

PATRICIA RODRIGUES LOURENÇO GOMES

**Efeito da exposição à dexametasona sobre a expressão de miRNA no pâncreas endócrino
e a homeostasia glicêmica de ratas prenhes**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Auxiliadora
Bordin da Silva

Versão original

São Paulo
2014

RESUMO

Gomes PRL. Efeito da exposição à dexametasona sobre a expressão de miRNA no pâncreas endócrino e a homeostasia glicêmica de ratas prenhes. [tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2014.

Numerosos estudos têm-se centrado sobre a programação metabólica induzida pelo excesso de glicocorticoide gestacional, com especial atenção para os mecanismos que levam ao aparecimento de diversas doenças e até reprogramação gênica na prole. No entanto, o impacto pelo excesso de glicocorticoide durante a gestação sobre o metabolismo materno não está bem documentado. Portanto, este estudo investigou se o tratamento com glicocorticoide sintético durante a gestação altera o metabolismo energético, hormonal e molecular materno e a função das ilhotas pancreáticas e mudanças correlativas sobre miRNAs e seus alvos. Para isto foram utilizadas 80 ratas divididas em dois grupos de 40 animais cada, sendo um grupo destinado para realização de GTT, ITT e envelhecimento até um ano de idade após o desmame, e o seguinte grupo destinado para realização da coleta de material e posterior experimentação no 20º dia de gestação. Ambos os grupos foram dispostos em: CTL - ratas controle, CTL-Dex - ratas controle tratadas com dexametasona por 6 dias, P - ratas prenhes e, P-Dex - ratas prenhes tratadas com dexametasona do 14º ao 19º dia de gestação. As ilhotas pancreáticas foram coletadas para análise em larga escala da expressão de miRNA e a família do miR-29 foi selecionada para estudo posterior. Os genes alvos foram rastreados em bancos de dados e confirmados por PCR em tempo real. Por fim investigou-se o mecanismo de modulação da homeostasia glicêmica por meio de PCR em tempo real e Western Blotting. O perfil do miR-29 observado no grupo P-Dex imediatamente após o tratamento permaneceu um ano após o desmame da prole. A análise de mRNA do mesmo tecido mostrou modulação significativa nos genes p53, PUMA e Stx-1 no grupo P-Dex tanto no 20º dia de gestação como um ano após o desmame da prole. Além dessas alterações, foi observada intolerância à glicose no grupo P-Dex no desmame, no 3º e 6º mês e um ano após o desmame da prole; contudo, não foi observada resistência à insulina nos mesmos períodos. A secreção de insulina de ilhotas coletadas no 20º dia de gestação não apresentou alterações. Por outro lado, um ano após o desmame foi possível observar que ilhotas do grupo P-Dex só responderam ao teste em altas concentrações de glicose. Por fim, observaram-se significativas alterações no receptor de progesterona e proteínas envolvidas na remodelação das ilhotas pancreáticas responsáveis pelo retorno ao estado não gravídico. Assim é possível observar inúmeras modificações resultantes da terapia com DEXA na gestação concluindo que a associação do tratamento ao período gravídico modula positivamente membros da família miRNA-29 ocasionando um desequilíbrio na homeostasia glicêmica por meio de falha na maquinaria exocitótica em longo prazo, desencadeado pela modulação negativa de progesterona e seu receptor promovendo prejuízo no processo de remodelação da ilhota pancreática na fase final da gestação.

Palavras-Chave: *miRNA. Glicocorticoide. Gestação. Homeostasia Glicêmica. Célula Beta.*

ABSTRACT

Gomes PRL. Efeito da exposição à dexametasona sobre a expressão de miRNA no pâncreas endócrino e a homeostasia glicêmica de ratas prenhes. [PhD Thesis (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2014.

Several studies have focused on the metabolic programming in pregnancy induced glucocorticoid excess, with special attention to the mechanisms that lead to the onset of various diseases and even genetic reprogramming in offspring. However, the impact by glucocorticoid excess during pregnancy on the maternal metabolism is not well documented. Therefore, this study investigated whether treatment with synthetic glucocorticoids during pregnancy alters the energetic, hormonal and molecular maternal metabolism and function of pancreatic islets and correlative changes of miRNAs and their targets. For this were used 80 rats divided into two groups of 40 animals each, one group designed to perform GTT, ITT and aging up to one year of age after weaning, and the next group destined to collect the materials and later experimentation the 20th day of gestation. Both groups were arranged: CTL - control rats, CTL-Dex - control rats treated with dexamethasone for 6 days, P - pregnant rats and P-Dex - pregnant rats treated with dexamethasone from the 14th to 19th day of gestation. The pancreatic islets were collected for large-scale analysis of miRNA expression and the miR-29's family was selected for further study. The target genes were screened in databases and confirmed by real-time PCR. Finally it was investigated the mechanism of modulation of glucose homeostasis through real-time PCR and Western Blotting. The profile of miR-29 observed in P-Dex group immediately after treatment remained one year after weaning of the offspring. Analysis of mRNA from the same tissue showed significant modulation of p53, PUMA and Stx-1 genes in P-Dex group both on day 20 of gestation as one year after weaning of the offspring. In addition to these changes was observed glucose intolerance in P-Dex group at weaning, at 3rd and 6th months and one year after weaning of offspring, however, resistance to insulin was not observed in the same periods. Insulin secretion of islets collected on the 20th day of gestation showed no changes. On the other hand, one year after weaning was observed that the P-Dex group responded to the test at high glucose concentrations. Finally, were observed significant changes in progesterone receptor and proteins involved in the remodeling of pancreatic islets responsible for returning at non pregnant state. Therefore can be observed numerous changes resulting from therapy with DEXA in pregnancy concluded that the association of treatment to the pregnancy period modulates members of the miRNA-29 family causing an imbalance in glucose homeostasis through long-term failure in exocytotic machinery, triggered by the downregulation of the progesterone and its receptor promoting injury in the pancreatic islet remodeling process in late pregnancy.

Keywords: *miRNA. Glucocorticoid. Pregnancy. Glucose Homeostasis. Beta Cell.*

1 INTRODUÇÃO

1.1 Adaptação metabólica durante a gestação e a lactação

A gestação é um período caracterizado por alterações que resultam em um quadro semelhante à síndrome metabólica, mas que geralmente são cuidadosamente reguladas para fornecer suprimento ideal de substratos para a mãe e para o feto. Observa-se no final da gestação de ratas aumento na taxa de utilização de glicose pelo concepto representando cerca de 23% do total utilizado pelo organismo materno. Além disso, em resposta ao estímulo pela insulina, a placenta ainda demonstra um aumento adicional de 30% na utilização de glicose¹.

Este fluxo representativo de glicose direcionado ao concepto é garantido pela resistência à ação da insulina no tecido adiposo e na musculatura esquelética^{1,2}. Quando levados em consideração todos os tecidos responsivos à insulina, a captação de glicose diminui de 40 a 60% durante uma gestação normal, tanto em humanos como em roedores^{3,4}. Sabe-se que aumentos nas concentrações plasmáticas materna de esteróides sexuais, prolactina, lactogênio placentário e corticosteróides estão relacionados às alterações acima descritas⁵.

Certamente a placenta, uma fonte de estrógenos, progesterona, lactogênio placentário e gonadotrofina coriônica, é o órgão que desempenha o papel principal nestas alterações⁶. Além destes hormônios, a unidade feto-placentária produz e secreta, entre outros, hormônios como leptina⁷, resistina⁸, hormônio do crescimento⁹, fatores de crescimento semelhante à insulina I e II (IGFI e II)¹⁰ e hormônio liberador de corticotrofina¹¹. Desta maneira o desenvolvimento da unidade feto-placentária desencadeia a produção e a liberação para a corrente sanguínea de hormônios que, salvo situações não fisiológicas, são produzidos em territórios bem definidos do organismo materno. Este fato torna complexa a origem das alterações maternas que se relacionam ao controle da homeostasia glicêmica durante a gestação e a lactação.

1.2 Adaptação do pâncreas endócrino no final da gestação e no início da lactação

Em meados do século passado já se observava a expansão do volume das ilhotas durante a gravidez, resultado do aumento da proliferação de células beta com redução da apoptose³⁻⁶. Em roedores, esse aumento inicia-se ao redor do décimo dia de gestação, com pico ao redor do décimo quarto dia. Em paralelo a proliferação, ocorre o aumento da síntese e secreção de insulina, esta última decorrente da redução do limiar de sensibilidade à glicose⁷.

Porém, da mesma forma que a massa e atividade do pâncreas endócrino aumentam durante a gravidez, ocorre involução do tecido após o parto⁴. As primeiras evidências na literatura mostram que (1) a involução está correlacionada ao aumento da expressão do TGF β 1, um marcador associado ao processo de apoptose na célula beta⁶; e (2) a dexametasona (DEXA) contrapõe os efeitos mitogênicos observados tanto no tratamento “*in vitro*” com prolactina como na gravidez⁸. Neste último, os autores propõem que o aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticóides no final da gestação são os responsáveis pela reversão dos efeitos estimulatórios induzidos pela prolactina, inibindo a secreção de insulina, a proliferação celular e estimulando a apoptose.

Um painel mais detalhado dos mecanismos envolvidos no remodelamento funcional da ilhota pancreática durante a transição gestação-lactação tem sido desenhado a partir dos estudos realizados pelo nosso grupo. Demonstramos que a redução da secreção após o parto está associada (1) à redução da expressão de Serca2 mediada pelo fator de transcrição STAT3¹², e (2) ao aumento da expressão da proteína G inibitória Rasd1, que depende da associação entre STAT5 - o sinalizador intracelular clássico da prolactina - e o receptor de glicocorticóide¹³. Com relação a regulação de massa de célula beta, mostramos pela primeira vez a ativação do estresse do retículo endoplasmático em um modelo fisiológico de remodelamento tecidual¹⁴, bem como a participação dos glicocorticóides na regulação negativa dos sinalizadores intracelulares mitogênicos ERK1 e ERK2¹⁵.

1.3 microRNAs (miRNA)

Os genes codificadores de proteínas são geralmente regulados pela expressão de outras proteínas e/ou fatores de transcrição que agem como reguladores à jusante do gene. Os recentes avanços da elucidação dos mecanismos de regulação da informação genética pós-transcricional ganharam impulso a partir do descobrimento dos microRNA (miRNA).

O primeiro miRNA foi descoberto em 1993 por meio de rastreamento genético de mutações em *Caenorhabditis elegans*¹⁶. Desde então, o uso de novas técnicas de análise de expressão em larga escala, bem como de melhores ferramentas computacionais, permitiram um entendimento mais amplo da função dos miRNA no desenvolvimento normal humano e na doença. miRNA são moléculas de RNA de fita simples com cerca de 18 a 22 nucleotídeos, conhecidas por regular negativamente a expressão no nível pós-transcricional, tanto pela inibição da tradução quanto pela indução da degradação do mRNA alvo^{17,18}. A Figura 1

apresenta uma ilustração demonstrativa do mecanismo de maturação do miRNA, desde o surgimento no núcleo até a execução de sua função.

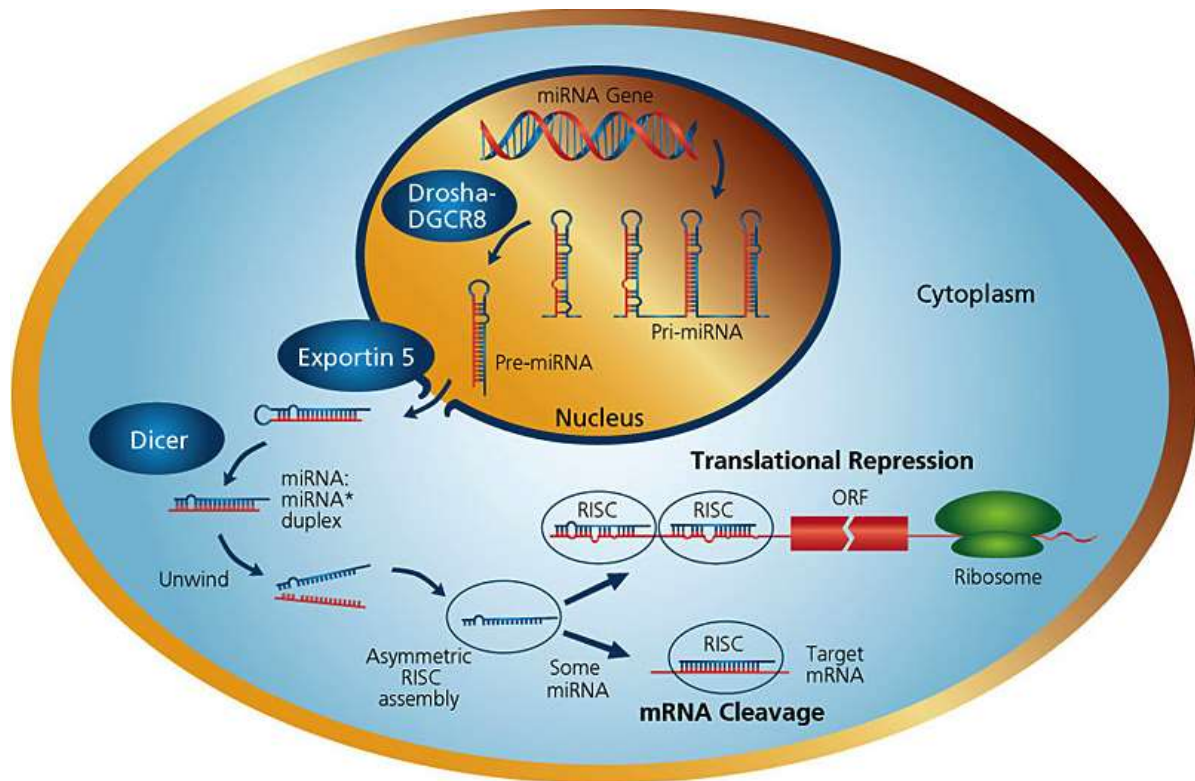


Figura 1. Ilustração demonstrativa do mecanismo de formação e maturação do miRNA¹⁹.

Várias centenas de genes codificadores dos miRNA já foram identificados por métodos computacionais, e alguns deles validados funcionalmente. A função exata da maioria dos miRNA ainda permanece desconhecida; entretanto, há evidências da participação em processos tão diversos quanto o desenvolvimento embrionário²⁰, a manutenção de células tronco²¹, a resposta ao estresse²², a neurodegeneração²³, a resistência viral²⁴, a apoptose²⁵ e a secreção hormonal²⁶.

De forma geral, os miRNA de mamíferos regulam a estabilidade e/ou eficiência da tradução dos transcritos de seus genes-alvos pela ligação à região 3' não-traduzida (3'-UTR). Acredita-se que o genoma humano possui mais de 1000 miRNA potenciais²⁷, e que 30% de todos os genes transcritos sejam regulados por miRNA²⁸. Embora centenas de miRNA já tenham sido identificados em várias espécies de mamíferos, a caracterização dos alvos funcionais tem sido uma tarefa desafiadora. Isto se deve ao fato de que, nos mamíferos, cada miRNA pode potencialmente regular mais de 200 transcritos diferentes, e o mesmo gene pode ser regulado por diferentes miRNA. Entretanto, genes alvos de miRNA caracterizados podem

ser rastreados utilizando-se ferramentas computacionais de domínio público disponíveis em banco de dados, por exemplo, miRBase²⁹, que contém um repertório atualizado de miRNA e permite a busca de genes alvos candidatos utilizando programas como TargetScan (MIT), Pictar (NYU e MDC-Berlin) e miRanda (MSKCC). Das várias centenas de miRNA identificadas, apenas uma parcela foi validada experimentalmente³⁰. Além dos achados obtidos nas diversas áreas que já tem consistentemente estudado a participação dos miRNA nos processos biológicos – como a embriologia, a neurobiologia e a oncologia -, evidências recentes indicam que os miRNA têm importância central na regulação dos eventos moleculares envolvidos na patogênese do Diabetes Mellitus.

1.4 miRNA e função pancreática

A participação dos miRNA no metabolismo energético foi inicialmente aventada após a demonstração da regulação do metabolismo lipídico pelo miR-14¹⁶. Deste então, vários estudos têm demonstrado a função de miRNA em todos os órgãos relacionados direta ou indiretamente ao metabolismo da glicose, como ilhotas pancreáticas, fígado, músculo esquelético, tecido adiposo e sistema nervoso central.

O primeiro estudo conduzido em células de insulinoma (MIN6) revelou 67 miRNA expressos em células beta, dentre as quais miR-375 foi identificado como o miRNA mais abundante e aparentemente específico da ilhota pancreática. Os eventos pelos quais a secreção de insulina é modificada pelo miR-375 são independentes de alterações no metabolismo da glicose ou da modulação do Ca²⁺ intracelular, mas tem correlação direta com a exocitose dos grânulos de insulina³¹. *Oknockdown* da proteína miotropina (Mtpn) - identificada e validada como alvo do miR-375 – mimetizou os efeitos da superexpressão do miR-375 sobre a secreção de insulina estimulada por glicose, demonstrando assim pela primeira vez a participação de um miRNA na regulação do processo secretor. É interessante ressaltar que o miR-375, juntamente com vários outros miRNA, parecem ter função importante no desenvolvimento pancreático³².

Estudos subsequentes mostraram que outros miRNA são importantes para o processo de exocitose: (a) miR-9 regula a secreção de insulina por diminuição da expressão do fator de transcrição Onecut-2 que, por sua vez ativa a granulofilina/Slp4, um regulador negativo da secreção³³; (b) miR-96 aumenta o mRNA e o conteúdo proteico de granulofilina, um modulador negativo da exocitose de insulina, e diminui a expressão Noc2, resultando em menor capacidade das células MIN6 em responder ao secretagogos; (c) miR-124a aumenta a

expressão de SNAP25, Rab3A e sinapsina-1a, e diminuição de Rab27A e Noc2³⁴; (d) o fator de transcrição FoxA2, que regula a expressão de genes específicos da célula beta como Pdx-1, Kir6.2 e Sur-1, também já foi validado como gene-alvo do miR-124a³².

Tanto a glicose quanto os ácidos graxos induzem alterações na expressão de miRNA. Em 2009, Tang e colaboradores mostraram que de um total de 108 miRNA rastreados, 61 se mostraram responsivos à glicose³⁵. Dentre os miRNA regulados positivamente por altas concentrações de glicose encontram-se miR-124a, miR-107 e miR-30d; a expressão de miR-296, miR-484, e miR-690 foi significativamente diminuída pelo mesmo tratamento. A superexpressão de miR-30d aumentou a transcrição do gene da insulina induzida por glicose, mas não a secreção, o que sugere que miR-30d é importante para a regulação negativa de um repressor transcricional da expressão do gene da insulina. Em um estudo mais amplo, Hennessy, 2010³⁶, identificaram 21 novos miRNA em células MIN6, desconhecidos até o momento. Além disto, foi comparado o perfil de células MIN6 responsivas à glicose com o de células MIN6 não responsivas. Um conjunto de 10 miRNA apresentou expressão suprimida em células MIN6 não responsivas, quando comparados os perfis entre os dois fenótipos. Análises funcionais mostraram que parte destes miRNA (miR-200a, miR-130a e miR-410) diminui a capacidade secretora destas células em resposta à glicose.

Em um estudo utilizando o tratamento crônico com palmitato, conhecido fator associado ao Diabetes Mellitus do tipo 2 (DM2), observou-se que a exposição de células MIN6 ou ilhotas isoladas a ácidos graxos causou o aumento da expressão de miR-34a e miR-146. O aumento da expressão de ambos miRNA se mostrou associado à sensibilidade à apoptose, enquanto que apenas o miR-34a parece estar envolvido no processo de secreção, mediada pela regulação direta da proteína VAMP2³⁷. Em células NIT-1, uma linhagem de células beta derivadas de camundongos NOD, a expressão do miR-375 esta associada à maior susceptibilidade a lipoapoptose induzida por palmitato³⁸. É importante destacar que a expressão destes miRNA foi alterada apenas pelo tratamento crônico (48-72h). Este fenômeno tardio pode explicar as diferenças entre os efeitos agudo (aumento de secreção) e crônico (redução da secreção) dos ácidos graxos, e sugere que outros agentes com efeitos similares podem ser mediados por miRNA.

1.5 Gestaçã o e glicocorticoide

Os glicocorticoides (GC), como o cortisol nos seres humanos e corticosterona em roedores, são produzidos no córtex adrenal, e desempenham um papel fundamental na

regulação da homeostase da glicose e metabolismo dos nutrientes. Glicocorticoides sintéticos, como a dexametasona, são amplamente prescritos na prática clínica devido as suas propriedades anti-inflamatória, antialérgica, e imunossupressora, são também o tratamento padrão para a asma, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico e inflamatório doenças intestinais^{39,40}, além da proteção contra a rejeição de órgão transplantado³⁸. Entretanto, os níveis supra fisiológicos (endógenos ou exógenos) induzem efeitos adversos relacionados à homeostase da glicose, como a diminuição da sensibilidade periférica à insulina, intolerância à glicose e dislipidemia⁴¹⁻⁴⁴. Além disso, dependendo do perfil genético, idade, tempo e dose da exposição, pode também levar ao aparecimento de DM2^{42,44-49}. Estes efeitos secundários são observados particularmente em indivíduos susceptíveis, como gestantes, obesos, pessoas com resistência à insulina ou parentes de primeiro grau de pacientes diabéticos⁵⁰.

A regulação metabólica materna durante a gravidez é um fator importante que afeta o crescimento e desenvolvimento fetal. A gravidez é caracterizada por um estado de resistência à insulina no final da gestação, o que é essencial para proporcionar substratos para o feto em desenvolvimento, enquanto há uma diminuição natural na sensibilidade à insulina, podendo levar ao quadro de Diabetes Gestacional (DG). Em todo o mundo 3-10% das gestações são complicadas por controle glicêmico anormal, causada principalmente pelo diabetes gestacional⁵¹.

DG resulta em exposição do feto ao aumento das concentrações de glicose no plasma como resultado do aumento da transferência placentária, bem como aumento da secreção de insulina através da atividade do pâncreas fetal em resposta às concentrações de glicose no plasma fetal. A exposição ao DG pode alterar o transporte de glicose fetal devido a modificações na expressão do transportador de glicose por solutofacilitado 2 (SLC2A), que é expresso no pulmão⁵². Além disso, a insulina desempenha um papel importante no desenvolvimento deste órgão⁵³, e os seus efeitos são mediados pela sinalização de IGF, incluindo IGF-1, IGF-2 e do receptor (IGF-1R).

1.6 Mecanismos celulares dos glicocorticoides

Noventa e cinco por cento do cortisol circulante está ligado às globulinas e albumina⁵⁴, os níveis séricos da forma inativa são de aproximadamente 50-100 nM, e o hormônio é em grande parte não ligado a proteínas do plasma. A conversão entre as formas ativas e inativas é catalisada pela 11beta-desidrogenase (11beta-HSD), uma redutase que converte cortisona (em seres humanos) e 11-desidrocorticosterona (em roedores) em cortisol e corticosterona,

respectivamente^{55,56}. A isoforma do tipo 2 funciona como uma desidrogenase que catalisa a reação oposta⁵⁷.

As ações de 11beta-HSD1 e 11beta-HSD2 servem como um controle pré-receptor de ação do GC e determina as concentrações locais. A ação local de GC nas células é ativada pelo hormônio esteroide ao seu receptor (GR), um fator de transcrição regulado pelo ligando que pertence à superfamília de receptores nucleares, liga-se ao GC e regula a transcrição de genes alvo através da ativação ou da repressão⁵⁸.

O GR é expresso em quase todos os tecidos, no entanto, é capaz de regular os genes de uma forma específica, indicando que a resposta aos GCs é regulada por fatores além da expressão do receptor. O receptor é guiado a partir da síntese para se decompor por meio de transdução de sinal e por uma variedade de chaperonas moleculares, tais como HSP70⁵⁹ e HSP90⁶⁰, que facilitam o dobramento, a maturação e a ligação do ligando. Além disso, a ativação da transcrição mediada pelo GR é modulada tanto positivamente quanto negativamente por fosforilação⁶¹ realizado por quinases e fosfatases.

Embora a atividade do GR seja frequentemente considerada em termos de transativação direta de genes, considerável cross-talk ocorre também entre o GR e um grupo de moléculas que medeiam a sua função como fatores de transcrição, incluindo os octâmeros Out1, Out2, CREB (AMPC proteína de ligação do elemento) e Stat5 (transdutores de sinal e ativadores de transcrição-5)⁶²⁻⁶⁴.

1.7 Célula beta pancreática e glicocorticoide

Em resposta a resistência à insulina periférica induzida por GC e na tentativa de manter a normoglicemia, as células beta pancreáticas sofrem várias adaptações morfofuncionais que resultam em hiperinsulinemia. A falha das células beta para compensar esta situação favorece perturbações da homeostase da glicose, o que pode resultar em hiperglicemia. O tratamento com GC não só altera a função destas células, células alfatambém são afetadas por ações de GC que podem levar a hiper glucagonemia, contribuindo para o desequilíbrio da homeostase da glicose e hiperglicemia. Além disso, a liberação de outros hormônios das ilhotas, como a somatostatina, amilina e grelina, também são afetados⁶⁵.

O principal mecanismo pelo qual as células beta geram hiperinsulinemia durante a compensação adaptativa consistem em compensações funcionais (o aumento da biossíntese de insulina e/ou de secreção) e adaptações estruturais (hiperplasia, aumento no número de células

beta e hipertrofia que pode resultar em aumento da massa de células beta)⁶⁶⁻⁶⁸. Assim, quando não há mecanismos compensação, um processo de glicolipotoxicidade desenvolve-se progressivamente induzindo morte celular acompanhada por hipoinsulinemia, hiperglicemia e hiperlipidemia⁶⁷.

1.8 Objetivo

Numerosos estudos têm-se centrado sobre a programação metabólica induzida pelo excesso de glicocorticoide gestacional, com especial atenção para os mecanismos que levam ao aparecimento tardio da síndrome metabólica na prole. No entanto, o impacto pelo excesso de glicocorticoide durante a gestação sobre o metabolismo materno não está bem documentado. Portanto, este estudo investigou se o tratamento com glicocorticoide sintético durante a gestação altera o metabolismo energético, hormonal e molecular materno, em especial à função das ilhotas pancreáticas. Além disso, procurou-se também mudanças correlativas sobre miRNAs e seus alvos, particularmente aqueles que desempenham papel chave na função do pâncreas endócrino.

5 CONCLUSÃO

Dada a natureza de longa duração do comprometimento da função das células beta pancreáticas em ratas tratadas com DEXA na prenhez, fica evidente que o tratamento induziu alterações epigenéticas, provavelmente devido à modulação por DEXA do perfil hormonal e/ou inflamatório gestacional, responsável pela recuperação do metabolismo materno pós-lactação. O tratamento com DEXA no período gravídico modulou positivamente membros da família miRNA-29, que se mostrou associado ao desequilíbrio na homeostasia glicêmica devido à falha na maquinaria exocitótica de insulina em longo prazo. O aumento sustentado da expressão dos miR-29 induzido por DEXA – quer pelo aumento de p53 ou pela redução de NFkB -, associado à redução da sinalização da progesterona, são mecanismos candidatos ao prejuízo no processo de remodelamento da ilhota pancreática na fase final da gestação.

REFERÊNCIAS

1. Leturque A, Ferre P, Burnol AF, Kande J, Maulard P, Girard J. Glucose utilization rates and insulin sensitivity in vivo in tissues of virgin and pregnant rats. *Diabetes*. 1986;35:172-7.
2. Ferre P, Burnol AF, Leturque A, Terretaz J, Penicaud L, Jeanrenaud B, et al. Glucose utilization in vivo and insulin-sensitivity of rat brown adipose tissue in various physiological and pathological conditions. *Biochem J*. 1986;233:249-252.
3. Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in insulin resistance and insulin release in non-obese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165:1667-71.
4. Rossi G, Sherwin RS, Penzias AS, Lapaczewski P, Jacob RJ, Shulman GI, et al. Temporal changes in insulin resistance and secretion in 24-h-fasted conscious pregnant rats. *Am J Physiol*. 1993;265:E845-851.
5. Bender HS, Chickering WR. Pregnancy and diabetes: the maternal response. *Life Sci*. 1985;37:1-9.
6. Scaglia L, Smith FE, Bonner-Weir S. Apoptosis contributes to the involution of beta cell mass in the post partum rat pancreas. *Endocrinology*. 1995;136:5461-8.
7. Akerman F, Lei ZM, Rao CV. Human umbilical cord and fetal membranes coexpress leptin and its receptor genes. *Gynecological Endocrinol*. 2002;16:299-306.
8. WeinhausAJ, Bhagroo NV, Brelje TC, Sorenson RL. Dexamethasone counteracts the effect of prolactin on islet function: implications for islet regulation in late pregnancy. *Endocrinology*. 2000;141:1384-93.
9. Hennen G, Frankenne F, Closset J, Gomez F, Pirens G, Khayat N. A human placental GH: increasing levels during second half of pregnancy with pituitary GH suppression as revealed by monoclonal antibody radioimmunoassay. *Int. J. Fertil*. 1985;30:27-33.
10. Fant M, Munro H, Moses AC. An autocrine/paracrine role for insulin-like growth factors in the regulation of human placental growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986;63:499-505.
11. Shibasaki T, Odagiri E, Shizume K, Ling N. Corticotropin-releasing factor-like activity in human placental extracts. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;55:384-6.
12. Anê GF, Nogueira TC, Nicoletti-Carvalho JE, Lellis-Santos C, Barbosa HC, Cipolla-Neto J, et al. Signal transducer and activator of transcription 3-regulated sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase 2 expression by prolactin and glucocorticoids is involved in the adaptation of insulin secretory response during the peripartum period. *J Endocrinol*. 2007;195:17-27.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

13. Lellis-Santos C, Sakamoto LH, Bromati CR, Nogueira TC, Leite AR, Yamanaka TS, et al. The regulation of *Rasd1* expression by glucocorticoids and prolactin controls peripartum maternal insulin secretion. *Endocrinology*. 2012;153:3668-78.
14. Bromati CR, Lellis-Santos C, Yamanaka TS, Nogueira TC, Leonelli M, Caperuto LC, et al. UPR induces transient burst of apoptosis in islets of early lactating rats through reduced AKT phosphorylation via ATF4/CHOP stimulation of TRB3 expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300:R92-100.
15. Nicoletti-Carvalho JE, Lellis-Santos C, Yamanaka TS, Nogueira TC, Caperuto LC, Leite AR, et al. MKP-1 mediates glucocorticoid-induced ERK1/2 dephosphorylation and reduction in pancreatic-cell proliferation in islets from early lactating mothers. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299:E1006-15.
16. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75:843-54.
17. Tanzer A, Stadler PF. Evolution of microRNAs. *Methods Mol Biol*. 2006;342:335-50.
18. Krutzfeldt J, Stoffel M. MicroRNAs: a new class of regulatory genes affecting metabolism. *Cell Metab*. 2006;4:9-12.
19. Sigma. [Cited 2014 Oct 14]. Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/functional-genomics-and-rnai/mirna/learning-center/mirna-introduction.html>.
20. Mineno J, Okamoto S, Ando T, Sato M, Chono H, Izu H, et al. The expression profile of microRNAs in mouse embryos. *Nucleic Acids Res*. 2006;34:1765-71.
21. Park JK, Liu X, Strauss TJ, McKearin DM, Liu Q. The miRNA pathway intrinsically controls self renewal of *Drosophila* germline stem cells. *Curr. Biol*. 2007;17:533-8.
22. van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science*. 2007;316:575-9.
23. Kim J, Inoue K, Ishii J, Vanti WB, Voronov SV, Murchison E, et al. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science*. 2007;317:1220-4.
24. Niu QW, Lin SS, Reyes JL, Chen KC, Wu HW, Yeh SD, et al. Expression of artificial microRNAs in transgenic *Arabidopsis thaliana* confers virus resistance. *Nat. Biotechnol*. 2006;24:1420-8.
25. Wang Y, Lee CG. MicroRNA and cancer--focus on apoptosis. *J Cell Mol Med*. 2009;13:12-23.
26. Poy MN, Spranger M, Stoffel M. microRNAs and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Diabetes Obes Metab*. 2007;9:67-73.

27. John B, Enright AJ, Aravin A, Tuschl T, Sander C, Marks DS. Human MicroRNA targets. *PLoS Biol.* 2004;2:e363.
28. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res.* 2009;19:92-105.
29. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: Tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res.* 2008;36:D154–8.
30. Berezikov E, Cuppen E, Plasterk RH. Approaches to microRNA discovery. *Nat. Genet.* 2006;38:S2–7.
31. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature.* 2004;432:226–30.
32. Baroukh N, Ravier MA, Loder MK, Hill EV, Bounacer A, Scharfmann R, et al. MicroRNA-124a regulates Foxa2 expression and intracellular signaling in pancreatic beta-cell lines. *J Biol Chem.* 2007;282:19575-88.
33. Plaisance V, Abderrahmani A, Perret-Menoud V, Jacquemin P, Lemaigre F, Regazzi R. MicroRNA-9 controls the expression of Granuphilin/Slp4 and the secretory response of insulin-producing cells. *J Biol Chem.* 2006;281:26932–42.
34. Lovis P, Gattesco S, Regazzi R. Regulation of the expression of components of the exocytotic machinery of insulin-secreting cells by microRNAs. *Biol Chem.* 2008a;389:305-12.
35. Tang X, Muniappan L, Tang G, Ozcan S. Identification of glucose-regulated miRNA from pancreatic beta cells reveals a role for miR-30d in insulin transcription. *RNA.* 2009;15:287-93.
36. Hennessy E, Clynes M, Jeppesen PB, O'Driscoll L. Identification of microRNAs with a role in glucose stimulated insulin secretion by expression profiling of MIN6 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;396:457-62.
37. Lovis P, Roggli E, Laybutt DR, Gattesco S, Yang JY, Widmann C, et al. Alterations in microRNA expression contribute to fatty acid-induced pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes.* 2008b;57:2728-36.
38. Li Y, Xu X, Liang Y, Liu S, Xiao H, Li F, et al. miR-375 enhances palmitate-induced lipoapoptosis in insulin-secreting NIT-1 cells by repressing myotrophin (V1) protein expression. *Int J Clin Exp Pathol.* 2010;3:254-64.
39. Bodor N, Buchwald P. Corticosteroid design for the treatment of asthma: structural insights and the therapeutic potential of soft corticosteroids. *Curr Pharm Des.* 2006;12:3241-60.
40. Saklatvala J. Glucocorticoids: do we know how they work? *Arthritis Res.* 2002;4:146-50.

41. Burén J, Liu HX, Jensen J, Eriksson JW. Dexamethasone impairs insulin signaling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. *Eur J Endocrinol.* 2002;146:419-29.
42. Olefsky JM, Kimmerling G. Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism. *Am J Med Sci.* 1976;271:202-10.
43. Ruzzin J, Wagman AS, Jensen J. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signaling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. *Diabetologia.* 2005;48:2119-30.
44. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther.* 2002;96:23-43.
45. Larsson H, Ahrén B. Insulin resistant subjects lack islet adaptation to short-term dexamethasone-induced reduction in insulin sensitivity. *Diabetologia.* 1999;42:936-43.
46. Novelli M, Pocai A, Chiellini C, Maffei M, Masiello P. Free fatty acids as mediators of adaptive compensatory responses to insulin resistance in dexamethasone-treated rats. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008;24:155-64.
47. Rafacho A, Abrantes JL, Ribeiro DL, Paula FM, Pinto ME, Boschero AC, et al. Morphofunctional alterations in endocrine pancreas of short- and long-term dexamethasone-treated rats. *Horm Metab Res.* 2011;43(4):275-81.
48. Rafacho A, Giozzet VA, Boschero AC, Bosqueiro JR. Functional alterations in endocrine pancreas of rats with different degrees of dexamethasone-induced insulin resistance. *Pancreas.* 2008;36:284-93.
49. Wajngot A, Giacca A, Grill V, Vranic M, Efendic S. The diabetogenic effects of glucocorticoids are more pronounced in low- than in high-insulin responders. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89:6035-9.
50. van Raalte DH, Ouwens DM, Diamant M. Novel insights into glucocorticoid-mediated diabetogenic effects: towards expansion of therapeutic options? *Eur J Clin Invest.* 2009;39:81-93.
51. Nold JL, Georgieff MK. Infants of diabetic mothers. *Pediatr Clin North Am.* 2004;51:619-37.
52. Simmons R, Flozak A, Ogata E. Glucose regulates GLUT 1 function and expression in fetal rat lung and muscle in vitro. *Endocrinology.* 1993;132:2312-8.
53. Humbel RE. Insulin-like growth factors I and II. *Eur J Biochem.* 1990;190:445-62.
54. Andrews RC, Walker BR. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clin Sci (Lond).* 1999;96:513-23.

55. Low SC, Chapman KE, Edwards CR, Seckl JR. 'Liver-type' 11 beta- hydroxysteroid dehydrogenase cDNA encodes reductase but not dehydrogenase activity in intact mammalian COS-7 cells. *J Mol Endocrinol.* 1994;13:167-74.
56. Voice MW, Seckl JR, Edwards CR, Chapman KE. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in 2S FAZA hepatoma cells is hormonally regulated: a model system for the study of hepatic glucocorticoid metabolism. *Biochem J.* 1996;317:621-5.
57. Brown RW, Chapman KE, Edwards CR, Seckl JR. Human placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: evidence for and partial purification of a distinct NAD-dependent isoform. *Endocrinology.* 1993;132:2614-21.
58. Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schütz G, Umesono K, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell.* 1995;83:835-9.
59. Nelson GM, Prapapanich V, Carrigan PE, Roberts PJ, Riggs DL, Smith DF. The heat shock protein 70 cochaperone hsp70 enhances functional maturation of glucocorticoid receptor. *Mol Endocrinol.* 2004;18:1620-30.
60. Pratt WB, Morishima Y, Murphy M, Harrell M. Chaperoning of glucocorticoid receptors. *Handb Exp Pharmacol.* 2006;172:111-38.
61. Ismaili N, Garabedian MJ. Modulation of glucocorticoid receptor function via phosphorylation. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1024:86-101.
62. Chen DY, Bambah-Mukku D, Pollonini G. Glucocorticoid receptors recruit the CaMKII α -BDNF-CREB pathways to mediate memory consolidation. *Nat Neurosci.* 2012;15:1707-14.
63. Ratman D, Vanden Berghe W, Dejager L, Libert C, Tavernier J, Beck IM et al. How glucocorticoid receptors modulate the activity of other transcription factors: a scope beyond tethering. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;380:41-54.
64. Engblom D, Kornfeld JW, Schwake L, Tronche F, Reimann A, Beug H, et al. Direct glucocorticoid receptor-Stat5 interaction in hepatocytes controls body size and maturation-related gene expression. *Genes Dev.* 2007;21:1157-62.
65. Rafacho A, Ortsäter H, Nadal A, Quesada I. Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function: implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes. *J Endocrinol.* 2014;223:R49-62.
66. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2003;46:3-19.
67. Poitout V, Amyot J, Semache M, Zarrouki B, Hagman D, Fontés G. Glucolipototoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801:289-98.
68. Steil GM, Trivedi N, Jonas JC, Hasenkamp WM, Sharma A, Bonner-Weir S, et al. Adaptation of β - cell mass to substrate oversupply: enhanced function with normal

- gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280:E788-96.
69. Bordin S, Boschero AC, Carneiro EM, Atwater I. Ionic mechanisms involved in the regulation of insulin secretion by muscarinic agonists. *J Membr Biol.* 1995;148:177-84.
 70. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
 71. Garfin DE. One-Dimensional Gel Electrophoresis. *Methods Enzymol.* 1990;182:425-41.
 72. Timmons TM, Dunbar B. Protein Blotting and Immunodetection. *Methods Enzymol* 1990;182:679-88.
 73. Krueger NJ, Hammondo JBW. Immunodetection of proteins on "Western" blots using ¹²⁵I labeled protein A. *Methods Mol. Biol.* 1988;3:409-17.
 74. Nakano K, Vousden KH. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *MolCell.* 2001;7:683-94.
 75. Nagamatsu S, Nakamichi Y, Yamamura C, Matsushima S, Watanabe T, Ozawa S, et al. Decreased expression of t-SNARE, syntaxin 1, and SNAP-25 in pancreatic beta-cells is involved in impaired insulin secretion from diabetic GK rat islets: restoration of decreased t-SNARE proteins improves impaired insulin secretion. *Diabetes.* 1999;48:2367-73.
 76. Ostenson CG, Gaisano H, Sheu L, Tibell A, Bartfai T. Impaired gene and protein expression of exocytotic soluble N-ethylmaleimide attachment protein receptor complex proteins in pancreatic islets of type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 2006;55:435-568.
 77. Bagge A, Dahmcke CM, Dalgaard LT. Syntaxin-1a is a direct target of miR-29a in insulin-producing b-cells. *Horm Metab Res.* 2013;45:463-6.
 78. Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchell BF, Olson DM. Inflammatory processes in preterm and term parturition. *J Reprod Immunol.* 2008;79(1):50-7.
 79. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet.* 1998;351:173-7.
 80. Nyirenda MJ, Lindsay RS, Kenyon CJ, Burchell A, R. Seckl JR. Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. *J Clin Invest.* 1998;101:2174-81.
 81. Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Experimental IUGR and later diabetes. *J Intern Med.* 2007;261:437-52.

82. Owen OE, Cahill GF Jr. Metabolic effects of exogenous glucocorticoids in fasted man. *J Clin Invest.* 1973;52:2596-605.
83. Rafacho A, Quallio S, Ribeiro DL, Taboga SR, Paula FM, Boschero AC, et al. The adaptive compensations in endocrine pancreas from glucocorticoid-treated rats are reversible after the interruption of treatment. *Acta Physiol (Oxf).* 2010;200:223-35.
84. Sionov RV. MicroRNAs and Glucocorticoid-Induced Apoptosis in Lymphoid Malignancies. *ISRN Hematol.* 2013:348212.
85. Fernandez-Valverde SL, Taft RJ, Mattick JS. MicroRNAs in b-Cell Biology, Insulin Resistance, Diabetes and Its Complications. *Diabetes.* 2011;60:1825-31.
86. Jacovetti C, Regazzi R. Compensatory β -cell mass expansion. A big role for a tiny actor. *Cell Cycle.* 2013;12:197–8.
87. Bagge A, Clausen TR, Larsen S, Ladefoged M, Rosenstjerne MW, Larsen L, et al. MicroRNA-29a is up-regulated in beta-cells by glucose and decreases glucose-stimulated insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;426:266- 72.
88. Pullen TJ, Xavier GS, Kelsey G, Rutter GA. miR-29a and miR-29b contribute to pancreatic b-cell-specific silencing of Monocarboxylate transporter 1 (Mct1). *Mol Cell Biol.* 2011;3182–94.
89. Roggli E, Gattesco S, Caille D, Briet C, Boitard C, Meda P, et al. Changes in microRNA expression contribute to pancreatic β -cell dysfunction in prediabetic NOD mice. *Diabetes.* 2012;61:1742-51.
90. Wang Y, Zhang X, Li H, Yu J, Ren X. The role of miRNA-29 family in cancer. *Eur J Cell Biol.* 2013;92:123-8.
91. He Y, Huang C, Lin X, Li J. MicroRNA-29 family, a crucial therapeutic target for fibrosis diseases. *Biochimie.* 2013;95:1355-9.
92. Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, Vucur M, Zimmermann H, Schmidt S, et al. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis. *Hepatology.* 2011;53:209-18.
93. Martinez I, Almstead LL, DiMaio D. MicroRNAs and senescence. *Aging.* 2011;3:77–8.
94. Ugalde AP, Ramsay AJ, Rosa J, Varela I, Marino G, Cadinanos J, et al. Aging and chronic DNA damage response activate a regulatory pathway involving miR-29 and p53. *EMBO J.* 2011;30:2219–32.
95. Hubmacher D, Apte SS. The biology of the extracellular matrix: novel insights. *Curr Opin Rheumatol.* 2013;25:65–70.
96. Krek A, Grun D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L, Epstein EJ, et al. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet.* 2005;37:495-500.

97. Murphy SH, Suzuki K, Downes M, Welch GL, Jesus P, Miraglia LJ, et al. Tumor suppressor protein (p)53, is a regulator of NF- κ B repression by the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:17117–22.
98. Wang FS, Chung PC, Lin CL, Chen MW, Ke HJ, Chang YH, et al. MicroRNA-29a protects against glucocorticoid-induced bone loss and fragility in rats by orchestrating bone acquisition and resorption. *Arthritis Rheum*. 2013;65:1530-40.
99. Long J, Wang Y, Wang W, Chang BHJ, Danesh FR. MicroRNA-29c is a signature microRNA under high glucose conditions that targets Sprouty Homolog 1, and its in vivo knockdown prevents progression of diabetic nephropathy. *J Biol Chem*. 2011;286:11837–48.
100. Vousden KH, Prives C. Blinded by the light: The growing complexity of p53. *Cell*. 2009;137:413–31.
101. Jones M, Lal A. MicroRNAs, wild-type and mutant p53: more questions than answers. *RNA Biol*. 2012;9:781-91.
102. Park SY, Lee JH, Ha M, Nam JW, Kim VN. miR-29 miRNAs activate p53 by targeting p85 alpha and CDC42. *Nat Struct Mol Biol*. 2009;16:23-9.
103. Gurzov EN, Germano CM, Cunha DA, Ortis F, Vanderwinden JM, Marchetti P, et al. p53 up-regulated modulator of apoptosis (PUMA) activation contribute to pancreatic β -cell apoptosis induced by proinflammatory cytokines and endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem*. 2010;285:19910-20.
104. Meares GP, Dominique Fontanilla D, Broniowska KA, Andreone T, Lancaster JR Jr, Corbett JA. Differential responses of pancreatic b-cells to ROS and RNS. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;67:E614–22.
105. Esguerra JLS, Bolmeson C, Cilio CM, Eliasson L. Differential Glucose- Regulation of MicroRNAs in Pancreatic Islets of Non-Obese Type 2 Diabetes Model Goto-Kakizaki Rat. *PLoS One*. 2011;6:e18613.
106. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000;342:1500– 7.
107. Elliott CL, Loudon JA, Brown N, Slater DM, Bennett PR, Sullivan MH. IL-1beta and IL-8 in human fetal membranes: changes with gestational age, labor, and culture conditions. *Am J Reprod Immunol*. 2001;46:260–7.
108. Lucey DR, Clerici M, Shearer GM. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic and inflammatory diseases. *Clin Microbiol Rev*. 1996;9:532–2.
109. Baker SJ, Reddy EP. Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. *Oncogene*. 1998;17:3261–70.

110. Iwamoto GK, Konicek SA. Cytomegalovirus immediate early genes upregulate interleukin-6 gene expression. *J Investig Med*. 1997;45:175–82.
111. Malinin NL, Boldin MP, Kovalenko AV, Wallach D. MAP3K-related kinase involved in NF-kappaB induction by TNF, CD95 and IL-1. *Nature*. 1997;385:540–4.
112. Eizirik DL, Moore F, Flamez D, Ortis F. Use of a systems biology approach to understand pancreatic beta-cell death in type 1 diabetes. *Biochem Soc Trans*. 2008;36:321-7.
113. Dogusan Z, García M, Flamez D, Alexopoulou L, Goldman M, Gysemans C, et al. Double-stranded RNA induces pancreatic beta-cell apoptosis by activation of the TLR3 and IRF-3 pathways. *Diabetes*. 2008;57:1236-45.
114. Cardozo AK, Ortis F, Storling J, Feng YM, Rasschaert J, Tonnesen M, et al. Cytokines downregulate the sarcoendoplasmic reticulum pump Ca²⁺ ATPase 2b and deplete endoplasmic reticulum Ca²⁺ leading to induction of endoplasmic reticulum stress in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2005;54:452-61.
115. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M.. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev*. 2008;29:42-61.
116. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*.2008;454:455-62.
117. Eizirik DL, Colli ML, Ortis F.The role of inflammation in insulitis and beta-cell loss in type 1 diabetes. *Nat Rev Endocrinol*. 2009;5:219–26.
118. Ortis F, Cardozo AK, Crispim D, Storling J, Mandrup-Poulsen T, Eizirik DL. Cytokine-induced proapoptotic gene expression in insulin-producing cells is related to rapid, sustained, and nonoscillatory nuclear factor-kappaB activation. *Mol Endocrinol*. 2006;20:1867–79.
119. Lenzen S, Bailey CJ. Thyroid hormones, gonadal and adrenocortical steroids and the function of the islets of Langerhans. *Endocr Rev*. 1984;5:411-34.
120. Straub SG, Sharp GW, Meglasson MD, De Souza CJ. Progesterone inhibits insulin secretion by a membrane delimited, non-genomic action. *Biosci Rep*. 2001;21(5):653-66.
121. Nieuwenhuizen AG, Schuiling GA, Liem SM, Moes H, Koiter TR, Uilenbroek JT. Progesterone stimulates pancreatic cell proliferation in vivo. *Eur J Endocrinol*. 1999;140:256-63.
122. Kawai M, Kishi K. Adaptation of pancreatic islet b-cells during the last third of pregnancy: regulation of b-cell function and proliferation by lactogenic hormones in rats. *Eur J Endocrinol*. 1999;141:419-25.

123. Le May C, Chu K, Hu M, Ortega CS, Simpson ER, Korach KS, et al. Estrogen protect pancreatic beta-cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:9232-7.
124. Nunes VA, Portioli-Sanches EP, Rosim MP, Araujo MS, Praxedes-Garcia P, Valle MM, et al. Progesterone induces apoptosis of insulin-secreting cells: insights into the molecular mechanism. *J Endocrinol*. 2014;221:273-84.
125. Cittelly DM, Finlay-Schultz J, Howe EN, Spoelstra NS, Axlund SD, Hendricks P, et al. Progestin suppression of miR-29 potentiates dedifferentiation of breast cancer cells via KLF4. *Oncogene*. 2013;32:2555-64.
126. Koibuchi F, Ritoh N, Aoyagi R, Funakoshi-Tago M, Tamura H. Dexamethasone suppresses neurosteroid biosynthesis via downregulation of steroidogenic enzyme gene expression in human glioma GI-1 cells. *BiolPharm Bull*. 2014;37(7):1241-7.
127. Wang H, Garzon R, Sun H, Ladner KJ, Singh R, Dahlman J, et al. NF-kappaB-YY1-miR-29 regulatory circuitry in skeletal myogenesis and rhabdomyosarcoma. *Cancer Cell*. 2008;14:369-81.
128. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, Gores GJ. mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene*. 2007;26:6133-40.
129. Park SY, Lee JH, Ha M, Nam JW, Kim VN. miR-29 miRNAs activate p53 by targeting p85 alpha and CDC42. *Nat Struct Mol Biol*. 2009;16:23-9.