

Tratamento com pioglitazona está associado à diminuição de miR-23b e miR-222 no músculo esquelético de camundongos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica.

Mariana de Mendonça^{1*}, Karina C. Rocha², Flávia T. Frias³, Alice C. Rodrigues⁴

1. Estudante de IC do Depto. de Farmacologia, ICB-USP, São Paulo/SP; *mariana2.mendonca@usp.br

2. Estudante de IC do Depto. de Farmacologia, ICB-USP, São Paulo/SP;

3. Mestranda do Depto. de Farmacologia, ICB-USP, São Paulo/SP;

4. Professora Doutora do Depto. de Farmacologia, ICB-USP, São Paulo/SP

Palavras Chave: *microRNAs, pioglitazona, obesidade*

Introdução

A pioglitazona é um hipoglicemiante oral usado no tratamento do diabetes tipo 2, o qual melhora a sensibilidade à insulina nos tecidos alvos. Embora o tecido adiposo pareça constituir seu principal alvo, estudos clínicos e pré-clínicos apontam o músculo esquelético também como um alvo. Porém, ainda é desconhecido se a melhora da resistência à insulina no músculo esquelético com o uso de pioglitazona é um efeito direto ou indireto, mediado pela adiponectina. Os genes da adiponectina (*Adipoq*) e seus receptores (*AdipoR1/AdipoR2*) parecem ser regulados por microRNAs (miRs), em especial miR-23b, miR-221 e miR-222, portanto o objetivo do trabalho foi avaliar no músculo esquelético de camundongos C57Bl/6 alimentados com dieta hiperlipídica na ausência e presença de pioglitazona a expressão de miR-23b, miR-221, miR-222 e correlacionar com a expressão de RNAm de *AdipoR1/R2*, adiponectina e genes envolvidos com a função mitocondrial (*PgC1-alfa*, *Cpt1-b*, *Ucp3*).

Resultados e Discussão

Camundongos machos da linhagem C57BL/6 (n=30), com 8 semanas e $\pm 20g$ foram alimentados com dieta balanceada (grupo C) ou hiperlipídica (grupo H) durante 6 semanas para indução de obesidade e então parte dos camundongos do grupo H foi tratado por mais 2 semanas com pioglitazona 35mg/kg/dia (grupo HP). Ao final do tratamento, a resistência à insulina foi avaliada pelo teste de tolerância à insulina (ITT). Posteriormente, os animais foram eutanasiados e o músculo sóleo foi coletado para análise de expressão de miRs pela técnica miRCURY LNA e de mRNA por Real-Time PCR. Os dados foram analisados por One-way Anova seguido do pós-teste de Tukey.

A análise de expressão dos miRs no músculo sóleo do grupo H mostrou que miR-23b e miR-222 tiveram expressão aumentada em relação ao grupo C e o tratamento com pioglitazona reverteu a expressão a níveis semelhantes a do grupo C: miR-222 (C: $1,00 \pm 0,02$ vs H: $1,57 \pm 0,05$ vs HP: $0,88 \pm 0,03$; $p < 0,05$), miR-23b (C: $1,00 \pm 0,03$ vs H: $1,6 \pm 0,02$ vs HP: $1,13 \pm 0,01$; $p < 0,05$). Em relação ao mRNA, a expressão do gene *Adipoq*, *PgC1-alfa*, *Ucp3* e *AdipoR1* foi diminuída no músculo sóleo do grupo H e a pioglitazona aumentou a expressão de *Adipoq* (C: $1,00 \pm 0,06$ vs H: $0,49 \pm 0,08$ vs HP: $2,14 \pm 0,07$; $p < 0,05$), *PgC1-alfa* (C: $1,00 \pm 0,04$ vs H: $0,6 \pm 0,02$ vs HP: $1,14 \pm 0,02$; $p < 0,05$), *Cpt1-b* (C: $1,00 \pm 0,02$ vs H: $0,81 \pm 0,03$ vs HP: $1,45 \pm 0,05$; $p < 0,05$) *Ucp3* (C: $1,00 \pm 0,04$ vs H: $0,65 \pm 0,03$ vs HP: $1,05 \pm 0,02$; $p < 0,05$) e *AdipoR2* (C: $1,00 \pm 0,04$ vs H: $0,73 \pm 0,05$ vs HP: $1,37 \pm 0,03$; $p < 0,05$) no grupo HP.

O receptor *AdipoR1* é conhecido por ser expresso

predominantemente em tecido muscular e ter maior afinidade para adiponectina globular que a íntegra, enquanto que *AdipoR2* é conhecido por se expressar especialmente no fígado e parece ter igual afinidade para ambas as formas. A adiponectina para que se torne globular precisa passar pela ação de elastases, portanto é possível que a adiponectina produzida no músculo dos animais do grupo HP, por ter uma ação local, permaneça na sua forma íntegra, o que induziria um aumento dos receptores *AdipoR2*.

Diante dos resultados apresentados, análises de correlação de expressão dos RNAm e dos microRNAs foram feitas. Encontramos correlação na expressão de miR-23b com *PGC1 alfa*, e *AdipoR2* e também uma correlação de expressão de miR-222 com *AdipoR2*, portanto é possível que nos animais do grupo H a resistência à insulina observada esteja relacionada com um aumento de expressão desses microRNAs o que acarreta na diminuição da ação da adiponectina no músculo esquelético.

No entanto no grupo HP, com o tratamento, esses microRNAs tem sua expressão diminuída, portanto sendo a pioglitazona um sensibilizador da ação da insulina nos tecidos alvos, é possível que através da regulação da expressão dos microRNAs miR-222 e miR-23b, esse fármaco aumente a expressão de adiponectina e provavelmente seu receptor *AdipoR2* no músculo esquelético e melhore a sinalização de adiponectina, via aumento da beta-oxidação, utilização da glicose e conseqüentemente, melhora da sensibilidade à insulina.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram que o tratamento com pioglitazona levou ao aumento de expressão de adiponectina no músculo esquelético, o que sugere que esse fármaco também apresenta ação direta no músculo. Além disso, o tratamento melhorou a resistência à insulina periférica nos camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e essa melhora parece estar associada a um aumento de expressão de adiponectina e deu seu receptor *AdipoR2* e diminuição de miR-222 e miR-23b no músculo esquelético.

Agradecimentos

Instituição de fomento: FAPESP

Rabol, R. et al. Opposite effects of pioglitazone and rosiglitazone on mitochondrial respiration in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* 12,806–814 (2010).

Lustig Y, Barhod E, Ashwal-Fluss R, et al. RNA-binding protein PTB and microRNA-221 coregulate *AdipoR1* translation and adiponectin signaling. *Diabetes* ;63:433–445 (2014).