

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

Renata D'Alpino Peixoto

**Expressão dos micro-RNAs-19a, -24, -25, -29a e -483 no
soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas
com diabetes mellitus**

SÃO PAULO

2020

Renata D'Alpino Peixoto

**Expressão dos micro-RNAs-19a, -24, -25, -29a e -483 no
soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas
com diabetes mellitus**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade Nove de Julho – UNINOVE,
para obtenção do título de Doutor em Ciências
da Saúde

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia
Cardillo Corrêa Giannella.

SÃO PAULO

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Peixoto, Renata D'Alpino.

Expressão dos micro-RNAs-19a, -24, -25, -29a e -483 no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus. / Renata D'Alpino Peixoto. 2020.

106 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2020.

Orientador (a): Prof. Dr. Maria Lúcia Cardillo Corrêa Giannella.

1. Adenocarcinoma ductal de pâncreas. 2. Diabetes mellitus. 3. Micro-RNA. 4. Biomarcador.

I. Giannella, Maria Lúcia Cardillo Corrêa. II. Título

CDU 616



São Paulo 04 de dezembro de 2020

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: **RENATA D'ALPINO PEIXOTO**

Titulo da tese: **EXPRESSÃO DOS MICRO RNAs – 19a – 24 – 25 -29a E – 483 NO SORO DE PACIENTES PORTADORES DE ADENOCARCINOMA DE PÂNCREAS COM DIABETES MELLITUS.**

Presidente: PROFA. DRA. MARIA LUCIA CARDILLO CORRÊA GIANNELLA *Maria Lucia*

Membro: PROF. DR. RAMON ANDRADE BEZERRA DE MELLO _____

Membro: PROF. DR. CLEBER PINTO CAMACHO *Cleber Pinto*

Membro: PROF. DR. ALEXANDRE JÁCOME *Alexandre Jácome*

Membro: PROFA. DRA. JULIANA FLORINDA DE MENDONÇA RÉGO *Juliana Florinda M. Rego*

*Dedico esta tese a Deus, aos meus pais, familiares,
amigos e pacientes*

Agradeço ao Prof. Dr. Daniel Giannella Neto (in memoriam) que me ajudou com as ideias iniciais e os primeiros passos desta tese, sempre com bom-humor e presteza, e à minha orientadora, Prof. Dra. Maria Lúcia Cardillo Corrêa Giannella, que carinhosamente assumiu o árduo trabalho de me guiar na execução e conclusão desta tese. Hoje posso ser considerada uma Maluna e compartilho com os demais a felicidade de ter conhecido esta pessoa e pesquisadora incrível, que soube com maestria ora apertar e ora aliviar os passos desta caminhada chamada doutorado.

Aos amigos José Antônio Januário Neves e Mozania Reis, que sempre me incentivaram e ajudaram com as questões iniciais do projeto, além de terem sido grandes companheiros de créditos cumpridos.

Aos queridos pacientes e aos controles saudáveis que doaram material para a realização deste trabalho.

A todos os pacientes que me ensinaram muito mais do que Medicina.

A todos os funcionários, enfermeiras e auxiliares ou técnicos de enfermagem que contribuíram gentilmente para a coleta das amostras.

A Talita Bernardo pela ajuda com a formatação da tese.

A Daniele Pereira dos Santos e ao Prof. Cleber Camacho pelo socorro com as questões estatísticas.

Ao Luiz Henrique Gomes Matheus pela ajuda com a execução da análise das expressões dos micro-RNAs.

Ao Jefferson Rios Pimenta pela amizade e ajuda com a coleta de sangue dos pacientes internados.

Ao Carlos Donnarumma pelas manhãs de sábado correndo para lá e para cá com gelo seco, entre cafés e pães-de-queijo.

Aos Profs. Drs. Ramon de Mello e Alexandre Jacome que foram de enorme contribuição no exame de qualificação.

À FAPESP pelo financiamento do projeto.

Aos meus queridos amigos (impossível citar todos) que durante essa etapa me acompanharam e apoiaram, por vezes compartilhando taças de vinho ou xícaras de café.

A toda minha incrível família que sempre acreditou no meu potencial e me incentivou a me tornar uma Doutora. Vocês sempre foram exemplo de honestidade, trabalho duro e amor incondicional. Obrigada especialmente a Rogéria D'Alpino Peixoto (melhor mãe do mundo), Jeffrey José Vieira Peixoto (pai exemplar), Rafael D'Alpino Peixoto (irmão, que sempre ficava incrédulo com tanto tempo da minha juventude dedicado aos estudos), Tatiane Soave (cunhada), Renato D'Alpino e Luiz Gonzaga Peixoto (avós, in memoriam, meus grandes exemplos a me guiar lá de cima), Dilza Angelo D'Alpino e Adalva Vieira Peixoto (avós, que sempre foram modelos de dedicação), tios (Silvana Gonçalves D'Alpino e Rui Eduardo D'Alpino, que sempre me incentivaram profissionalmente) e padrinhos (Hiroshi Maeda e Dilma Morita Maeda, que desde minha infância acreditaram que eu poderia chegar lá).

Aos meus cachorros Theodoro e Jorge pelo companheirismo e lambidas, tão essenciais para manter a sanidade mental. E aos que já se foram, mas continuam vivos em meu coração, Ana Carolina, Max, Sarah e Kate.

RESUMO

Introdução: O adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) é um dos tipos mais letais de câncer e suas manifestações clínicas geralmente ocorrem em fase já avançada da doença, quando as chances de cirurgia e cura são pequenas. Até o presente momento, não há indicação de rastreamento para CaP na população geral assintomática, mas sabe-se que, embora o diabetes mellitus (DM) tipo 2 (DM2) de longa duração seja um fator de risco modesto para CaP, o DM de início recente pode ser considerado um possível marcador desta neoplasia, evidenciando uma relação bidirecional entre o CaP e o DM.

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão dos micro-RNAs (miRs) -19a, -24, -25, -29a e -483, previamente identificados como potenciais biomarcadores de CaP em indivíduos com DM de início recente, no soro de pacientes com CaP e DM de início recente em comparação a indivíduos com DM2 de longa duração e a indivíduos sem essas duas condições clínicas.

Casuística e Método: Foram incluídos 44 indivíduos com CaP (21 com DM de início recente, 9 com DM de longa duração, 1 com duração do DM desconhecida e 13 sem DM), 35 indivíduos com DM2 de longa duração e 35 indivíduos Controle sem essas duas condições clínicas. Sangue periférico foi coletado para quantificação dos miRs pela técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativa pós transcrição reversa (RT-qPCR).

Resultados: Os miRs-24 e -29a foram mais expressos no soro de indivíduos com CaP em comparação aos indivíduos com DM2 e aos indivíduos Controle. Os miRs-19a e 25 foram mais expressos no soro de indivíduos Controle em comparação aos indivíduos com CaP e com DM2. Não foram observadas diferenças na expressão do miR-483 entre os três grupos. A comparação entre indivíduos com CaP e DM de início recente e indivíduos com DM2 evidenciou maior expressão dos miRs-24 e -29a no primeiro grupo, com perda da significância estatística após ajuste para as variáveis confundidoras. A análise das curvas ROC após ajuste para o índice de massa corpórea evidenciou áreas sob as curvas com valores superiores a 0,853 para os cinco miRs.

Conclusões: Os miRs-24 e miR-29a foram mais expressos no soro de pacientes com CaP e DM de início recente em comparação a indivíduos com DM2; eles também foram mais expressos na população total de indivíduos com CaP em comparação aos indivíduos com DM2 e aos indivíduos Controle. Os resultados das curvas ROC sugerem que os cinco miRs avaliados possam ser usados para discriminar DM de início recente associado ao CaP de DM2.

Palavras-chave: Adenocarcinoma ductal de pâncreas, Diabetes mellitus, Micro-RNA, Biomarcador

ABSTRACT

Background: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA) is one of the most lethal types of cancer and its clinical manifestations usually occur at an advanced stage of the disease, when the chances of surgery and cure are low. To date, there is no indication of screening for PDA in the asymptomatic general population, but it is known that, although long-term type 2 diabetes (T2D) is a modest risk factor for PDA, new-onset diabetes (DM) can be considered a possible marker of this neoplasm, showing a bidirectional relationship between PDA and DM.

Aims: The aim of the present study was to evaluate the expression of micro-RNAs (miRs) -19a, -24, -25, -29a and -483, previously identified as potential PDA biomarkers in individuals with new-onset DM, in the serum of individuals with PDA and new-onset DM compared to individuals with long-term DM2 and to individuals without these two clinical conditions.

Methods: 44 individuals with PDA (21 with new-onset DM, 9 with long-term DM, 1 with DM of unknown duration, and 13 without DM), 35 individuals with long-term T2D and 35 Control individuals without these clinical conditions were included. Peripheral blood was collected to quantify the miRs by quantitative polymerase chain reaction after reverse transcription (RT-qPCR).

Results: MiRs-24 and -29a were more expressed in the serum of individuals with PDA compared to individuals with T2D and to Control individuals. MiRs-19a and -25 were more expressed in the serum of Control individuals compared to individuals with PDA and with T2D. There were no differences in miR-483 expression among the three groups. The comparison between individuals with PDA and new-onset DM and individuals with T2D showed a greater expression of miRs-24 and -29a in the first group, with loss of statistical significance after adjustment for confounding variables. The analysis of the ROC curves after adjusting for the body mass index showed areas under the curves with values greater than 0.853 for the five miRs.

Conclusions: MiRs-24 and -29a were more expressed in the serum of individuals with PDA and new-onset DM compared to individuals with T2D; they were also more expressed in the total population of individuals with PDA in

comparison to individuals with T2D and to Control individuals. The results of the ROC curves suggest that the five evaluated miRs could be used to discriminate new-onset DM associated with PDA from DM2.

Keywords: Pancreatic ductal adenocarcinoma, Diabetes mellitus, MicroRNA, biomarker

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos três grupos de indivíduos incluídos no presente estudo.	36
Tabela 2. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos com adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) de acordo com o status do diabetes mellitus (DM).....	37
Tabela 3. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos com adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) de acordo com a data de diagnóstico do diabetes mellitus (DM).....	38
Tabela 4. Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos com adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) e diabetes mellitus (DM) de início recente e o Grupo com diabetes mellitus tipo 2 (DM2).	39
Tabela 5. Correlações que apresentaram significância estatística quando toda a população estudada foi analisada	51
Tabela 6. Correlações que apresentaram significância estatística quando apenas o Grupo com diabetes mellitus tipo 2 foi analisado.	51
Tabela 7. Correlações que apresentaram significância estatística quando apenas o Grupo com adenocarcinoma de pâncreas foi analisado.	52
Tabela 8. Correlações que apresentaram significância estatística quando apenas o Grupo Controle foi analisado.....	52
Tabela 9. Valores das áreas sob as curvas (ASC) obtidas nas curvas ROCs para cada um dos micro-RNAs estudados.	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP), Controle e com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 2. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos Controle e com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 3. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos Controle e com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 4. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos DM2 e com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 5. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP) com e sem DM. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 6. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP) sem DM, com DM e o Grupo DM2. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 7. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP) com DM de longa data e CaP com DM de início recente. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 8. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os Grupos com diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas (CaP) com DM recente e DM2. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 9 . Expressão normalizada dos micro-RNAs nos participantes com tabagismo atual ou prévio e sem tabagismo. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 10. Expressão normalizada dos micro-RNAs entre os participantes com e sem diabetes mellitus..... **Erro! Indicador não definido.**
Figura 11. Curvas ROC ajustadas para o IMC para cada um dos micro-RNAs estudados.....54

LISTA DE ABREVIATURAS

3'UTR	Região 3' não traduzida
ABI2	Interator Abl 2
AGEs	Produtos finais de glicação avançada
AGO2	Argonauta 2
AKT	Proteína cinase B
ASC	Área sob a curva
CA	Circunferência abdominal
CA 19-9	Antígeno carboidrato 19-9
CaP	Adenocarcinoma ductal de pâncreas
cDNA	DNA complementar
CEA	Antígeno carcinoembriogênico
Ct	Limiar de ciclo
DGCR8	Região crítica da síndrome de DiGeorge no gene 8
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
ECOG	Grupo Oncológico do Leste Europeu

EMT	Transição epitélio-mesênquima
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERK	Cinase reguladora de sinal extra-celular
EUA	Estados Unidos da América
FAM3D	Família com similaridade de sequência 3, membro D
GDNF	Fator neurotrópico derivado das células gliais
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIF1	Fator induzido por hipóxia 1
HOMA-IR	Avaliação do modelo homeostático
IC	Intervalo de confiança
IGF1	Fator de crescimento semelhante à insulina 1
IL1 β	Interleucina 1 beta
IL6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corpórea
JAK2	Proteína janus cinase 2
KI67	Antígeno KI-67
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LLC-B	Leucemia linfocítica crônica de células B
MAPK	Proteínas cinases ativadas por mitógenos
MCP1	Proteína quimioatraente de monócito – 1
miR	Micro-RNA
MMP13	Metaloproteinase de matriz 13

mRNA	RNA mensageiro
mTOR	Alvo da rapamicina em mamíferos
NFκB	Fator nuclear kappa B
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinase
pré-miR	Precursor micro-RNA
pri-miR	micro-RNA primitivo
PTBP1	Proteína ligadora do trato de polipirimidina 1
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa
RAGE	Receptor de produtos finais de glicação avançada
RET	Receptor tirosina-cinase reorganizado durante a transfecção
RHOB	Membro da família homóloga Ras B
RISC	Complexo silenciador induzido por RNA
RKRA/PACT	Ativador dependente de RNA de fita dupla induzível por interferon
RNase III	Complexo microprocessador Drosha
ROC	Características operacionais do receptor
rpm	Rotações por minuto
RR	Risco relativo
RT-qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa pós transcrição reversa
S100A9	Proteína ligadora de cálcio S100A9
STAT3	Transdutores de sinal e ativadores da transcrição 3
SOCS3	Supressor da sinalização de citoquina 3
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido

TGFβ1	Fator de crescimento transformante beta 1
TLDA	Matrizes de baixa densidade TaqMan
TNF	Fator de necrose tumoral
TRBP	Proteína ligadora de RNA de resposta à transativação
UBS	Unidade básica de saúde
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	DM2 como fator de risco para CaP	20
1.2.	DM como marcador do CaP	24
1.3.	Micro-RNAs séricos como potenciais marcadores de DM secundário a CaP	25
2.	OBJETIVO	29
3.	CASUÍSTICA E MÉTODOS	30
3.1	Casuística	30
3.2	Métodos.....	32
4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5.	RESULTADOS	35
5.1.	Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos três grupos de pacientes.....	35
5.2	Características demográficas, clínicas e bioquímicas do Grupo CaP de acordo com o status do DM	36
5.3.	Perfil de miRs séricos	39
	A reação para amplificação do miR-20a foi realizada com duas sondas fornecidas pela empresa, mas não resultou em amplificação em nenhuma das amostras estudadas, possivelmente por problemas relacionada à sonda. Por essa razão, serão apresentados os resultados para os miRs-19a, -24, -25, -29a e 483.....	39
5.3.1	Comparação entre os três Grupos (Controle, DM2 e CaP)	40
5.3.2	Comparação entre os Grupos Controle e DM2	41
5.3.3.	Comparação entre os Grupos Controle e CaP.....	42
5.3.4.	Comparação entre os Grupos DM2 e CaP	43
5.3.5.	Comparação entre os Grupos CaP com DM e CaP sem DM.....	44
5.3.6.	Comparação entre os Grupos CaP com DM, CaP sem DM e DM2 ...	45

5.3.7. Comparação entre os Grupos CaP com DM de início recente e CaP com DM de longa data	46
5.3.8. Comparação entre os Grupos CaP com DM de início recente e DM2	47
5.3.9. Comparação entre os participantes classificados de acordo com o status do tabagismo e do DM.....	48
5.4 Correlações entre as variáveis demográficas, clínicas e bioquímicas e os miRs	50
6. DISCUSSÃO.....	555
7. CONCLUSÕES	655
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	666
ANEXOS	81
APÊNDICE	1066

1. INTRODUÇÃO

Entre os carcinomas pancreáticos não-endócrinos, 76% correspondem ao adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) (1). Esta neoplasia caracteriza-se por diferenciação ductal (2) e é um dos tipos mais letais de câncer. Após um e cinco anos de seu diagnóstico, apenas 21,2% e 5,0% dos pacientes estão vivos, respectivamente (2). Nos últimos anos, a mortalidade por CaP tem se mantido estável nos Estados Unidos da América (EUA) (2,3).

Os CaPs são mais frequentes após os 70 anos de idade (3); eles são, em geral, tumores sólidos e com muita frequência, o pâncreas adjacente é afetado por pancreatite esclerosante. Além disso, a invasão de estruturas adjacentes, como o colédoco, o duodeno, grandes vasos e tecidos moles peri-pancreáticos é comum. A histologia evidencia glândulas atípicas entremeadas por um denso estroma fibrótico, que corresponde a mais de 50% do tumor, o que dificulta a obtenção de tecido carcinomatoso puro para fins de pesquisa. Estruturas não-tumorais, tais como ductos não-neoplásicos, ilhotas e ácinos estão frequentemente presentes dentro do tumor. Esses tumores expressam *mucin-related carbohydrate antigens*, tais como o antígeno carcinoembriogênico (CEA) e o *Carbohydrate antigen 19-9* (CA 19-9), além das citoqueratinas 7, 8, 18 e 19 (2).

A maioria (78%) dos CaP está localizada na cabeça do pâncreas (2), o que explica a frequente manifestação clínica de icterícia, além de dor abdominal. Os tumores de corpo e de cauda muitas vezes passam despercebidos por apresentarem apenas sintomas inespecíficos, tais como, dor abdominal ou dorso-lombar, emagrecimento, náusea, anorexia, saciedade precoce e alterações no hábito intestinal (2,3).

O CaP é conhecido como uma neoplasia de prognóstico reservado, com uma taxa de sobrevida global em cinco anos inferior a 5% (4,5). A sobrevida costuma ser melhor nos pacientes com doença passível de ressecção, porém, apenas 20% dos pacientes são considerados operáveis pois, na maioria dos

casos, a presença de metástases à distância ou o envolvimento de estruturas vasculares peri-pancreáticas não permite uma abordagem cirúrgica. Assim, as manifestações clínicas geralmente ocorrem em fase já avançada da doença, quando a chance de cirurgia é baixa. Além disso, o desenvolvimento de metástases costuma ser um fenômeno precoce aliado à usual resistência a tratamentos quimioterápicos (4,5).

Até o presente momento, não há indicação de rastreamento para CaP na população geral assintomática. Numa revisão sistemática da literatura, não se conseguiu comprovar o benefício do rastreamento do CaP sobre a mortalidade ou morbidade associada à doença, levantando-se inclusive a hipótese de se poder causar malefício moderado. A maior parte dos estudos avaliados nessa revisão utilizou ultrassom endoscópico, tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética, exames que podem estar associados à dor, problemas relacionados à sedação ou anestesia, pancreatite, risco associado à radiação, alergia à contraste, entre outros (6).

Um exame sérico que já foi considerado no rastreamento de pacientes com CaP é o CA19-9, uma proteína monossializada do grupo sanguíneo Lewis, que se expressa na membrana celular e no citosol de células de carcinoma. Ela é normalmente sintetizada pelas células dos ductos pancreáticos e pelos epitélios cólico, gástrico, da vesícula biliar, endometrial e salivar e é atualmente considerada o biomarcador sérico mais conhecido no cenário de CaP, podendo também se elevar em outros tipos de câncer (7).

Sabe-se que tal marcador pode trazer informações valiosas em relação ao prognóstico do CaP, resposta ao tratamento e predizer risco de recorrência após tratamento cirúrgico, apresentando sensibilidade de 79-81% e especificidade de 82-90%. No entanto, trata-se de um marcador tumoral considerado de pouco valor no rastreamento do CaP em indivíduos assintomáticos, pois apresenta baixo valor preditivo positivo (0,5-0,9%) (7). Isto ocorre em virtude da expressão de tal marcador em diversas condições benignas e malignas, ausência de expressão em indivíduos com genótipo Lewis negativo

e elevação de seus valores na vigência de icterícia obstrutiva de qualquer etiologia (7).

A associação entre CaP e diabetes mellitus (DM) é reconhecida há mais de um século. Meta-análises de inúmeros estudos de caso-controle e coorte demonstraram um risco 1,5 a 2 vezes maior desta neoplasia em pacientes com DM tipo 2 (DM2) de longa duração (> 5 anos). Um risco ainda maior de CaP foi relatado em indivíduos com duração de DM < 5 anos. Em uma meta-análise conduzida por Ben e cols., o risco relativo (RR) foi de 5,4 (intervalo de confiança [IC] de 95% de 2,5 a 8,3) em indivíduos com DM < 1 ano de duração (8). Similarmente, uma meta-análise chinesa com 26 estudos de caso-controle incluindo 7.702 pacientes com CaP e 10.186 controles também apontou uma associação entre essas duas doenças, sendo que o maior risco de CaP ocorreu em pacientes com menos de 2 anos de DM (9). Um estudo de base populacional americano relatou que aproximadamente 1% dos participantes \geq 50 anos com DM de início recente tinham DM secundário a um CaP (3), mas essa prevalência já variou de 5,2% a 13,6% em outros estudos (8).

Portanto, embora DM2 de longa duração seja um fator de risco modesto para CaP, DM de início recente pode ser considerado um possível marcador desta neoplasia, evidenciando uma relação bidirecional entre o CaP e o DM.

1.1 DM2 como fator de risco para CaP

No indivíduo com DM2, a hiperinsulinemia associada à resistência insulínica parece constituir um risco para a tumorigênese (10). Um dos estudos de caso-controle que mais claramente conseguiu mostrar tal associação com CaP foi conduzido por Stolzenberg-Solomon e cols., no qual 29.133 homens tabagistas foram acompanhados por quase 20 anos, tendo suas glicemias e insulinemias mensuradas periodicamente. Tanto a glicemia de jejum quanto a insulinemia e a resistência insulínica, estimada pelo índice HOMA-IR (Avaliação do modelo homeostático) estiveram associados com maior risco de CaP (RR de

2,71; IC 95% de 1,19–6,18; $P=0,006$ nos indivíduos com o mais alto quartil de resistência insulínica), mesmo após correção para as variáveis tabagismo e índice de massa corpórea (IMC) (11).

Na vigência de resistência insulínica, as concentrações plasmáticas de insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF1) estão elevadas, agindo como potentes fatores de crescimento celular e inibidores da apoptose (12,13). Tanto a insulina quanto o IGF1 se ligam aos receptores de IGF1, sabidamente expressos nas células pancreáticas, com consequente ativação da via de sinalização PI3K/Akt/mTOR (14,15). Além da via da PI3K, a insulina também ativa a via de sinalização da ERK, sabidamente mitogênica (16,17).

Além da resistência insulínica, o DM2 cursa com uma inflamação crônica subclínica, que contribui para a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), citocinas pró-inflamatórias, adipocinas e eicosanoides, favorecendo, desta forma, o início e a progressão tumoral (18–21). A hiperglicemia também ativa a via p38 MAPK (*mitogen-activated protein kinases*, uma importante cinase associada à inflamação) e o fator de transcrição NFκB (fator nuclear kappa B), induzindo a proliferação e invasão das células do CaP, assim como aumentando os efeitos parácrinos mediados pela interleucina 6 (IL6) e pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (22,23). A IL6 exerce efeito anti-apoptótico e de indução da transição epitélio-mesênquima (EMT), ao passo que o VEGF estimula a angiogênese (22) Em modelos animais com DM2, a inibição da inflamação com bloqueadores da MAPK p38 é capaz, mesmo na vigência de hiperglicemia, de reduzir o crescimento do CaP (22).

A própria hiperglicemia pode gerar citocinas pró-inflamatórias, como a IL6 e o fator de necrose tumoral (TNF), estimulando ainda mais o crescimento do CaP, a EMT e o desenvolvimento de metástases. O NFκB, por sua vez, além de estar ativado nas células tumorais, também é ativado nas células imunes, levando à produção adicional de citocinas pró-inflamatórias (22). Ademais, dados *in vitro* sugerem que glicemias elevadas também promovem proliferação

e invasão do CaP por hiperexpressão do proto-oncogene RET e do fator neurotrópico derivado das células gliais (GDNF) (24).

Em paralelo à resistência insulínica e ao estado pró-inflamatório, o controle glicêmico inadequado cursa com a geração dos produtos finais de glicação avançada (AGEs), os quais são capazes de modificar irreversivelmente as propriedades químicas e funcionais de diversas proteínas, mediando as complicações crônicas do DM (25,26). Os AGEs ativam o receptor de AGEs (RAGE) (27), o que resulta na geração de EROs e ativação subsequente de inúmeras vias de sinalização celulares relacionadas a crescimento celular e apoptose, aumentando o risco de diversas neoplasias, incluindo o CaP (28,29).

As células-tronco neoplásicas são responsáveis pelo início e progressão tumoral, recorrência e resistência a terapias, devido a suas habilidades peculiares de autorrenovação e diferenciação (30,31). Modelos *in vitro* e em animais conseguiram demonstrar que a hiperglicemia promove a aquisição de propriedades mesenquimais e de células-tronco nas células epiteliais ductais pancreáticas ao ativar a sinalização do fator de crescimento transformante beta 1 (TGF β 1), podendo, assim, facilitar a tumorigênese pancreática (32). O TGF β 1 pode levar à ativação da via canônica Smad ao promover a fosforilação das proteínas Smad2 e Smad3, as quais, em conjunto com a proteína Smad4, ativam a EMT e os fatores de transcrição associados às células-tronco neoplásicas (33).

Obesidade, uma condição muito comum nos indivíduos com DM2, também está associada a diversos tipos de câncer, incluindo o CaP (34,35). Numa série de autópsias, pâncreas advindos de 45 indivíduos foram analisados por imunohistoquímica quanto à expressão da proteína nuclear associada a proliferação celular (Ki67) nas células ductais pancreáticas. Indivíduos magros (IMC < 25 kg/m²) não diabéticos, indivíduos com sobrepeso (IMC > 27 kg/m²) não diabéticos, indivíduos diabéticos magros e diabéticos obesos apresentaram um aumento progressivo na expressão de Ki67 nas células ductais pancreáticas, sugerindo que tanto a obesidade quanto a presença de DM2 favorecem a proliferação ductal pancreática (36).

O tecido adiposo, particularmente aquele associado à adiposidade visceral, caracteriza-se pela maior quantidade das células inflamatórias, especialmente macrófagos e linfócitos T (37,38). Os adipócitos secretam TNF, o qual estimula as células endoteliais e os pré-adipócitos a produzirem proteína quimioatrativa de monócitos (MCP1) que, por sua vez, atrai macrófagos para o tecido adiposo (39). Além do TNF, os adipócitos também produzem leptina, a qual também recruta macrófagos. Em combinação com os adipócitos e outras células inflamatórias, os macrófagos produzem citocinas pró-inflamatórias, como IL6, levando a um estado inflamatório pró-carcinogênico (38,39).

Em modelos animais, a obesidade promove desmoplasia associada ao crescimento tumoral acelerado no pâncreas. A ativação das células estreladas pancreáticas (células tipo miofibroblastos localizadas na porção exócrina do pâncreas) é induzida pelo recrutamento de neutrófilos associados ao tumor, graças à secreção de IL1 β pelos adipócitos, exacerbando assim, a desmoplasia (40).

As adipocinas, ou adipocitocinas são citocinas (proteínas sinalizadoras celulares) secretadas pelo tecido adiposo e incluem a adiponectina, a leptina, o TNF, outras interleucinas e proteínas quimiotáticas de monócitos; essas proteínas estão envolvidas na progressão do CaP (41–43). A adiponectina, cujas concentrações estão reduzidas na obesidade, exerce efeito anti-apoptótico sobre as células pancreáticas ao ativar seu receptor, o qual inibe a ativação da STAT3 mediada pela leptina (44,45). Já a leptina, cujas concentrações estão aumentadas na obesidade, ao se ligar ao seu receptor, regula sua própria expressão por meio do fator induzido por hipóxia 1 (HIF1), promovendo a ativação da via JAK2/STAT3, o que resulta na ativação da metaloproteinase de matriz 13 (MMP13) e, conseqüentemente, da via do receptor *Notch* e de moléculas *downstream*, como a survivina e a Hey2, que aumentam a proliferação celular (46–48).

1.2. DM como marcador do CaP

O CaP causa DM, o que é suportado por evidências epidemiológicas, clínicas e experimentais. Aproximadamente 80% dos pacientes com essa neoplasia apresentam glicemia de jejum anormal ou tolerância à glicose diminuída, independentemente do tamanho tumoral. Além disso, existe uma relação temporal entre o aparecimento do DM e o diagnóstico do tumor (24 a 36 meses) e a ressecção tumoral pode melhorar ou resolver o DM de início recente (8).

Dentre os mecanismos propostos para explicar os efeitos diabetogênicos do CaP estão a síntese e secreção de fatores diabetogênicos, que promoveriam resistência à insulina e/ou disfunção das células β secretoras de insulina. Portanto, o DM associado ao CaP pode ser considerado um fenômeno paraneoplásico. Mais recentemente, identificou-se a galactina-3 e a S100A9 como proteínas hiperexpressas em CaP que poderiam mediar a resistência insulínica (49).

O funcionamento das células β pancreáticas pode estar diminuído no CaP, resultando em glicemia de jejum alterada (50). A adrenomodulina, um hormônio peptídico vasodilatador comumente hiperexpresso em CaP, foi postulada como uma mediadora deste efeito ao inibir a secreção de insulina pelas células β pancreáticas em modelos de CaP *in vitro* e *in vivo* (51). A proteína FAM3D também foi identificada num trabalho brasileiro como uma candidata a reduzir a secreção de insulina neste contexto (52).

Há, ainda que mais remotamente, a possibilidade de que a perda de parênquima pancreático pela presença do tumor cause DM. No entanto, a maioria dos pacientes com CaP desenvolve DM com hiperinsulinemia por resistência insulínica ao invés de hipoinsulinemia, a qual seria esperada se a destruição glandular mediasse o mecanismo de DM (53,54).

1.3. Micro-RNAs séricos como potenciais marcadores de DM secundário a CaP

A primeira publicação sobre o que, futuramente, seria nomeado de micro-RNA (miR) se deu em 1993, quando pesquisadores de Boston descreveram o lin-4, um RNA de 22 pares de bases que não codificava proteína e estava associado ao desenvolvimento larval do nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (55). O lin-4 realizava o controle pós-transcricional de um gene determinante do desenvolvimento dos nematoides ao se ligar à região 3' não traduzida (3'UTR) do RNA mensageiro (mRNA) codificado por esse gene (55). No entanto, o termo miR apenas passou a ser empregado em 2001, com a descrição de mais de uma centena de genes de miRs (56,57).

Os miRs pertencem a uma grande família de pequenos RNAs não-codificantes compostos por 19 a 24 nucleotídeos e que controlam a expressão gênica ligando-se, em geral, à região 3'UTR de mRNA-alvos. O controle da expressão se faz tanto por meio da repressão da tradução quanto pela promoção da degradação do mRNA-alvo.

Os miRs são transcritos pela RNA polimerase II, sendo que os transcritos primários, chamados de pri-miR (*primitive-micro-RNA*), apresentam uma estrutura secundária na forma de grampo (*hairpin*), os quais são processados por uma RNase III (complexo microprocessador Drosha) e seu cofator DGCR8 (*DiGeorge syndrome critical region in gene 8*). Os fragmentos resultantes, pré-miR (*precursor miR*), possuem aproximadamente 70 nucleotídeos, também denominados *hairpin*, e são exportados do núcleo para o citoplasma e clivados por uma outra RNase III chamada Dicer. Tal RNase trabalha com a proteína TRBP (*transactivation response RNA-binding protein*) e/ou a cinase PRKRA/PACT (*interferon-inducible double stranded RNA-dependent activator*), formando duas fitas simples de RNA com cerca de 22 nucleotídeos cada. Uma destas fitas possui a principal ação efetora inibitória, constituindo o miR maduro (58). Os nucleotídeos 2-7 da sequência dos miRs maduros formam a região semente (ou *seed*) na extremidade 5', determinando assim qual o mRNA-alvo

deste miR (59). Um mRNA específico pode ser controlado por diferentes miRs e um único miR pode controlar vários mRNAs (60). Atualmente, de acordo com o banco de miRs conhecido como miRbase, há 1.917 miRs maduros descritos para a espécie humana (61).

A nomenclatura padrão dos miRs é constituída pelo prefixo de três caracteres que indica o nome da espécie, seguido do prefixo “mir” para indicar o gene e miR para indicar as formas maduras. Como exemplo, hsa-miR-# refere-se à nomeação utilizada para *Homo sapiens*. No final da nomenclatura, pode-se encontrar os sufixos “-5p” ou “-3p” para indicar a extremidade do pré-miR da qual se origina os membros maduros (62–64).

Os miRs circulam no plasma e no soro fora das células, de uma forma altamente estável, apesar da grande atividade de RNAases na corrente sanguínea. Inicialmente, acreditava-se que a estabilidade dos miRs circulantes na presença de RNAse seria explicada pelo fato deles estarem contidos (e, portanto, protegidos) em vesículas ligadas à membrana (exossomos e microvesículas). No entanto, a maior fração de miRs extracelulares circula fora de vesículas e é protegida da ação de RNAases por formarem complexos com proteínas, tais como as proteínas que constituem as lipoproteínas (LDL e HDL) e a argonauta 2 (AGO2), que é a principal componente do RISC (complexo de silenciamento induzido por RNA), um complexo de proteínas que se liga ao miR maduro e que promove a degradação do mRNA alvo ou a repressão de sua tradução (65).

A primeira evidência de que miRs estavam implicados na biologia do câncer se deu em 2002, oriunda do grupo da Universidade Thomas Jefferson, na Filadélfia, quando pesquisadores apontaram que os miR15 e miR16 estavam localizados no cromossomo 13q14, uma região deletada em mais da metade dos casos de leucemia linfocítica crônica de células B (LLC-B) (66). Hoje sabe-se que os principais mecanismos que implicam os miRs na tumorigênese são: anormalidades cromossômicas, mudanças no controle transcricional, modificações epigenéticas e defeitos em sua maquinaria (67).

Ao inibirem ou aumentarem a expressão de oncogenes ou de genes supressores de tumor, os miRs afetam profundamente a biologia do câncer. Eles estão, ainda, envolvidos na comunicação entre células neoplásicas e o microambiente tumoral circundante (65). Uma vez que o perfil de miRs pode ser alterado no câncer, assim como em outras doenças, ele pode vir a ser explorado como biomarcador não invasivo para a detecção de várias condições clínicas (65).

Evidências recentes sugerem que diversos miRs estão aberrantemente expressos ou desregulados no CaP (68,69). Um estudo elaborado por Lee e cols. identificou 100 miRs diferentemente expressos no CaP quando comparado ao tecido pancreático normal e à pancreatite, incluindo alguns já previamente descritos em outras neoplasias humanas (miR-155, miR-21, miR-221 e miR-222) e outros até então nunca reportados em outros tumores (miR-376a e miR-301) (70). Tantos outros estudos também apontaram diferentes perfis de miRs diferencialmente expressos em CaP, tais como hiperexpressão de miR-196a, miR-186, miR-190, miR-95, miR-221, miR-222, miR-200b e miR-15b (71,72), redução da expressão de miR-150 (73), entre outros. Além disso, diferentes miRs foram implicados na carcinogênese inicial, progressão e quimiorresistência do CaP (74).

Dai e cols. exploraram o perfil de miRs de indivíduos com CaP e DM de início recente. Para tanto, usaram a plataforma *TaqMan low-density arrays* (TLDA, Thermo Fisher Scientific) para prospectar a expressão de 754 miRs no *pool* de soro de 25 indivíduos dos seguintes grupos:

Pacientes com CaP e DM de início recente (< 3 anos);

Pacientes com DM de início recente (< 3 anos) sem CaP (confirmado por exame de imagem);

Indivíduos controles saudáveis (ausência de CaP confirmada por exame de imagem) (75)

Essa técnica de prospecção evidenciou 16 miRs significativamente mais expressos no grupo de pacientes com CaP e DM de início recente e os autores validaram a expressão de 12 desses miRs por reação em cadeia da polimerase quantitativa pós transcrição reversa (RT-qPCR) em uma casuística de 80 pacientes com CaP e DM de início recente, 85 pacientes com DM de início recente sem CaP e 80 indivíduos controles saudáveis (75).

Seis miRs foram significativamente mais expressos nos pacientes com CaP em relação aos dois outros grupos: miR-19a, miR-20a, miR-24, miR-25, miR-29 e miR-483-5p. A expressão desses miRs também se mostrou aumentada em 30 pacientes com CaP pareados para sexo e idade sem DM em relação a controles saudáveis (75). A combinação desses seis miRs na curva ROC forneceu uma área sob a curva de 0,88 para discriminar indivíduos com CaP e DM de início recente de indivíduos com DM de início recente sem CaP (75).

A confirmação, em outras populações, de que esses miRs apresentam valores de expressão muito diferentes entre indivíduos com DM secundário a um CaP e indivíduos com DM2 poderia fornecer mais uma ferramenta para o diagnóstico diferencial entre essas duas condições clínicas, além dos exames de imagem que são normalmente utilizados quando se suspeita que um DM de início recente possa ser secundário a um CaP.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo transversal foi avaliar se os miRs miR-19a, miR-20a, miR-24, miR-25, miR-29a e miR-483-5p estariam mais expressos no soro de pacientes com CaP e DM de início recente em comparação a indivíduos com DM2 de longa duração e a indivíduos sem essas duas condições clínicas, pareados de acordo com sexo e idade.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Casuística

O presente estudo foi um estudo submetido e aprovado pelos Comitês de Ética e Pesquisa da Universidade Nove de Julho – UNINOVE (2.962.389, Anexo 1), do Hospital Alemão Oswaldo Cruz (3.323.054, Anexo 2), do Hospital Santa Maggiore (3.111.704, Anexo 3) e da Unidade Básica de Saúde (UBS) da Estratégia de Saúde da Família Dr^a Ilza Weltman Hutzler (3.141.417, Anexo 4). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo 5).

Foram selecionados indivíduos com 18 anos de idade para compor os seguintes grupos:

Grupo com diagnóstico histologicamente confirmado de CaP;

Grupo com diagnóstico de DM2 há mais de três anos do momento da coleta de amostra. O diagnóstico de DM foi feito de acordo com os critérios da *American Diabetes Association* (Glicemia após jejum de 8 horas \geq 126 mg/dL ou HbA1c \geq 6,5%) (76).

Grupo Controle, sem diagnóstico clínico de CaP e DM.

Os critérios de não inclusão foram:

Diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1;

Incapacidade de assinar o TCLE;

Diagnóstico de outros tipos de câncer de pâncreas, que não CaP;

Indivíduos com perda de peso recente (últimos três meses) na ausência de um programa de reeducação alimentar e atividade física, no grupo com diagnóstico de DM2 e no grupo controle.

Os participantes com CaP foram selecionados no ambulatório do Hospital Alemão Oswaldo Cruz e do Hospital Santa Maggiore entre os meses de outubro de 2018 a outubro de 2019. Os participantes com DM2 e os indivíduos controle sem CaP e sem DM2 foram selecionados na UBS da Estratégia de Saúde da Família Dr^a Ilza Weltman Hutzler; os primeiros entre os meses de setembro de 2018 a fevereiro de 2019 e os últimos nos meses de janeiro e fevereiro de 2020.

Os seguintes dados foram coletados dos prontuários dos participantes com CaP: idade, sexo, estágio da doença (I a IV), sítio do tumor primário (cabeça, corpo ou cauda pancreática), tratamentos já realizados ou em andamento, data do diagnóstico, história de tabagismo (atual e pregresso), diferenciação do tumor e performance *status* de acordo com a escala *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG). Os seguintes exames bioquímicos foram coletados: glicemia de jejum (mg/dL), hemoglobina glicada (HbA1c) (%), colesterol total (mg/dL), HDL-colesterol (mg/dL), LDL-colesterol (mg/dL), triglicérides (mg/dL), insulina (μ UI/mL), peptídeo C e CA 19-9 (U/mL). O índice HOMA-IR foi calculado com o uso da fórmula abaixo, apenas nos indivíduos que não faziam uso de insulina exógena para o tratamento do DM:

$$\text{Glicemia [mmol/L]} \times \text{insulinemia [\mu U/ml]} \div 22,5$$

Para os indivíduos do Grupo DM2 e do Grupo Controle foram coletados idade, sexo e história de tabagismo, HbA1c, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides.

Peso (kg) e altura (m) foram mensurados nos indivíduos dos três grupos de tratamento para o cálculo do IMC. A circunferência abdominal (CA) foi aferida com uma fita métrica flexível e inelástica (cm); foi considerada a menor medida entre o rebordo costal e a espinha ilíaca ântero-superior (77).

3.2 Métodos

O sangue periférico dos participantes foi coletado em um tubo BD com gel de separação (BD, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) para a separação de soro. A seguir, o tubo foi centrifugado durante 20 minutos, a 4°C a 2.800 rotações por minuto (rpm).

O miR total foi extraído com o uso do Trizol (ThermoFisher, EUA) e com o estojo comercial *miRNeasy Mini* (Qiagen, Hilden, Alemanha) em 200 µL de cada amostra. Antes da extração, 3,5 µL do *miRNeasy Serum/Plasma SpikeIn Control* (Qiagen, Hilden, Alemanha) foram adicionados a cada uma das amostras – esse volume equivale a $1,6 \times 10^8$ cópias/µL do miR-39 (miR de *C. elegans*, um transcrito adicionado à reação para servir de calibrador), que foi empregado como controle positivo exógeno. A adição desse miR-39 também permite verificar a conservação dos miRs durante o processo de extração.

A quantificação dos miRs, bem como a avaliação de sua qualidade foram obtidas com a leitura no espectrofotômetro ND-1000 (NanoDrop, Rockland, DE, EUA). A partir de 2 µL do miR total extraído, foi realizada a síntese e a pré-amplificação do DNA complementar (cDNA), com o uso do estojo comercial *TaqMan™ Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit* (Thermo Fisher Scientific). Essa etapa foi realizada no termociclador Veriti 96-Well Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific), de acordo com as instruções do fabricante.

Na reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) foi utilizado o estojo comercial *Taqman® Fast Advanced Master Mix* (Thermo Fisher scientific) e as sondas *TaqMan™ Advanced miRNA Assays* (Thermo Fisher scientific):

- miR-let-7d-3p, código 477848_mir;
- miR-19a-3p, código 479228_mir;
- miR-24-3p, código 477992_mir;
- miR-25-3p, código 477994_mir;

- miR-29a-3p, código 478587_mir;

- miR-483-5p, código 478432_mir.

O aparelho utilizado para quantificação do cDNA foi o StepOne Plus (Thermo Fisher scientific)(78).

Os resultados de expressão dos miRs foram avaliados por quantificação relativa (Ct, *cycle threshold*), com normalização pela média do controle exógeno (miR-39) e de um controle endógeno (miR-let-7d) (75), com a utilização da seguinte fórmula:

$$\Delta Ct = Ct \text{ gene-alvo} - Ct \text{ da média dos controles exógeno e endógeno}$$

A seguir, foi utilizada a fórmula $2^{-\Delta Ct}$ e os valores de expressão gênica foram transformados em \log^{10} .

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Este estudo utilizou uma amostra de conveniência. As análises estatísticas foram realizadas com o programa JMP (SAS Institute). As variáveis contínuas estão expressas como mediana e intervalo interquartilico 25-75%, enquanto as variáveis categóricas estão expressas como porcentagem de indivíduos afetados. Como algumas das variáveis não apresentaram distribuição normal, conforme evidenciado pelo teste de Shapiro Wilk, foram utilizados testes não paramétricos. As variáveis contínuas relativas às características demográficas, clínicas e bioquímicas entre os grupos estudados foram comparadas pelo Teste de Wilcoxon, enquanto o teste do χ^2 de Pearson foi utilizado para avaliar as diferenças nas variáveis categóricas.

Para a análise da expressão de cada um dos miRs, foi utilizado o teste de Wilcoxon Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn na comparação entre três grupos e o teste de Wilcoxon quando dois grupos foram comparados. Análises de regressão logística com ajuste para variáveis de confusão também foram realizadas para avaliar a expressão dos miRs entre dois grupos. Análises de correlação foram realizadas pelo coeficiente de Spearman. O nível de significância estatística foi fixado em $P < 0,05$.

Nas figuras, a linha horizontal dentro do *box plot* representa o valor da mediana, os limites do *box plot* referem-se aos percentis 25 e 75 e as barras do *box plot* referem-se aos percentis 10 e 90 para a expressão dos miRs.

Curvas ROC foram construídas com o uso do programa SPSS *Statistics* (Versão 23.0) para determinar o valor diagnóstico dos miRs.

5. RESULTADOS

5.1. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos três grupos de pacientes

Foram incluídos 44 indivíduos no Grupo CaP, 35 indivíduos no Grupo DM2 e 35 no Grupo Controle. As características demográficas, clínicas e bioquímicas dos três grupos estão descritas na Tabela 1. Uma vez que os grupos foram pareados de acordo com idade e sexo, não houve diferenças significativas nessas variáveis entre os grupos. Indivíduos com DM2 apresentaram maiores valores de CA (105,5 cm), IMC (30,5 kg/m²), HbA1c (7,5%) em relação ao Grupo CaP (88 cm; 24 kg/m² e 5,8%, respectivamente) e ao Grupo Controle (98 cm; 25,7 kg/m² e 5,7%, respectivamente). A porcentagem de indivíduos tabagistas ou ex-tabagistas foi significativamente maior no Grupo CaP (43,5%) em relação aos Grupos DM2 (3,2%) e Controle (9%). Os valores de colesterol total e de colesterol LDL foram significativamente menores no Grupo CaP em relação aos Grupos DM2 e Controle.

Do total de indivíduos com CaP, 8% apresentavam estágio II, 42% estágio III e 50% estágio IV. Um total de 61% apresentava história familiar positiva para neoplasias. Quanto ao *performance status*, 34,8% apresentavam a escala *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) de 0, 52,2% ECOG 1, 9% ECOG 2 e 4% ECOG 3. Os valores médios de CA19-9, insulina e peptídeo C foram de 330 U/mL, 7 µU/L e 2,27 ng/mL, respectivamente.

Tabela 1. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos três grupos de indivíduos incluídos no presente estudo.

	Controle	Diabetes mellitus tipo 2	Adenocarcinoma ductal de pâncreas	valor de <i>P</i>
n	35	35	44	
Sexo feminino (%)	60	63	61	0,97
Idade (anos)	66 (62 - 69)	67 (65 - 70)	67 (63 - 74)	0,32
CA (cm)	98 (80,5 - 105)	105,5 (97 - 118)*	88 (82 - 94,2)	<0,0001
IMC (kg/m²)	25,7 (22,6 - 29,7)	30,5 (27,7 - 36,2) *	24 (21,3 - 28,3)	<0,0001
Tabagismo (%)	9	3,2	43,5 [#]	<0,0001
HbA1c (%)	5,7 (5,4 - 5,9)	7,5 (6,5 - 8,3) *	5,8 (5,3 - 7,8)	<0,0001
CT (mg/dL)	193 (158 - 215)	193 (161 - 228)	159 (129 - 189) ^{&}	0,013
HDL (mg/dL)	49 (41 - 62)	48 (43 - 63)	52 (39 - 64)	0,95
LDL (mg/dL)	112 (98 - 125)	117 (76 - 151)	81 (51 - 114) ^{&}	0,002
TG (mg/dL)	147 (80 - 187)	143 (119 - 182)	116 (98 - 1)	0,27

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides. **P* < 0,05 em relação aos Grupos Controle e Adenocarcinoma ductal de pâncreas; # *P* < 0,05 em relação aos Grupos Controle e Diabetes mellitus tipo 2; &*P* < 0,05 em relação aos Grupos Controle e DM2.

5.2 Características demográficas, clínicas e bioquímicas do Grupo CaP de acordo com o status do DM

No Grupo CaP, 21 indivíduos apresentavam diagnóstico recente de DM (até três anos antes do diagnóstico do CaP), 9 tinham DM de longa data (diagnóstico mais de três anos antes do diagnóstico de CaP), 1 tinha duração do DM desconhecida e 13 não apresentavam DM.

As características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos do Grupo CaP de acordo com a presença ou ausência de DM estão descritas na Tabela 2. Aqueles com DM apresentavam valores de HbA1c (6,9%) e glicemia de jejum (121 mg/dL) significativamente maiores que os indivíduos sem DM (5,4% e 104 mg/dL, respectivamente).

Tabela 2. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos com adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) de acordo com o status do diabetes mellitus (DM).

	CaP sem DM	CaP com DM	Valor de P
n	13	31	
Sexo (% feminino)	54	64	0,5
Idade (anos)	66 (60 - 70)	68 (65 - 75)	0,2
CA (cm)	86 (78,2 - 93,7)	89 (84 - 96,7)	0,23
IMC (kg/m ²)	22,6 (20,6 - 26,1)	24,2 (21,8 - 29,6)	0,25
Tabagismo (%)	38,5	45	0,68
HbA1c (%)	5,4 (5,2 - 5,7)	6,9 (5,4 - 8,4)	0,006
CT (mg/dL)	183 (128 - 217)	147 (129 - 187)	0,32
HDL (mg/dL)	57 (43 - 64)	51 (38 - 65)	0,71
LDL (mg/dL)	109 (66 - 129)	71 (49 - 99)	0,053
TG (mg/dL)	116 (101 - 123)	116 (98 - 167)	0,91
Estadio 2/3/4 (%)	0 / 54/ 47	13 / 32 / 55	0,23
ECOG (0/1/2/3) (%)	36/ 54/ 0/ 8	35/ 48/ 13/ 3	0,35
HF Câncer (% Sim)	69	61	0,59
CA 19-9 (U/mL)	132 (19 - 5235)	271 (10 - 4668)	0,97
Glicemia Jejum (mg/dL)	104 (95 - 116)	121 (113- 171)	0,013
Insulina (μU/L)	7 (4 - 11,3)	6,5 (4 - 11,5)	0,9
Peptídeo C (ng/mL)	2,5 (1,9 - 3,3)	2,3 (1,3 - 3,2)	0,39

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides, HF: História familiar.

As características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos do Grupo CaP com DM de acordo com a data de diagnóstico do DM estão descritas na Tabela 3. Duas variáveis apresentaram valores de P limítrofes, a CA e o IMC, maiores no subgrupo com DM de longa data (97,5 cm e 29,8 kg/m², respectivamente) em comparação ao grupo com DM de início recente (88,5 cm e 24,2 kg/m², respectivamente).

Tabela 3. Características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos com adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) de acordo com a data de diagnóstico do diabetes mellitus (DM).

	CaP com DM de início recente	CaP com DM de longa data	valor de <i>P</i>
n	21	9	
Sexo (% feminino)	71,4	55	0,39
Idade (anos)	67 (59 - 74)	70 (66 - 76)	0,15
CA (cm)	87,5 (82 - 94)	97,5 (88 - 130)	0,051
IMC (kg/m²)	24 (20,9 - 27,6)	29,8 (24,5 - 33,3)	0,055
Tabagismo (%)	47,6	55	0,87
HbA1c (%)	6,9 (5,4 - 8,9)	7,1 (5,5 - 8)	0,85
CT (mg/dL)	146 (129 - 195)	158 (128 - 179)	0,97
HDL (mg/dL)	49 (38 - 59)	58 (34 - 69)	0,67
LDL (mg/dL)	78 (57 - 100)	57 (44 - 135)	0,29
TG (mg/dL)	119 (98 - 167)	124 (98 - 187)	0,93

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides.

Quando apenas o subgrupo de indivíduos com CaP e diagnóstico recente de DM foi comparado ao Grupo DM2, as variáveis que apresentaram diferenças estatisticamente significantes foram a CA, o IMC, o colesterol total e o colesterol-LDL, maiores no Grupo DM2 em relação ao subgrupo com CaP e DM de início recente (105,5 *versus* 87,5 cm; 30,5 *versus* 24 kg/m²; 193 *versus* 146 mg/dL e 171 *versus* 78 mg/dL, respectivamente). Ao contrário, a proporção de tabagistas foi maior no grupo com CaP e DM de início recente em comparação ao grupo DM2 (47,6% *versus* 3,2%, respectivamente) (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos com adenocarcinoma ductal de pâncreas (CaP) e diabetes mellitus (DM) de início recente e o Grupo com diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

	CaP com DM de início recente	DM2	valor de P
n	21	35	
Sexo (% feminino)	71,4	63	0,5
Idade (anos)	67 (59 - 74)	67 (65 - 70)	0,82
CA (cm)	87,5 (82 - 94)	105,5 (97 - 118)	<0,0001
IMC (kg/m²)	24 (20,9 - 27,6)	30,5 (27,7 - 36,2)	<0,0001
Tabagismo (%)	47,6	3,2	0,0001
HbA1c (%)	6,9 (5,4 - 8,9)	7,5 (6,5 - 8,3)	0,25
CT (mg/dL)	146 (129- 195)	193 (161 - 228)	0,045
HDL (mg/dL)	49 (38 - 59)	48 (44 -63)	0,74
LDL (mg/dL)	78 (57 - 100)	117 (76 - 151)	0,0045
TG (mg/dL)	124 (98 - 187)	143 (118 - 182)	0,2

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides.

5.3. Perfil de miRs séricos

A reação para amplificação do miR-20a foi realizada com duas sondas fornecidas pela empresa, mas não resultou em amplificação em nenhuma das amostras estudadas, possivelmente por problemas relacionada à sonda. Por essa razão, serão apresentados os resultados para os miRs-19a, -24, -25, -29a e 483.

5.3.1 Comparação entre os três Grupos (Controle, DM2 e CaP)

Na Figura 1, pode-se observar o perfil de expressão dos cinco miRs analisados nos três Grupos avaliados. Os miRs-19a e -25 foram significativamente mais expressos no Grupo Controle quando comparado ao Grupo CaP ($P=0,0281$ e $P=0,0006$; valores obtidos no pós-teste de Dunn) e ao Grupo DM2 ($P=0,0001$ e $P=0,0555$; valores obtidos no pós-teste de Dunn), não havendo diferença de expressão entre os Grupos CaP e DM2. Os miRs-24 e -29a foram significativamente mais expressos no Grupo CaP quando comparado ao Grupo DM2 ($P<0,0001$ para os dois miRs; valores obtidos no pós-teste de Dunn) e ao Grupo Controle ($P<0,0001$ para os dois miRs; valores obtidos no pós-teste de Dunn), não havendo diferença de expressão entre os Grupos DM2 e Controle. A expressão do miR-483 não diferiu entre os três Grupos.

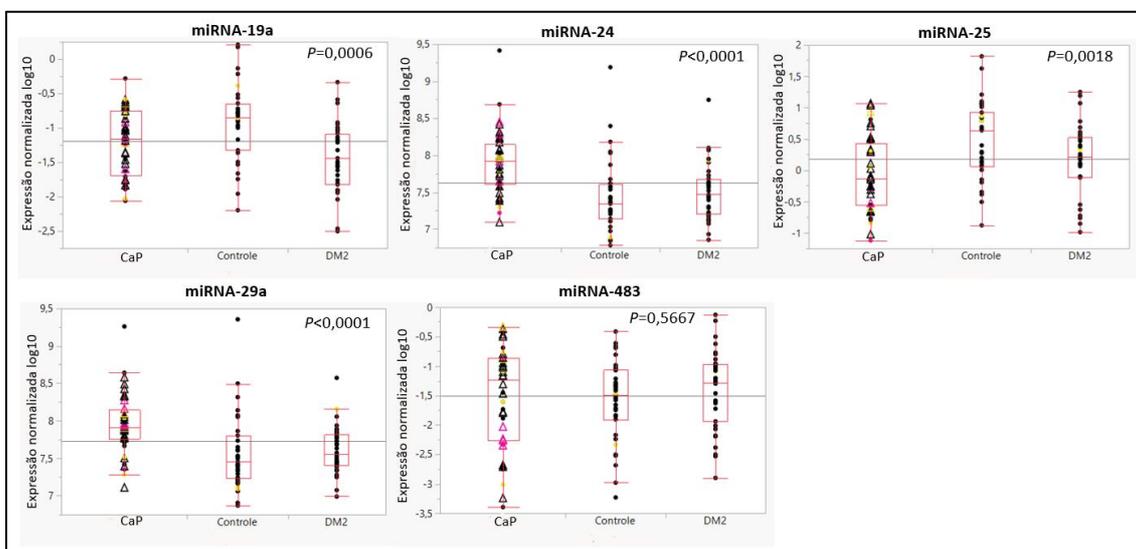


Figura 1. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos com adenocarcinoma de pâncreas (CaP), Controle e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Valores de P obtidos no teste de Wilcoxon Kruskal-Wallis.

5.3.2 Comparação entre os Grupos Controle e DM2

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo Controle e o Grupo DM2 está mostrada na Tabela do Anexo 6. As variáveis que diferiram entre os dois grupos foram a CA (105,5 *versus* 98 cm, respectivamente; $P=0,001$), o IMC (30,5 *versus* 25,7 kg/m², respectivamente; $P=0,0001$) e a HbA1c (7,5 *versus* 5,7%, respectivamente; $P<0,0001$), que foram significativamente maiores no Grupo DM2 que no Grupo Controle.

Na Figura 2, pode-se observar o perfil de expressão dos cinco miRs analisados nos dois Grupos. Apenas o miR-19a foi menos expresso no Grupo DM2 quando comparado ao Grupo Controle ($P=0,0001$). Os demais miRs não diferiram entre os Grupos. Após ajuste para as variáveis CA e IMC, a expressão do miR-19a se manteve menor no Grupo DM2 ($P=0,0001$) e a expressão do miR-25 foi significativamente menor no Grupo DM2 ($P=0,048$).

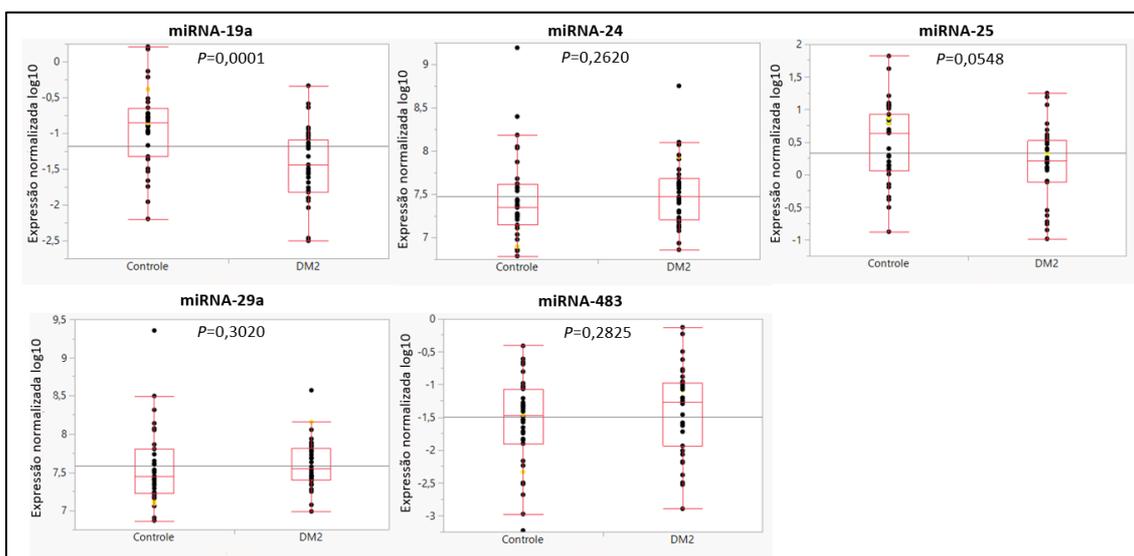


Figura 2. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos Controle e com diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

5.3.3. Comparação entre os Grupos Controle e CaP

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo Controle e o Grupo CaP está mostrada na Tabela do Anexo 7. O tabagismo foi mais frequente no Grupo CaP em relação ao Grupo Controle (43,5% *versus* 9%, respectivamente; $P = 0,001$), enquanto que o colesterol total (193 *versus* 159 mg/dL, respectivamente; $P=0,008$) e o colesterol-LDL (112 *versus* 78 mg/dL, respectivamente; $P=0,004$) foram significativamente maiores no Grupo Controle.

Na Figura 3, pode-se observar o perfil de expressão dos cinco miRs analisados nos dois Grupos. A expressão dos miRs-24 ($P<0,0001$) e -29a ($P<0,0001$) foi significativamente maior no Grupo CaP em relação ao Grupo Controle. Já os miRs-19a ($P=0,0277$) e -25 ($P=0,0006$) foram significativamente mais expressos no Grupo Controle quando comparados ao Grupo CaP. O miR-483 não diferiu entre os Grupos. Após ajuste para as variáveis tabagismo e LDL, as expressões dos miRs-24 ($P=0,0111$) e -29a ($P=0,0456$) permaneceram maiores no Grupo CaP em relação ao Grupo Controle, e as expressões dos miRs-19a ($P=0,0088$) e -25 ($P=0,0011$) se mantiveram maiores no Grupo Controle em relação ao Grupo CaP.

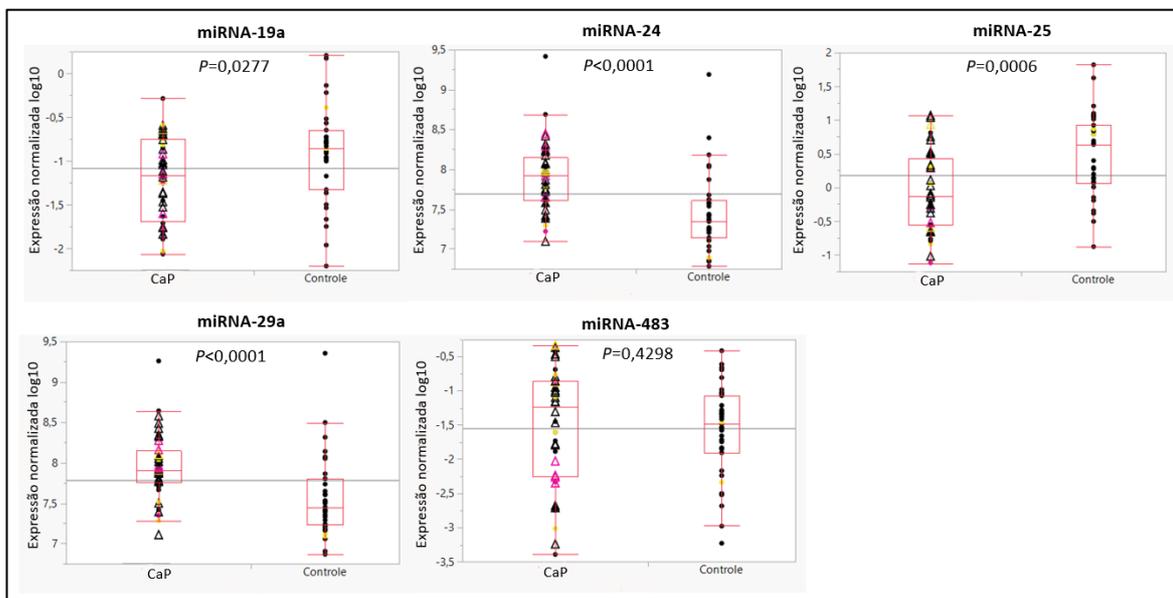


Figura 3. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos Controle e com adenocarcinoma de pâncreas (CaP).

5.3.4. Comparação entre os Grupos DM2 e CaP

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo DM2 e o Grupo CaP está mostrada na Tabela do Anexo 8. O tabagismo foi mais frequente no Grupo CaP (43,5 *versus* 3,2%, respectivamente; $P<0,0001$), enquanto que a CA (105,5 *versus* 88 cm, respectivamente; $P<0,0001$), o IMC (30,5 *versus* 24 kg/m², respectivamente; $P<0,0001$), a HbA1c (7,5 *versus* 5,8%, respectivamente; $P=0,0015$), o colesterol total (193 *versus* 159 mg/dL, respectivamente; $P=0,019$) e o colesterol-LDL (117 *versus* 78 mg/dL, respectivamente; $P=0,003$) foram significativamente maiores no Grupo DM2.

Na Figura 4, pode-se observar o perfil de expressão dos cinco miRs analisados nos dois Grupos. A expressão dos miRs-24 ($P<0,0001$) e -29a ($P<0,0001$) foram significativamente maiores no Grupo CaP quando comparado ao Grupo DM2. Os miRs-19a, -25 e -483 não diferiram entre os Grupos. Após ajuste para as variáveis tabagismo, CA, IMC, HbA1c e LDL, as expressões dos miR-24 ($P=0,1504$) e miR-29a ($P=0,1187$) deixaram de ser significativamente diferentes entre os Grupos CaP e DM2.

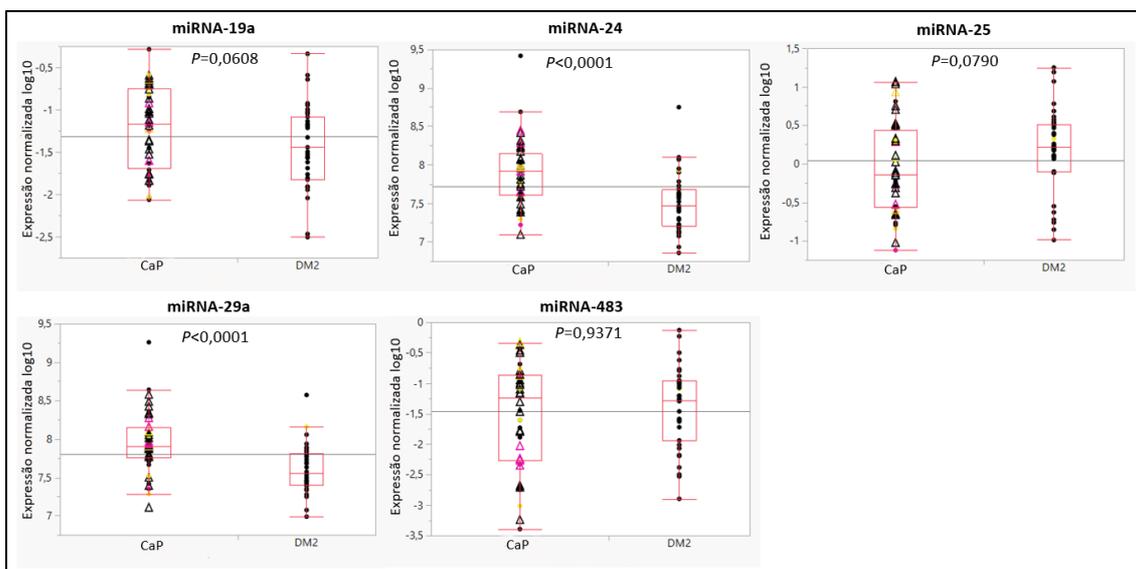


Figura 4. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos DM2 e com adenocarcinoma de pâncreas (CaP).

5.3.5. Comparação entre os Grupos CaP com DM e CaP sem DM

A comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo CaP com DM e o Grupo CaP sem DM foi mostrada na Tabela 2.

Na Figura 5, pode-se observar que o perfil de expressão dos cinco miRs analisados não diferiu significativamente entre os dois Grupos.

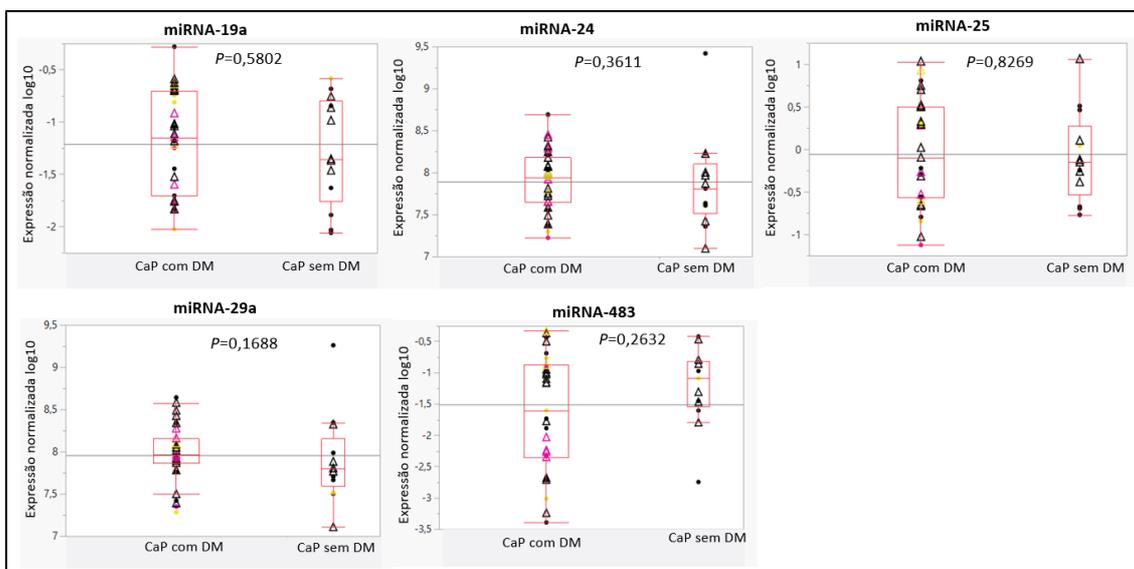


Figura 5. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos com adenocarcinoma de pâncreas (CaP) com e sem DM.

5.3.6. Comparação entre os Grupos CaP com DM, CaP sem DM e DM2

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo CaP sem DM, o Grupo CaP com DM e o Grupo DM2 está mostrada na Tabela do Anexo 9. O tabagismo foi mais frequente nos Grupos CaP sem e com DM em relação ao Grupo DM2 (38,5 e 45 *versus* 3,2%, respectivamente), enquanto a CA, o IMC e a HbA1c foram significativamente maiores no Grupo DM2 em relação aos Grupos CaP sem e com DM. O colesterol total e o colesterol-LDL foram significativamente maiores no Grupo DM2 em comparação ao Grupo CaP com DM. O IMC e a HbA1c foram significativamente maiores no Grupo CaP com DM em relação ao Grupo CaP sem DM.

Na Figura 6, pode-se observar que os miRs-24 e -29a apresentaram níveis de expressão maiores nos Grupos CaP sem DM ($P=0,0259$ e $P=0,0295$, respectivamente) e CaP com DM ($P<0,0001$ e $P<0,0001$, respectivamente) quando comparados ao Grupo DM2, ao passo que não houve diferença de expressão para estes miRs entre os Grupos CaP com ou sem DM. Não houve diferença de expressão entre os Grupos para os miRs-19a, -25 e -483.

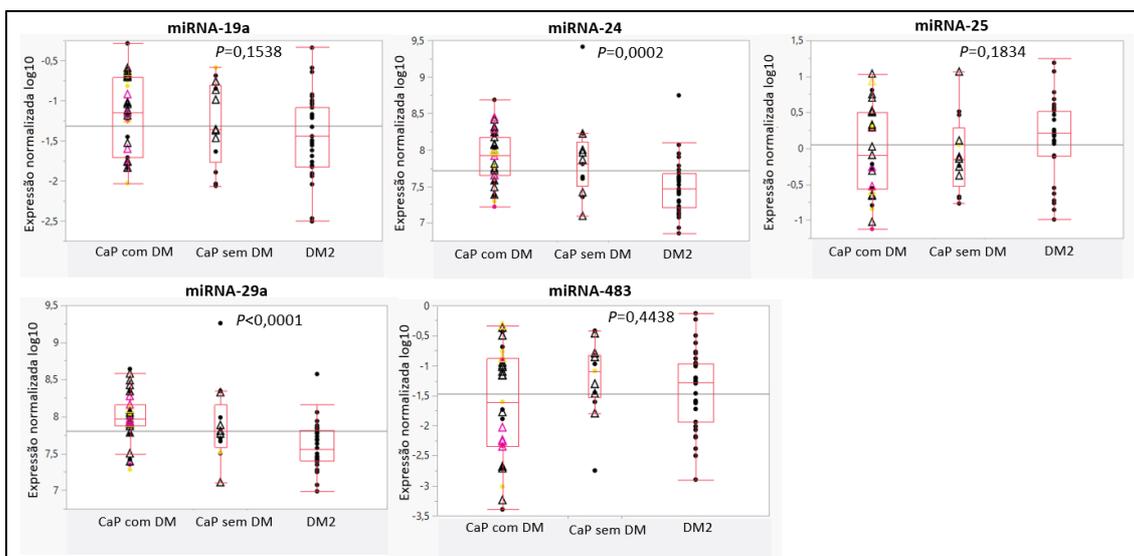


Figura 6. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos com adenocarcinoma de pâncreas (CaP) sem DM, com DM e no Grupo DM2.

5.3.7. Comparação entre os Grupos CaP com DM de início recente e CaP com DM de longa data

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo CaP com DM de início recente e o Grupo CaP com DM de longa data já foi mostrada na Tabela 3.

Na Figura 7, pode-se observar que não houve diferença significativa na expressão dos cinco miRs entre os Grupos CaP com DM de longa data e CaP com DM de início recente.

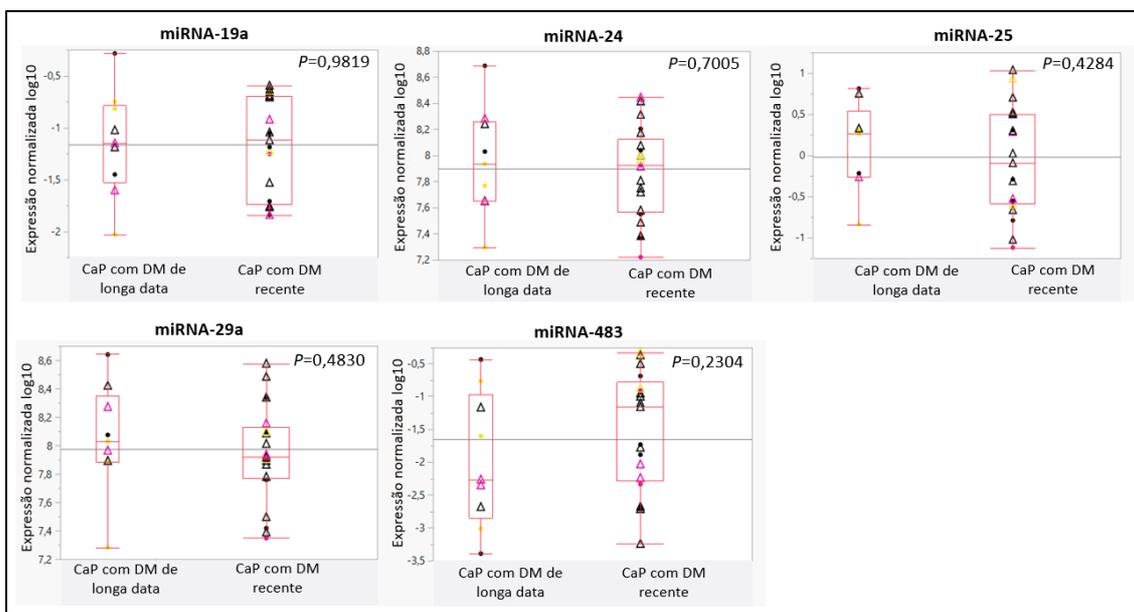


Figura 7. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos Grupos com adenocarcinoma de pâncreas (CaP) com DM de longa data e CaP com DM de início recente.

5.3.8. Comparação entre os Grupos CaP com DM de início recente e DM2

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas entre o Grupo CaP com DM de início recente e o Grupo DM2 já foi mostrada na Tabela 4.

Na Figura 8, pode-se observar que a expressão dos miRs-24 e -29a foram maiores no Grupo CaP com DM de início recente quando comparado ao Grupo DM2 (para os dois miRs, $P=0,0006$). Não houve diferença de expressão dos miRs-19a, -25 e -483 entre os Grupos. Após ajuste para as variáveis CA, IMC, tabagismo e LDL, os miRs-24 e -29a deixaram de ser significativamente diferentes entre os Grupos ($P=0,3063$ e $P=0,3614$, respectivamente), enquanto o tabagismo permaneceu significativamente diferente ($P=0,014$ e $P=0,015$, respectivamente).

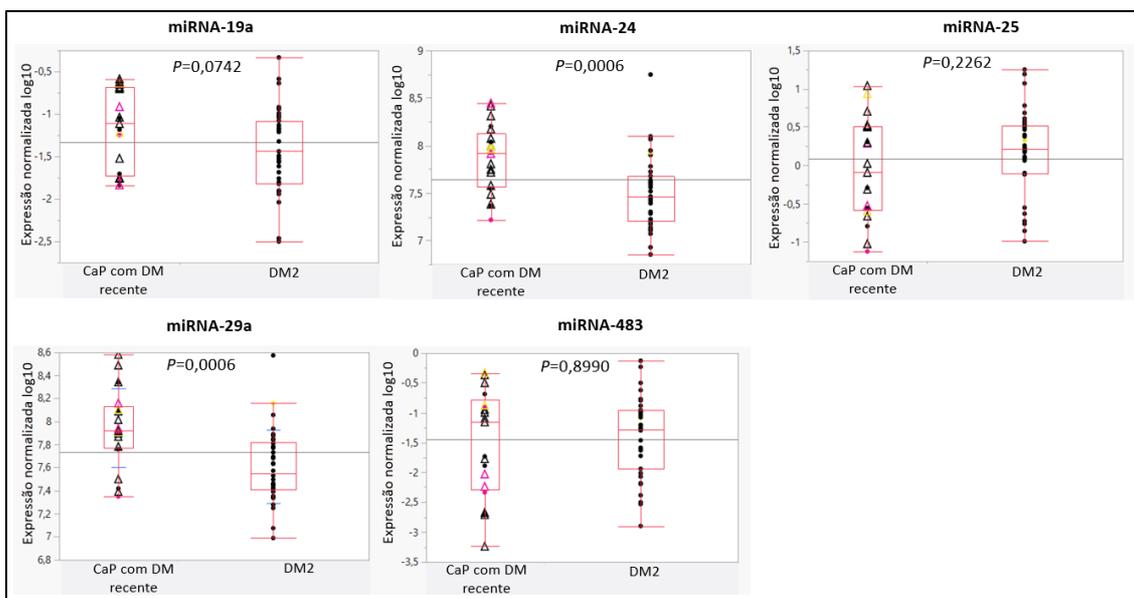


Figura 8. Expressão normalizada dos micro-RNAs no Grupo com adenocarcinoma de pâncreas (CaP) e DM de início recente e no Grupo com DM2.

5.3.9. Comparação entre os participantes classificados de acordo com o status do tabagismo e do DM

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas dos participantes classificados de acordo com o status do tabagismo (independentemente de apresentar CaP ou DM) está mostrada na Tabela do Anexo 10. Houve uma diferença no limite da significância estatística nos valores de LDL (110 nos não tabagistas *versus* 86 mg/dL nos tabagistas, $P = 0,054$). A frequência de indivíduos com CaP foi significativamente maior no Grupo dos tabagistas em relação ao Grupo dos não tabagistas (82,6 *versus* 29,8%, respectivamente; $P < 0,0001$).

Na Figura 9, pode-se observar que os miRs-24 ($P=0,0049$) e -29a ($P=0,0058$) foram significativamente mais expressos no Grupo com história atual ou prévia de tabagismo quando comparado ao Grupo de não tabagistas. Após ajuste para a presença do CaP, os valores de P passaram a ser limítrofes para os dois miRs ($P=0,05$ e $P=0,07$, respectivamente).

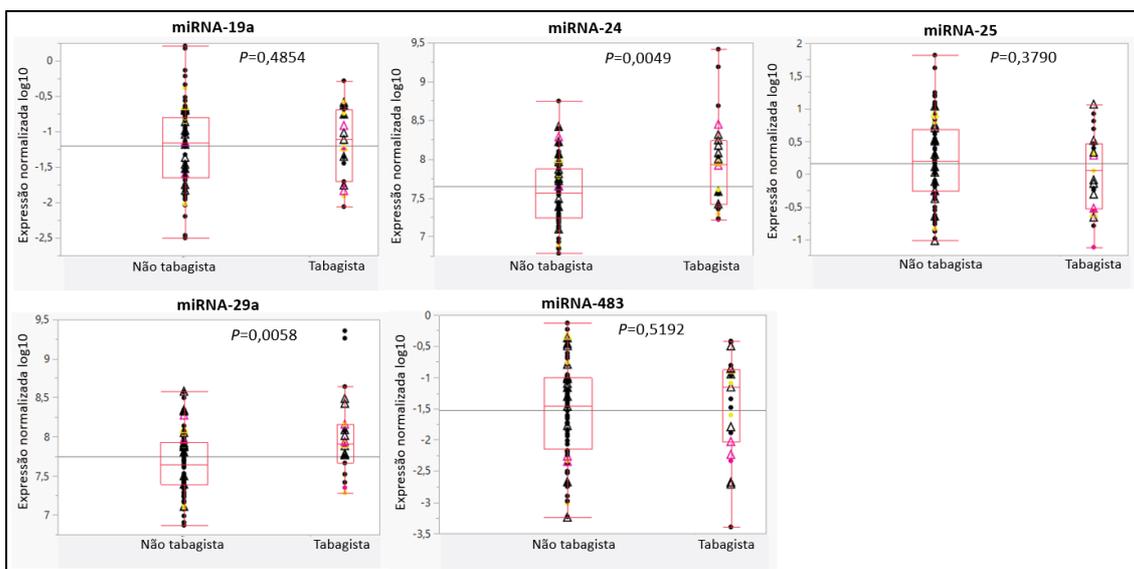


Figura 9. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos participantes com tabagismo atual ou prévio e sem tabagismo.

A comparação das características demográficas, clínicas e bioquímicas dos participantes classificados de acordo com o status do DM (independentemente de apresentar ou não CaP) está mostrada na Tabela do Anexo 11. A idade (67 *versus* 66 anos, respectivamente; $P=0,037$), a CA (100 *versus* 94 cm, respectivamente; $P=0,009$), o IMC (28,7 *versus* 24,7 kg/m², respectivamente; $P=0,0014$), a HbA1c (7,0 *versus* 5,6%, respectivamente; $P<0,0001$) e a frequência de CaP (47 *versus* 27%, respectivamente; $P=0,03$) foram significativamente maiores no Grupo com DM *versus* sem DM.

Na Figura 10, pode-se observar que houve menor expressão do miR-19a no Grupo com DM em relação ao Grupo sem DM ($P= 0,0043$) e essa diferença se manteve significativa após ajuste para a idade, CA, IMC e presença de CaP ($P=0,02$). Os miRs-24 e 29a foram mais expressos no Grupo com DM em relação ao Grupo sem DM ($P=0,031$ e $P=0,044$, respectivamente), mas perderam a significância estatística após ajuste para a idade, CA, IMC e presença de CaP ($P=0,99$ e $P=0,87$, respectivamente). Houve menor expressão do miR-25 no Grupo com DM em relação ao Grupo sem DM no limite da significância

estatística ($P=0,079$), e o valor de P aumentou para 0,195 após ajuste para as variáveis mencionadas acima.

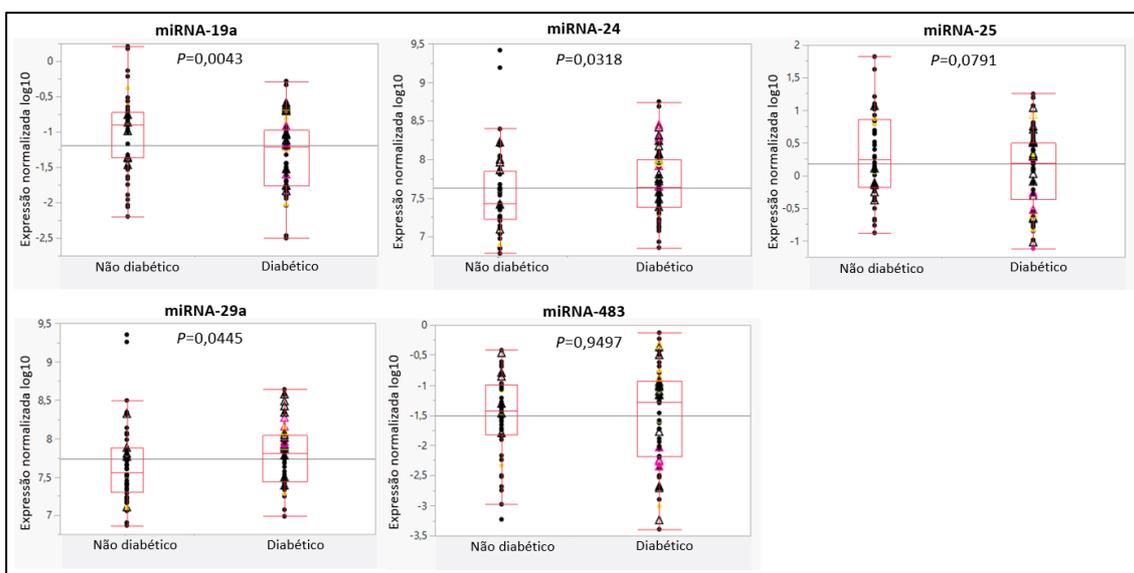


Figura 101. Expressão normalizada dos micro-RNAs nos participantes com e sem diabetes mellitus.

5.4 Correlações entre as variáveis demográficas, clínicas e bioquímicas e os miRs

Quando toda a população foi considerada nas análises (Tabela 5), além das correlações estatisticamente significantes entre as expressões dos miRs, observamos uma correlação negativa entre o miR-29a e o LDL e uma correlação positiva entre os miRs-24 e -29a e a idade. Quando apenas os pacientes com DM foram considerados nas análises (Tabela 6), apenas os miRs se correlacionaram entre si. Quando apenas a população com CaP foi considerada nas análises (Tabela 7), além das correlações estatisticamente significantes entre as expressões dos miRs, observamos uma correlação negativa entre os valores de miR-29a e LDL e correlações positivas entre os miRs-24 e -29a e a idade e entre o miR-19a e o TG. Quando apenas os indivíduos controle (sem DM

e sem CaP) foram considerados nas análises (Tabela 8), além das correlações estatisticamente significantes entre as expressões dos miRs, os miRs-19a, -25 e -483 estiveram correlacionados negativamente com o LDL ($P=0,0040$, $P=0,0045$ e $P=0,0376$, respectivamente) e os miRs-25 e -483 estiveram correlacionados negativamente com o CT ($P=0,0381$ e $P=0,0338$).

Tabela 5. Correlações que apresentaram significância estatística quando toda a população estudada foi analisada

Variável	Por variável	Coefficiente de Spearman	Valor de P
miR-25	miR-483	+0,4185	<0,0001
miR-29a	LDL	-0,2520	0,0123
miR-29a	idade	+0,1941	0,0394
miR-29a	miR-483	+0,1927	0,0409
miR-19a	miR-483	+0,4092	<0,0001
miR-19a	miR-25	+0,6771	<0,0001
miR-24	idade	+0,1859	0,0476

LDL: lipoproteína de baixa densidade.

Tabela 6. Correlações que apresentaram significância estatística quando apenas o Grupo com diabetes mellitus tipo 2 foi analisado.

Variável	Por variável	Coefficiente de Spearman	Valor de P
miR-19a	miR-483	+0,4188	0,0123
miR-19a	miR-25	+0,3944	0,0191
miR-24	miR-29a	+0,8478	<0,0001
miR-25	miR-483	+0,3577	0,0349

Tabela 7. Correlações que apresentaram significância estatística quando apenas o Grupo com adenocarcinoma de pâncreas foi analisado.

Variável	Por variável	Coefficiente de Spearman	Valor de P
miR-25	miR-483	+0,4612	0,0016
miR-29a	LDL	-0,3339	0,0405
miR-29a	idade	+0,3727	0,0127
miR-19a	TG	+0,3327	0,0385
miR-19a	miR-483	+0,4761	0,0011
miR-19a	miR-25	+0,7993	<0,0001
miR-24	idade	+0,3324	0,0275
miR-24	miR-29a	+0,9180	<0,0001

LDL: lipoproteína de baixa; TG: triglicérides.

Tabela 8. Correlações que apresentaram significância estatística quando apenas o Grupo Controle foi analisado.

Variável	Por variável	Coefficiente de Spearman	Valor de P
miR-483	CT	-0,3823	0,0338
miR-483	LDL	-0,3813	0,0376
miR-25	CT	-0,3743	0,0381
miR-25	LDL	-0,5037	0,0045
miR-25	miR-483	+0,6322	<0,0001
miR-19a	LDL	-0,5104	0,0040
miR-19a	miR-483	+0,5303	0,0011
miR-19a	miR-25	+0,7543	<0,0001
miR-24	miR-29a	+0,9773	<0,0001

CT: colesterol total; LDL: lipoproteína de baixa densidade

5.5 Análise das curvas ROC

Para determinar o valor dos miRs no diagnóstico de CaP em indivíduos com DM de início recente, foram construídas curvas ROC considerando apenas os 21 indivíduos com CaP e DM de início recente e os 35 indivíduos com DM2. Os valores das áreas sob as curvas (ASC) sem ajustes e com ajustes para o tabagismo e para o IMC estão apresentados na Tabela 9. As curvas ROC ajustadas para o IMC estão apresentadas na Figura 11.

Tabela 9. Valores das áreas sob as curvas (ASC) obtidas nas curvas ROCs para cada um dos micro-RNAs estudados.

Micro-RNA	Sem ajuste	Ajuste para tabagismo	Ajuste para o índice de massa corpórea
miR-19a	0,644	0,859	0,873
miR-24	0,774	0,876	0,898
miR-25	0,597	0,732	0,869
miR-29a	0,779	0,870	0,910
miR-483	0,510	0,743	0,853

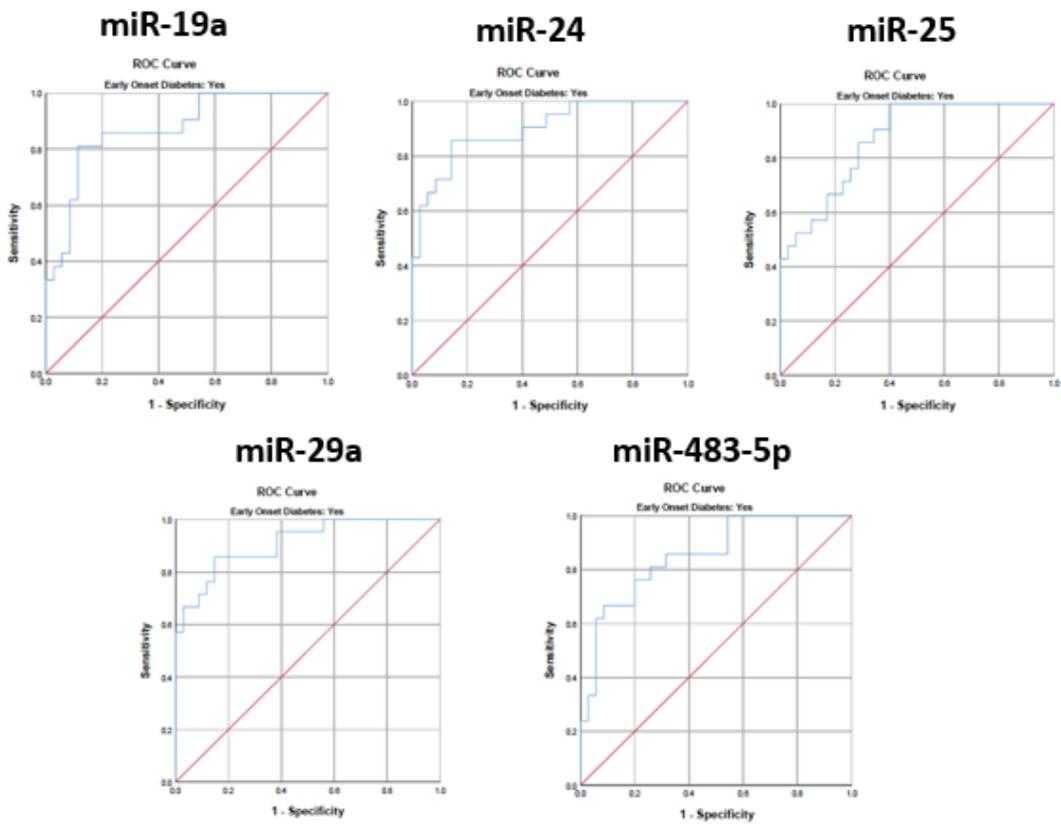


Figura 11. Curvas ROC ajustadas para o índice de massa corpórea para cada um dos micro-RNAs estudados.

6. DISCUSSÃO

O DM de início recente pode ser uma manifestação precoce do CaP. Indivíduos com DM de início recente apresentam um risco oito vezes maior de terem um CaP em relação a indivíduos sem essa condição clínica. O DM deve-se, provavelmente, a uma disfunção das células beta produtoras de insulina secundariamente à neoplasia (79). Em paralelo, a presença de DM está associada a um maior potencial metastático do CaP, possivelmente relacionado a maior resposta inflamatória desencadeada pela hiperglicemia (22).

Frente a um quadro de DM de início recente em um indivíduo de meia idade, normalmente considera-se o diagnóstico de DM2 e é pouco frequente a investigação de CaP; quando ela é feita, ela requer a realização de exames de imagens, como a tomografia computadorizada ou a ressonância magnética. A identificação de biomarcadores de DM secundário ao CaP poderia facilitar o rastreamento e permitir o diagnóstico precoce desta neoplasia, em um momento no qual exista a possibilidade de ressecção cirúrgica e cura.

Diferentes padrões de perfis de expressão de miRs já foram reportados em amostras teciduais de CaP (80) obtidos por diferentes métodos, tais como microarranjos de RNA, sequenciamento de RNA e RT-qPCR. A estabilidade dos miRs na circulação permite que uma simples coleta de sangue possa ser empregada para sua detecção, abrindo a possibilidade de seu uso no rastreamento do CaP. Estudos retrospectivos conseguiram mostrar que a expressão de certos miRs séricos ou plasmáticos ajudam a distinguir pacientes com CaP de indivíduos sem CaP (81–83), mas o pequeno tamanho das casuísticas não permitiu que se chegasse a conclusões definitivas.

Em relação à transformação neoplásica no CaP, um aumento progressivo da expressão do miR-196a em amostras teciduais de lesões precursoras (neoplasias intraepiteliais pancreáticas) até aquelas mais avançadas já foi descrito na literatura, ao passo que a expressão do miR-217 apresenta um comportamento contrário, com diminuição de sua expressão em lesões mais

avançadas (84). Em modelos animais, a evolução de lesões pré-malignas para CaP invasivo, quando comparado a tecidos saudáveis, é acompanhada de redução da expressão de miR-148a/b e de miR-375 e aumento da expressão de miR-10, miR-21, miR-100 e miR-155 (85). Paralelamente, a EMT que ocorre no CaP também pode ser modulada por alguns miRs, tais como miR-200a e membros da família miR-30 (86,87).

Abue e cols. realizaram um estudo para analisar o potencial do miR-483-3p e do miR-21 detectados no plasma por RT-qPCR como biomarcadores de CaP. Amostras de plasma foram obtidas de 32 pacientes com CaP, 12 com neoplasia mucinosa papilar intraductal e 30 indivíduos saudáveis. A expressão plasmática do miR-483-3p e do miR-21 foi significativamente maior no CaP em comparação aos controles saudáveis (88). No presente estudo, não observamos diferenças na expressão do miR-483-5p entre nenhum dos grupos analisados, mesmo após ajuste para variáveis de confusão, mas deve-se notar que o estudo de Abue e cols. se refere ao braço 3p do miR, enquanto nós avaliamos o braço 5p, o que pode explicar as diferenças encontradas. Adicionalmente, existem várias diferenças entre as populações incluídas nos dois estudos que podem explicar esses achados; no estudo de Abue e cols., dois terços dos indivíduos com CaP eram do sexo masculino, pouco mais da metade apresentava DM e a porcentagem de tabagistas não foi reportada, enquanto nossa casuística é composta por 60% de mulheres, mais de dois terços apresentam DM e 43,5% são tabagistas ou ex-tabagistas. Em relação à metodologia, no estudo de Abue e cols., o controle interno utilizado foi o miR-16, enquanto em nosso estudo utilizamos a média entre um controle exógeno (miR-39) e um controle endógeno, o miR-let7d. O miR-39, expresso em *C. elegans*, é aceito como controle em estudos de expressão de miRs em amostras de soro (89). O miR-16 já foi associado com resistência à insulina (90), condição que pode estar presente em indivíduos com CaP. Portanto, o miR-16 pode não ser um controle endógeno ideal para ser usado nessa condição clínica.

Um estudo realizado na China procurou identificar um perfil de miRs séricos que pudesse prever o risco de CaP em pacientes com diagnóstico

recente de DM (75). Seis miRs (miR-19a, miR-20a, miR-24, miR-25, miR-29a e miR-483-5p,) estiveram significativamente mais expressos nos pacientes com CaP com DM de início recente em relação ao grupo com DM2 de início recente sem CaP e ao grupo de controles saudáveis. A combinação desses seis miRs na curva ROC forneceu uma área sob a curva de 0,88 para discriminar pacientes com CaP e DM de início recente de pacientes com DM2 de início recente sem CaP (75).

O presente estudo teve o objetivo de avaliar a expressão desses miRs em uma coorte brasileira de pacientes com CaP, especialmente aqueles com DM de início recente, comparando-a com indivíduos com DM2 sem diagnóstico clínico de CaP. Dentre os seis miRs validados por Dai e cols., apenas não pudemos testar o miR-20a em nossa população, uma vez que a sonda obtida comercialmente não funcionou. Na presente casuística, apenas as expressões dos miRs-24 e -29a foram significativamente maiores no Grupo CaP com DM de início recente em comparação ao Grupo DM2. Esses miRs também foram significativamente mais expressos no Grupo CaP total (indivíduos com e sem DM) em comparação ao Grupo DM2. No entanto, essas diferenças perderam a significância estatística após o ajuste para variáveis de confusão.

É necessário ressaltar as diferenças entre os dois estudos que poderiam explicar os resultados algo discordantes, tais como diferentes delineamentos experimentais, a menor casuística do presente trabalho, diferentes características das duas populações e algumas diferenças metodológicas.

No estudo de Dai e cols., indivíduos com CaP e DM2 de início recente foram comparados com indivíduos com DM2 de início recente, sem CaP, conforme confirmado por uma tomografia computadorizada de abdômen negativa. A população de DM2 estudada no presente trabalho foi selecionada na Atenção primária, onde não haveria condições de realização de tomografia computadorizada para afastar CaP. Por essa razão, optamos por selecionar indivíduos com DM2 com mais de três anos de diagnóstico, para minimizar a possibilidade de eles também apresentarem CaP. O pequeno tamanho do Grupo

com CaP é uma das limitações desse estudo, e se justifica pela alta frequência de indivíduos com CaP em estágio avançado, que estão mais debilitados e frequentemente apresentam dor e caquexia, o que limita seu comparecimento e inclusão em estudos clínicos (91).

Também observamos várias diferenças demográficas entre as populações com CaP entre os dois estudos, sendo que a população deste estudo apresentava maior proporção de pacientes do sexo feminino (60% *versus* 47,5%), de tabagismo atual ou pregresso (43,5% *versus* 31,2%) e de estádios mais avançados III ou IV (91,3% *versus* 55%), o que pode implicar em mais pacientes recebendo tratamento ativo com quimioterapia em nossa casuística e, conseqüente, modulação da expressão dos miRs. Há relatos de aumento das concentrações de alguns miRs após tratamentos quimioterápicos (92–94).

O tabagismo, assim como outros agentes mutagênicos ambientais, pode modular a expressão de miRs (95,96). Zhang e cols. reportaram um aumento da expressão de diversos miRs nas células ductais de CaP de indivíduos tabagistas, sendo o mais relevante o miR-25-3p (miR-25 maduro); a expressão do miR-25-3p foi significativamente maior nas células ductais pancreáticas de tabagistas *versus* não tabagistas e no CaP *versus* tecidos não-tumorais (97). Em relação ao perfil plasmático e tabagismo, Takahashi e cols. avaliaram o perfil de miRs plasmáticos de indivíduos saudáveis fumantes e não fumantes e observaram aumento da expressão dos miRs -19a, -24 e 29a nos tabagistas (98). Os miRs -24 e 29a foram mais expressos no Grupo CaP com DM de início recente em relação ao Grupo DM2, mas a significância estatística foi perdida após ajuste para as variáveis significativamente diferentes entre os grupos, quais sejam, CA, IMC, frequência de tabagistas e colesterol-LDL. Apenas o tabagismo permaneceu significativo na análise de regressão logística, o que sugere que o tabagismo, e não a presença do CaP, module a expressão desses miRs. Quando classificamos os participantes do estudo em tabagistas e não tabagistas, independentemente de terem ou não CaP e/ou DM2, os miRs -24 e -29a foram significativamente mais expressos nos tabagistas. Com o ajuste para a única variável significativamente diferente entre os dois grupos, qual seja, a frequência

de CaP (maior no grupo com tabagismo), os valores de *P* aumentaram e ficaram no limite da significância estatística. Portanto, a frequente coexistência de CaP e tabagismo torna difícil estabelecer qual dessas duas condições mais influencia esses miRs; o estudo de Takahashi atribui um papel causal ao tabagismo, mas é provável que o CaP também participe dessa modulação. Um dado que corrobora essa possibilidade é que os miRs -24 e 29a foram significativamente mais expressos no Grupo com CaP em relação aos Grupo Controle e a significância estatística não foi perdida após ajuste para o tabagismo.

Liu e cols. também observaram um aumento do miR-24 em soro de indivíduos com CaP em comparação a indivíduos sem essa neoplasia (83), bem como sua maior expressão em amostras de CaP, com consequente redução de seu gene alvo Bim, um acelerador da apoptose (99). Por outro lado, Huang e cols. evidenciaram uma redução do miR-24 em amostras de CaP e a comparação de subgrupos com expressão mais alta e mais baixa desse miR mostrou que uma maior expressão estava associada a uma maior taxa de sobrevida. Os experimentos *in vitro* desse estudo sugeriram que o miR-24a inibe a progressão do CaP por reduzir a expressão de LAMB3 (*Laminin subunit beta 3*), proteína que participa da tumorigênese em diferentes tecidos (100). Portanto, a participação do miR-24 na oncogênese do CaP precisa ser melhor avaliada diante dos resultados controversos entre a expressão tecidual e a sérica.

Em relação ao miR-29a, ele possui vários genes-alvo, tais como *CDK2*, *MMP2*, Wnt/ β -catenin e *VEGF*, justificando sua associação com diversos fenômenos oncológicos (proliferação celular, diferenciação, apoptose, angiogênese, resistência a drogas, entre outros) (101). Este miR já se mostrou menos expresso em diversas neoplasias, incluindo leucemias, câncer de mama, colorretal, carcinoma escamoso oral, glioblastoma, entre outras (101). No CaP, já se relatou uma expressão reduzida de miR-29a levando a menor atividade da E-caderina e favorecendo a EMT (102). Além disso, já se descreveu que esse miR ativa a via de sinalização Wnt/ β -catenina no CaP, levando à resistência ao quimioterápico gencitabina (92). Um outro estudo mostrou que o miR-29a modula os efetores da via IGF1-p53 nas células estreladas pancreáticas,

favorecendo a carcinogênese, além de atuar na EMT (103). Em paralelo, dados *in vitro* e *in vivo* mostram que o miR-29a é um forte inibidor da expressão de MUC1, uma mucina oncogênica, nas células do CaP, funcionando como um supressor tumoral (104). Num outro estudo avaliando a expressão tecidual de diversos miRs, apesar de não se ter observado aumento ou diminuição da expressão do miR-29a no grupo de pacientes com CaP, ele esteve associado a pior prognóstico (105). Finalmente, um estudo recentemente publicado em uma coorte de indivíduos italianos com CaP identificou, a partir de um perfil de expressão de miRs, o miR-29a (juntamente com o miR-20b) como mais expresso em indivíduos com CaP e DM de início recente (diagnóstico realizado há menos de dois anos do diagnóstico do CaP) em comparação a indivíduos com CaP e DM de duração maior que dois anos. O miR-29a também foi mais expresso em indivíduos com CaP e sem CaP com DM de início recente em relação a indivíduos saudáveis e em indivíduos com CaP e sem CaP com DM de maior duração em relação a indivíduos saudáveis (106)

Tanto o miR-24 quanto o miR-29 também já foram associados ao DM. Uma menor expressão sérica do miR-24 em indivíduos com DM2 em comparação a controles não diabéticos foi observada em um estudo no qual também se encontrou sua correlação negativa com HbA1c (107). Uma relação do miR-29a com o DM já é conhecida; ele atua como um regulador positivo da secreção de insulina (108). Esse miR tem sua expressão aumentada pela hiperglicemia e por citocinas pró-inflamatórias e seu aumento foi reportado no soro de 18 indivíduos com diagnóstico recente de DM2 em comparação a indivíduos sem DM (109). No presente trabalho, a expressão desses miRs não foi diferente entre os Grupos DM2 e Controle; quando todos os indivíduos incluídos no estudo foram agrupados em com e sem DM, independente do status do CaP, os miRs -24 e -29a foram mais expressos no Grupo com DM, no entanto, tal diferença deixou de ser significativa após ajuste para as variáveis de confusão.

Retomando as diferenças observadas entre nosso estudo e o estudo de Dai e cols., a proporção de indivíduos com CaP e $IMC \geq 24 \text{ kg/m}^2$ na presente

casuística foi de 38%, enquanto 100% dos indivíduos com CaP no estudo de Dai e cols. apresentavam IMC < 24 kg/m². Dados recentemente publicados mostram que o miR-29a oriundo do tecido adiposo pode modular a resistência insulínica em outros tecidos (108,110). Um aumento da expressão de miR-24 em tecido adiposo abdominal já foi descrito em indivíduos com obesidade e DM2 (111). Da mesma forma, também se observou que a expressão do miR-29a no tecido adiposo é modulada por marcadores de adiposidade (112). Esses dados sugerem que diferenças na quantidade de tecido adiposo possam influenciar a expressão desses miRs no soro. No entanto, as análises das expressões dos miRs de acordo com o IMC, agrupando os participantes em com e sem sobrepeso e em com e sem obesidade, independentemente da presença de CaP e DM2, não mostraram diferenças na expressão dos miRs estudados (dados não mostrados).

Finalmente, no estudo de Dai e cols., o controle interno utilizado foi a média da expressão dos miRs let-7d, let-7g e let-7i, enquanto em nosso estudo, utilizamos a média entre um controle exógeno, o miR-39, e um controle endógeno, o miR-let7d. O controle utilizado na reação pode modificar os resultados obtidos. No presente estudo, havíamos inicialmente usado apenas o miR-39 e alguns dos resultados diferiram daqueles obtidos com a média da expressão do miR-39 com o miR let-7d. Uma vantagem do uso do miR-39 é que ele não sofre modulação por variáveis demográficas, clínicas ou bioquímicas dos participantes, mas o uso da média de expressão de mais de um controle da reação é recomendável. É importante mencionar que no estudo de Takahashi e cols., o tabagismo aumentou a expressão do miR let-7d e do miR let-7g (98). Por outro lado, no estudo de Shi e cols. o miR let-7d teve sua expressão reduzida pelo tabagismo (113). Esses resultados contraditórios mostram como a escolha dos miRs a serem usados como controles é complexa e tem o potencial de interferir nos resultados observados.

A expressão do miR-19a já foi descrita como aumentada em diversas neoplasias, tais como leucemia, câncer de mama, colo uterino, colorretal, esôfago e pulmão (114). Esse miR estimulou proliferação celular, migração e

invasão *in vitro* e *in vivo*, além de se associar com um prognóstico ruim em indivíduos com CaP. O miR-19a tem como alvo o RHOB (*Ras homolog family member B*), cuja expressão foi reduzida em amostras de CaP. A restauração da expressão do RHOB induziu apoptose e inibiu a proliferação e a migração das células ASPC-1 (115). Recentemente, um estudo conduzido por Zou e cols. apontou maior expressão do miR-19a no soro de pacientes com CaP quando comparado a controles (116), enquanto em nosso estudo, a expressão do miR-19a foi menor no Grupo CaP em relação ao Grupo Controle. Cabe ressaltar diferenças entre as populações com CaP de ambos os estudos, com muito mais indivíduos tabagistas, com doença avançada e com DM (70% *versus* 20,9% na coorte de treinamento e 26,7% na coorte de validação) na presente casuística, fato que pode ter contribuído para os resultados divergentes, especialmente se considerarmos que, em nosso estudo, mesmo após ajustes para as variáveis de confusão, o miR-19a foi menos expresso no Grupo DM2 em relação ao Grupo Controle, bem como no Grupo com DM em relação ao Grupo sem DM quando os participantes foram agrupados independentemente do status do CaP. Esses achados sugerem que a alta proporção de indivíduos com DM no Grupo CaP possa ter contribuído para a menor expressão do miR-19a nesse grupo em comparação ao Grupo Controle.

Li e cols. já haviam mostrado uma menor expressão do miR-19a-3p no plasma de indivíduos com DM2 em comparação a controles não diabéticos. Esse estudo mostrou, ainda, uma correlação negativa do miR-19a com a glicemia. Os resultados da transfecção de uma linhagem de células beta com esse miR sugeriram que ele estimule a proliferação celular e secreção de insulina, suprima a apoptose das células beta e suprima a proteína SOCS3 (*Suppressor of cytokine signaling 3*), cujo mRNA é alvo do miR-19a. Assim, acredita-se que a redução do miR-19a esteja envolvida na disfunção das células beta (117).

Adicionalmente, Tan e cols. realizaram um estudo em uma linhagem de células de câncer pancreático (ASPC-1) com endostatina e gencitabina e observaram que esses tratamentos reduziram a expressão do miR-19a. Na presente casuística, 57% dos indivíduos estavam em uso de gencitabina, o que

também pode ter contribuído para a menor expressão do miR-19a no Grupo CaP em relação ao Grupo Controle.

O aumento da expressão do miR-25 já foi documentado em diversas neoplasias, como gliomas, câncer de pulmão, mama, ovário, próstata, tireoide, esôfago, estômago, colorretal, entre outros (118,119). Acredita-se que o miR-25 exerça seu efeito oncogênico ao regular negativamente o *Abl interactor 2* (ABI2), responsável pela organização do citoesqueleto, estimulando com isso a proliferação celular (120). Além do estudo de Dai e cols. (75), no estudo de Liu e cols., que incluiu 197 pacientes com CaP e 158 controles sem a neoplasia, a expressão sérica de miR-25 foi significativamente maior no grupo com CaP (83), diferentemente do observado na presente casuística, na qual a expressão de miR-25 foi menor no Grupo CaP em relação ao Grupo Controle. Cabe novamente ressaltar algumas diferenças entre as populações com CaP avaliadas em nosso estudo e no estudo de Liu, tais como maiores proporções de histórico atual ou prévio de tabagismo (43,5 *versus* 12,1%, respectivamente), sexo feminino (61 *versus* 47,7%, respectivamente) e estádios III ou IV (93,1 *versus* 56,3%, respectivamente) em nosso trabalho; o estudo de Liu não menciona a proporção de indivíduos com DM nos grupos avaliados. É possível que essas diferenças possam influenciar os resultados observados; o tabagismo, por exemplo, já foi descrito como capaz de modular a maturação do miR-25 (97).

Num outro estudo chinês que incluiu 164 pacientes com CaP, o miR-25 foi significativamente mais expresso no soro de indivíduos com CaP quando comparado a controles saudáveis, com doença pancreática benigna ou com outros tumores do trato gastrointestinal (121). Novamente, chamamos a atenção para as diferenças nas populações incluídas nos estudos; nossa casuística de CaP apresenta maior proporção de indivíduos tabagistas (43,5 *versus* 20,7%), do sexo feminino (61 *versus* 42,6%) e com DM (68,2 *versus* 25,6%).

O miR-25 já foi implicado na patogênese do DM. Num modelo murino de DM induzido por estreptozotocina, houve aumento da expressão pancreática de miR-25 e reduzida expressão de seu mRNA-alvo PTBP1 (*Polypyrimidine Tract*

Binding Protein 1), levando à menor produção de insulina (122). No entanto, um estudo observou menor expressão de miR-25 no sangue periférico de indivíduos com DM2 ou DM1 (123). No presente trabalho, também observamos menor expressão do miR-25 no Grupo DM2 em relação ao Grupo Controle após ajuste para as variáveis significativamente diferentes entre os grupos. Essa menor expressão em indivíduos com DM2 também pode explicar, à semelhança do que foi levantado para o miR-19a, a menor expressão do miR-25 no Grupo com CaP (que apresenta 70% de indivíduos com DM) em relação ao Grupo Controle.

Apesar dos resultados das expressões do grupo com CaP e DM de início recente e do grupo DM2 não terem diferido de maneira significativa para os miRs-19a, -25 e -483 e terem perdido a significância estatística para os miRs-24 e 29a após o ajuste para as variáveis confundidoras, os resultados das curvas ROC sugeriram que os cinco miRs podem ser capazes de discriminar um DM associado ao CaP de um DM2, principalmente os miRs-24 e 29a e especialmente quando se considera o IMC dos indivíduos. Esses resultados corroboram os achados de Dai e cols. (75), que provavelmente observaram valores elevados nas ASC nas curvas ROC sem ajuste para o IMC por terem avaliado uma população mais homogênea (100% dos indivíduos tinham IMC < 24 kg/m²) que a população avaliada no presente estudo.

7. CONCLUSÕES

Os miRs-24 e miR-29a foram mais expressos no soro de pacientes com CaP e DM de início recente em comparação a indivíduos com DM2; eles também foram mais expressos na população total de indivíduos com CaP em comparação aos indivíduos com DM2 e aos indivíduos Controle. Os resultados das curvas ROC sugerem que os cinco miRs avaliados possam ser usados para discriminar DM de início recente associado ao CaP de DM2.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cubilla AL, Fitzgerald PJ. Morphological patterns of primary nonendocrine human pancreas carcinoma. *Cancer Res.* 1975 Aug;35(8):2234–48.
2. Kern SE, Goggins MG HR. Pancreas Cancer: Molecular biology and genetics. In: Kelsen DP, Daly JM, Kern SE, Levin B TJ, editor. *Gastrointestinal Oncology: Principles & Practice.* 1st ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
3. Statistical Epidemiology and End Results (SEER): Cancer Statistics Review 1975-2013 [Internet]. Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/results_merged/sect_22_pancreas.pdf
4. Sener SF, Fremgen A, Menck HR, Winchester DP. Pancreatic cancer: a report of treatment and survival trends for 100,313 patients diagnosed from 1985-1995, using the National Cancer Database. *J Am Coll Surg.* 1999 Jul;189(1):1–7.
5. Brooks AD CK. Pancreas Cancer: Staging Systems and Techniques. In: Kelsen DP, Daly JM, Kern SE, Levin B TJ, editor. *Gastrointestinal Oncology: Principles & Practice.* 1st ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
6. Henrikson NB, Aiello Bowles EJ, Blasi PR, Morrison CC, Nguyen M, Pillarisetty VG, et al. Screening for Pancreatic Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 2019 Aug;322(5):445–54.
7. Ballehaninna UK, Chamberlain RS. The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: An evidence based appraisal. *J Gastrointest Oncol.* 2012 Jun;3(2):105–19.

8. Ben Q, Xu M, Ning X, Liu J, Hong S, Huang W, et al. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer*. 2011 Sep;47(13):1928–37.
9. Zhang J-J, Jia J-P, Shao Q, Wang Y-K. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer in China: A meta-analysis based on 26 case-control studies. *Prim Care Diabetes*. 2019 Jun;13(3):276–82.
10. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2004 Aug;4(8):579–91.
11. Stolzenberg-Solomon RZ, Graubard BI, Chari S, Limburg P, Taylor PR, Virtamo J, et al. Insulin, glucose, insulin resistance, and pancreatic cancer in male smokers. *JAMA*. 2005 Dec;294(22):2872–8.
12. Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Aug;10(8):455–65.
13. Bracci PM. Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiologic evidence and biologic mechanisms. *Mol Carcinog*. 2012 Jan;51(1):53–63.
14. Rozengurt E. Mechanistic target of rapamycin (mTOR): a point of convergence in the action of insulin/IGF-1 and G protein-coupled receptor agonists in pancreatic cancer cells. *Front Physiol*. 2014;5:357.
15. Ireland L, Santos A, Ahmed MS, Rainer C, Nielsen SR, Quaranta V, et al. Chemoresistance in Pancreatic Cancer Is Driven by Stroma-Derived Insulin-Like Growth Factors. *Cancer Res*. 2016 Dec;76(23):6851–63.
16. Roberts DL, Dive C, Renehan AG. Biological mechanisms linking obesity and cancer risk: new perspectives. *Annu Rev Med*. 2010;61:301–16.
17. Renehan AG, Roberts DL, Dive C. Obesity and cancer:

- pathophysiological and biological mechanisms. *Arch Physiol Biochem.* 2008 Feb;114(1):71–83.
18. Deng T, Lyon CJ, Bergin S, Caligiuri MA, Hsueh WA. Obesity, Inflammation, and Cancer. *Annu Rev Pathol.* 2016 May;11:421–49.
 19. Renehan AG, Zwahlen M, Egger M. Adiposity and cancer risk: new mechanistic insights from epidemiology. *Nat Rev Cancer.* 2015 Aug;15(8):484–98.
 20. Harvey AE, Lashinger LM, Hursting SD. The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory issue. *Ann N Y Acad Sci.* 2011 Jul;1229:45–52.
 21. Chang S-C, Yang W-CV. Hyperglycemia, tumorigenesis, and chronic inflammation. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016 Dec;108:146–53.
 22. Wang L, Bai Y-Y, Yang Y, Hu F, Wang Y, Yu Z, et al. Diabetes mellitus stimulates pancreatic cancer growth and epithelial-mesenchymal transition-mediated metastasis via a p38 MAPK pathway. *Oncotarget.* 2016 Jun;7(25):38539–50.
 23. Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development. *Nat Rev Cancer.* 2009 Aug;9(8):537–49.
 24. Liu H, Ma Q, Li J. High glucose promotes cell proliferation and enhances GDNF and RET expression in pancreatic cancer cells. *Mol Cell Biochem.* 2011 Jan;347(1–2):95–101.
 25. Peppia M, Uribarri J, Vlassara H. Glucose, Advanced Glycation End Products, and Diabetes Complications: What Is New and What Works. *Clin Diabetes [Internet].* 2003 Oct 1;21(4):186 LP – 187. Available from: <http://clinical.diabetesjournals.org/content/21/4/186.abstract>
 26. Abe R, Yamagishi S. AGE-RAGE system and carcinogenesis. *Curr*

- Pharm Des. 2008;14(10):940–5.
27. Leclerc E, Vetter SW. The role of S100 proteins and their receptor RAGE in pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Dec;1852(12):2706–11.
 28. Tan ALY, Forbes JM, Cooper ME. AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol*. 2007 Mar;27(2):130–43.
 29. Yamamoto Y, Yamagishi S, Hsu CC, Yamamoto H. Advanced glycation endproducts-receptor interactions stimulate the growth of human pancreatic cancer cells through the induction of platelet-derived growth factor-B. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 May;222(3):700–5.
 30. Meacham CE, Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature*. 2013 Sep;501(7467):328–37.
 31. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature*. 2012 Jan;481(7381):306–13.
 32. Rahn S, Zimmermann V, Viol F, Knaack H, Stemmer K, Peters L, et al. Diabetes as risk factor for pancreatic cancer: Hyperglycemia promotes epithelial-mesenchymal-transition and stem cell properties in pancreatic ductal epithelial cells. *Cancer Lett*. 2018 Feb;415:129–50.
 33. Dennler S, Goumans M-J, ten Dijke P. Transforming growth factor beta signal transduction. *J Leukoc Biol*. 2002 May;71(5):731–40.
 34. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet (London, England)*. 2008 Feb;371(9612):569–78.
 35. Michaud DS, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, Stampfer MJ, Fuchs CS. Physical activity, obesity, height, and the risk of pancreatic cancer. *JAMA*. 2001 Aug;286(8):921–9.

36. Butler AE, Galasso R, Matveyenko A, Rizza RA, Dry S, Butler PC. Pancreatic duct replication is increased with obesity and type 2 diabetes in humans. *Diabetologia*. 2010 Jan;53(1):21–6.
37. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res*. 2005 Nov;46(11):2347–55.
38. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AWJ. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1796–808.
39. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest*. 2006 Jun;116(6):1494–505.
40. Incio J, Liu H, Suboj P, Chin SM, Chen IX, Pinter M, et al. Obesity-Induced Inflammation and Desmoplasia Promote Pancreatic Cancer Progression and Resistance to Chemotherapy. *Cancer Discov*. 2016 Aug;6(8):852–69.
41. Booth A, Magnuson A, Fouts J, Foster M. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2015 Jan;21(1):57–74.
42. Zhou B, Wu D, Liu H, Du L-T, Wang Y-S, Xu J-W, et al. Obesity and pancreatic cancer: An update of epidemiological evidence and molecular mechanisms. *Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol* . [et al]. 2019 Oct;19(7):941–50.
43. Vongsuvan R, George J, Qiao L, van der Poorten D. Visceral adiposity in gastrointestinal and hepatic carcinogenesis. *Cancer Lett*. 2013 Mar;330(1):1–10.

44. Wijesekara N, Krishnamurthy M, Bhattacharjee A, Suhail A, Sweeney G, Wheeler MB. Adiponectin-induced ERK and Akt phosphorylation protects against pancreatic beta cell apoptosis and increases insulin gene expression and secretion. *J Biol Chem*. 2010 Oct;285(44):33623–31.
45. Huang B, Cheng X, Wang D, Peng M, Xue Z, Da Y, et al. Adiponectin promotes pancreatic cancer progression by inhibiting apoptosis via the activation of AMPK/Sirt1/PGC-1 α signaling. *Oncotarget*. 2014 Jul;5(13):4732–45.
46. Ren H, Jia L, Zhao T, Zhang H, Chen J, Yang S, et al. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 α directly activates leptin receptor (Ob-R) in pancreatic cancer cells. *Cancer Lett*. 2014 Nov;354(1):172–80.
47. Fan Y, Gan Y, Shen Y, Cai X, Song Y, Zhao F, et al. Leptin signaling enhances cell invasion and promotes the metastasis of human pancreatic cancer via increasing MMP-13 production. *Oncotarget*. 2015 Jun;6(18):16120–34.
48. Harbuzariu A, Rampoldi A, Daley-Brown DS, Candelaria P, Harmon TL, Lipsey CC, et al. Leptin-Notch signaling axis is involved in pancreatic cancer progression. *Oncotarget*. 2017 Jan;8(5):7740–52.
49. Liao W-C, Huang B-S, Yu Y-H, Yang H-H, Chen P-R, Huang C-C, et al. Galectin-3 and S100A9: Novel Diabetogenic Factors Mediating Pancreatic Cancer-Associated Diabetes. *Diabetes Care*. 2019 Sep;42(9):1752–9.
50. Chari ST, Zapiach M, Yadav D, Rizza RA. Beta-cell function and insulin resistance evaluated by HOMA in pancreatic cancer subjects with varying degrees of glucose intolerance. *Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol* . [et al]. 2005;5(2–3):229–33.
51. Aggarwal G, Ramachandran V, Javeed N, Arumugam T, Dutta S, Klee GG, et al. Adrenomedullin is up-regulated in patients with pancreatic

- cancer and causes insulin resistance in β cells and mice. *Gastroenterology*. 2012 Dec;143(6):1510-1517.e1.
52. Singh V, Bren GD, Algeceras-Schmnich A, Schnepfle D, Navina S, Vlahakis SR, et al. NELFINAVIR STABILIZES MOMP AND REDUCES ACINAR INJURY IN PANCREATITIS. *Pancreas* [Internet]. 2006;33(4). Available from: https://journals.lww.com/pancreasjournal/Fulltext/2006/11000/NELFINAVIR_STABILIZES_MOMP_AND_REDUCES_ACINAR.206.aspx
 53. Aggarwal G, Rabe KG, Petersen GM, Chari ST. New-onset diabetes in pancreatic cancer: a study in the primary care setting. *Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol* . [et al]. 2012;12(2):156–61.
 54. Gullo L, Pezzilli R, Morselli-Labate AM. Diabetes and the risk of pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 1994 Jul;331(2):81–4.
 55. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*. 1993 Dec;75(5):855–62.
 56. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 2001 Oct;294(5543):858–62.
 57. Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 2001 Oct;294(5543):862–4.
 58. Hammond SM. An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015 Jun;87:3–14.
 59. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003 Sep;425(6956):415–9.
 60. Paul P, Chakraborty A, Sarkar D, Langthasa M, Rahman M, Bari M, et al.

- Interplay between miRNAs and human diseases. *J Cell Physiol.* 2018 Mar;233(3):2007–18.
61. miRBase [Internet]. Available from: <http://www.mirbase.org>
 62. Ambros V, Bartel B, Bartel DP, Burge CB, Carrington JC, Chen X, et al. A uniform system for microRNA annotation. *RNA.* 2003 Mar;9(3):277–9.
 63. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2006 Jan;34(Database issue):D140-4.
 64. Pereira TC. *Introdução ao Mundo dos MicroRNAs.* 1st ed. Editora SBG; 2015. 342 p.
 65. Vannini I, Fanini F, Fabbri M. Emerging roles of microRNAs in cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 2018 Feb;48:128–33.
 66. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Nov;99(24):15524–9.
 67. Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2016;1(1):15004. Available from: <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>
 68. Srivastava SK, Arora S, Singh S, Bhardwaj A, Averett C, Singh AP. MicroRNAs in pancreatic malignancy: progress and promises. *Cancer Lett.* 2014 Jun;347(2):167–74.
 69. Rachagani S, Macha MA, Heimann N, Seshacharyulu P, Haridas D, Chugh S, et al. Clinical implications of miRNAs in the pathogenesis, diagnosis and therapy of pancreatic cancer. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 Jan;81:16–33.
 70. Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, et al.

- Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J cancer*. 2007 Mar;120(5):1046–54.
71. Zhang Y, Li M, Wang H, Fisher WE, Lin PH, Yao Q, et al. Profiling of 95 microRNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real-time PCR analysis. *World J Surg*. 2009 Apr;33(4):698–709.
 72. Ali S, Ahmad A, Banerjee S, Padhye S, Dominiak K, Schaffert JM, et al. Gemcitabine sensitivity can be induced in pancreatic cancer cells through modulation of miR-200 and miR-21 expression by curcumin or its analogue CDF. *Cancer Res*. 2010 May;70(9):3606–17.
 73. Srivastava SK, Bhardwaj A, Singh S, Arora S, Wang B, Grizzle WE, et al. MicroRNA-150 directly targets MUC4 and suppresses growth and malignant behavior of pancreatic cancer cells. *Carcinogenesis*. 2011 Dec;32(12):1832–9.
 74. Khan MA, Zubair H, Srivastava SK, Singh S, Singh AP. Insights into the Role of microRNAs in Pancreatic Cancer Pathogenesis: Potential for Diagnosis, Prognosis, and Therapy. *Adv Exp Med Biol*. 2015;889:71–87.
 75. Dai X, Pang W, Zhou Y, Yao W, Xia L, Wang C, et al. Altered profile of serum microRNAs in pancreatic cancer-associated new-onset diabetes mellitus. *J Diabetes*. 2016 May;8(3):422–33.
 76. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*. 2020 Jan;43(Suppl 1):S14–31.
 77. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet (London, England)*. 2005 Sep;366(9491):1059–62.
 78. Bezerra DP dos S. Identificação de fatores epigenéticos associados às complicações crônicas em portadores de diabetes mellitus tipo 1. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2018.

79. Javeed N, Sagar G, Dutta SK, Smyrk TC, Lau JS, Bhattacharya S, et al. Pancreatic Cancer-Derived Exosomes Cause Paraneoplastic β -cell Dysfunction. *Clin cancer Res an Off J Am Assoc Cancer Res*. 2015 Apr;21(7):1722–33.
80. Szafranska AE, Davison TS, John J, Cannon T, Sipos B, Maghnouj A, et al. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*. 2007 Jun;26(30):4442–52.
81. Wang J, Chen J, Chang P, LeBlanc A, Li D, Abbruzzesse JL, et al. MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2009 Sep;2(9):807–13.
82. Liu J, Gao J, Du Y, Li Z, Ren Y, Gu J, et al. Combination of plasma microRNAs with serum CA19-9 for early detection of pancreatic cancer. *Int J cancer*. 2012 Aug;131(3):683–91.
83. Liu R, Chen X, Du Y, Yao W, Shen L, Wang C, et al. Serum microRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. *Clin Chem*. 2012 Mar;58(3):610–8.
84. Szafranska-Schwarzbach AE, Adai AT, Lee LS, Conwell DL, Andruss BF. Development of a miRNA-based diagnostic assay for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Expert Rev Mol Diagn*. 2011 Apr;11(3):249–57.
85. LaConti JJ, Shivapurkar N, Preet A, Deslattes Mays A, Peran I, Kim SE, et al. Tissue and serum microRNAs in the Kras(G12D) transgenic animal model and in patients with pancreatic cancer. *PLoS One*. 2011;6(6):e20687.
86. Ozcan S. MiR-30 family and EMT in human fetal pancreatic islets. *Islets*. 2009;1(3):283–5.
87. Sureban SM, May R, Lightfoot SA, Hoskins AB, Lerner M, Brackett DJ, et

- al. DCAMKL-1 regulates epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cells through a miR-200a-dependent mechanism. *Cancer Res.* 2011 Mar;71(6):2328–38.
88. Abue M, Yokoyama M, Shibuya R, Tamai K, Yamaguchi K, Sato I, et al. Circulating miR-483-3p and miR-21 is highly expressed in plasma of pancreatic cancer. *Int J Oncol.* 2015 Feb;46(2):539–47.
89. Mooren FC, Viereck J, Krüger K, Thum T. Circulating microRNAs as potential biomarkers of aerobic exercise capacity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014 Feb;306(4):H557-63.
90. Kaur P, Kotru S, Singh S, Behera BS, Munshi A. Role of miRNAs in the pathogenesis of T2DM, insulin secretion, insulin resistance, and β cell dysfunction: the story so far. *J Physiol Biochem.* 2020 Aug;
91. Wolfgang CL, Herman JM, Laheru DA, Klein AP, Erdek MA, Fishman EK, et al. Recent progress in pancreatic cancer. *CA Cancer J Clin.* 2013 Sep;63(5):318–48.
92. Nagano H, Tomimaru Y, Eguchi H, Hama N, Wada H, Kawamoto K, et al. MicroRNA-29a induces resistance to gemcitabine through the Wnt/ β -catenin signaling pathway in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol.* 2013 Oct;43(4):1066–72.
93. Zhao Y, Zhao L, Ischenko I, Bao Q, Schwarz B, Nieß H, et al. Antisense inhibition of microRNA-21 and microRNA-221 in tumor-initiating stem-like cells modulates tumorigenesis, metastasis, and chemotherapy resistance in pancreatic cancer. *Target Oncol.* 2015 Dec;10(4):535–48.
94. Si W, Shen J, Zheng H, Fan W. The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. *Clin Epigenetics.* 2019 Feb;11(1):25.
95. Schembri F, Sridhar S, Perdomo C, Gustafson AM, Zhang X, Ergun A, et al. MicroRNAs as modulators of smoking-induced gene expression

- changes in human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb;106(7):2319–24.
96. Momi N, Kaur S, Rachagani S, Ganti AK, Batra SK. Smoking and microRNA dysregulation: a cancerous combination. *Trends Mol Med*. 2014 Jan;20(1):36–47.
 97. Zhang J, Bai R, Li M, Ye H, Wu C, Wang C, et al. Excessive miR-25-3p maturation via N(6)-methyladenosine stimulated by cigarette smoke promotes pancreatic cancer progression. *Nat Commun*. 2019 Apr;10(1):1858.
 98. Takahashi K, Yokota S-I, Tatsumi N, Fukami T, Yokoi T, Nakajima M. Cigarette smoking substantially alters plasma microRNA profiles in healthy subjects. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013 Oct;272(1):154–60.
 99. Liu R, Zhang H, Wang X, Zhou L, Li H, Deng T, et al. The miR-24-Bim pathway promotes tumor growth and angiogenesis in pancreatic carcinoma. *Oncotarget*. 2015 Dec;6(41):43831–42.
 100. Huang W, Gu J, Tao T, Zhang J, Wang H, Fan Y. MiR-24-3p Inhibits the Progression of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Through LAMB3 Downregulation. *Front Oncol*. 2019;9:1499.
 101. Wang J-Y, Zhang Q, Wang D-D, Yan W, Sha H-H, Zhao J-H, et al. MiR-29a: a potential therapeutic target and promising biomarker in tumors. *Biosci Rep*. 2018 Feb;38(1).
 102. Kwon JJ, Willy JA, Quirin KA, Wek RC, Korc M, Yin X-M, et al. Novel role of miR-29a in pancreatic cancer autophagy and its therapeutic potential. *Oncotarget*. 2016 Nov;7(44):71635–50.
 103. Dey S, Liu S, Factor TD, Taleb S, Riverahernandez P, Udari L, et al. Global targetome analysis reveals critical role of miR-29a in pancreatic stellate cell mediated regulation of PDAC tumor microenvironment. *BMC Cancer*. 2020 Jul;20(1):651.

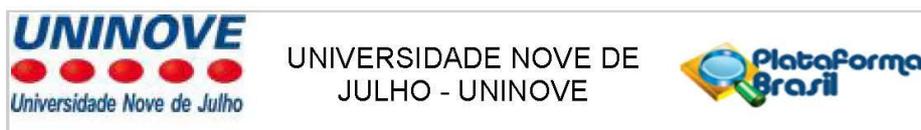
104. Tréhoux S, Lahdaoui F, Delpu Y, Renaud F, Leteurtre E, Torrisani J, et al. Micro-RNAs miR-29a and miR-330-5p function as tumor suppressors by targeting the MUC1 mucin in pancreatic cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Oct;1853(10 Pt A):2392–403.
105. Calatayud D, Dehlendorff C, Boisen MK, Hasselby JP, Schultz NA, Werner J, et al. Tissue MicroRNA profiles as diagnostic and prognostic biomarkers in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma and periampullary cancers. *Biomark Res*. 2017;5:8.
106. Tavano F, Fontana A, Mazza T, Gioffreda D, Biagini T, Palumbo O, et al. Early-Onset Diabetes as Risk Factor for Pancreatic Cancer: miRNA Expression Profiling in Plasma Uncovers a Role for miR-20b-5p, miR-29a, and miR-18a-5p in Diabetes of Recent Diagnosis. *Front Oncol*. 2020;10:1567.
107. Xiang Y, Cheng J, Wang D, Hu X, Xie Y, Stitham J, et al. Hyperglycemia repression of miR-24 coordinately upregulates endothelial cell expression and secretion of von Willebrand factor. *Blood*. 2015 May;125(22):3377–87.
108. Dooley J, Garcia-Perez JE, Sreenivasan J, Schlenner SM, Vangoitsenhoven R, Papadopoulou AS, et al. The microRNA-29 Family Dictates the Balance Between Homeostatic and Pathological Glucose Handling in Diabetes and Obesity. *Diabetes*. 2016 Jan;65(1):53–61.
109. Ślusarz A, Pulakat L. The two faces of miR-29. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2015 Jul;16(7):480–90.
110. Liu T, Sun Y-C, Cheng P, Shao H-G. Adipose tissue macrophage-derived exosomal miR-29a regulates obesity-associated insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Jul;515(2):352–8.
111. Nunez Lopez YO, Garufi G, Pasarica M, Seyhan AA. 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;2018:7351902.
112. Giardina S, Hernández-Alonso P, Salas-Salvadó J, Rabassa-Soler A, Bulló M. Modulation of Human Subcutaneous Adipose Tissue MicroRNA Profile Associated with Changes in Adiposity-Related Parameters. *Mol Nutr Food Res*. 2018 Jan;62(2).
 113. Shi B, Gao H, Zhang T, Cui Q. Analysis of plasma microRNA expression profiles revealed different cancer susceptibility in healthy young adult smokers and middle-aged smokers. *Oncotarget*. 2016 Apr;7(16):21676–85.
 114. Peng Y, Huang D, Ma K, Deng X, Shao Z. MiR-19a as a prognostic indicator for cancer patients: a meta-analysis. *Biosci Rep*. 2019 May;39(5).
 115. Tan Y, Yin H, Zhang H, Fang J, Zheng W, Li D, et al. Sp1-driven up-regulation of miR-19a decreases RHOB and promotes pancreatic cancer. *Oncotarget*. 2015 Jul;6(19):17391–403.
 116. Zou X, Wei J, Huang Z, Zhou X, Lu Z, Zhu W, et al. Identification of a six-miRNA panel in serum benefiting pancreatic cancer diagnosis. *Cancer Med*. 2019 Jun;8(6):2810–22.
 117. Li Y, Luo T, Wang L, Wu J, Guo S. MicroRNA-19a-3p enhances the proliferation and insulin secretion, while it inhibits the apoptosis of pancreatic β cells via the inhibition of SOCS3. *Int J Mol Med*. 2016 Nov;38(5):1515–24.
 118. Caiazza C, Mallardo M. The Roles of miR-25 and its Targeted Genes in Development of Human Cancer. *MicroRNA (Sharjah, United Arab Emirates)*. 2016;5(2):113–9.
 119. Sárközy M, Kahán Z, Csont T. A myriad of roles of miR-25 in health and disease. *Oncotarget*. 2018 Apr;9(30):21580–612.

120. Lu H, Zhang L, Lu S, Yang D, Ye J, Li M, et al. miR-25 expression is upregulated in pancreatic ductal adenocarcinoma and promotes cell proliferation by targeting ABI2. *Exp Ther Med*. 2020 May;19(5):3384–90.
121. Yuan W, Tang W, Xie Y, Wang S, Chen Y, Qi J, et al. New combined microRNA and protein plasmatic biomarker panel for pancreatic cancer. *Oncotarget*. 2016 Nov;7(48):80033–45.
122. Setyowati Karolina D, Sepramaniam S, Tan HZ, Armugam A, Jeyaseelan K. miR-25 and miR-92a regulate insulin I biosynthesis in rats. *RNA Biol*. 2013 Aug;10(8):1365–78.
123. Liu Y, Li H, Liu J, Han P, Li X, Bai H, et al. Variations in MicroRNA-25 Expression Influence the Severity of Diabetic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Dec;28(12):3627–38.

ANEXOS

Anexo 1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação da proteína FAM3D no plasma e de seu mRNA em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas, Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus e Determinação do perfil de microRNAs no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus.

Pesquisador: José Antônio Januário Neves

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 93908318.0.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.962.839

Apresentação do Projeto:

Informações extraídas do documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1145766.pdf de 01/10/2018.

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença que cresce de forma preocupante no mundo inteiro, em especial nos países em desenvolvimento. A relação do DM2 com o câncer é bem estabelecida em vários estudos epidemiológicos. No entanto, as vias que fazem o estímulo para o aparecimento e aumento das células cancerosas, dentre outras vias, precisam ser mais bem estabelecidas. Este risco aumentado pode ser devido

ao estímulo hormonal (insulina, IGF1, adipocinas); imunológico (inflamação) e metabólico (hiperglicemia), e até mesmo sobre determinados tratamentos. O FAM3D faz parte de uma subfamília de proteínas semelhantes as citocinas conhecidas como Family with Sequence Similarity 3 (FAM3), na qual cada membro contém 224-235 aminoácidos. Sugere-se que o FAM3B seria um regulador negativo da função das células e poderia

estar relacionado à apoptose de células. Também foi mostrada a relação do FAM3D em pacientes com Adenocarcinoma de Pâncreas (ACP) e DM2 e em pacientes com DM2 em uso de Sulfoniluréias. Para verificar a hipótese de que as concentrações plasmáticas de FAM3D apresentam-se

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

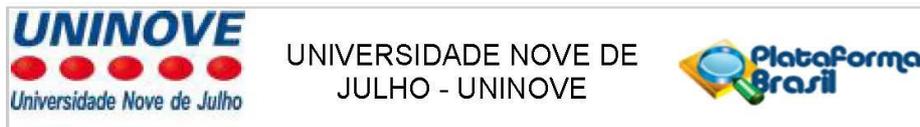
Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.839

aumentadas em pacientes com ACP, em relação ao indivíduo saudável, os objetivos dessa pesquisa são avaliar, em pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas e DM de início recente, em indivíduos com DM tipo 2 de longa duração e em indivíduos saudáveis, pareados de acordo com sexo e idade a concentração plasmática da proteína FAM3D e a expressão do mRNA do FAM3D em exossomas de soro. Serão selecionados pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas no ambulatório do Hospital Oswaldo Cruz e dos Hospitais Santa Maggiore. Todos serão submetidos à mensuração das medidas antropométricas: peso (kg) e altura (m) aferidos em balança e estadiômetro da marca Welmy; cálculo do IMC (em kg/m²) e circunferência abdominal aferida com fita métrica flexível e inelástica (cm). Exames Bioquímicos: glicemia de jejum (mg/dL), hemoglobina glicada (%), insulina (U/ml), cálculo do HOMA-IR (glicose [mmol/L] x insulina [U/ml] ÷ 22,5), peptídeo C (ng/mL), CA19-9 (U/mL). Serão analisados dados clínicos e patológicos colhidos retrospectivamente dos prontuários de pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas, tais como idade, sexo, estágio da doença (I a IV), sítio do tumor primário (cabeça, corpo ou cauda pancreática), tratamentos já realizados ou em andamento, data do diagnóstico, história de tabagismo, diferenciação do tumor e performance status de acordo com a escala Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). No grupo com DM serão colhidos data do diagnóstico de DM e medicações em uso.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Os objetivos dessa pesquisa são avaliar, em pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas e DM de início recente, em indivíduos com DM tipo

2 de longa duração e em indivíduos saudáveis, pareados de acordo com sexo e idade: A concentração plasmática da proteína FAM3D e a expressão do mRNA do FAM3D em exossomas de soro.

Objetivo Secundário: Determinação do perfil de microRNAs no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus e eeterminar a

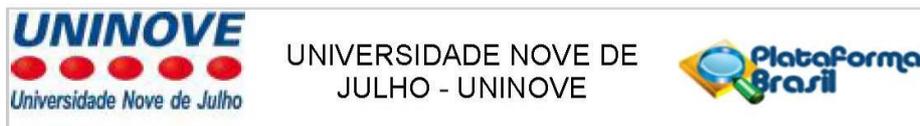
Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Há o risco de ficar uma mancha roxa (hematoma) no local da picada da agulha (punção) para tirar o sangue. Alguns participantes podem sentir mal estar e até mesmo desmaiar no momento da coleta, mas o médico estará no local para qualquer situação de necessidade. Os profissionais que

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.839

farão a coleta de sangue estão preparados para as orientações da coleta, como a maneira correta de posicionar o braço e a pressão que será feita no local da picada da agulha para não ficar mancha roxa. A medida da circunferência abdominal será feita com uma fita métrica, pelo médico, no momento da consulta no ambulatório. Dessa forma, não haverá nenhum constrangimento (vergonha) além do habitual durante uma consulta médica.

Benefícios:

Aumentar o conhecimento, nos pacientes com adenocarcinoma de pâncreas e diabetes mellitus tipo 2, da concentração plasmática da proteína FAM3D e a expressão do seu mRNA em exossomas de soro, do perfil de microRNAs no soro e a Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é adequada quanto aos preceitos éticos e as solicitações requeridas anteriormente pela análise deste Comitê de Ética foram atendidas (descritas no item Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE teve sua linguagem ajustada para o entendimento do público leigo, conforme solicitado no parecer anterior, assim como foram explicitados os termos antes apenas citados.

A seguir, são listadas as solicitações do parecer anterior e relata-se que todas foram atendidas:

- Adequar a linguagem do TCLE para melhor entendimento do leigo - ATENDIDO
- Incluir informações importantes no TCLE como "consentimento pós informação", atualizar endereço do CEP e horário de funcionamento e incluir métodos alternativos existentes (se for o caso), Explicitar todos os riscos da pesquisa como por exemplo desmaio ao coletar sangue e constrangimento ao realizar as medidas da circunferência abdominal e suas respectivas medidas protetivas - ATENDIDO
- Incluir no TCLE, nos procedimentos da fase experimental, que serão coletados dados de prontuário médico - ATENDIDO
- Ajustar o cronograma - ATENDIDO

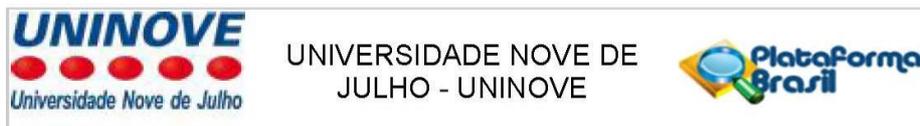
Recomendações:

Foi sugerido e atendido que o TCLE deveria ser escrito como um convite ao participante.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto Aprovado.

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.839

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deverá se apresentar na instituição de realização da pesquisa (que autorizou a realização do estudo) para início da coleta dos dados.

O participante da pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada.

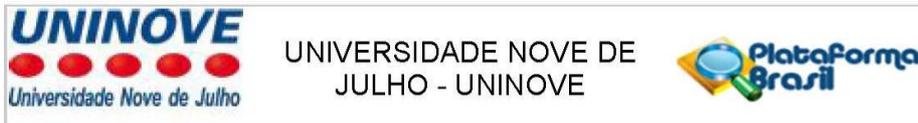
Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 item X1. 2. f).

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital (CD/DVD) do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1145766.pdf	01/10/2018 00:18:18		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_02.docx	01/10/2018 00:17:15	José Antônio Januário Neves	Aceito
Projeto Detalhado	Projeto_Detalhado_02.docx	01/10/2018	José Antônio	Aceito

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
 Bairro: LIBERDADE CEP: 01.504-001
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3385-9010 E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.839

/ Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_02.docx	00:16:47	Januário Neves	Aceito
Cronograma	Cronograma_02.docx	01/10/2018 00:15:11	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_PREVENT_SENIO R_Hospitais_Santa_Maggiore.pdf	15/06/2018 17:11:24	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_HOSPITAL_ALEM AO_OSWALDO_CRUZ.pdf	15/06/2018 17:07:31	José Antônio Januário Neves	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_DE_CONFIDENCIALID ADE_ASSINADA.pdf	15/06/2018 16:49:57	José Antônio Januário Neves	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_PB_01.docx	15/06/2018 16:19:27	José Antônio Januário Neves	Aceito
Folha de Rosto	Folha_De_Rosto_Assinada.pdf	15/06/2018 16:18:51	José Antônio Januário Neves	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 15 de Outubro de 2018

Assinado por:
CHRISTIANE PAVANI
(Coordenador(a))

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br

Anexo 2

HOSPITAL ALEMÃO OSWALDO
CRUZ - SP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação da proteína FAM3D no plasma e de seu mRNA em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas, Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus e Determinação do perfil de microRNAs no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus.

Pesquisador: José Antônio Januário Neves

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 93908318.0.3001.0070

Instituição Proponente: HOSPITAL ALEMAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.323.054

Apresentação do Projeto:

Projeto de Pesquisa para o desenvolvimento de Tese de Doutorado: Determinação da proteína FAM3D no plasma e de seu mRNA em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas, Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus e Determinação do perfil de microRNAs no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus.

Serão selecionados 126 pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas nos ambulatórios do Hospital Oswaldo Cruz e dos Hospitais Santa Maggiore.

Todos serão submetidos à mensuração das medidas antropométricas e a exames bioquímicos. Serão analisados dados clínicos e patológicos colhidos retrospectivamente dos prontuários de pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas, tais como idade, sexo, estágio da doença (I a IV), sítio do tumor primário (cabeça, corpo ou cauda pancreática), tratamentos já realizados ou em andamento, data do diagnóstico, história de tabagismo, diferenciação do tumor e performance status de acordo com a escala Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). No grupo com DM serão colhidos data do diagnóstico de DM e medicações em uso. Determinação da proteína FAM3D

Endereço: Rua João Julião, 331

Bairro: Paraíso

CEP: 01.323-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3549-0863

Fax: (11)3549-0862

E-mail: cep@haoc.com.br

HOSPITAL ALEMÃO OSWALDO
CRUZ - SP



Continuação do Parecer: 3.323.054

Objetivo da Pesquisa:

Verificar a hipótese de que as concentrações plasmáticas de FAM3D apresentam-se aumentadas em pacientes com Adenocarcinoma de Pâncreas, em relação ao indivíduo saudável.

Os objetivos dessa pesquisa são avaliar, em pacientes com adenocarcinoma ductal de pâncreas e DM de início recente, em indivíduos com DM tipo 2 de longa duração e em indivíduos saudáveis, pareados de acordo com sexo e idade:

1. A concentração plasmática da proteína FAM3D e
2. A expressão do mRNA do FAM3D em exossomas de soro.
3. Avaliar se os miRNAs miR-483-5p, miR-19a, miR-29a, miR-20a, miR-24 e miR-25 estão mais expressos.
4. A expressão do mRNA do CTLR4, do PD1 e do IDO em exossomas de soro.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco: Há o risco de hematoma (mancha roxa) no local da punção (picada da agulha) para a coleta de sangue.

Benefícios: Não haverá benefícios diretos para os participantes dessa pesquisa. O único benefício é aumentar o conhecimento sobre o câncer de pâncreas e o diabetes mellitus e, possivelmente, descobrir mais cedo quem tem câncer de Pâncreas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa pertinente e de fácil realização, pois consiste apenas em coleta de dados de exames físico, coleta única de exames de sangue e de revisão de prontuários.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Enviados orçamento dados da fonte pagadora, onde constam: a. Financiamento próprio: R\$4.000,00. b. FAPESP: R\$6.000,00. Número do Processo 2018/20966-0.

Apresentado como comprovante desse processo, apenas, um Certificado de Recebimento de proposta, datado de 08/10/2018, que se refere à pesquisa: "Fatores Genômicos e Epigenéticos Associados à Resolução do Diabetes após Derivação Gástrica em Y-Roux e à Patogênese do Diabetes Secundário ao Adenocarcinoma Ductal de Pâncreas." em nome da orientadora.

Desta feita, o pesquisador responde com o seguinte texto:

"O Processo de pedido de financiamento FAPESP, número 2018/20966-0, ainda não foi concluído, até a presente data. (...)

Solicito a Coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) a aprovação deste com base nos seguintes pontos e compromissos:

Endereço: Rua João Julião, 331
 Bairro: Paraíso CEP: 01.323-903
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3549-0863 Fax: (11)3549-0862 E-mail: cep@haoc.com.br

HOSPITAL ALEMÃO OSWALDO
CRUZ - SP



Continuação do Parecer: 3.323.054

- a) Este projeto não possui nenhum financiamento da indústria farmacêutica e ou laboratórios com interesses comerciais;
- b) A fase de análise do processo de financiamento pela FAPESP não impede a aprovação de projetos pelo CEP;
- c) Para aprovação do financiamento, a FAPESP pode solicitar a aprovação do projeto pelo CEP, como já nos foi informado por outros pesquisadores;
- d) Se, por ventura, o financiamento do projeto pela FAPESP for negado, nossa equipe se compromete em financiar todos os custos, em virtude do mesmo ser o trabalho de pesquisa para o curso de Doutorado de três pós-graduandos. O financiamento próprio não é uma irregularidade para o CEP;
- e) Todas as outras solicitações do CEP foram prontamente atendidas, esta, porém, depende exclusivamente dos trâmites do processo de financiamento pela FAPESP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Segue sem a aprovação do financiamento pela FAPESP, mas o pesquisador se compromete a arcar com todos os custos do projeto caso não venha a ocorrer.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1239525.pdf	11/04/2019 20:09:34		Aceito
Orçamento	Fianciamento_02.pdf	11/04/2019 20:04:16	José Antônio Januário Neves	Aceito
Orçamento	FAPESP_Comprovante_01.pdf	31/01/2019 23:13:27	José Antônio Januário Neves	Aceito
Orçamento	Fianciamento_01.pdf	31/01/2019 23:12:57	José Antônio Januário Neves	Aceito
Orçamento	Fianciamento_01.docx	31/01/2019 23:12:37	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_04.pdf	31/01/2019 23:11:26	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_04.docx	31/01/2019 23:11:01	José Antônio Januário Neves	Aceito

Endereço: Rua João Julião, 331
 Bairro: Paraíso CEP: 01.323-903
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3549-0863 Fax: (11)3549-0862 E-mail: cep@haoc.com.br

HOSPITAL ALEMÃO OSWALDO
CRUZ - SP



Continuação do Parecer: 3.323.054

Outros	Carta_de_Anuencia_HOSPITAL_ALEM AO OSWALDO CRUZ_02.pdf	21/12/2018 00:22:55	José Antônio Januário Neves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_02.pdf	21/12/2018 00:21:02	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_03.pdf	21/12/2018 00:18:12	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Fianciamento_Pendencias_HAOC_01.p df	21/12/2018 00:16:34	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Fianciamento_Pendencias_HAOC_01.d ocx	14/12/2018 14:53:53	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_PREVENT_SENIO R_02.pdf	14/12/2018 01:08:07	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_03.docx	14/12/2018 01:04:42	José Antônio Januário Neves	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Compromisso.pdf	14/12/2018 01:03:41	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_02.docx	01/10/2018 00:17:15	José Antônio Januário Neves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_02.docx	01/10/2018 00:16:47	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_PREVENT_SENIO R Hospitais Santa Maggiore.pdf	15/06/2018 17:11:24	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_HOSPITAL_ALEM AO OSWALDO CRUZ.pdf	15/06/2018 17:07:31	José Antônio Januário Neves	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_PB_01.docx	15/06/2018 16:19:27	José Antônio Januário Neves	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua João Julião, 331
Bairro: Paraíso CEP: 01.323-903
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3549-0863 Fax: (11)3549-0862 E-mail: cep@haoc.com.br

HOSPITAL ALEMÃO OSWALDO
CRUZ - SP



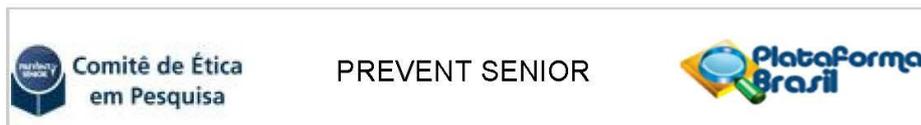
Continuação do Parecer: 3.323.054

SAO PAULO, 13 de Maio de 2019

Assinado por:
Edmir Felix da Silva Junior
(Coordenador(a))

Endereço: Rua João Julião, 331
Bairro: Paraíso **CEP:** 01.323-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3549-0863 **Fax:** (11)3549-0862 **E-mail:** cep@haoc.com.br

Anexo 3



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação da proteína FAM3D no plasma e de seu mRNA em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas, Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus e Determinação do perfil de microRNAs no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus.

Pesquisador: José Antônio Januário Neves

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 93908318.0.3002.8114

Instituição Proponente: PREVENT SENIOR PRIVATE OPERADORA DE SAUDE LTDA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.111.704

Apresentação do Projeto:

Projeto bem detalhado, com boa estruturação teórica.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo adequado com metodologia de estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos mínimos, sendo o benefício na forma de conhecimento do assunto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa usa métodos avançados para conhecimento da doença.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termo adequado, com recomendação de explicitação de quem irá acessar os dados do prontuário caso não seja um médico, e espaço para rubrica de pesquisador e participante em cada página.

Recomendações:

Recomenda-se maior detalhamento do processo de descarte de materiais coletados após uso no estudo, levando em consideração as leis de descarte de material biológico.

Endereço: Rua Alvorada 1355 Térreo

Bairro: VILA OLÍMPIA

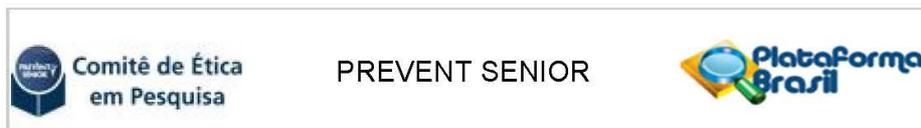
UF: SP

Município: SAO PAULO

CEP: 04.550-004

Telefone: (11)4085-9070

E-mail: cepps@preventsenior.com.br



Continuação do Parecer: 3.111.704

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1239526.pdf	14/12/2018 14:47:31		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Compromisso.pdf	14/12/2018 14:37:24	José Antônio Januário Neves	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Compromisso_Amostras.pdf	14/12/2018 14:35:48	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_PREVENT_SENIOR_02.pdf	14/12/2018 00:33:44	José Antônio Januário Neves	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura_Local_Pesquisa.pdf	14/12/2018 00:24:15	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_03.docx	14/12/2018 00:22:34	José Antônio Januário Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PB_02.docx	01/10/2018 00:17:15	José Antônio Januário Neves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_02.docx	01/10/2018 00:16:47	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_PREVENT_SENIOR_Hospitais_Santa_Maggiore.pdf	15/06/2018 17:11:24	José Antônio Januário Neves	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_HOSPITAL_ALEMAO_OSWALDO_CRUZ.pdf	15/06/2018 17:07:31	José Antônio Januário Neves	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_PB_01.docx	15/06/2018 16:19:27	José Antônio Januário Neves	Aceito

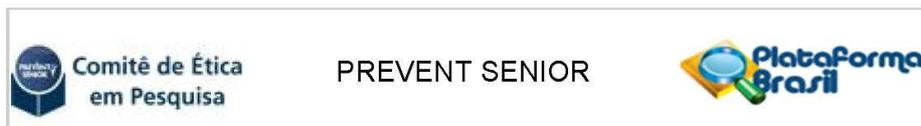
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Alvorada 1355 Térreo
 Bairro: VILA OLIMPIA CEP: 04.550-004
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)4085-9070 E-mail: cepps@preventsenior.com.br



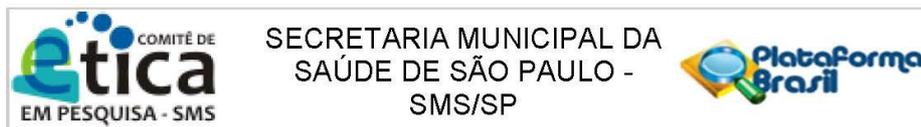
Continuação do Parecer: 3.111.704

SAO PAULO, 14 de Janeiro de 2019

Assinado por:
Alexandra Paola Zandonai
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Alvorada 1355 Térreo
Bairro: VILA OLIMPIA
UF: SP **Município:** SAO PAULO **CEP:** 04.550-004
Telefone: (11)4085-9070 **E-mail:** cepps@preventsenior.com.br

Anexo 4



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA FERRAMENTA DIGITAL EM CUIDADOS E PREVENÇÃO DO PÉ DE RISCO EM PACIENTES COM DIABETES

Pesquisador: Mozania Reis de Matos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 81249417.1.3001.0086

Instituição Proponente: SECRETARIA MUNICIPAL DA SAUDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.141.417

Apresentação do Projeto:

Objetivo da Pesquisa:

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto já aprovado por este CEP.

Trata esta relatoria da avaliação ética da seguinte emenda:

“Gostaríamos de acrescentar ao desenho do estudo, a realização da análise diagnóstica para Neuropatia Autonômica Cardiovascular. Os pacientes serão submetidos a realização de eletrocardiograma, teste de respiração profunda, teste de Valsalva e teste ortostático.

Foi acrescentando ao termo de consentimento, o risco de constrangimento ao ter que retirar a camisa para realização do eletrocardiograma, o risco de tontura após realização do teste de respiração profunda e teste de Valsalva e risco de queda ao realizar o teste ortostático. “

Retificar o texto do TCLE.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A Folha de Rosto está corretamente preenchida, foram identificadas instituição proponente e

Endereço: Rua General Jardim, 36 - 8º andar

Bairro: Vila Buarque

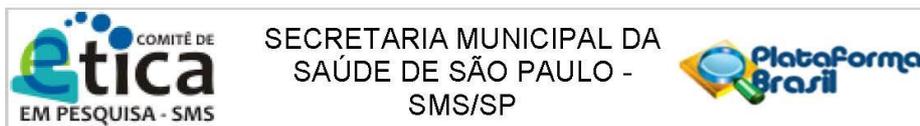
UF: SP

Município: SAO PAULO

CEP: 01.223-010

Telefone: (11)3397-2464

E-mail: smscep@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.141.417

coparticipante, autorização para realização da pesquisa foi adequadamente apresentada. TCLE, Cronograma, fonte financiadora e orçamento detalhado estão adequados.

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Para início da coleta dos dados, o pesquisador deverá se apresentar na mesma instância que autorizou a realização do estudo (Coordenadoria, Supervisão, SMS/Gab, etc).

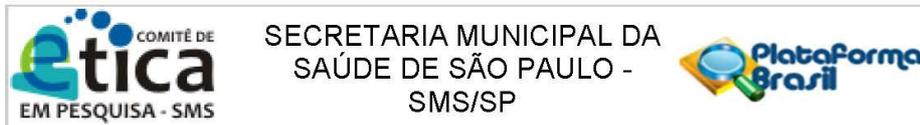
Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada.

De acordo com a Res. CNS 466/12, o pesquisador deve apresentar os relatórios parciais e final através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital (CD/DVD) do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1268642.pdf	31/12/2018 10:15:08		Aceito
Outros	apontamentos_correcoes_tcle_cep_sms.docx	31/12/2018 10:14:31	Mozania Reis de Matos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_corrigeido_31_dezembro_2018_cep_sms.docx	31/12/2018 09:58:17	Mozania Reis de Matos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	11/09/2018 00:36:58	Mozania Reis de Matos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	tcle.docx	11/09/2018 00:35:32	Mozania Reis de Matos	Aceito

Endereço: Rua General Jardim, 36 - 8º andar
Bairro: Vila Buarque **CEP:** 01.223-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3397-2464 **E-mail:** smscep@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.141.417

Justificativa de Ausência	tle.docx	11/09/2018 00:35:32	Mozania Reis de Matos	Aceito
Outros	ciencia.pdf	09/06/2018 12:48:10	Mozania Reis de Matos	Aceito
Outros	Ementa.docx	09/06/2018 12:40:38	Mozania Reis de Matos	Aceito
Outros	autorizacao.pdf	23/11/2017 15:33:43	Mozania Reis de Matos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 11 de Fevereiro de 2019

Assinado por:
SIMONE MONGELLI DE FANTINI
(Coordenador(a))

Endereço: Rua General Jardim, 36 - 8º andar
Bairro: Vila Buarque
UF: SP Município: SAO PAULO CEP: 01.223-010
Telefone: (11)3397-2464 E-mail: smscep@gmail.com

Anexo 5

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
UNINOVE
DOUTORADO EM MEDICINA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TCLE - Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica:

Nome do participante: _____
 Endereço: _____
 Telefone para contato: _____ Cidade: _____ CEP: _____
 E-mail: _____

1. Título do Trabalho Experimental:

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa "Determinação da proteína FAM3D no plasma e de seu mRNA em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas, Expressão de genes relacionados à imunidade em exossomas de soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus e Determinação do perfil de microRNAs no soro de pacientes portadores de adenocarcinoma de pâncreas com diabetes mellitus".

2. Objetivo:

O objetivo desse projeto será o de medir a quantidade da proteína FAM3D e de seu RNA, do RNA de outros genes relacionados à imunidade e de microRNAs no sangue de participantes com Adenocarcinoma (Câncer) de Pâncreas com diabetes mellitus. RNA e microRNA são tipos de materiais genéticos usados para descobrir ou entender as doenças e outras pesquisas em medicina. Esse resultado, se for confirmado, poderá ser um exame para descobrir o câncer de pâncreas mais cedo, e com mais possibilidades de um tratamento melhor.

3. Justificativa:

Caso se confirme uma quantidade aumentada dessas substâncias no sangue dos participantes com câncer de pâncreas, eles poderão ser usados como exames deste tipo de câncer, permitindo a sua descoberta mais cedo, em uma hora em que ainda há uma possibilidade de cura.

4. Procedimentos da Fase Experimental:

O exame físico dos participantes (pressão arterial, altura, peso, medida da circunferência abdominal, remédios que estão tomando, e outras informações importantes) será anotado uma vez, no momento da primeira consulta, no ambulatório dos Hospitais participantes desta pesquisa. As informações importantes do prontuário médico também serão anotadas. Exames de laboratório: todos os participantes vão tirar sangue para exames, por um profissional de enfermagem ou de análises clínicas. Uma parte do sangue colhido será usada para os exames de rotina (glicemia de jejum, hemoglobina glicada, peptídeo C e insulina). Outra parte que foi colhida será reservada para as dosagens do FAM3D, dos RNAs e dos microRNAs que serão estudados (estudos de genética). O tempo gasto para a coleta de sangue será entre 5 e 10 minutos, em média.

 Rubrica do Participante

 Rubrica do Pesquisador Responsável

5. Desconforto ou Riscos Esperados:

Há o risco de hematoma (mancha roxa) no local da punção (picada da agulha) para a coleta de sangue. Alguns participantes podem sentir mal-estar e até mesmo desmaiar no momento da coleta, mas o médico estará no local para qualquer situação de necessidade. Os profissionais que farão a coleta de sangue estão preparados para as orientações da coleta, como a maneira correta de posicionar o braço e a pressão que será feita no local da picada da agulha para não ficar mancha roxa. A medida da circunferência abdominal será feita com uma fita métrica, pelo médico, no momento da consulta no ambulatório. Dessa forma, não haverá nenhum constrangimento (vergonha) além do habitual durante uma consulta médica.

6. Benefícios da Pesquisa:

Não haverá benefícios diretos para os participantes dessa pesquisa. O único benefício é aumentar o conhecimento sobre o câncer de pâncreas e o diabetes mellitus e, possivelmente, descobrir mais cedo quem tem câncer de Pâncreas, ajudando os futuros pacientes a terem um tratamento mais cedo e com mais chances de sucesso.

7. Retirada do Consentimento:

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e você pode deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

8. Garantia do Sigilo:

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de ninguém. Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

9. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa:

Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não receberá nenhuma compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

10. Local da Pesquisa:

Será desenvolvida na Universidade Nove de Julho – UNINOVE, unidade Vergueiro.

11. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado Interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS no 466/12). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos.

Endereço do Comitê de Ética da UNINOVE: Rua. Vergueiro no 235/249 – 12º andar - Liberdade – São Paulo – SP CEP.: 01504-001 Fone: (11) 3385-9010 E-mail: comitedeetica@uninove.br

Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – das 11h30 às 13h00 e das 15h30 às 19h00

Endereço do Comitê de Ética do Hospital Alemão Oswaldo Cruz: Rua João Julião, 331 - Paraisópolis – Bloco B – 5º andar – São Paulo/SP. Contato: 11 35490862 – E-mail: CEP@haoc.com.br

12. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato:

Orientadora Profa. Dra. Maria Lucia C. C. Giannella e Doutorandos José Antônio Januário Neves, Renata D'Alpino Pelxoto e Carlos Del Cistia Donnarumma. A quem os participantes da pesquisa poderão contatar a qualquer momento que julgar necessário através dos telefones 11 96057-0099, 11 97258-4321 e 11 98119-2747 ou e-mails: joseajneves@gmail.com, renatadalpino@gmail.com e carlos.cistia@preventsenor.com.br.

13. Eventuais intercomências que vierem a surgir no decorrer da pesquisa poderão ser discutidas pelos meios próprios.

14. Consentimento Pós-Infomação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de infomação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmo que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo somente no meio científico.

Assinatura do Participante

16. Eu, Profa. Dra. Maria Lucia C. C. Glannella, Pesquisadora responsável desta pesquisa, certifico que:

- a) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;
- b) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;
- c) A resolução CNS no 466/12 dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais, cujo procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes.

Profa. Dra. Maria Lucia C. C. Glannella
Assinatura do Pesquisador Responsável

São Paulo, ____ de _____ de _____.

Rubrica do Participante

Rubrica do Pesquisador Responsável

Anexo 6

Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos do Grupo Controle e do Grupo com diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

	Controle	DM2	Valor de P
n	35	35	
Sexo (% feminino)	60	63	0,8
Idade (anos)	66 (62 - 69)	67 (65 - 70)	0,12
CA (cm)	98 (81,5 - 105)	105,5 (97 - 118)	0,0014
IMC (kg/m²)	25,7 (22,6 - 29,7)	30,5 (27,7 - 36,2)	0,0001
Tabagismo (%)	9	3,2	0,3
HbA1c (%)	5,7 (5,4 - 5,9)	7,5 (6,5 - 8,3)	<0,0001
CT (mg/dL)	193 (158 - 215)	193 (161 - 228)	0,89
HDL (mg/dL)	49 (41 - 62)	48 (44 - 63)	0,91
LDL (mg/dL)	112 (98 - 125)	117 (76 - 151)	0,2
TG (mg/dL)	147 (80 - 187)	143 (118 - 182)	0,54

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides.

Anexo 7

Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos do Grupo Controle e do Grupo com adenocarcinoma de pâncreas (CaP).

	Controle	CaP	Valor de P
n	35	44	
Sexo (% feminino)	60	61	0,93
Idade (anos)	66 (62 - 69)	67 (63 - 74)	0,25
CA (cm)	98 (81,5 - 105)	88 (82 - 94,2)	0,15
IMC (kg/m²)	25,7 (22,6 - 29,7)	24 (21 - 28,1)	0,29
Tabagismo (%)	9	43,5	0,001
HbA1c (%)	5,7 (5,4 - 5,9)	5,8 (5,3 - 7,8)	0,15
CT (mg/dL)	193 (158 - 215)	159 (129 - 189)	0,008
HDL (mg/dL)	49 (41 - 62)	52 (39 - 64)	0,74
LDL (mg/dL)	112 (98 - 125)	78 (51 - 112)	0,004
TG (mg/dL)	147 (80 - 187)	116 (98 - 166)	0,52

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides.

Anexo 8

Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos do Grupo com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e do Grupo com adenocarcinoma de pâncreas (CaP).

	DM2	CaP	Valor de P
n	35	44	
Sexo (% feminino)	63	61	0,89
Idade (anos)	67 (65 - 70)	67 (63 - 74)	0,88
CA (cm)	105,5 (97 - 118)	88 (82 - 94,2)	<0,0001
IMC (kg/m²)	30,5 (27,7 - 36,2)	24 (21 - 28,1)	<0,0001
Tabagismo (%)	3,2	43,5	<0,0001
HbA1c (%)	7,5 (6,5 - 8,3)	5,8 (5,3 - 7,8)	0,0015
CT (mg/dL)	193 (161 - 228)	159 (129 - 189)	0,019
HDL (mg/dL)	48 (44 - 63)	52 (39 - 64)	0,82
LDL (mg/dL)	117 (76 - 151)	78 (51 - 112)	0,003
TG (mg/dL)	143 (118 - 182)	116 (98 - 166)	0,08

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides

Anexo 9

Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos do Grupo com adenocarcinoma de pâncreas (CaP) com DM, do Grupo CaP sem DM e do Grupo DM2.

	CaP sem DM	CaP com DM	DM2
n	13	31	35
Sexo (% feminino)	54	64	63
Idade (anos)	66 (60 - 70)	68 (65 -75)	67 (65 - 70)
CA (cm)	86 (78,2 - 93,7)	89 (84 - 96,7)	105,5 (97 - 118) *
IMC (kg/m²)	22,6 (20,6 - 26,1)	24,2 (21,8 - 29,6) &	30,5 (27,7 - 36,2) *
Tabagismo (%)	38,5	45	3,2 [@]
HbA1c (%)	5,4 (5,2 - 5,7)	6,9 (5,4 – 8,4) &	7,5 (6,5 - 8,3) *
CT (mg/dL)	183 (128 - 217)	147 (129 - 187)	193 (161 - 228) #
HDL (mg/dL)	57 (43 - 64)	51 (38 - 65)	48 (44 -63)
LDL (mg/dL)	109 (66 - 129)	71 (49 - 99)	117 (76 - 151) #
TG (mg/dL)	116 (101 - 123)	117 (98 - 167)	143 (118 - 182)

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides. *P < 0,05 em relação aos Grupos CaP sem DM e CaP com DM; # P < 0,05 em relação ao Grupo CaP com DM; &P < 0,05 em relação ao Grupo CaP sem DM; @ P < 0,05 em relação aos Grupos CaP sem DM e CaP com DM

Anexo 10

Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos de acordo com o status do tabagismo.

	Não tabagistas	Tabagistas	Valor de P
n	84	23	
Sexo (% feminino)	62,5	61	0,88
Idade (anos)	67 (64 - 70)	66 (60 - 70)	0,32
CA (cm)	98 (85 - 107)	93 (84 - 98)	0,1
IMC (kg/m²)	26,8 (23,2 - 31,6)	26,8 (22,7 - 28,7)	0,15
HbA1c (%)	6 (5,5 - 7,8)	6 (5,3 - 7,4)	0,85
CT (mg/dL)	186 (152 - 212)	165 (129 - 217)	0,32
HDL (mg/dL)	49 (42 - 63)	52 (39 - 64)	0,74
LDL (mg/dL)	110 (78 - 136)	86 (60 - 111)	0,054
TG (mg/dL)	131 (100 - 181)	123 (98 - 185)	0,79
Diabetes mellitus	56	65	0,42
Adenocarcinoma de pâncreas (%)	29,8	82,6	< 0,0001

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides.

Anexo 11

Comparação entre as características demográficas, clínicas e bioquímicas dos indivíduos de acordo com o status de diabetes mellitus (DM).

	Sem DM	Com DM	Valor de P
n	48	66	
Sexo (% feminino)	58	63	0,56
Idade (anos)	66 (62 - 69)	67 (65 - 71)	0,037
CA (cm)	94 (81 - 100)	100 (87 - 112)	0,009
IMC (kg/m²)	24,7 (21 - 28)	28,7 (24,2 - 32,9)	0,0014
Tabagismo (%)	18,6	25	0,44
HbA1c (%)	5,6 (5,4 - 5,8)	7 (6 - 8,3)	<0,0001
CT (mg/dL)	189 (159 - 216)	170 (138 - 206)	0,22
HDL (mg/dL)	50 (42 - 62)	48 (39 - 64)	0,76
LDL (mg/dL)	110 (98 - 126)	95,5 (63 - 146)	0,25
TG (mg/dL)	120 (92 - 185)	137 (101 - 174)	0,6
Adenocarcinoma ductal de pâncreas (%)	27	47	0,03

CA: Circunferência abdominal, IMC: Índice de massa corpórea, CT: Colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade, TG: Triglicérides

APÊNDICE

ARTIGOS CIENTIFICO - TÍTULO

SUBMETIDO NO PERÍODICO:

ARTIGO