, o diagnóstico é confirmado. Por outro lado, se dois testes diferentes fossem discordantes entre si, ter-se-ia que repetir o teste em que se obteve o resultado positivo.¹⁸

4.4. Pré-diabetes: definição e critérios de diagnóstico

No início do desenvolvimento da DMT2, existe um estado no qual os níveis de glicose no sangue se encontram acima do valor normal mas abaixo do limite a partir do qual se

diagnostica a diabetes. Este estado é designado por pré-diabetes. Em paralelo com o aumento da prevalência da DMT2, a incidência da pré-diabetes tem vindo a aumentar.²⁰

Atualmente, considera-se que um indivíduo se encontra num estado de pré-diabetes quando apresenta Anomalia da Glicemia de Jejum (AGJ) – valor ≥ 110 e < 126 mg/dl – e uma Tolerância Diminuída à Glicose (TDG), o que se verifica recorrendo à PTGO. Considera-se que apresenta TDG quando o valor de glicemia 2 horas após PTGO é ≥ 140 e < 200 mg/dl.¹⁵

Quer o decréscimo na função das células- β , quer a resistência à insulina são dois sinais que já se detetam em indivíduos pré-diabéticos. Estas alterações metabólicas podem verificar-se muitos anos antes de se desenvolver a DMT2 e 40-50% das pessoas com TDG irão desenvolver DMT2. Sabe-se ainda que há um risco aumentado de doença cardiovascular em indivíduos pré-diabéticos. Por estes motivos, seria importantíssimo diagnosticar a pré-diabetes precocemente, tendo em conta que é possível prevenir o desenvolvimento da DMT2, através de mudanças no estilo de vida.²⁰ No entanto, até aos dias de hoje, não há nenhum biomarcador que permita que este diagnóstico seja conseguido em tempo útil. Para ser possível obter-se um prognóstico e diagnóstico numa fase mais precoce, seriam necessários marcadores específicos que fossem suficientemente sensíveis para serem detetados no início da doença.²

5. Complicações associadas

De um modo geral, as complicações da diabetes podem ser agrupadas em complicações agudas e crónicas. Relativamente às agudas, podemos referir a hipoglicémia, a cetoacidose metabólica e o coma hiperosmolar não cetónico.¹ No entanto, sabe-se que a DMT2 está muito mais associada a complicações crónicas que se manifestam, principalmente, a nível vascular. A exposição crónica a elevadas concentrações de glicose no sangue é considerada como o fator preliminar no desenvolvimento de macroangiopatias e microangiopatias. Ora, sabendo que o diagnóstico da diabetes é muitas vezes tardio, é evidente que o intervalo de tempo decorrido entre o início da patologia e o momento em que há intervenção (farmacológica ou não), tem muito impacto no desenvolvimento de complicações crónicas.²¹

As complicações crónicas associadas à diabetes incluem retinopatia, com potencial perda de visão; nefropatia, que pode evoluir até uma situação de falência renal; neuropatia

periférica, com risco associado de úlceras de difícil cicatrização, especialmente nos membros inferiores, amputações e artropatia de Charcot; e neuropatia autonómica que pode causar danos gastrointestinais, geniturinários, cardiovasculares e disfunção sexual.¹⁰ Adicionalmente, os diabéticos têm uma elevada incidência de doença cardiovascular aterosclerótica e doença cerebrovascular. A hipertensão e alterações no metabolismo lipoproteico também estão muito associadas à DMT2.¹⁰

5.1. Neuropatia periférica

A neuropatia diabética periférica (DPN – *diabetic periferic neuropathy*) é uma das complicações mais comuns da diabetes. Afeta, aproximadamente, 30-50% dos diabéticos e é caracterizada por uma degeneração simétrica distal dos nervos periféricos, dando origem a dor e perda de sensibilidade nos membros superiores e, principalmente, inferiores.²²

Os sintomas evoluem com o avançar da doença, originando uma predisposição para úlceras e amputações não-traumáticas. Não se conhecem formas de prevenir, abrandar ou reverter a progressão da neuropatia, a não ser o controlo da glicémia e alguns cuidados a ter com as extremidades do corpo, de forma a evitar úlceras e outras lesões.²²

5.2. Nefropatia

Ainda não é possível explicar, de forma consistente, a Nefropatia Diabética (ND). Ocorre em 30-40% dos diabéticos e até mesmo naqueles com um bom controlo da glicémia. Tem sido demonstrado que anomalias em várias vias de sinalização e em citocinas contribuem para o desenvolvimento da ND, entre as quais, alterações no sistema renina-angiotensina e anomalias em citocinas pro-inflamatórias. Um aumento da produção de espécies reativas de oxigénio (*reactive oxygen species* – ROS), e de stress do retículo endoplasmático também estão associados à ND.⁶

O diagnóstico de ND faz-se através da medição do nível de albumina na urina, sendo a albuminúria um marcador não invasivo para esta complicação da diabetes. No entanto, esta não é representativa das várias fases do processo da doença e anomalias histológicas podem estar presentes muito antes da deteção de albumina na urina. Da mesma forma, é detetável, nalguns doentes, um decréscimo na taxa de filtração glomerular (TFG), apesar da normoalbuminúria. Este fenómeno é comum em diabéticos tipo 2, pelo que é de uma enorme pertinência o investimento na identificação de biomarcadores de ND eficazes e precoces.⁶

5.3. Cardiopatia

O coração diabético é caracterizado por resistência à insulina, captação reduzida de glicose, baixos índices de oxidação de glicose e aumento da importação e oxidação de ácidos gordos na mitocôndria. Estas alterações na utilização de substratos e perda da capacidade do miocárdio se adaptar ao seu ambiente envolvente (por exemplo, a perda de capacidade de regulação positiva da glicólise anaeróbica em situação de isquemia), iniciam um estado patológico designado por Cardiomiopatia Diabética.²³

Tal como representado na tabela I (Anexo I), são observadas alterações estruturais, tais como hipertrofia cardíaca e fibrose, acompanhadas por alterações moleculares, entre as quais, aumento do stress oxidativo, disfunção mitocondrial, e apoptose dos cardiomiócitos. A falência cardíaca é o culminar destas agressões patogénicas, caracterizada por uma disfunção contráctil severa do miocárdio.^{23,24}

Os mecanismos por detrás da disfunção cardíaca diabética são diversos, mas curiosamente, todos eles estão muito associados a dano mitocondrial, que tem sido proposto como o fator principal na fisiopatologia da doença cardíaca associada à DM. Uma disfunção na mitocôndria leva a um aumento acentuado da produção de ROS, e à libertação de fatores que originam morte celular, tais como, citocromo C, fator indutor de apoptose e Smac/DIABLO. Alguns estudos, executados em modelos animais, demonstraram que agentes captadores de ROS e antioxidantes têm a capacidade de reduzir a morte dos cardiomiócitos e atenuar o dano cardíaco associado à DM2. No entanto, ensaios clínicos com antioxidantes não só não melhoraram como agravaram a função cardíaca, o que sugere que antagonizar ROS através do uso de antioxidantes não é a melhor abordagem, sendo necessário desenvolver outros tratamentos capazes de reverter situações de disfunção cardíaca na diabetes.²⁵

5.4. Retinopatia

Com o aumento da prevalência da diabetes, a retinopatia diabética (RD) tornou-se na maior causa de deficiência visual, afetando aproximadamente 4.2 milhões de pessoas, a nível global.²⁶ A RD é a manifestação clínica visível do impacto da diabetes no fundo ocular, reflete a duração da doença e se o controlo da glicémia está a ser realizado de forma eficiente. Controlando a pressão arterial e os níveis de glicémia, é possível retardar o desenvolvimento desta complicação. No entanto, mesmo com este controlo, a maior parte dos diabéticos acaba por desenvolver RD. Esta doença progride desde o estado inicial não proliferativo, até ao estado mais avançado, do tipo proliferativo (Tabela 2 do Anexo I).²⁶

As consequências da RD não detetada e, conseqüentemente, não tratada, podem ser devastadoras. O tratamento, quando possível, é realizado apenas através de um controle restrito da glicemia e pressão arterial. A prevenção é dependente de um diagnóstico precoce que é imprescindível para que não haja danos que levem a uma diminuição significativa da qualidade de vida do indivíduo.²⁶

6. Mecanismos Fisiopatológicos

6.1. Patogênese da DMT2

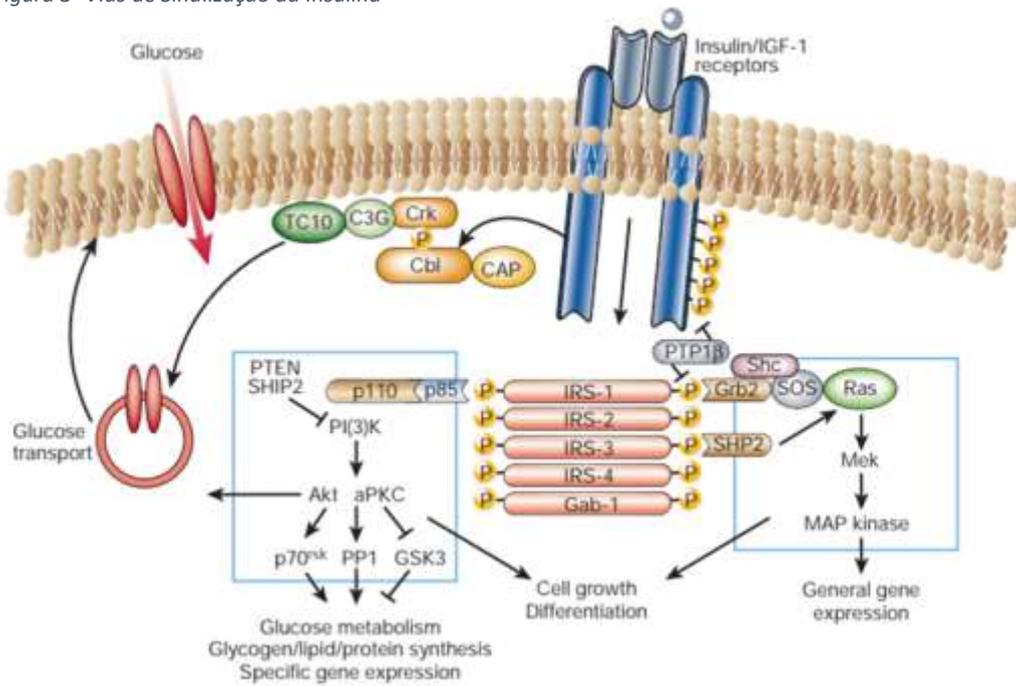
Na DMT2, a hiperglicemia resulta, essencialmente, de um estado de resistência à insulina, de órgãos como o fígado, tecido adiposo e músculo esquelético.⁴ Este estado de resistência pode definir-se como a incapacidade de o organismo apresentar uma resposta fisiológica normal à insulina, tornando-a ineficaz.¹ Assim, há uma diminuição da captação de glicose pelas células desses órgãos, o que leva a uma diminuição da síntese de glicogênio, a um aumento da oxidação de ácidos gordos no fígado e a uma incapacidade de supressão da gliconeogênese hepática, efeitos estes que contribuem para um aumento da glicemia ainda mais acentuado.¹²

Conseqüentemente, a resposta inicial do organismo é aumentar a produção de insulina, na tentativa de reduzir a glicemia. Ao longo do tempo, as células- β entram em falência, devido a esta atividade exagerada, e pode desenvolver-se um estado de insuficiente produção de insulina.¹

Atualmente, as causas da DMT2 não são, ainda, completamente conhecidas. A patogênese da DMT2 é complexa e envolve fatores genéticos, epigenéticos e ambientais.²⁰ No entanto, há uma ligação muito forte com o excesso de peso e o envelhecimento.¹

Vários defeitos funcionais têm sido relatados nas vias de sinalização da insulina (ver Fig. 3) em situações de resistência à insulina, nomeadamente, diminuição da fosforilação de resíduos de tirosina e aumento da fosforilação de resíduos de serina do recetor de insulina e das proteínas “substrato do recetor de insulina” (“Insulin receptor substrate”, IRS), que são proteínas adaptadoras envolvidas na resposta à insulina. Estes defeitos comprometem a sinalização da insulina e diminuem o número de transportadores GLUT-4 na superfície das células. Poucos fatores desempenham um papel tão importante no desenvolvimento da resistência à insulina quanto a obesidade.¹²

Figura 3- Vias de Sinalização da Insulina



O receptor de insulina é do tipo tirosina-cinase que tem como funções a sua autofosforilação e a fosforilação de proteínas celulares tais como os membros da família IRS, Shc e Cbl. Após a sua fosforilação, estas proteínas interagem com moléculas sinalizadoras, o que resulta na ativação de diversas vias de sinalização, incluindo a ativação do PI3K, Ras e TC10. Retirado de referência 27

6.1.1. Obesidade e Resistência à Insulina.

O tecido adiposo é um tipo de tecido conjuntivo que desempenha um papel importante na fisiologia dos mamíferos. Este é classificado em tecido adiposo branco, castanho e bege. O tecido adiposo castanho está presente em pequenas quantidades e é responsável pela produção de calor. As células de tecido adiposo bege também são capazes de gerar calor quando estimuladas, e ainda armazenam excedente de gordura. A maior parte do tecido adiposo humano é do tipo branco, estando localizado subcutaneamente (tecido adiposo subcutâneo), isolando o organismo do frio e calor, e em redor dos órgãos internos (tecido adiposo visceral), onde constitui um revestimento que lhes confere alguma proteção.²⁸

A associação epidemiológica que se verifica entre a obesidade e a DMT2 é reconhecida há décadas, sendo a obesidade visceral observada em mais de 80% dos pacientes. Nalguns indivíduos obesos, é possível detetar resistência à insulina, mesmo quando a hiperglicemia ainda não está presente, o que indica que existe uma anomalia na sinalização da insulina em situações onde se verifica excesso de tecido adiposo. O risco de desenvolvimento de diabetes aumenta com o aumento do IMC, sendo que não é apenas a quantidade absoluta de tecido adiposo, mas também a sua distribuição corporal que tem impacto na sensibilidade à

insulina: o tecido adiposo abdominal (visceral) está mais associado à resistência à insulina do que o tecido adiposo periférico (subcutâneo).¹²

O impacto da obesidade na sensibilidade à insulina pode ser devido aos seguintes mecanismos:

Ácidos Gordos não esterificados (AGNEs): Está demonstrada uma correlação inversa entre os AGNEs plasmáticos em jejum e a sensibilidade à insulina. O tecido adiposo abdominal é mais lipolítico do que o periférico, o que pode explicar as consequências particularmente deletérias deste padrão de distribuição da gordura. Os AGNEs intracelulares excessivos saturam as vias de oxidação dos ácidos gordos, levando à acumulação de intermediários citoplasmáticos como o diacilglicerol (DAG) e a ceramida. Estes intermediários podem ativar as cinases de serina/treonina, que causam a fosforilação aberrante de resíduos de serina do recetor de insulina e das proteínas IRS. Ao contrário do que acontece com a modificação da tirosina, a fosforilação nos resíduos de serina diminui a sinalização da insulina. Normalmente, a insulina inibe a gliconeogénese hepática através do bloqueio da fosfoenolpiruvato carboxinase, que atua no primeiro passo enzimático deste processo. A diminuição da sinalização da insulina permite que a gliconeogénese continue a ocorrer. O excesso de AGNEs também funciona como um inibidor competitivo das reações de oxidação da glicose, levando à inibição retroativa das enzimas glicolíticas e, portanto, à exacerbação do desequilíbrio dos níveis de glicose já existente.¹²

Adipocinas: Sabe-se que o tecido adiposo não é apenas uma forma de armazenamento de gordura, mas funciona como um órgão endócrino funcional que liberta hormonas em resposta a alterações no estado metabólico. Foram identificadas várias proteínas, na circulação sistémica, secretadas pelo tecido adiposo, que são chamadas coletivamente de adipocinas (ou citocinas adiposas). Entre estas, algumas são adipocinas pró-hiperglicémicas (p. ex., resistina), e outras adipocinas anti-hiperglicémicas (leptina, adiponectina). A leptina e a adiponectina melhoram a sensibilidade à insulina pela estimulação direta da atividade da proteína cinase ativada por AMP (AMPK), uma enzima que promove a oxidação dos ácidos gordos no fígado e no músculo esquelético. Os níveis de adiponectina estão reduzidos na obesidade, contribuindo assim para a resistência à insulina.¹²

Inflamação: O tecido adiposo secreta, também, uma variedade de moléculas pró-inflamatórias (principalmente citocinas), tais como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e a interleucina-6. Estas citocinas induzem a resistência à insulina pelo aumento do stress celular,

o qual, por sua vez, ativa múltiplas cascatas de sinalização que antagonizam a ação da insulina nos tecidos periféricos.¹²

6.1.2. Disfunção das Células-β

Como já referido anteriormente, na DMT2, em resposta à hiperglicemia, as células-β, numa fase inicial, sintetizam maior quantidade de insulina. O estado hiperinsulinémico que se gera é uma compensação da resistência periférica e pode manter a glicose plasmática normal durante anos. No entanto, a compensação das células-β torna-se insuficiente, e há progressão para hiperglicemia.¹²

Vários mecanismos estão implicados na disfunção das células-β, incluindo:

- Excesso de ácidos gordos que comprometem a função das células e dificultam a libertação de insulina;
- Impacto da hiperglicemia crónica (glucotoxicidade);
- “Efeito incretina” anormal, que leva a uma reduzida secreção entérica de GIP (*glucose-dependent insulinotropic polypeptide*) e GLP-1, hormonas que promovem a secreção de insulina;
- Deposição de placas amilóides no interior dos ilhéus. Esta característica está presente em mais de 90% dos ilhéus de indivíduos diabéticos tipo 2, mas não é claro se representa uma causa ou um efeito da disfunção das células-β;
- Finalmente, o fator genético deve ser considerado, dado que muitos dos polimorfismos associados a um elevado risco de desenvolvimento de DMT2, ocorrem em genes que controlam a secreção de insulina.¹²

6.1.3. Disfunção Mitocondrial

As mitocôndrias têm como função principal a produção de ATP, estando também envolvidas na regulação da homeostase do Ca^{2+} e no mecanismo de apoptose. Vários estudos têm associado a resistência à insulina a uma reduzida massa mitocondrial e respetiva função oxidativa.²⁹ Estão propostos alguns mecanismos através dos quais a disfunção mitocondrial poderá estar associada à perda de sensibilidade à insulina, nomeadamente através da acumulação ectópica de lípidos, aumento da produção de ROS e inflamação exarcebada²⁹ (Anexo 2).

6.1.4. Stress do Retículo Endoplasmático (RE)

Este organelo desempenha um papel essencial na homeostase do Ca^{2+} e na maturação e expressão das proteínas. Quando há uma sobrecarga do RE, isto é, quando há um

desequilíbrio no balanço entre a capacidade de enrolamento das proteínas e a quantidade de proteínas a enrolar, ocorre uma acumulação de proteínas mal enroladas que desencadeia um processo fisiológico denominado “Stress do RE”, que leva à ativação da via UPR (*Unfolded protein response*). Este processo tem como finalidade a diminuição da síntese de proteínas, a síntese de chaperones que promovam a degradação de proteínas mal configuradas e, por fim, desencadear a apoptose. O stress do RE é desencadeado por vários processos fisiopatológicos e há evidências de que pode estar relacionado com a disfunção das células- β , com a morte celular na DMT2 e com o desenvolvimento de resistência à insulina^{4,29} (Anexo 2).

6.2. Patogênese das Complicações Crônicas

A hiperglicemia persistente parece ser responsável pelas complicações da diabetes a longo prazo. De facto, há numerosas evidências de que um apertado controlo da glicémia previne e/ou melhora as complicações da diabetes. No entanto, é importante realçar que a hiperglicemia não é o único fator responsável pelas complicações da diabetes, e há outras anomalias subjacentes, tais como a resistência à insulina e a obesidade.¹²

Os efeitos deletérios da hiperglicemia nos tecidos periféricos, são explicados, pelo menos, através de quatro mecanismos. Pensa-se que, em cada um deles, a passagem de um fluxo aumentado de glicose através dos vários processos metabólicos intracelulares, gera precursores que contribuem para danos tecidulares.¹² São eles:

- Formação de Produtos Finais de Glicação Avançada (Anexo 3): Produtos Finais de Glicação Avançada (*Advanced glycation end products* – AGEs) são formados como resultado de reações não enzimáticas entre precursores dicarbonil derivados de glicose e grupos amina de proteínas intracelulares e extracelulares. Este processo é altamente acelerado na presença de hiperglicemia.¹²

Os AGEs interagem com proteínas da matriz extracelular, o que leva a alterações da rigidez dessas mesmas proteínas, nomeadamente do colagénio, que se torna mais rígido e suscetível a microfracturas, podendo este processo dar origem a lesão endotelial. Os componentes da matriz modificados pelos AGEs também aprisionam proteínas plasmáticas ou intersticiais. Nos grandes vasos, o aprisionamento de LDL, por exemplo, retarda o seu efluxo da parede dos vasos e aumenta a deposição de colesterol, acelerando assim a aterogénese.¹² A acumulação de AGEs na retina induz hipertensão, espessamento dos vasos, perda de pericitos, contribuindo para a retinopatia. As modificações causadas pelos AGEs

também alteram a estrutura e função dos nervos periféricos, das células de Schwann e células neuronais, interrompendo o transporte axional.³⁰

Além dos efeitos diretos dos AGEs, estes podem ligar-se a recetores específicos (RAGE) que são expressos numa grande variedade de células do organismo, de forma particular nos tecidos vascular e nervoso,³¹ mas também, em células inflamatórias (macrófagos e células T), endoteliais musculares lisas, renais entre outras.¹² Devido a esta distribuição alargada, o aumento de AGE pode ter efeitos em muitos tecidos, constituindo, por isso, um mecanismo importante nas complicações da diabetes.³¹ O eixo de sinalização AGE-RAGE leva à ativação de várias vias de sinalização, tais como a via de ativação de NF- κ B, a TGF- β /Smad, a PI3K/Akt/mTOR e a MAPK/ERK.³¹ A ativação destas vias tem como consequências o aumento da produção de ROS no citosol e de citocinas, moléculas inflamatórias e moléculas de adesão (aumento da atividade inflamatória e pro-coagulante), indução de *stress* oxidativo e de *stress* do retículo endoplasmático, entre outros.^{30,31}

- Ativação da Proteína Cinase C (Anexo 3): A via de ativação intracelular da proteína cinase C (*protein kinase C* - PKC) dependente de cálcio e de DAG, é uma via de sinalização importante em muitos tecidos. Nos tecidos não insulino-dependentes, a hiperglicemia persistente no meio extracelular, leva a um aumento dos níveis de glicose intracelular. O excesso de glucose intracelular estimula a síntese do DAG a partir de intermediários glicolíticos e, desta forma, causa uma ativação excessiva da PKC. Os efeitos da ativação da PKC são numerosos, incluindo a produção de VEGF, ROS, TGF- β e PAI-I (*plasminogen activator inhibitor-I*) pelo endotélio vascular.¹²

- Stress Oxidativo e Perturbações na Via dos Polióis (Anexo 3): O excesso de glicose intracelular é metabolizado pela enzima aldose-redutase a sorbitol e frutose, através de uma reação que usa NADPH como cofator. O NADPH também é necessário na reação, mediada pela glutatona redutase, que regenera a glutatona reduzida (GSH). O mecanismo de redução da glutatona é um dos mecanismos antioxidantes mais importantes para as células e a diminuição de GSH aumenta a suscetibilidade celular ao *stress* oxidativo (que se manifesta através do aumento de ROS).^{12,32} A progressiva depleção do NADPH pela aldose redutase compromete a regeneração da GSH, aumentando a suscetibilidade ao *stress* oxidativo.³² A acumulação de sorbitol no cristalino contribui ainda para a formação de cataratas.¹²

- Via das hexosaminas e Formação de frutose-6-fosfato (Anexo 3): Por fim, através de alterações na via das hexosaminas, a hiperglicemia aumenta o nível intracelular de frutose-6-fosfato, que é um substrato para a glicosilação de proteínas, levando à formação de um

excesso de proteoglicanos e outras proteínas glicosiladas. Estas alterações são acompanhadas de uma expressão anormal de TGF- β e PAI-I que vão exacerbar os danos tecidulares.¹²

7. MicroRNAs

Têm sido desenvolvidos numerosos estudos para determinar de que modo as alterações na expressão gênica contribuem para o desenvolvimento da diabetes e suas complicações. A maior parte destes estudos focava-se, apenas, nos genes que codificam proteínas. No entanto, atualmente, sabe-se que menos de 2% dos 3,2 mil milhões de pares de bases que constituem o genoma humano está envolvido na codificação de proteínas, e que, por outro lado, todo o material genético é transcrito em RNA.³ Algumas das moléculas de RNA que não codificam proteínas desempenham um papel fundamental em muitos processos fisiológicos e, também, patológicos. Entre estes, existem os *long non-coding RNAs* (lncRNAs) e os *small non-coding RNAs* (sncRNAs), dos quais fazem parte os microRNA (miRNA ou miR)³ sobre os quais incide este trabalho.

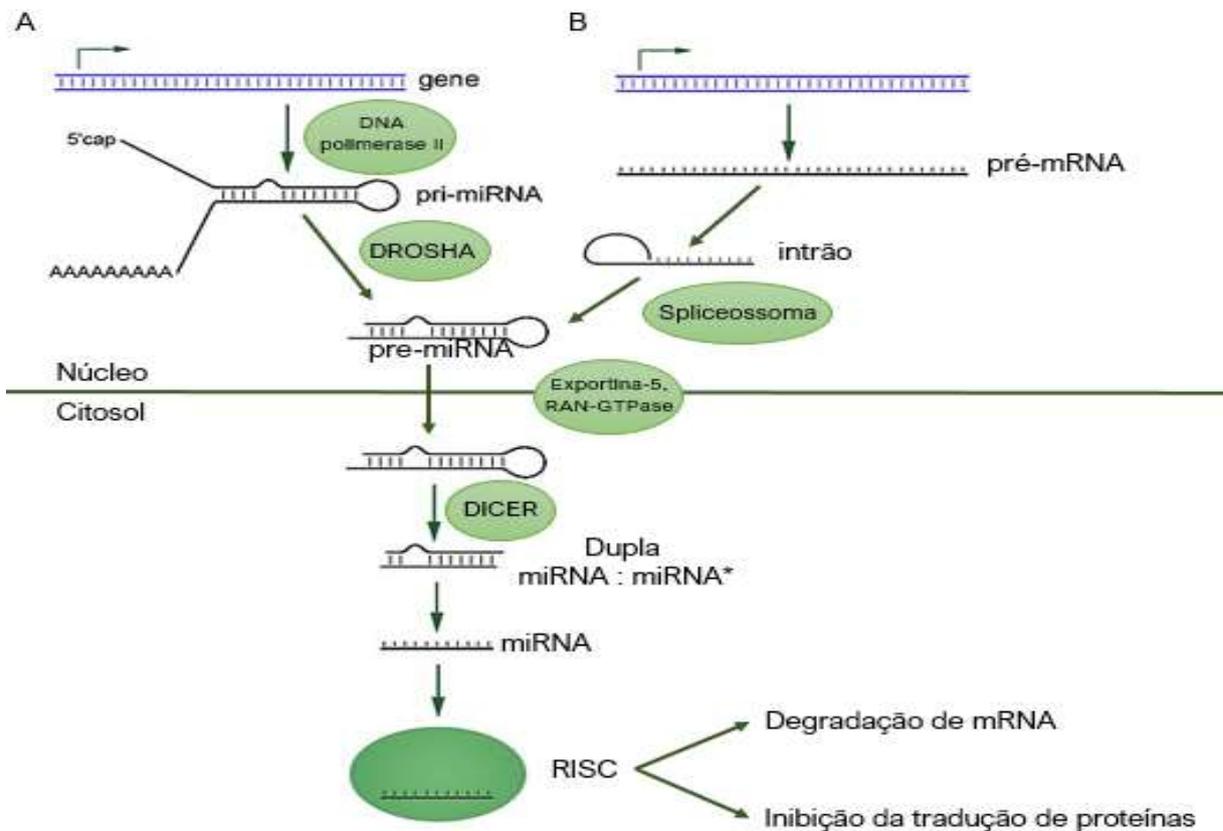
Os miRNAs podem descrever-se como pequenas cadeias simples de RNA não codificante (ncRNA) formadas, normalmente, por 22-25 nucleótidos.²³ Atualmente, estão identificados, no ser humano, mais de 2600 miRNAs distintos.³³ Muitos deles estão presentes em várias células diferentes, contudo, alguns são restritos apenas a um grupo de células específico.³

Na figura 4 está representada, de forma resumida, a biogénese e mecanismo dos miRNAs. Estes podem ser transcritos através de duas vias: via canónica ou não canónica.²³

Na via canónica, sequências intrónicas ou intergenes são transcritas, através da RNA polimerase II, em pri-miRNA. De seguida, estes são processados pela enzima DROSHA (uma RNase) em precursores de miRNA (pre-miRNA), constituídos por 70-100 nucleótidos configurados em formato de *hairpin*. Após o seu transporte para o citoplasma, através do complexo exportina-5/Ran GTPase, são clivados pela enzima DICER em duplas miRNA:miRNA*. Normalmente, a cadeia miRNA* de cada dupla é degradada e a cadeia remanescente (miRNA maturo) é incorporada no complexo RISC (*RNA induced silencing complex*), que vai atuar na regulação da expressão gênica, ligando-se à extremidade 3' UTR do RNA mensageiro (mRNA) alvo, levando à sua destruição ou inibição da sua tradução em proteínas.²¹

Na via não canônica, as estruturas em *hairpin*, já originalmente presentes nos intrões, são processadas no *spliceossoma* e unidas, formando-se uma estrutura a que se dá o nome de *mirtrão* e que vai constituir o pré-miRNA, que integra a via de biogênese canônica, de forma a ser exportado do núcleo.²³

Figura 4– Biogênese dos miRNAs.



A - Representação da via canônica: sequências intrônicas são transcritas, através da RNA polimerase II, em pri-miRNA, que são processados pela enzima DROSHA a pre-miRNA. São transportados para o citosol, através do complexo exportina-5 RAN-GTPase, e clivados pela enzima DICER em duplas miRNA:miRNA*. A cadeia miRNA* é degradada e a cadeia remanescente incorporada no complexo RISC, que regula a expressão gênica, ligando-se ao mRNA-alvo, levando à sua destruição ou inibição da sua tradução em proteínas. B - Representação da via não canônica: as estruturas em *hairpin* presentes nos intrões, são processadas no *spliceossoma* e unidas, formando-se o *mirtrão*, que vai constituir o pré-miRNA, integrando a via canônica, de forma a ser exportado do núcleo. Adaptado de Referência 21 e de imagem retirada de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MiRNA-biogenesis.jpg>

A interação entre os miRNAs e os seus alvos não requer complementaridade perfeita, o que torna possível que um só miRNA regule a expressão de centenas de mRNAs diferentes.³ Sabe-se, ainda, que a expressão dos miRNAs é regulada por vários mecanismos que incluem epigenética, transporte exossomal, processamento e isolamento pós-transcrição.²³

Devido ao seu papel como reguladores da expressão gênica, pensava-se que os microRNAs eram exclusivamente intracelulares. No entanto, alguns estudos demonstraram que estes podem ser também extracelulares, estando presentes em vários fluidos biológicos, tais como sangue, plasma e soro e, também, urina, saliva, entre outros.³⁴

A sua presença na circulação sanguínea é atribuída a três principais mecanismos:

1. Secreção celular ativa de miRNAs no interior de exossomas;³⁵
2. Formação de microvesículas apoptóticas que surgem na sequência de um dano tecidual ou outros estímulos e que contêm miRNAs;³⁵
3. Liberação passiva de miRNAs através de complexos proteína-RNA.³⁵

Há, ainda, evidências que sugerem que estes miRNAs circulantes representem uma forma de comunicação intercelular.³⁵

7.1. MiRNAs relevantes e seu contributo para a DMT2

Nas últimas décadas, tem sido muito investigada a associação entre os miRNAs e várias doenças, entre as quais a DM e suas complicações.⁴ São reguladores importantes em vários processos envolvidos na produção e sinalização da insulina, têm influência no desenvolvimento dos ilhéus no pâncreas, na diferenciação das células- β , no metabolismo glicolipídico e noutros processos relacionados com a diabetes e suas complicações.³⁶

Existem também inúmeros estudos com o objetivo de identificar microRNAs que possam funcionar como biomarcadores da DMT2. Por exemplo, num estudo de 2013³⁷, foram identificados 366 miRNAs expressos nos Ilhéus de Langerhans humanos. Ao comparar a expressão destes miRNA nos Ilhéus e noutros tecidos, entre os quais, músculo esquelético, fígado e tecido adiposo, foram identificados 40 miRNAs expressos exclusivamente nos Ilhéus. Entre estes 40, existem alguns cuja relação com a DMT2 está comprovada: sabe-se que estão envolvidos na síntese e secreção de insulina; enquanto que os restantes constituem um objeto de investigação, muito promissor. No mesmo estudo, foram analisadas as sequências-alvo dos miRNAs presentes nos Ilhéus, comparando-as com sequências genéticas associadas à DMT2, sendo que identificaram 6496 variantes coincidentes.³⁷

Entre os miRNAs que têm influência no processo de sinalização da insulina, o miR-9 e o miR-375, específicos dos ilhéus de Langerhans, regulam a secreção de insulina e participam na homeostase da glicose, estando, assim, fortemente associados à patologia da diabetes. Quer um, quer outro, são expressos em níveis elevados durante o desenvolvimento do pâncreas.²⁰

Demonstrou-se que o miR-375 é abundante nas células- β e é essencial para a manutenção da massa pancreática normal. Controla a expressão dos genes da miotrofina e da proteína cinase PDK1 e, desta forma, funciona como um regulador da síntese e secreção

de insulina, sendo que um aumento da expressão do miR-375 suprime a secreção de insulina e a sua diminuição estimula a secreção de insulina.^{20,38}

A ação do miR-375 na regulação da insulina parece ser semelhante em várias espécies, incluindo humanos e ratos. Por estar envolvido no processo de diferenciação das células- β , pode vir a ser útil numa possível terapia de substituição celular na diabetes.⁸

O miR-9 tem influência no processo de exocitose da insulina e, por isso, também participa na regulação da mesma. Também neste caso, uma expressão aumentada de miR-9 está inversamente relacionada com a secreção de insulina.²⁰

No entanto, sabemos que, mais do que a uma disfunção nas células- β , a DMT2 está muito associada a uma progressiva resistência dos órgãos à insulina. Os microRNAs poderão ser uma resposta, também a este nível (Anexo 4). Seguem-se alguns exemplos.

Considerando a relação existente entre o tecido adiposo abdominal e a resistência à insulina, foi investigado se a alteração nos níveis de determinados microRNAs, associados ao tecido adiposo, poderia ter um impacto positivo na sensibilidade dos órgãos à insulina. Como exemplo, foi realizado um estudo para investigar a hipótese de a reposição da expressão de miR-30a no tecido adiposo branco aumentar a sensibilidade à insulina. Para isso, foram injetados adenovírus (Adv), modificados de forma a expressar o miR-30a, na camada de tecido adiposo subcutâneo de murganhos. Foi observada uma melhoria significativa na sensibilidade à insulina e um aumento do consumo energético, com diminuição da deposição de gordura no fígado e redução da inflamação do tecido adiposo.³⁹

Existem evidências de que o miR-30a interage com o fator de transcrição STAT1, limitando as ações da citocina pro-inflamatória interferon-gama ($IFN\gamma$), que, de outra forma, restringiria a expansão do tecido adiposo e diminuiria a sensibilidade à insulina.³⁹

Num estudo semelhante, chegou-se à conclusão que os níveis de miR-24, miR-30d e miR-146a estão aumentados, enquanto que o miR-103 está diminuído no tecido adiposo abdominal de indivíduos obesos e com diabetes.^{40,41} Anteriormente, os mesmos investigadores tinham demonstrado que o tecido adiposo de indivíduos obesos é caracterizado por uma vascularização inadequada, hipoxia, inflamação e fibrose e que o fator anti-angiogénico SFRP4 (*secreted frizzled-related protein 4*) está associado à degradação do tecido adiposo (diminuindo a rede capilar), podendo levar a inflamação e, a longo prazo, a resistência à insulina em situações de obesidade.⁴⁰

Verificou-se a existência de uma correlação entre os níveis de miR-24, miR-146a, miR-103 e miR-30d e os níveis de SFRP4 no tecido adiposo, o que sugere que exista um mecanismo de regulação entre estas moléculas. É ainda necessário investigar este mecanismo, mas os resultados deste estudo indicam que os referidos miRNAs poderão estar envolvidos na regulação de mecanismos envolvidos na fisiopatologia do tecido adiposo e, conseqüentemente, em mecanismos relacionados com a resistência à insulina e desenvolvimento de DMT2 em indivíduos obesos.^{40,41}

Um outro fenómeno que contribui para a patologia da DM é a inibição da autofagia. A autofagia é um processo altamente conservado evolutivamente, que permite a eliminação de moléculas e organelos danificados, podendo levar mesmo à autodestruição celular, sendo muito importante na manutenção de mecanismos fisiológicos e na regulação de várias doenças. Pelo exposto, a autofagia é essencial para a sobrevivência das células durante situações de *stress* celular, incluindo situações de resistência à insulina. Sob situações de resistência à insulina, foi detetada a ocorrência de uma disfunção no processo de autofagia no fígado.⁴²

O miR-143 está aumentado no fígado de murganhos obesos. Verificou-se que um gene relacionado com a autofagia, *Atg2b*, é um alvo direto do miRNA-143, sendo que a proteína codificada por este gene está envolvida na formação de autofagossomas (principais intervenientes num dos mecanismos da autofagia). Um outro gene, *Atg8*, interage com a proteína LC3 na formação dos referidos autofagossomas. O miR-143 pode inibir a autofagia através do silenciamento dos *Atg2b* e *Atg8*. A hexocinase-II (HK2) é outro alvo do miR-143 e é um substrato de uma proteína *chaperone* que participa num outro mecanismo de autofagia. A inibição da HK2 pelo miR-143 pode resultar na diminuição da autofagia. Adicionalmente, o miR-143 inibe o ORP8 que participa na ativação da via Akt/PI3k, inibindo a cascata de sinalização da insulina. Em suma, o miR-143 pode promover alterações na sinalização da insulina através da inibição da autofagia e inibição da via de sinalização Akt/PI3k.⁴²

Os exemplos apresentados anteriormente são uma pequena parte dos inúmeros estudos desenvolvidos até hoje que, para além de constituírem fundamento para a hipótese de os microRNAs estarem envolvidos na fisiopatologia da diabetes, também demonstram o enorme potencial destas moléculas na prevenção e tratamento desta doença.

7.2. Potencial utilidade dos microRNAs

7.2.1. Como biomarcadores

Até aos dias de hoje, não existe ainda um biomarcador específico, capaz de prever o início e/ou o desenvolvimento da DMT2. Os biomarcadores tradicionais não permitem reconhecer indivíduos em risco de desenvolver DMT2, uma vez que apenas identificam indivíduos com alterações metabólicas já instaladas.³⁵

Tem sido demonstrado que a expressão dos microRNAs varia paralela e proporcionalmente ao avanço da doença e, como referido anteriormente, ao serem libertados das células, podem ser facilmente detetados no sangue, plasma, soro e outros fluidos corporais. Adicionalmente, descobriu-se que os miRNAs são estáveis em circulação sanguínea, devido à sua incorporação em complexos lipoproteicos ou microvesículas, como os exossomas, o que lhes confere proteção contra a atividade das RNases.⁶ Mais ainda, são facilmente detetáveis por *polimerase chain reaction* (PCR), o que os torna adequados à utilização como potenciais biomarcadores da DMT2 e suas complicações.⁷

Zampetaki *et al.* (2010)⁴³ foram os primeiros a identificar microRNAs circulantes específicos da DMT2. Num estudo que incluiu mais de 800 indivíduos, comprovaram que os níveis de miR-21, miR-24, miR-15a, miR-20b, miR-126, miR-191, miR-197, miR-223, miR-320 e miR-486 na circulação sanguínea dos indivíduos com DMT2 diminuem, ao passo que o nível de miR-28-3p aumenta, quando comparados com indivíduos não diabéticos.⁴³ Mais tarde, Pescador *et al.* (2013)⁴⁴ verificaram que a quantificação dos miR-138, miR-376a e miR-15b permite distinguir indivíduos obesos de indivíduos obesos com DMT2 e ainda de indivíduos não obesos com DMT2⁴⁴.

Têm sido desenvolvidos outros estudos, onde se identificaram numerosos microRNAs com potencial como biomarcadores da DMT2, nomeadamente os miR-342-3p⁴⁵, miR-181a⁴⁵, miR-590-3p⁴⁵, miR-23a⁵, miR-9²⁰, miR-375²⁰, miR-29a⁴⁶, miR-30d⁴⁶, miR-34a⁴⁶, miR-124a⁴⁶, miR-146a⁴⁶, miR-144⁴⁷, miR-150⁴⁷ e miR-182⁴⁷, entre outros.

Importa ainda referir que os microRNAs, não só poderão ser usados como biomarcadores do desenvolvimento da DMT2, mas também como biomarcadores das suas complicações.

Nesse sentido, Roux *et al.* (2018)⁶ procuraram identificar no plasma de indivíduos com DMT2 microRNAs que estivessem associados com a ND e pudessem constituir biomarcadores desta complicação da DMT2. Para isso, compararam os miRNAs expressos no plasma de um grupo de indivíduos com ND (casos) com os expressos no plasma de um

grupo de indivíduos diabéticos com valores normais de albumina na urina (controlos). Assim, detetaram que os níveis de miR-152-3p estavam aumentados no grupo com ND, o que está de acordo com dados pré-existentes que associavam este microRNA à ND na DMT1. Ao investigar qual poderia ser o mecanismo através do qual o miR-152-3p estaria associado à ND, verificaram, a partir de uma base de dados existente, que o gene SLC5A3 é um dos alvos deste microRNA. Por sua vez, o SLC5A3 codifica a proteína SMIT1 (transportadora de sódio/mio-inositol 1), que contribui para manter o balanço osmótico em vários órgãos e tecidos, entre os quais, o rim. Também é conhecido o papel do miR-152-3p na regulação hepática do metabolismo da glicose, através de um mecanismo que envolve o PTEN (um regulador negativo da via de sinalização PI3K, que está envolvido na disfunção das células- β). São necessários estudos adicionais para validar o miR-152-3p plasmático como biomarcador para a ND e fundamentar a sua mais-valia relativamente à albuminúria.⁶

Num outro estudo, foi reportada uma redução significativa na expressão do miR-24 circulante em doentes com DMT2 e doença cardíaca coronária (DCC) e em doentes com DCC, quando comparados com controlos. Sabe-se que este microRNA é altamente expresso nas células endoteliais, desempenha um papel importante na regulação do fator Von Willebrand das células endoteliais, regula a vascularização que se segue a um enfarte do miocárdio, entre outros efeitos a nível cardiovascular. Foi demonstrado também que, em doentes com DMT2 e DCC, uma diminuição do miR-24 circulante está associada a um aumento do YKL-40, uma glicoproteína inflamatória, envolvida na disfunção endotelial e associada à DCC. Adicionalmente, verificou-se que através da análise dos níveis do miR-24 é possível distinguir indivíduos com DMT2 e DCC, indivíduos apenas com DCC e indivíduos saudáveis. Adicionalmente, foi descrito que o miR-24 se liga diretamente à extremidade 3'UTR do mRNA que codifica o YKL-40. Foi proposto, então, que o YKL-40, associado ao desenvolvimento de DCC em indivíduos com DMT, é regulado pelo miR-24. Também, neste caso, serão necessários mais estudos para demonstrar a utilidade do miR-24 como biomarcador da DCC em indivíduos com DMT2.⁴⁸

7.2.2. Como alvos/agentes terapêuticos

Em 2015, alguns investigadores descobriram que alterações na expressão de vários membros da família miR-141/miR-200, nos ilhéus de Langerhans, tinham um impacto direto na sobrevivência das células- β . De facto, murganhos transgénicos que sobre-expressam dois destes microRNAs, apresentam níveis de glicémia progressivamente elevados e acabam por desenvolver diabetes poucas semanas após modificação. De igual modo, ao modificarem geneticamente murganhos de forma a não expressarem os genes da família miR-141/miR-

200, observaram resistência ao desenvolvimento da diabetes: quando submetidos à estreptozocina, um composto tóxico que danifica especificamente células- β , estes murganhos tinham menos predisposição para desenvolver diabetes como consequência desta agressão.⁴⁹

Os níveis de miR-143 e miR-802 encontram-se aumentados em murganhos obesos, aos quais foi administrada uma dieta rica em gorduras. Foi observado que a supressão destes dois miRNAs protege estes murganhos do desenvolvimento de resistência à insulina e aumenta a sua tolerância à glicose.^{50,51}

Por outro lado, a expressão aumentada de outros microRNAs também poderá ser usada para obter efeitos terapêuticos. Como exemplo, num estudo de 2017⁵², a sobre-expressão de miR-26a em murganhos alimentados com uma dieta hipercalórica e em murganhos db/db (um modelo de obesidade com diabetes), prolongou o tempo de normoglicemia e melhorou a função das células- β , quando comparados com murganhos controlo. Os investigadores observaram que o miR-26a suprime o PTEN através da ligação à extremidade 3'UTR, quer *in vitro*, como *in vivo*. Pelo exposto, o miR-26a poderá constituir uma nova estratégia terapêutica para a DMT2.⁵²

Adicionalmente, existem evidências da relação existente entre a cascata AGE-RAGE e alguns miRNAs, como miR-30, miR-214, miR-16, miR-200, miR-221, entre outros, o que poderá constituir outro objeto de estudo para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da DMT2.³⁰

Existem algumas estratégias já conhecidas e utilizadas quer na investigação, quer na terapêutica de outras doenças, partindo do conhecimento atual da estrutura e funcionamento dos microRNAs. Os oligonucleótidos antimicroRNA (AMOs - *AntimiRNA oligonucleotides*) são uma das principais estratégias. Os AMOs ligam-se direta e especificamente às sequências de microRNAs para impedir a ligação do microRNA ao seu alvo. Uma outra técnica, com o objetivo oposto, é o uso de moléculas análogas de microRNAs, que são constituídas pelas mesmas sequências nucleotídicas dos microRNAs endógenos. A introdução de microRNAs em animais, através de transfecção viral, também tem sido realizada com sucesso, demonstrando muito potencial na terapêutica.³⁸

A diminuição dos níveis do microRNA let-7, em murganhos, através da ação de um antimicroRNA, foi suficiente para prevenir e tratar a TDG através do aumento da sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos. Adicionalmente, demonstrou-se que o let-7 é capaz de

bloquear a secreção de insulina induzida pela glicose, o que sugere que a diminuição do let-7 também melhore a função das células- β .⁵³

A administração de oligonucleótidos antimiR-320 em células adiposas que apresentavam resistência à insulina e elevados níveis de miR-320, levou à ativação da via PI3K/Akt, possivelmente através da ligação à subunidade p85, aumentando a expressão de GLUT-4 e melhorando a sensibilidade à insulina.⁵⁴

Num outro estudo, foi demonstrado que o silenciamento dos miR-103 e miR-107, usando antimiRNAs, quer em adipócitos, quer nas células hepáticas, aumentou a sensibilidade à insulina e a homeostase da glicose.⁵⁵ Por outro lado, a administração de um análogo de miR-181b em células epiteliais de tecido adiposo de murganhos obesos, levou a uma melhoria na homeostase da glicose e na sensibilidade à insulina.⁵⁶

Trabalhos semelhantes foram realizados utilizando outros análogos de microRNAs e AMOs, demonstrando resultados interessantes^{3,38,55,57}. Contudo, tem-se verificado uma resistência na captação dos AMOs pelos tecidos alvo, pelo que se têm desenvolvido estudos nos quais se tira partido de estruturas virais para a entrega dos AMOs e dos análogos de microRNAs.^{3,4}

Tem sido demonstrado que os microRNAs poderão ser uma resposta também para o tratamento das complicações da DMT2:

Zhang e colaboradores (2014)²², desenvolveram um estudo em murganhos submetidos a estreptozocina de forma a desenvolver diabetes, no qual descobriram que o miR-29b está negativamente regulado nos neurónios do gânglio da raiz dorsal (DRG - *dorsal root ganglion*) dos murganhos diabéticos. Quanto mais prolongada a exposição a elevados valores de glicémia, maior é a alteração que se verifica no nível do miR-29b.

Foi observado um decréscimo de miR-29b no cérebro de pacientes com doença de Alzheimer, sendo que há indicações de que este miRNA causa degradação do peptídeo A β nos neurónios, pelo que a possibilidade de aumentar os seus níveis poderia estar na origem de uma recuperação da função neuronal. Também se sabe que a perda de miR-29b que acontece na sequência de um acidente isquémico contribui para morte de células neuronais.²² Adicionalmente, Kole *et al.* (2011)⁵⁸ tinham observado que o miR-29b funciona como um fator anti-apoptótico, protegendo as células neuronais da apoptose induzida por danos no DNA, *stress* do retículo endoplasmático, entre outros fatores. Também demonstraram que o nível de miR-29b, nos neurónios simpáticos, é regulado ao longo do

desenvolvimento dos murganhos: até ao 13^o dia de vida, encontra-se bastante reduzido e, a partir daí, aumenta de forma acentuada.⁵⁸

Tendo por base estes conhecimentos, Zhang *et al.* (2014)²² descobriram que o miR-29b pode estar envolvido na neuropatia diabética. Chegaram à conclusão de que a regulação negativa do miR-29b está associada a um aumento da apoptose, dilatação axonal, e perfis anormais de expressão génica nos DRG diabéticos. Pelo contrário, ao induzir a expressão de miR-29b nos DRG, conseguiram proteger os neurónios contra a apoptose e reduzir a dilatação axonal, estimularam, ainda, a expressão de genes relacionados com a regeneração axonal e inibiram a expressão de genes relacionados com a degeneração neuronal.²²

A expressão normal dos miRNAs altera-se no coração diabético. Ainda que o nível de um determinado miRNA se apresente alterado no coração diabético, isso não implica, necessariamente, que esse miRNA possa desempenhar um papel crucial no desenvolvimento da cardiomiopatia. No entanto, existem bastantes estudos baseados na perda e ganho de função dos miRNAs que evidenciam a existência de vários miRNAs que têm influência no desenvolvimento da cardiomiopatia diabética.

O miR-133a, por exemplo, encontra-se regulado negativamente no coração diabético e, ao aumentar a sua expressão, consegue-se reduzir a hipertrofia cardíaca e a fibrose e melhorar a contractilidade cardíaca.⁵⁹

Em indivíduos diabéticos, exossomas dirigidos aos cardiomiócitos transportam elevados níveis de miR-320 que é prejudicial ao coração. Assim, alguns inibidores da secreção destes exossomas, entre os quais o GW4869, poderão constituir potenciais agentes de prevenção da disfunção cardíaca mediada por exossomas na diabetes.⁶⁰

Widlansky *et al.* (2018)⁶¹, com o objetivo de compreender a influência dos miRNAs na disfunção endotelial nas doenças cardiovasculares, incluindo a cardiomiopatia relacionada com a DMT2, obtiveram arteríolas de resistência de indivíduos com elevado risco cardiometabólico e de indivíduos saudáveis (controlos) e analisaram a expressão de miRNAs nesses tecidos. Identificaram 18 miRNAs com valores significativamente diferentes entre o primeiro e o segundo grupos e submeteram 3 destes 18 miRNAs (miR-29a-3p, miR-29b-3p e miR-14b-5p) a PCR em tempo real, verificando que estavam aumentados nas arteríolas dos diabéticos.

A expressão aumentada de miR-29 pode sugerir que o miR-29 contribui para a disfunção endotelial ou que se encontra aumentado numa tentativa de o organismo

compensar essa mesma disfunção. Para esclarecer esta questão, os mesmos investigadores, aplicaram um anti-miR-29b-3p, que impede a ação do miR-29b-3p, diretamente no lúmen das arteríolas. Este tratamento não melhorou a disfunção endotelial, pelo que puderam concluir que o miR-29b-3p não está na origem da disfunção. Já a aplicação intraluminal de análogos de miR-29a-3p e miR-29b-3p, melhorou consideravelmente a função endotelial. Posteriormente, investigaram se este impacto positivo dos miR-29 estaria relacionado com a regulação dos níveis de óxido nítrico (NO) que, como sabemos, está envolvido na vasodilatação. De facto, a transfecção intraluminal de análogos de miR-29b-3p aumentou consideravelmente os níveis de NO, comprovando que o efeito benéfico do miR-29 nas arteríolas é mediado pelo NO.⁶¹

Também relativamente ao tratamento da nefropatia diabética, existem estudos que comprovam o potencial dos microRNAs. Injeções intraperitoneais de antimicroRNAs em murgos diabéticos, administradas com o intuito de reduzir a ação dos miR-21, mostraram ter resultados positivos na melhoria da nefropatia diabética, diminuindo a hipertrofia das células mesangiais, a fibrose intersticial, e a inflamação e perda de podócitos, situações características desta complicação.⁶²

Ao longo desta secção, foram expostos alguns estudos que demonstram o possível contributo dos microRNAs para a DMT2, revelando o potencial destas moléculas na prevenção, diagnóstico e tratamento desta doença e suas complicações.

8. Conclusões e perspectivas futuras

O aumento da prevalência da DMT2 verificado nos últimos anos, não só cria a necessidade da busca por melhores formas de tratamento, como também da descoberta de métodos de diagnóstico precoce, que permitam prevenir o desenvolvimento da doença e o aparecimento de complicações.⁴ Os microRNAs são particularmente promissores neste campo, dado que a sua expressão varia paralelamente ao desenvolvimento da doença e de vários processos envolvidos com as células- β , sinalização de insulina, obesidade, entre outros.

No entanto, apesar de todos os avanços na investigação do potencial destas moléculas na DMT2, há algumas questões que ainda não têm resposta e deverão ser investigadas:

A metodologia a usar no isolamento dos microRNAs com potencial no diagnóstico da DMT2, condições de armazenamento e processos de quantificação devem ser ainda

aperfeiçoados. Muitos destes biomarcadores foram isolados a partir dos fluidos corporais, através de técnicas diferentes, que variam de estudo para estudo. Algumas destas técnicas podem gerar ligeiras variações nos níveis dos microRNAs, na amostra final. Assim, é necessário desenvolver um protocolo otimizado para a preparação da amostra e quantificação correta dos microRNAs, de modo a tornar o processo reprodutível e comparável.⁸

Um outro aspeto a considerar, antes de ser possível a utilização dos microRNAs como biomarcadores e agentes terapêuticos, é a sua interferência em várias vias moleculares em simultâneo. De facto, a maioria, senão mesmo, a totalidade dos microRNAs que têm sido identificadas como possíveis biomarcadores e alvos/agentes terapêuticos da diabetes e complicações associadas, não têm uma ação restrita a um tipo de célula. Para que os microRNAs venham a poder ser usados como biomarcadores de diagnóstico e/ou prognóstico, não basta estarem aumentados ou diminuídos na DMT2. É preciso que a sua variação ocorra seletivamente. Devido à associação dos microRNAs com diferentes alvos terapêuticos, a sua especificidade, pode ser um problema⁸. É levantada a hipótese de que um conjunto de microRNAs constituirá um biomarcador mais específico do que um único microRNA, mas será necessário continuar a investigar este tema³⁸. Relativamente ao seu uso como agentes terapêuticos, alterações nos níveis destas moléculas, a longo prazo, poderiam causar efeitos secundários intoleráveis, uma vez que, se por um lado, apresentariam efeitos positivos nas células-alvo, por outro lado, poderiam desencadear efeitos deletérios a outros níveis. Assim, será necessário investigar tecnologias que permitam uma entrega direcionada e ação específica destas moléculas.^{3,8}

Em suma, os microRNAs revelam ser reguladores celulares poderosos e com um potencial terapêutico muito atrativo. Novos fármacos cujo mecanismo de ação permitisse modular, de forma eficiente, o nível destas moléculas, tornar-se-iam importantes contributos para o tratamento da diabetes e suas complicações. No entanto, para que isso aconteça, é necessário continuar a investir no estudo destas moléculas para que seja possível dar respostas às questões referidas anteriormente, e a outras que possam surgir, de forma a garantir a segurança e eficácia de tais fármacos.

Anexos

Anexo I – Complicações da diabetes

Tabela 1 – Fases da Cardiomiopatia Diabética. Estão representadas as alterações estruturais que se observam ao longo do desenvolvimento da Cardiomiopatia. Adaptado de referência 24.

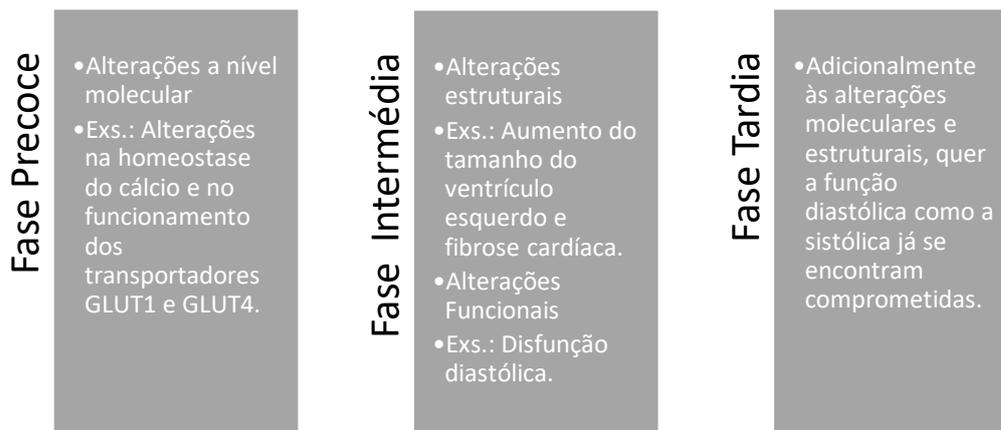


Tabela 2 – As secções brancas descrevem características da fase inicial não proliferativa, e as acinzentadas descrevem características da fase proliferativa. Adaptado da referência 26.

Microaneurismas	Lesões pequenas, circulares e vermelhas na retina. Representam os primeiros sinais de RD.
Hemorragias Intrarretinianas	Lesões na retina, vermelhas e de maior dimensão. Ainda não representam perigo para a visão e, normalmente, desaparecem dentro de 3-4 meses.
Exsudatos intensos	Lesões amarelas irregulares que representam acumulação de lípidos e proteínas na retina. Podem ser acompanhadas de espessamento da retina e, nesse caso, contribuem para o edema macular.
“Manchas de algodão”	Lesões brancas superficiais que representam a morte de fibras nervosas devido a oclusão capilar.
Anomalias microvasculares	Alterações nos vasos sanguíneos, devidas a oclusão capilar, que levam a uma reorganização vascular anómala, visível.
Edema macular	A quebra da barreira hemato-retiniana promove a passagem de plasma da corrente sanguínea para a retina, causando edema; pode ocorrer nas fases iniciais do desenvolvimento da RD, aparecendo, muitas vezes, em simultâneo com os microaneurismas e os exsudatos intensos.
Neovascularização	Proliferação anormal de novos vasos sanguíneos; podem estender-se para dentro da cavidade vítrea e chegar mesmo a provocar hemorragias no vítreo.
Descolamento da retina	A retração do tecido fibroso associado à neovascularização pode separar a retina de sua posição anatómica.
Glaucoma Neovascular	A neovascularização no sistema de drenagem do olho leva à sua obstrução, elevando a pressão intraocular.

Anexo 2 – Disfunções da mitocôndria e stress do retículo endoplasmático

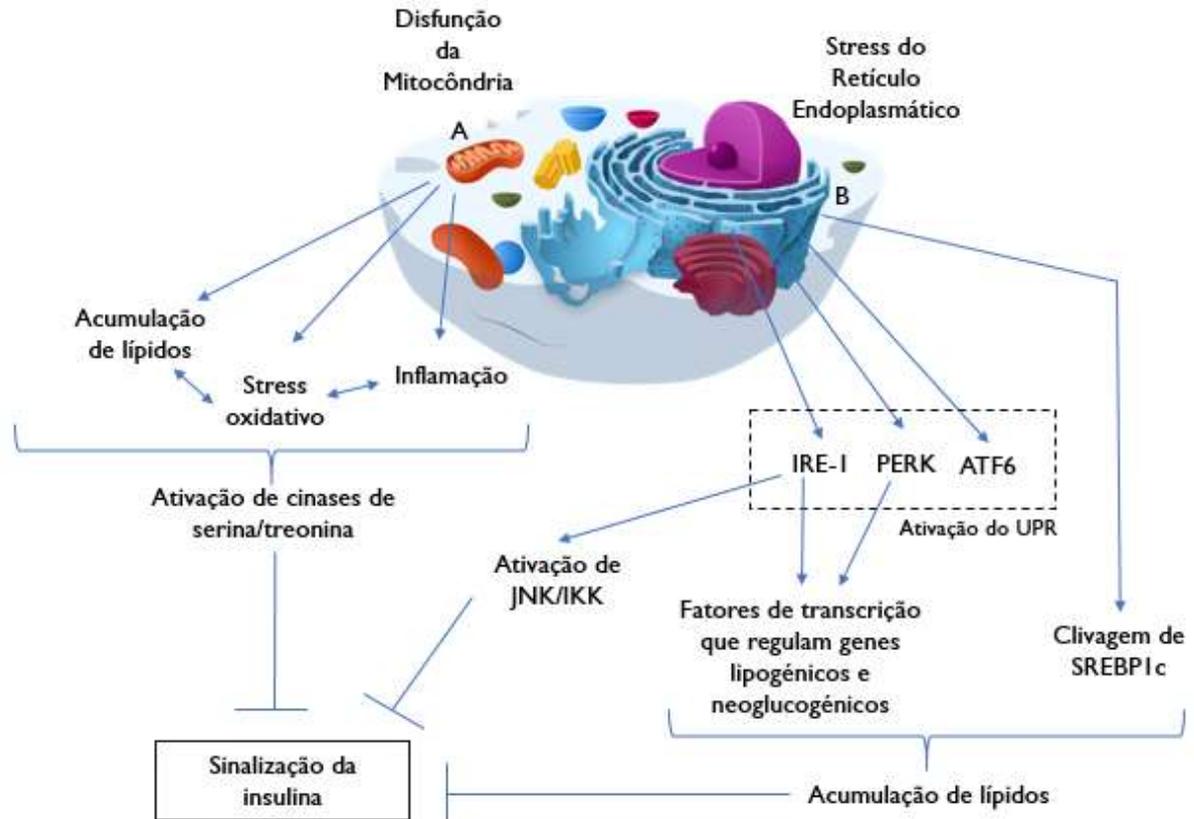


Figura 5 – Representação do mecanismo através do qual, disfunções da mitocôndria e stress do retículo endoplasmático, inibem a ação da insulina. A – Alterações mitocondriais (na sua densidade e/ou função) reduzem a sua capacidade oxidante e a β -oxidação, induzindo acumulação de lipídios que alteram a sinalização da insulina. A formação de ROS pela mitocôndria também dificulta a sinalização da insulina, quer diretamente, quer através da ativação do processo inflamatório. B – A ativação da UPR altera a sinalização da insulina, quer de forma direta – através da ativação de fatores que regulam a lipogênese e gliconeogênese e/ou cinases da serina/treonina – quer indireta, através da acumulação de lipídios, que ocorre devido à inibição da produção de lipoproteínas VLDL e/ou clivagem de SREBP1c (*sterol regulatory element-binding protein-1c*). Adaptado de Referência 29 e de imagem retirada de https://en.wikipedia.org/wiki/File:Animal_Cell_Unannotated.svg

Anexo 3 – Mecanismos na origem das complicações crônicas da diabetes

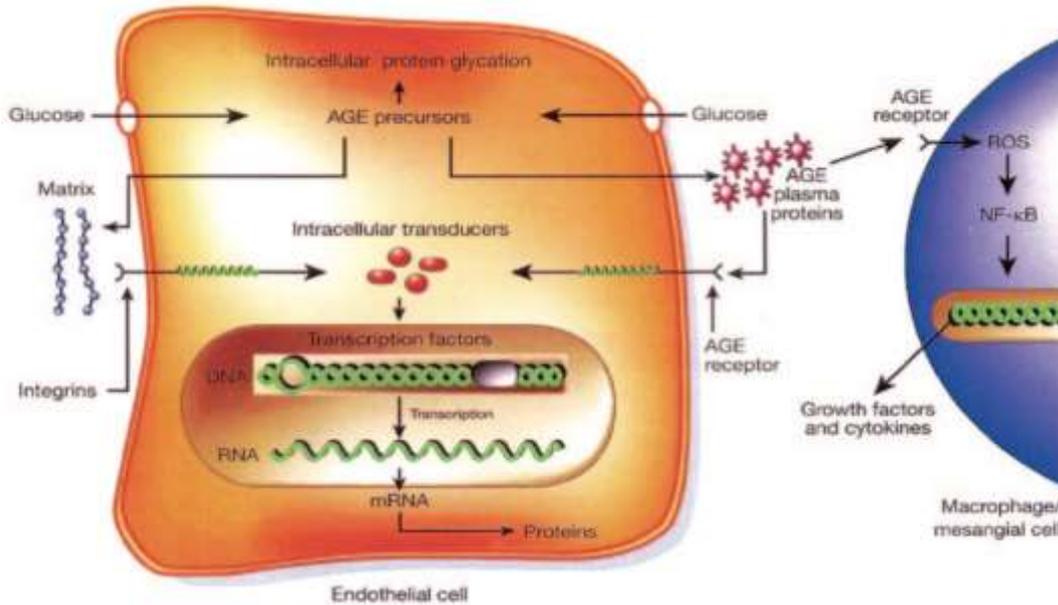


Figura 6 – Formação de Produtos Finais de Glicação Avançada – Retirado de referência 32

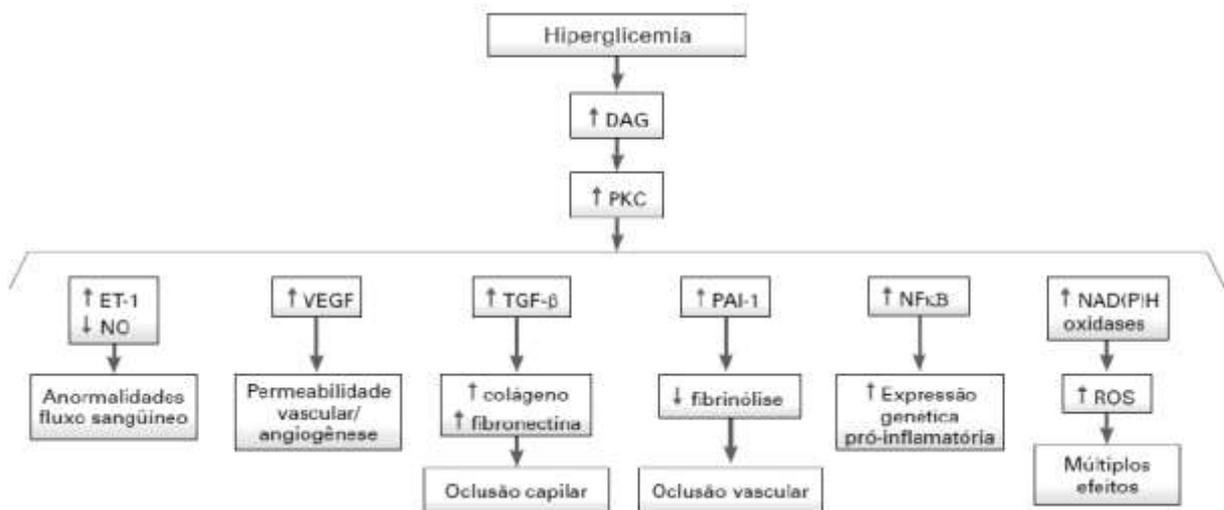


Figura 8 – Ativação da Proteína Cinase C – Adaptado de referência 32

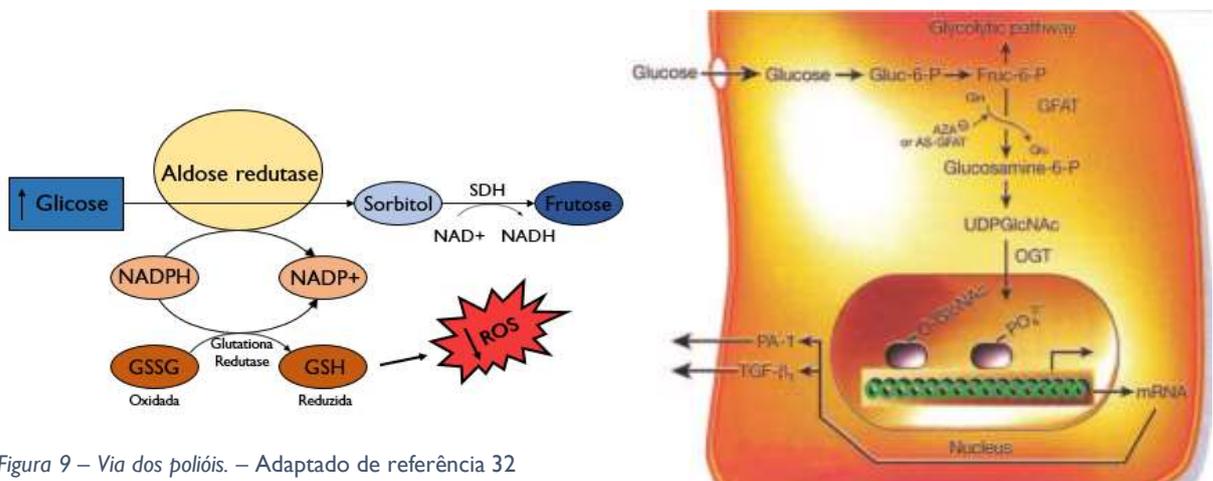


Figura 9 – Via dos polióis. – Adaptado de referência 32

Figura %\$ – Via das hexosaminas - Retirado de referência 32

Anexo 4 – miRNAs envolvidos na sensibilidade e resistência à insulina

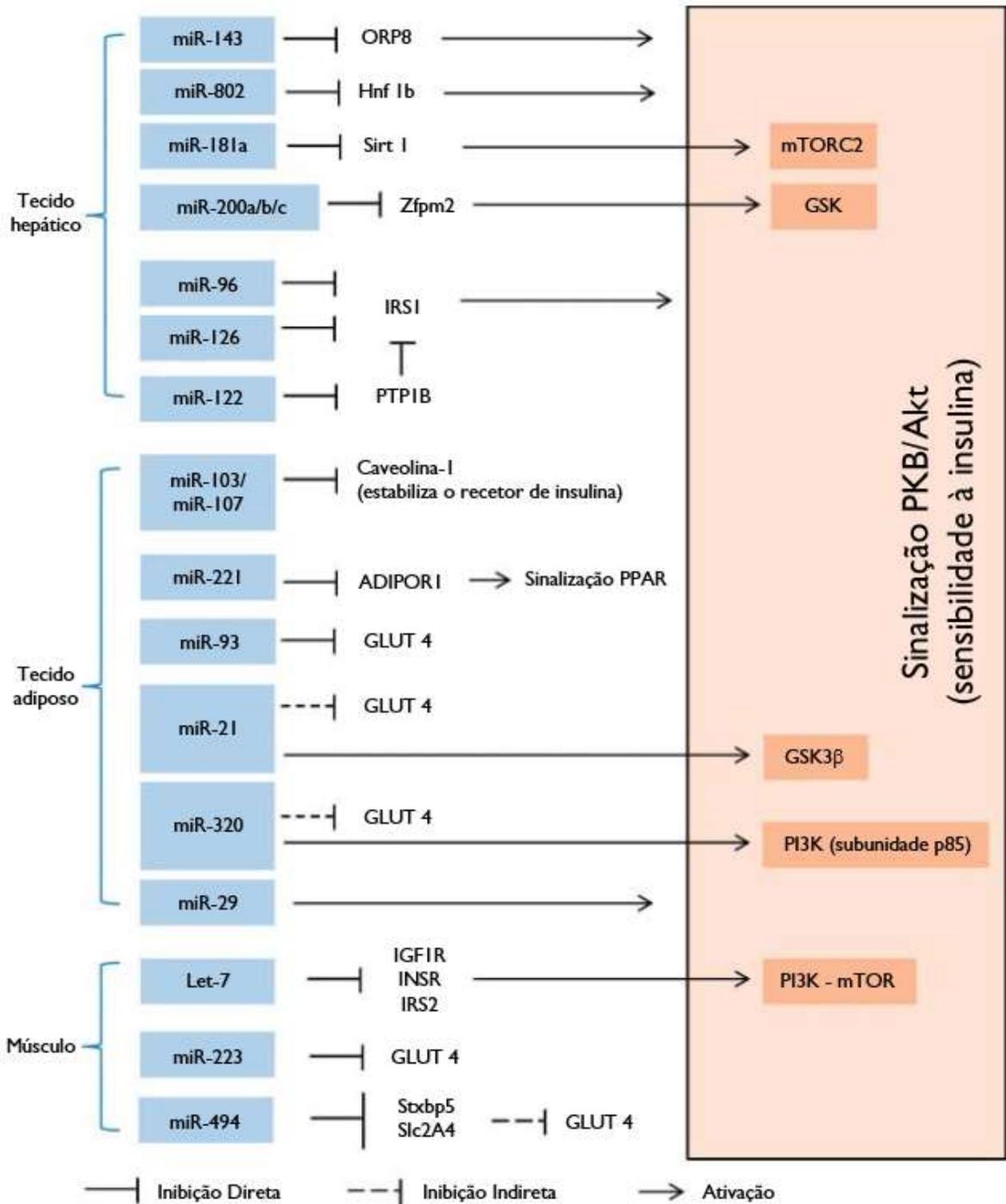


Figura 8 – miRNAs envolvidos na sensibilidade e resistência à insulina. ORP8 – oxysterol-binding protein-related proteins; Hnf1b – hepatocyte nuclear factor 1β; Sirt1 – sirtuin 1; Zfpn2 – zinc finger protein friend of GATA family member 2; IRS1 – insulin receptor substrate 1; PTPIB – protein-tyrosine phosphatase 1B; ADIPOR 1 – Adiponectin receptor 1; PPAR – peroxisome proliferator-activated receptor; GLUT4 – glucose transporter type 4; IGF1R – insulin-like growth factor 1 receptor; INSR – insulin receptor; IRS2 – insulin receptor substrate 2; Stxbp5 – syntaxin-binding protein 5; Slc2A4 – solute carrier family 2 member 4; mTOR – mammalian target of rapamycin; mTORC2 – mTOR complex 2; GSK – glycogen synthase kinase; PI3K – phosphoinositide 3-kinase; PKB – protein kinase B. Adaptado de referência 38

Anexo 5 – Exemplos de miRNAs envolvidos na DMT2

Tabela 3 – Exemplos de microRNAs envolvidos na DMT2 e suas complicações

MicroRNA	Papel na DMT2	Referências
miR-15, miR-28-3p	O nível de miR-15a encontra-se reduzido na DMT2 e esta alteração ocorre ainda antes do início do desenvolvimento da doença, podendo constituir um potencial biomarcador da DMT2.	43
miR-185	Na hiperglicemia, a sua expressão está aumentada. Diminui a expressão do gene da glutationa peroxidase-I que atua na prevenção do stress oxidativo.	63
miR-25	Na DMT2, a expressão deste miRNA no pâncreas encontra-se aumentada. Uma vez que o miR-25 inibe a PTBPI (uma proteína que estabiliza a insulina), o aumento deste miRNA tem como consequência uma redução da secreção da insulina.	64
miR-29	Vários miRNAs desta família regulam a sensibilidade periférica à insulina e os seus níveis estão aumentados no músculo esquelético de indivíduos com DMT2, quando comparados com indivíduos obesos não diabéticos. O miR-29b encontra-se reduzido no plasma de indivíduos com DMT2 e esta alteração ocorre ainda antes do início do desenvolvimento da doença, podendo constituir um potencial biomarcador da DMT2.	43,65
miR-30	O miR-30d demonstra níveis plasmáticos diferentes em grupos de indivíduos com TDG, grupos com DMT2 e grupos de indivíduos saudáveis. O miR-30a apresentou potencial como biomarcador da nefropatia diabética, em indivíduos com DMT2.	35,66
miR-320	O anti-miR-130 normaliza o nível de miR-130, revertendo a deficiente sinalização de insulina.	38
miR-155	Presente em reduzidas concentrações no soro de indivíduos com DMT2, o seu aumento em murganhos está associado a diminuição dos níveis de glicémia e aumento da sensibilidade à insulina em tecidos periféricos como fígado, tecido adiposo e músculo esquelético.	67
let-7	Let-7d demonstra níveis plasmáticos diferentes em grupos de indivíduos com TDG, grupos com DMT2 e grupos de indivíduos saudáveis.	66
miR-504, miR-24	Facilitam a proliferação e migração de células do músculo liso vascular, diminuindo a CD.	68,69
miR-145	Encontra-se diminuído em situações de hiperglicemia, o que leva a um aumento da expressão do gene <i>myocardin</i> e facilita a proliferação de células do músculo liso vascular, diminuindo a CD.	70
miR-181	O anti-miR-181a normaliza o nível de miR-181a, revertendo a deficiente sinalização de insulina. O miR-181b encontra-se reduzido na hiperglicemia e estados de resistência à insulina. Em níveis normais ou aumentados está associado a uma resposta anti-inflamatória M2, que contribui para a redução da aterosclerose. A administração de um análogo de miR-181b em células epiteliais de tecido adiposo de murganhos obesos, levou a uma melhoria na homeostase da glicose e na sensibilidade à insulina.	38,56
miR-126	A sua expressão está diminuída no plasma e miocárdio de indivíduos com DMT2, tendo potencial como biomarcador desta doença. No endotélio desempenha atividades anti-inflamatória e proangiogénica, e potencia a ação do VEGF e do fator de crescimento de fibroblastos e recruta células progenitoras através da quimiocina CXCL12, contribuindo para a integridade vascular e angiogénese. Suprime a inflamação, inibindo o TNF- α , ROS e NADPH oxidase.	43,71–75
miR-200	O miR-200a está envolvido na progressão da nefropatia diabética e os seus níveis diminuem na presença de TGF- β 1. miR-200b e miR-200c são dois dos reguladores principais do mecanismo de apoptose das células-b em modelos de DMT2. A	49,76

	supressão da expressão do miR-200c protege parcialmente as células- <i>b</i> do <i>stress</i> oxidativo e do <i>stress</i> do RE, enquanto que a supressão da expressão de toda a família miR-200 confere elevada proteção contra a apoptose das células- β .	
miR-375	Na DMT2, encontra-se aumentado no pâncreas, contribuindo para a inibição da secreção de insulina e para a diminuição da massa de células <i>b</i> . A inibição da sua expressão dá origem a hiperglicemia e aumento da biossíntese de glicose.	77,78
miR-9	O miR-9 encontra-se aumentado na DMT2. Suprime a secreção de insulina através da regulação dos genes <i>Onecut2</i> , <i>Stxbp1</i> e <i>SIRT-1</i> .	79
miR-204	Na hiperglicemia, a sua expressão está aumentada. Impede a expressão e função do gene <i>SIRT-1</i> , contribuindo para a senescência do endotélio.	80
miR-26	A expressão de miR-26a está diminuída na obesidade, o que contribui para o aumento da síntese de ácidos gordos e complicações relacionadas com a obesidade como a resistência à insulina. O miR-26b foi identificado como um potencial biomarcador circulante para a DMT2.	81,82
miR-21	Identificado como um potencial biomarcador tecidual para a DMT2. Envolvido na progressão da nefropatia diabética, os seus níveis aumentam em presença de AGEs e <i>Smad3</i> .	82–84
miR-146a	O miR-146a foi identificado como um potencial biomarcador tecidual para a DMT2. Constitui um potencial alvo terapêutico no tratamento da retinopatia diabética e, em níveis aumentados, promove a sobrevivência neuronal na neuropatia diabética.	21,82
miR-223, miR-148b, miR-130a, miR-19a	Identificado como um potencial biomarcador circulante para a DMT2.	43,82
miR-143	Estudos em murganhos sugerem que este miRNA está envolvido na regulação do tecido adiposo subcutâneo e no desenvolvimento da DMT2.	85
miR-7	A expressão aumentada na DMT2 leva a hiperglicemia e deficiente secreção de insulina. Ao bloquear a expressão de um precursor deste miRNA (miR-7a2) foi possível aumentar a secreção de insulina, melhorando a tolerância à glicose.	86
miR-27	O miR-27a demonstra níveis plasmáticos diferentes em grupos de indivíduos com TDG, grupos com DMT2 e grupos de indivíduos saudáveis. O miR-27a-3p interfere na regulação da sensibilidade à insulina. O miR-27b foi identificado como um potencial biomarcador circulante para a DMT2.	65,66,82
miR-184, miR-338-3p	Os níveis destes miRNAs alteram-se ainda antes do início do desenvolvimento da DMT2, e quando aumentados, contribuem para o aumento da massa de células- <i>b</i> e a sua função.	77
miR-103	Estudos em murganhos sugerem que este miRNA está envolvido na regulação do tecido adiposo subcutâneo e no desenvolvimento da DMT2. O miR-103b é um regulador negativo da <i>SFRP4</i> , um biomarcador de diagnóstico precoce da DMT2 (biomarcador da pré-diabetes). O miR-103b encontra-se diminuído na pré-diabetes, o que explica os elevados níveis de <i>SFRP4</i> que permitem o diagnóstico da pré-diabetes. Assim, o miR-103b tem potencial como biomarcador precoce da DMT2.	41,85
miR-802	Na DMT2, observa-se, quer em murganhos, quer em humanos, um aumento da expressão do miR-802. Este aumento está associado ao desenvolvimento da resistência à insulina e da TDG, enquanto que a redução da expressão deste miRNA em murganhos obesos melhorou estes dois parâmetros.	51
miR-144	A expressão do miR-144 está aumentada na DMT2 e varia de forma linear com o aumento da glicémia. Sabe-se que este miR-144 regula negativamente o <i>IRS1</i> .	47

miR-34	Na hiperglicemia, a expressão de miR-34a está aumentada. Impede a expressão e função do gene SIRT-1, contribuindo para a senescência do endotélio. O miR-34a pode contribuir para a apoptose das células-β e promover resistência à insulina e está envolvido na nefropatia diabética. Os níveis de miR-34c estão diminuídos na DMT2. Este é um miRNA preditivo da resistência à insulina, não variando com outros parâmetros, incluindo a obesidade.	87-89
miR-18	Os níveis de miR-18a estão aumentados na DMT2. Este é um miRNA preditivo da resistência à insulina, não variando com outros parâmetros, incluindo a obesidade.	89
miR-132	O nível deste miRNA altera-se ainda antes do início do desenvolvimento da DMT2, e quando aumentado, contribui para o aumento da massa de células-β e a sua função. O miR-132 encontra-se diminuído em úlceras crônicas de indivíduos diabéticos, quando comparadas com ferimentos em pele normal. Descobriu-se que a administração local de miR-132 nestas úlceras contribui para a sua cicatrização.	77,90
miR-23	O miR-23a encontra-se significativamente reduzido no soro de indivíduos com DMT2 e pré-diabetes, sendo que é possível distinguir estes dois grupos a partir dos níveis deste miRNA. Demonstrou-se que o miR-23b-3p está associado ao desenvolvimento da retinopatia diabética.	5,21
miR-192	Envolvido na progressão da nefropatia diabética, o seu nível aumenta na presença de Smad3	83
miR-221	Envolvido na progressão da nefropatia diabética, o seu nível aumenta na presença de AGEs	84
miR-205	Protege as células do stress oxidativo e do stress do RE. Tendo como alvo a superóxido dismutase, diminui a concentração de ROS intracelular. Os seus níveis diminuem na presença de AGEs.	91
miR-152-3p	Potencial biomarcador de nefropatia diabética associada a DMT2.	6
miR-195	Injeções intra-vítreas de antimir-195 permitiram diminuir o nível de miR-195 nas células da retina e reduzir a retinopatia em murganhos.	3
miR-206	Encontra-se aumentado no músculo esquelético em indivíduos com DMT2 em comparação com indivíduos obesos não diabéticos. Há evidências de que está negativamente relacionado com a sensibilidade periférica à insulina.	65
miR-486	Há evidências de que poderá ser usado como um alvo terapêutico no tratamento da retinopatia diabética.	21
miR-342	Apresenta potencial como biomarcador da nefropatia diabética, em indivíduos com DMT2.	35
miR-133	Apresenta potencial como biomarcador da nefropatia diabética e complicações cardiovasculares, em indivíduos com DMT2.	21,35
miR-184-5p, miR-190a-5p	Associados à dor neuropática associada à neuropatia diabética.	21
miR-124a	Há evidências de que desempenha um papel importante na regulação da secreção da insulina, estando a sua hiperexpressão nas células-β relacionada com a DMT2.	41
miR-182	Protege os neurónios contra os efeitos nocivos da hiperglicemia, estando envolvido na regeneração nervosa.	21
miR-96	Tem como alvo o IRS, cuja redução está envolvida com a resistência à insulina.	92
miR-122	Encontra-se diminuído em murganhos obesos. Tem como alvo o PTP1B, inibindo a sua ação. Por sua vez, o PTP1B inibe a sinalização hepática de insulina através da desfosforilação de resíduos de tirosina dos recetores de insulina e IRS.	93

Bibliografia

1. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. - **Idf Diabetes Atlas**. 8ª Ed. (2017). ISBN: 978-2-930229-87-4.
2. WARREN, B., PANKOW, J. S., MATSUSHITA, K., PUNJABI, N. M., DAYA, N. R., GRAMS, M., WOODWARD, M. e SELVIN, E. - **Comparative prognostic performance of definitions of prediabetes: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study**. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 5, (2017) 34–42.
3. ROMANO, R. - **MicroRNAs as therapeutic targets for the treatment of diabetes mellitus and its complications**. *Expert Opin. Ther. Targets* 8222, (2018).
4. BERRY, C., LAL, M. e BINUKUMAR, B. K. - **Crosstalk Between the Unfolded Protein Response, MicroRNAs, and Insulin Signaling Pathways: In Search of Biomarkers for the Diagnosis and Treatment of Type 2 Diabetes**. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 9, (2018).
5. YANG, Z., CHEN, H., SI, H., LI, X., DING, X., SHENG, Q., CHEN, P. e ZHANG, H. - **Serum miR-23a, a potential biomarker for diagnosis of pre-diabetes and type 2 diabetes**. *Acta Diabetol.* 51, (2014) 823–831.
6. ROUX, M., PERRET, C., FEIGERLOVA, E., MOHAND OUMOUSA, B., SAULNIER, P.-J., PROUST, C., TRÉGOUËT, D.-A. e HADJADJ, S. - **Plasma levels of hsa-miR-152-3p are associated with diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes**. *Nephrol. Dial. Transplant.* (2018) 1–7 doi:10.1093/ndt/gfx367
7. SONG, I., ROELS, S., MARTENS, G. A. e BOUWENS, L. - **Circulating microRNA-375 as biomarker of pancreatic beta cell death and protection of beta cell mass by cytoprotective compounds**. *PLoS One* 12, (2017) 1–11.
8. SINGH, S., FOTI, D. P., CHEN, C., SESHADRI, V., VAISHYA, S. e SARWADE, R. D. - **MicroRNA, Proteins, and Metabolites as Novel Biomarkers for Prediabetes, Diabetes, and Related Complications**. 9, (2018) 1–12.
9. REGAN, J., VANPUTTE, C. e RUSSO, A. - **Seeley's Essentials of Anatomy & Physiology**. 9ª Ed. Nova Iorque: McGraw-Hill Education, 2016. ISBN: 978-0-07-809732-4

10. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. - **Diagnosis and classification of diabetes mellitus.** *Diabetes Care* 36, (2013) 67–74.
11. TIWARI, J., GUPTA, G., DE JESUS ANDREOLI PINTO, T., SHARMA, R., PABREJA, K., MATTA, Y., ARORA, N., MISHRA, A., SHARMA, R. e DUA, K. - **Role of microRNAs (miRNAs) in the pathophysiology of diabetes mellitus.** *Panminerva Med.* 60, (2018) 25–28.
12. KUMAR, V., ABBAS, K. A. e ASTER, J. C. - **ROBBINS AND COTRAN PATHOLOGIC BASIS OF DISEASE**, 9ª Ed. (2015). ISBN: 978-1-4557-2613-4.
13. KERRU, N., SINGH-PILLAY, A., AWOLADE, P. e SINGH, P. - **Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review.** *Eur. J. Med. Chem.* 152, (2018) 436–488.
14. TAUSCHMANN, M. e HOVORKA, R. - **Technology in the management of type 1 diabetes mellitus — current status and future prospects.** *Nat. Rev. Endocrinol.* (2018) doi:10.1038/s41574-018-0044-y
15. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. - **Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus.** *Norma da Direção Geral da Saúde* (2011) 1–13.
16. JUNIOR, M. and BY DOVE PRESS, PUBLISHED. - **Acute neuromuscular physical exercise promotes responses in whole blood circulating levels of mir-146a among older adults with type 2 diabetes mellitus.** (2017) 1443–1450 doi:10.2147/CIA.S141716.
17. BARKE, T. L., GOLDSTEIN, J. A., SUNDERMANN, A. C., REDDY, A. P., LINDER, J. E., CORREA, H., VELEZ-EDWARDS, D. R. e ARONOFF, D. M. - **Gestational diabetes mellitus is associated with increased CD163 expression and iron storage in the placenta.** *Am. J. Reprod. Immunol.* (2018) doi:https://0-dx-doi-org.wam.leeds.ac.uk/10.1111/aji.13020.
18. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. - **Classification and diagnosis of diabetes.** *Diabetes Care* 40, (2017) S11–S24.
19. FOROUHI, N. G. e WAREHAM, N. J. - **Epidemiology of diabetes.** *Med. (United Kingdom)* 42, (2014) 698–702.
20. AL-MUHTARESH, H. A. e AL-KAJAJI, G. - **Evaluation of Two-Diabetes Related microRNAs Suitability as Earlier Blood Biomarkers for Detecting Prediabetes and type 2 Diabetes Mellitus.** *J. Clin. Med.* 7, (2018).

21. BANERJEE, J., NEMA, V., DHAS, Y. e MISHRA, N. - **Role of MicroRNAs in Type 2 Diabetes and Associated Vascular Complications.** *Biochimie* 139, (2017) 9–19.
22. ZHANG, X., GONG, X., HAN, S. e ZHANG, Y. - **MiR-29b protects dorsal root ganglia neurons from diabetic rat.** *Cell Biochem. Biophys.* 70, (2014) 1105–1111.
23. HATHAWAY, Q. A., PINTI, M. V, DURR, A. J., WARIS, S., SHEPHERD, D. L. e HOLLANDER, J. M. - **Regulating MicroRNA Expression: At the Heart of Diabetes Mellitus and the Mitochondrion.** *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* (2017) doi:10.1152/ajpheart.00520.2017
24. CHAVALI, V., TYAGI, S. C., MISHRA, P. K. e MISHRA, P. K. - **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy Predictors and prevention of diabetic cardiomyopathy.** *Diabetes, Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* 6, (2013) 151–160.
25. VERMA, S. K., GARIKIPATI, V. N. S. e KISHORE, R. - **Mitochondrial dysfunction and its impact on diabetic heart.** *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* 1863, (2017) 1098–1105.
26. HENDRICK, A. M., GIBSON, M. V. e KULSHRESHTHA, A. - **Diabetic Retinopathy.** *Prim. Care - Clin. Off. Pract.* 42, (2015) 451–464.
27. SALTIEL, A. R. e KAHN, C. R. - **Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism.** *Nature* 414, (2001) 799–806.
28. ALEXOPOULOS, N., KATRITSIS, D. e RAGGI, P. - **Visceral adipose tissue as a source of inflammation and promoter of atherosclerosis.** *Atherosclerosis* 233, (2014) 104–112.
29. RIEUSSET, J. - **Contribution of mitochondria and endoplasmic reticulum dysfunction in insulin resistance: Distinct or interrelated roles?** *Diabetes Metab.* 41, (2015) 358–368.
30. PIPERI, C., GOUMENOS, A., ADAMOPOULOS, C. e PAPAVALASSILIOU, A. G. - **AGE/RAGE signalling regulation by miRNAs: Associations with diabetic complications and therapeutic potential.** *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 60, (2015) 197–201.
31. SANAJOU, D., GHORBANI HAGHJO, A., ARGANI, H. e ASLANI, S. - **AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: Current status and future directions.** *Eur. J. Pharmacol.* 833, (2018) 158–164.

32. BROWNLEE, M. - **The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism.** *Diabetes* 54, (2005) 1615–1625.
33. University of Manchester - **miRBase.** [Consultado a 24 de maio de 2018] Disponível em: <http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl>
34. TURCHINOVICH, A., WEIZ, L., LANGHEINZ, A. e BURWINKEL, B. - **Characterization of extracellular circulating microRNA.** *Nucleic Acids Res.* 39, (2011) 7223–7233.
35. SEBASTIANI, G., NIGI, L., GRIECO, G. E., MANCARELLA, F., VENTRIGLIA, G. e DOTTA, F. - **Circulating microRNAs and diabetes mellitus: a novel tool for disease prediction, diagnosis, and staging?** *J. Endocrinol. Invest.* 40, (2017) 591–610.
36. LI, X. - **MiR-375, a microRNA related to diabetes.** *Gene* 533, (2014) 1–4.
37. BUNT, M. VAN DE, GAULTON, K. J., PARTS, L., MORAN, I., JOHNSON, P. R., LINDGREN, C. M., FERRER, J., GLOYN, A. L. e MCCARTHY, M. I. - **The miRNA Profile of Human Pancreatic Islets and Beta- Cells and Relationship to Type 2 Diabetes Pathogenesis.** 8, (2013) 1–7.
38. CHEN, H., LAN, H. Y., ROUKOS, D. H. e CHO, W. C. - **Application of microRNAs in diabetes mellitus.** *J. Endocrinol.* 222, (2014).
39. KOH, E.-H., CHERNIS, N., SAHA, P., XIAO, L., BADER, D., ZHU, B., RAJAPAKSHE, K., HAMILTON, M., LIU, X., PERERA, D., CHEN, X., YORK, B., TRAUNER, M., COARFA, C., BAJAJ, M., MOORE, D., DENG, T., MCGUIRE, S. e HARTIG, S. - **miR-30a remodels subcutaneous adipose tissue inflammation to improve insulin sensitivity in obesity Eun-Hee.** (2018) 2–58.
40. NUNEZ LOPEZ, Y. O., GARUFI, G., PASARICA, M. e SEYHAN, A. A. - **Elevated and Correlated Expressions of miR-24, miR-30d, miR-146a, and SFRP-4 in Human Abdominal Adipose Tissue Play a Role in Adiposity and Insulin Resistance.** *Int. J. Endocrinol.* 2018, (2018) 1–7.
41. SEBASTIANI, G., MANCARELLA, F., VENTRIGLIA, G., NIGI, L., VALENTINI, M., GRIECO, E. e DOTTA, F. - **MicroRNA miR-124a, a negative regulator of insulin secretion, is hyperexpressed in human pancreatic islets of type 2 diabetic patients.** *Rna Dis.* (2015) 1–5 doi:10.14800/rd.593
42. LI, B., FAN, J. e CHEN, N. - **A Novel Regulator of Type II Diabetes: MicroRNA-143.** *Trends Endocrinol. Metab.* 29, (2018) 380–388.

43. ZAMPETAKI, A., KIECHL, S., DROZDOV, I., WILLEIT, P., MAYR, U., PROKOPI, M., MAYR, A., WEGER, S., OBERHOLLENZER, F., BONORA, E., SHAH, A., WILLEIT, J. e MAYR, M. - **Plasma MicroRNA profiling reveals loss of endothelial MiR-126 and other MicroRNAs in type 2 diabetes.** *Circ. Res.* 107, (2010) 810–817.
44. PESCADOR, N., PÉREZ-BARBA, M., IBARRA, J. M., CORBATÓN, A., MARTÍNEZ-LARRAD, M. T. e SERRANO-RÍOS, M. - **Serum Circulating microRNA Profiling for Identification of Potential Type 2 Diabetes and Obesity Biomarkers.** *PLoS One* 8, (2013) 21–23.
45. BELONGIE, K. J., FERRANNINI, E., JOHNSON, K., ANDRADE-GORDON, P., HANSEN, M. K. e PETRIE, J. R. - **Identification of novel biomarkers to monitor β -cell function and enable early detection of type 2 diabetes risk.** *PLoS One* 12, (2017) 1–18.
46. KONG, L., ZHU, J., HAN, W., JIANG, X., XU, M., ZHAO, Y., DONG, Q., PANG, Z., GUAN, Q., GAO, L., ZHAO, J. e ZHAO, L. - **Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: A clinical study.** *Acta Diabetol.* 48, (2011) 61–69.
47. KAROLINA, D. S., ARMUGAM, A., TAVINTHARAN, S., WONG, M. T. K., LIM, S. C., SUM, C. F. e JEYASEELAN, K. - **MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus.** *PLoS One* 6, (2011).
48. DENG, X., LIU, Y., LUO, M., WU, J., MA, R., WAN, Q. e WU, J. - **Circulating miRNA-24 and its target YKL-40 as potential biomarkers in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus.** *Oncotarget* 8, (2017) 63038–63046.
49. BELGARDT, B.-F., AHMED, K., SPRANGER, M., LATREILLE, M., DENZLER, R., KONDRATIUK, N., VON MEYENN, F., VILLENA, F. N., HERRMANN, K., BOSCO, D., KERR-CONTE, J., PATTOU, F., RÜLICHE, T. e STOFFEL, M. - **The microRNA-200 family regulates pancreatic beta cell survival in type 2 diabetes.** *Nat. Med.* 21, (2015) 619–627.
50. JORDAN, S. D., KRÜGER, M., WILLMES, D. M., REDEMANN, N., WUNDERLICH, F. T., BRÖNNEKE, H. S., MERKWIRTH, C., KASHKAR, H., OLKKONEN, V. M., BÖTTGER, T., BRAUN, T., SEIBLER, J. e BRÜNING, J. C. - **Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism.** *Nat. Cell Biol.* 13, (2011) 434–448.

51. KORNFIELD, J. W., BAITZEL, C., KÖNNER, A. C., NICHOLLS, H. T., VOGT, M. C., HERRMANN, K., SCHEJA, L., HAUMAITRE, C., WOLF, A. M., KNIPPSCHILD, U., SEIBLER, J., CEREGHINI, S., HEEREN, J., STOFFEL, M. e BRÜNING, J. C. - **Obesity-induced overexpression of miR-802 impairs glucose metabolism through silencing of Hnf1b.** *Nature* 494, (2013) 111–115.
52. SONG, Y., JIN, D., JIANG, X., LV, C. e ZHU, H. - **Overexpression of microRNA-26a protects against deficient β -cell function via targeting phosphatase with tensin homology in mouse models of type 2 diabetes.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 495, (2018) 1312–1316.
53. FROST, R. J. A. e OLSON, E. N. - **Control of glucose homeostasis and insulin sensitivity by the Let-7 family of microRNAs.** *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, (2011) 21075–21080.
54. LING, H. Y., OU, H. S., FENG, S. D., ZHANG, X. Y., TUO, Q. H., CHEN, L. X., ZHU, B. Y., GAO, Z. P., TANG, C. K., YIN, W. D., ZHANG, L. e LIAO, D. F. - **Changes in microRNA (mir) profile and effects of mir-320 in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes.** *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 36, (2009) 32–39.
55. TRAJKOVSKI, M., HAUSSER, J., SOUTSCHEK, J., BHAT, B., AKIN, A., ZAVOLAN, M., HEIM, M. H. e STOFFEL, M. - **MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity.** *Nature* 474, (2011) 649–653.
56. SUN, X., LIN, J., ZHANG, Y., KANG, S., BELKIN, N., WARA, A. K., ICLI, B., HAMBURG, N. M., LI, D. e FEINBERG, M. W. - **MicroRNA-181b improves glucose homeostasis and insulin sensitivity by regulating endothelial function in white adipose tissue.** *Circ. Res.* 118, (2016) 810–821.
57. COLLARES, C., EVANGELISTA, A., XAVIER, D., RASSI, D., ARNS, T., FROSS-FREITAS, M., FOSS, M., PUTHIER, D., SAKAMOTO-HOJO, E., PASSOS, G. e DONADI, E. - **Identifying common and specific microRNAs expressed in peripheral blood mononuclear cell of type 1, type 2, and gestational diabetes mellitus patients.** *BMC Res. Notes* 6, (2013).
58. KOLE, A. J., SWAHARI, V., HAMMOND, S. M. e DESHMUKH, M. - **miR-29b is activated during neuronal maturation and targets BH3-only genes to restrict apoptosis.** *Genes Dev.* 25, (2011) 125–130.

59. NANDI, S. S. e MISHRA, P. K. - **Targeting miRNA for Therapy of Juvenile and Adult Diabetic Cardiomyopathy.** *1056*, (2018) 1–28.
60. SAHOO, S. e EMANUELI, C. - **Exosomes in diabetic cardiomyopathy: The next-generation therapeutic targets?** *Diabetes* 65, (2016) 2829–2831.
61. WIDLANSKY, M. E., JENSEN, D. M., WANG, J., LIU, Y., GEURTS, A. M., KRIEGEL, A. J., LIU, P., YING, R., ZHANG, G., CASATI, M., CHU, C., MALIK, M., BRANUM, A., TANNER, M. J., TYAGI, S., USA, K. e LIANG, M. - **miR-29 contributes to normal endothelial function and can restore it in cardiometabolic disorders.** *EMBO Mol. Med.* 1, (2018).
62. KÖLLING, M., KAUCSAR, T., SCHAUERTE, C., HÜBNER, A., DETTLING, A., PARK, J., BUSCH, M., WULFF, X., MEIER, M., SCHERF, K., BUKOSZA, N., SZÉNÁSI, G., GODÓ, M., SHARMA, A., HEUSER, M., HAMAR, P., BANG, C., HALLER, H., THUM, T. e LORENZEN, J. - **Therapeutic miR-21 Silencing Ameliorates Diabetic Kidney Disease in Mice.** *Mol. Ther.* 25, (2017) 165–180.
63. LA SALA, L., CATTANEO, M., DE NIGRIS, V., PUJADAS, G., TESTA, R., BONFIGLI, A. R., GENOVESE, S. e CERIELLO, A. - **Oscillating glucose induces microRNA-185 and impairs an efficient antioxidant response in human endothelial cells.** *Cardiovasc. Diabetol.* 15, (2016) 1–9.
64. KAROLINA, D. S., SEPRAMANIAM, S., TAN, H. Z., ARMUGAM, A. e JEYASEELAN, K. - **MiR-25 and miR-92a regulate insulin biosynthesis in rats.** *RNA Biol.* 10, (2013) 1365–1378.
65. DAHLMANS, D., HOUZELLE, A., JÖRGENSEN, J. A., PHIELIX, E., LINDEBOOM, L., HESSELINK, M. K. C., SCHRAUWEN, P. e HOEKS, J. - **Evaluation of muscle microRNA expression in relation to human peripheral insulin sensitivity: A cross-sectional study in metabolically distinct subject groups.** *Front. Physiol.* 8, (2017) 1–10.
66. DE CANDIA, P., SPINETTI, G., SPECCHIA, C., SANGALLI, E., SALA, L. LA, UCCELLATORE, A., LUPINI, S., GENOVESE, S., MATARESE, G. e CERIELLO, A. - **A unique plasma microRNA profile defines type 2 diabetes progression.** *PLoS One* 12, (2017) 1–13.
67. LIN, X., QIN, Y., JIA, J., LIN, T., LIN, X., CHEN, L., ZENG, H., HAN, Y., WU, L., HUANG, S., WANG, M., HUANG, S., XIE, R., LIANG, L., LIU, Y., LIU, R., ZHANG, T., LI, J., WANG, S., SUN, P., HUANG, W., YAO, K., XU, K., DU, T. e XIAO, D. - **MiR-155 Enhances Insulin Sensitivity by Coordinated Regulation of Multiple Genes in Mice.** *PLoS Genet.* 12, (2016) 1–27.

68. REDDY, M. A., DAS, S., ZHUO, C., JIN, W., WANG, M., LANTING, L. e NATARAJAN, R. - **Regulation of vascular smooth muscle cell dysfunction under diabetic conditions by MIR-504.** *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36, (2016) 864–873.
69. YANG, J., CHEN, L., DING, J., FAN, Z., LI, S., WU, H., ZHANG, J., YANG, C., WANG, H., ZENG, P. e YANG, J. - **MicroRNA-24 inhibits high glucose-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration by targeting HMGB1.** *Gene* 586, (2016) 268–273.
70. CORDES, K. R., SHEEHY, N. T., WHITE, M. P., BERRY, E. C., MORTON, S. U., MUTH, A. N., LEE, T. H., MIANO, J. M., IVEY, K. N. e SRIVASTAVA, D. - **MiR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity.** *Nature* 460, (2009) 705–710.
71. WANG, S., AURORA, A. B., JOHNSON, B. A., QI, X., MCANALLY, J., HILL, J. A., RICHARDSON, J. A., BASSEL-DUBY, R. e OLSON, E. N. - **The Endothelial-Specific MicroRNA miR-126 Governs Vascular Integrity and Angiogenesis.** *Dev. Cell* 15, (2008) 261–271.
72. FISH, J. E., SANTORO, M. M., MORTON, S. U., YU, S., YEH, R. F., WYTHER, J. D., IVEY, K. N., BRUNEAU, B. G., STAINIER, D. Y. R. e SRIVASTAVA, D. - **miR-126 Regulates Angiogenic Signaling and Vascular Integrity.** *Dev. Cell* 15, (2008) 272–284.
73. ZERNECKE, A., BIDZHEKOV, K., NOELS, H., SHAGDARSUREN, E., GAN, L., DENECKE, B., HRISTOV, M., KÖPPEL, T., JAHANTIGH, M. N., LUTGENS, E., WANG, S., OLSON, E. N., SCHÖBER, A. e WEBER, C. - **Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection.** *Sci. Signal.* 2, (2009).
74. TANG, S. TAO, WANG, F., SHAO, M., WANG, Y. e ZHU, H. QING. - **MicroRNA-126 suppresses inflammation in endothelial cells under hyperglycemic condition by targeting HMGB1.** *Vascul. Pharmacol.* 88, (2017) 48–55.
75. RAWAL, S., MUNASINGHE, P. E., SHINDIKAR, A., PAULIN, J., CAMERON, V., MANNING, P., WILLIAMS, M. J. A., JONES, G. T., BUNTON, R., GALVIN, I. e KATARE, R. - **Down-regulation of proangiogenic microRNA-126 and microRNA-132 are early modulators of diabetic cardiac microangiopathy.** *Cardiovasc. Res.* 113, (2017) 90–101.
76. KATO, M., CASTRO, N. E. e NATARAJAN, R. - **MicroRNAs: Potential mediators and biomarkers of diabetic complications.** *Free Radic. Biol. Med.* 64, (2013) 85–94.

77. DISTEFANO, J. K. - **Beyond the Protein-Coding Sequence: Noncoding RNAs in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes.** *Rev. Diabet. Stud.* 12, (2015) 260–276.
78. POY, M. N., HAUSSER, J., TRAJKOVSKI, M., BRAUN, M., COLLINS, S., RORSMAN, P., ZAVOLAN, M. e STOFFEL, M. - **miR-375 maintains normal pancreatic β -cell mass.** *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, (2009) 5813–5818.
79. HU, D., WANG, Y., ZHANG, H. e KONG, D. - **Identification of miR-9 as a negative factor of insulin secretion from beta cells.** *J. Physiol. Biochem.* 74, (2018) 291–299.
80. VIKRAM, A., KIM, Y. R., KUMAR, S., LI, Q., KASSAN, M., JACOBS, J. S. e IRANI, K. - **Vascular microRNA-204 is remotely governed by the microbiome and impairs endothelium-dependent vasorelaxation by downregulating Sirtuin1.** *Nat. Commun.* 7, (2016) 1–9.
81. FU, X., DONG, B., TIAN, Y., LEFEBVRE, P., MENG, Z., WANG, X., PATTOU, F., HAN, W., WANG, X., LOU, F., JOVE, R., STAELS, B., MOORE, D. D. e HUANG, W. - **MicroRNA-26a regulates insulin sensitivity and metabolism of glucose and lipids.** *J. Clin. Invest.* 125, (2015) 2497–2509.
82. LIANG, Y.-Z., LI, J.-J.-H., XIAO, H.-B., HE, Y., ZHANG, L. e YAN, Y.-X. - **Identification of stress-related microRNA biomarkers in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis.** *J. Diabetes* (2018) doi:10.1111/1753-0407.12643
83. LAN, H. Y. - **Transforming growth factor- β /Smad signalling in diabetic nephropathy.** *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 39, (2012) 731–738.
84. FIORENTINO, L., CAVALERA, M., MAVILIO, M., CONSERVA, F., MENGHINI, R., GESUALDO, L. e FEDERICI, M. - **Regulation of TIMP3 in diabetic nephropathy: A role for microRNAs.** *Acta Diabetol.* 50, (2013) 965–969.
85. ROME, S. - **Are extracellular microRNAs involved in type 2 diabetes and related pathologies?** *Clin. Biochem.* 46, (2013) 937–945.
86. LATREILLE, M., HAUSSER, J., STÜTZER, I., ZHANG, Q., HASTOY, B., GARGANI, S., KERR-CONTE, J., PATTOU, F., ZAVOLAN, M., ESGUERRA, J. L. S., ELIASSON, L., RÜLICHE, T., RORSMAN, P. e STOFFEL, M. - **MicroRNA-7a regulates pancreatic β cell function.** *J. Clin. Invest.* 124, (2014) 2722–2735.

87. ARUNACHALAM, G., LAKSHMANAN, A. P., SAMUEL, S. M., TRIGGLE, C. R. e DING, H. - **Molecular Interplay between microRNA-34a and Sirtuin1 in Hyperglycemia-Mediated Impaired Angiogenesis in Endothelial Cells: Effects of Metformin.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 356, (2016) 314–323.
88. SHEN, Y., XU, H., PAN, X., WU, W., WANG, H., YAN, L., ZHANG, M., LIU, X., XIA, S. e SHAO, Q. - **miR-34a and miR-125b are upregulated in peripheral blood mononuclear cells from patients with type 2 diabetes mellitus.** *Exp. Ther. Med.* 14, (2017) 5589–5596.
89. WANG, S. S., LI, Y. Q., LIANG, Y. Z., DONG, J., HE, Y., ZHANG, L. e YAN, Y. X. - **Expression of miR-18a and miR-34c in circulating monocytes associated with vulnerability to type 2 diabetes mellitus and insulin resistance.** *J. Cell. Mol. Med.* 21, (2017) 3372–3380.
90. LI, X., LI, D., WANG, A., CHU, T., LOHCHAROENKAL, W., ZHENG, X., GRÜNLER, J., NARAYANAN, S., ELIASSON, S., HERTER, E., WANG, Y., MA, Y., EHRSTRÖM, M., EIDSMO, L., KASPER, M., PIVARCSI, A., SONKOLY, E., CATRINA, S., STÄHLE, M. e XU LANDÉN, N. - **MicroRNA-132 with Therapeutic Potential in Chronic Wounds.** *J. Invest. Dermatol.* 137, (2017) 2630–2638.
91. MURATSU-IKEDA, S., NANGAKU, M., IKEDA, Y., TANAKA, T., WADA, T. e INAGI, R. - **Downregulation of miR-205 modulates cell susceptibility to oxidative and endoplasmic reticulum stresses in renal tubular cells.** *PLoS One* 7, (2012).
92. RYU, H. S., PARK, S. Y., MA, D., ZHANG, J. e LEE, W. - **The induction of microrna targeting IRS-I is involved in the development of insulin resistance under conditions of mitochondrial dysfunction in hepatocytes.** *PLoS One* 6, (2011).
93. YANG, Y. M., SEO, S. Y., KIM, T. H. e KIM, S. G. - **Decrease of microRNA-122 causes hepatic insulin resistance by inducing protein tyrosine phosphatase 1B, which is reversed by licorice flavonoid.** *Hepatology* 56, (2012) 2209–2220.