

RESUMO

A insulina é um hormônio anabólico com efeitos metabólicos potentes. Os eventos que ocorrem após a ligação da insulina são específicos e estritamente regulados. Definir as etapas que levam à especificidade deste sinal representa um desafio para as pesquisas bioquímicas, todavia podem resultar no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para pacientes que sofrem de estados de resistência à insulina, inclusive o diabetes tipo 2. O receptor de insulina pertence a uma família de receptores de fatores de crescimento que têm atividade tirosina quinase intrínseca. Após a ligação da insulina o receptor sofre autofosforilação em múltiplos resíduos de tirosina. Isto resulta na ativação da quinase do receptor e conseqüente fosforilação em tirosina de um a família de substratos do receptor de insulina (IRS). De forma similar a outros fatores de crescimento, a insulina usa fosforilação e interações proteína-proteína como ferramentas essenciais para transmitir o sinal. Estas interações proteína-proteína são fundamentais para transmitir o sinal do receptor em direção ao efeito celular final, tais como translocação de vesículas contendo transportadores de glicose (GLUT4) do pool intracelular para a membrana plasmática, ativação da síntese de glicogênio e de proteínas, e transcrição de genes específicos. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/4:419-425)

Descritores: Fosforilação em tirosina; Tirosina quinase; Ação insulínica; Resistência à insulina; Receptor de insulina; Substratos do receptor de insulina

ABSTRACT

Insulin is an anabolic hormone with powerful metabolic effects. The events after insulin binds to its receptor are highly regulated and specific. Defining the key steps that lead to the specificity in insulin signaling presents a major challenge to biochemical research, but the outcome should offer new therapeutic approaches for treatment of patients suffering from insulin-resistant states, including type 2 diabetes. The insulin receptor belongs to the large family of growth factor receptors with intrinsic tyrosine kinase activity. Following insulin binding, the receptor undergoes autophosphorylation on multiple tyrosine residues. This results in activation of the receptor kinase and tyrosine phosphorylation of a family of insulin receptor substrate (IRS) proteins. Like other growth factors, insulin uses phosphorylation and the resultant protein-protein interactions as essential tools to transmit and compartmentalize its signal. These intracellular protein-protein interactions are pivotal in transmitting the signal from the receptor to the final cellular effect, such as translocation of vesicles containing GLUT4 glucose transporters from the intracellular pool to the plasma membrane, activation of glycogen or protein synthesis, and initiation of specific gene transcription. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/4:419-425)

Keywords: Tyrosine phosphorylation; Tyrosine kinase; Insulin action; Insulin resistance; Insulin receptor; Insulin receptor substrates

*José B.C. Carvalheira
Henrique G. Zecchin
Mario J.A. Saad*

*Departamento de Clínica Médica,
Faculdade de Ciências Médicas,
Universidade Estadual de
Campinas, SP.*

*Recebido em 29/07/2002
Aceito em 01/08/2002*

A INSULINA É O HORMÔNIO ANABÓLICO mais conhecido e é essencial para a manutenção da homeostase de glicose e do crescimento e diferenciação celular. Esse hormônio é secretado pelas células β das ilhotas pancreáticas em resposta ao aumento dos níveis circulantes de glicose e aminoácidos após as refeições. A insulina regula a homeostase de glicose em vários níveis, reduzindo a produção hepática de glicose (via diminuição da gliconeogênese e glicogenólise) e aumentando a captação periférica de glicose, principalmente nos tecidos muscular e adiposo. A insulina também estimula a lipogênese no fígado e nos adipócitos e a reduz a lipólise, bem como aumenta a síntese e inibe a degradação protéica.

Etapas Iniciais da Sinalização Insulínica

O Receptor de Insulina

A figura 1 mostra um esquema simplificado das etapas de sinalização intracelular desde a ligação da insulina ao seu receptor até a ativação do transporte de glicose. A sinalização intracelular da insulina começa com a sua ligação a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase, composta por duas subunidades α e duas subunidades β , que atua como uma enzima alostérica na qual a subunidade α inibe a atividade tirosina quinase da subunidade β . A ligação da insulina à subunidade α permite que a subunidade β adquira atividade quinase levando a alteração conformacional e autofosforilação, que aumenta ainda mais a atividade quinase do receptor (1).

Os Substratos do Receptor de Insulina

Uma vez ativado, o receptor de insulina fosforila vários substratos protéicos em tirosina. Atualmente, dez substratos do receptor de insulina já foram identificados. Quatro desses pertencem à família dos substratos do receptor de insulina, as proteínas IRS (2). Outros substratos incluem Shc, Gab-1, p60^{dok}, Cbl, JAK2 e APS (3-5). A fosforilação em tirosina das proteínas IRS cria sítios de reconhecimento para moléculas contendo domínios com homologia a Src 2 (SH2). Dentre estas se destaca a fosfatidilinositol 3-quinase (PI 3-quinase). As funções fisiológicas do IRS-1/2 foram recentemente estabelecidas através da produção de camundongos sem os genes que codificam o IRS-1 e IRS-2 (camundongos *knockout* para IRS-1 e IRS-2). O camundongo que não expressa IRS-1 apresenta resistência à insulina e retardo de crescimento, mas não é hiperglicêmico (6). Foi demonstrado que o IRS-2 poderia compensar parcialmente a ausência de IRS-1, o que explicaria o fenótipo de resistência à insulina sem hiperglicemia do camundongo *knockout* de IRS-1. O camundongo que não expressa o IRS-2 foi recentemente gerado (7) e apresenta um fenótipo diferente do camundongo sem IRS-1: hiperglicemia acentuada devido a diversas anormalidades na ação da insulina nos tecidos periféricos e a falência da atividade secretória das células β acompanhada de redução significativa da massa de células β pancreáticas. Em contraste, camundongos *knockout* para o IRS-3 e IRS-4 têm crescimento e metabolismo de glicose quase normal (8).

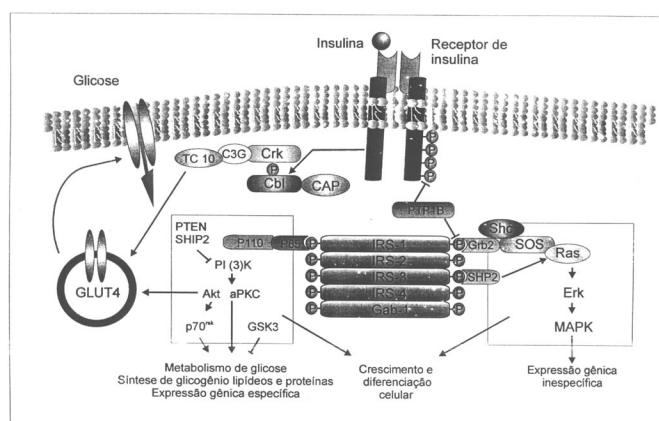


Figura 1. As vias de sinalização da insulina. O receptor de insulina é uma tirosina quinase que se autofosforila e catalisa a fosforilação de proteínas intracelulares como as proteínas IRS, Shc e Cbl. Após a fosforilação essas proteínas se ligam a outras moléculas de sinalização através de seus domínios SH2, resultando na ativação de vias de sinalização intracelular como a via da PI 3-quinase, a cascata da MAPK e a ativação do TC10 via CAP/Cbl. Essas vias regulam o transporte de glicose, a síntese de glicogênio, lipídeos e proteínas, coordenando e integrando o metabolismo intermediário.

Inibição da Sinalização do Receptor de Insulina

O receptor de insulina, além de ser fosforilado em tirosina, também pode ser fosforilado em serina, o que atenua a transmissão do sinal através da diminuição da capacidade do receptor em se fosforilar em tirosina após estímulo com insulina (9). Essas fosforilações inibitórias causam *feedback* negativo na sinalização insulínica e podem provocar resistência à insulina (10). Estudos recentes indicam que a resistência à insulina induzida pela obesidade pode ser decorrente da ativação seqüencial da proteína quinase C (PKC) e da quinase inibidora do fator nuclear kB (IKkB), entretanto os detalhes dessa via de sinalização ainda não são claros (11,12).

A ação da insulina também é atenuada por proteínas fosfatases de tirosina, que catalisam a rápida desfosforilação do receptor de insulina e de seus substratos. Várias proteínas fosfatases de tirosina foram identificadas dentre essas se destaca a PTP1B. Camundongos *knockout* para PTP1B têm aumento da fosforilação em tirosina do receptor de insulina e das proteínas IRS no músculo, conseqüentemente apresentam aumento da sensibilidade à insulina (13).

A PI 3-quinase

A PI 3-quinase é importante na regulação da mitogênese, diferenciação celular e transporte de glicose estimulado pela insulina (14-17). A PI-3 quinase foi originalmente identificada como um dímero composto de uma subunidade catalítica (p110) e uma subunidade regulatória (p85). A ligação dos sítios YXXM e YXXM (onde Y= tirosina, M= metionina e X= qualquer aminoácido) fosforilados das proteínas IRS ao domínio SH2 da subunidade p85 da PI 3-quinase ativa o domínio catalítico associado (18). A enzima catalisa fosforilação dos fosfoinosítídeos na posição 3 do anel de inositol produzindo fosfatidilinositol-3-fosfato, fosfatidilinositol-3,4-difosfato e fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (19).

Atualmente, a PI 3-quinase é a única molécula intracelular considerada essencial para o transporte de glicose (20). As proteínas alvo conhecidas dessa enzima são a Akt e as isoformas atípicas da aPKC (ζ e λ), porém a função destas proteínas no transporte de glicose ainda não está bem estabelecida (21-25).

A Via CAP/Cbl

Além da ativação da PI 3-quinase, outros sinais também são necessários para que a insulina estimule o transporte de glicose (5). Essa segunda via envolve a fosforilação do protooncogene Cbl (26). Na maioria dos tecidos sensíveis à insulina, Cbl está associado com a proteína adaptadora CAP (27). Após a fosforilação, o complexo

Cbl-CAP migra para a membrana celular e interage com a proteína CrkII, que também está constitutivamente associada com a proteína C3G (28,29). A C3G é uma proteína trocadora de nucleotídeos que catalisa a troca de GDP por GTP da proteína TC10 ativando-a. Uma vez ativada, TC10 causa um segundo sinal para a translocação da proteína GLUT4, em paralelo à ativação da via da PI 3-quinase (29).

Cascatas de Fosforilação Estimuladas pela Insulina

Semelhante a outros fatores de crescimento, a insulina estimula a *mitogen-activated protein* (MAP) quinase. Essa via inicia-se com a fosforilação das proteínas IRS e/ou Shc, que interagem com a proteína Grb2 (30). A Grb2 está constitutivamente associada à SOS, proteína que troca GDP por GTP da Ras ativando-a. A ativação da Ras requer a participação da SHP2. Uma vez ativada, Ras estimula a fosforilação em serina da cascata da MAPK que leva à proliferação e diferenciação celulares (31). O bloqueio farmacológico dessa via previne a ação da insulina no crescimento celular, mas não tem efeito nas ações metabólicas do hormônio (32).

A insulina aumenta a síntese e bloqueia a degradação de proteínas através da ativação da mTOR. mTOR controla a translação de proteínas diretamente através da fosforilação da p70- ribossomal S6 quinase (p70^{rsk}), que ativa a síntese ribossomal de proteínas através da fosforilação da proteína S6 (33). A mTOR também fosforila a PHAS1, que aumenta a síntese proteica via aumento da translação de proteínas (34).

Regulação da Síntese de Glicogênio

A insulina inibe a produção e liberação de glicose no fígado através do bloqueio da gliconeogênese e glicogenólise. A insulina estimula o acúmulo de glicogênio através do aumento do transporte de glicose no músculo e síntese de glicogênio em fígado e músculo. Este último efeito é obtido via desfosforilação da glicogênio-sintetase. Após estímulo com insulina a Akt fosforila e inativa a GSK-3, o que diminui a taxa de fosforilação da glicogênio-sintetase aumentando sua atividade (35). A insulina também ativa a proteína fosfatase 1, por um processo dependente da PI 3-quinase, que desfosforila a glicogênio sintetase diretamente (36).

Na neoglicogênese, a insulina inibe diretamente a transcrição de genes que codificam a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), enzima chave no controle desse processo. O hormônio também diminui a taxa de transcrição do gene que codifica a frutose-1,6-bifosfatase e a glicose 6 fosfatase e aumenta a transcrição de genes de enzimas glicolíticas como a glicoquinase a

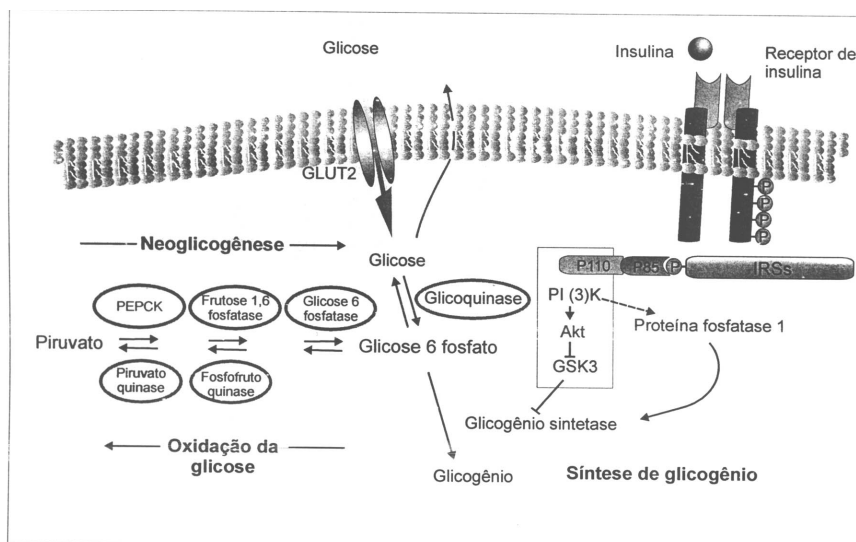


Figura 2. Regulação do metabolismo de glicose no fígado. A insulina estimula a utilização e armazenamento de glicose como glicogênio e inibe a síntese dessa hexose e sua liberação. A insulina estimula a expressão de genes da via glicolítica (verde) enquanto inibe a codificação daqueles que codificam enzimas da via da gliconeogênese (vermelho). A insulina também estimula a síntese de glicogênio através da inibição da GSK3 e proteína fosfatase 1.

piruvato quinase (37,38). As vias de sinalização que regulam a transcrição desses genes permanecem desconhecidas, mas envolvem a Akt e fatores de transcrição da família *forkhead* e o coativador do PPAR γ , PGC-1.

A insulina também altera a quantidade de ácidos graxos livres liberados da gordura visceral (39). O fluxo direto de ácidos graxos na veia porta para o fígado modula a sensibilidade à insulina nesse órgão regulando a produção de glicose.

Regulação da Síntese e Degradação de Lipídeos

A homeostase de lipídeos em células de vertebrados é regulada por uma família de fatores de transcrição designada SREBP (*sterol regulatory element-binding proteins*). SREBPs ativam diretamente a expressão de aproximadamente 30 genes que se dedicam à síntese e captação de colesterol, ácido graxo, triglicérides e fosfolípidos, assim como a de NADPH um cofator requerido para a síntese dessas moléculas (40-43). No fígado, três SREBPs regulam a produção de lipídeos. SREBP-1c aumenta preferencialmente a transcrição de genes envolvidos na síntese de ácido graxo, entre eles a acetil CoA carboxilase (ACC), que converte a acetil CoA em malonil CoA e a ácido graxo sintetase (FAS), que converte a malonil CoA em palmitato.

Uma ação clássica da insulina é estimular a síntese de ácido graxo no fígado em períodos de excesso de carboidratos. Várias evidências sugerem que esses efeitos da insulina são mediados pelo aumento do

SREBP-1c (44-46). *In vivo*, a quantidade total de SREBP-1c em fígado é reduzida pelo jejum, que suprime a secreção de insulina, e aumenta com a realimentação (47,48). De forma semelhante, os níveis de mRNA do SREBP-1c diminuem em animais com diabetes induzido por estreptozotocina e aumentam após tratamento com insulina. A hiperexpressão do SREBP-1c, em fígado de animais transgênicos, previne a redução do mRNA das enzimas lipogênicas.

Muitos indivíduos com obesidade e resistência à insulina apresentam esteatose hepática. As evidências indicam que a esteatose hepática da resistência à insulina é causada pelo acúmulo de SREBP-1c, que está elevada em resposta aos altos níveis circulantes de insulina. De maneira semelhante, os níveis de SREBP-1c estão elevados no fígado de camundongos *ob/ob* (48,49). Apesar da presença de resistência à insulina nos tecidos periféricos, a insulina continua a ativar a transcrição do SREBP-1c no fígado desses camundongos. O nível elevado de SREBP-1c nuclear aumenta a expressão de genes lipogênicos, a síntese de ácido graxo e o acúmulo de triglicérides (49,50).

Em adipócitos a insulina também reduz a lipólise através da inibição da lipase hormônio sensível (51). Esta enzima é ativada pela PKA (proteína quinase A). A insulina inibe a atividade da PKA, ativando a fosfodiesterase AMP cíclico específica (PDE3B), que reduz os níveis de AMP cíclico nos adipócitos (52). A ativação da PDE3B é dependente e distal à ativação da PI 3-quinase e Akt pela insulina.

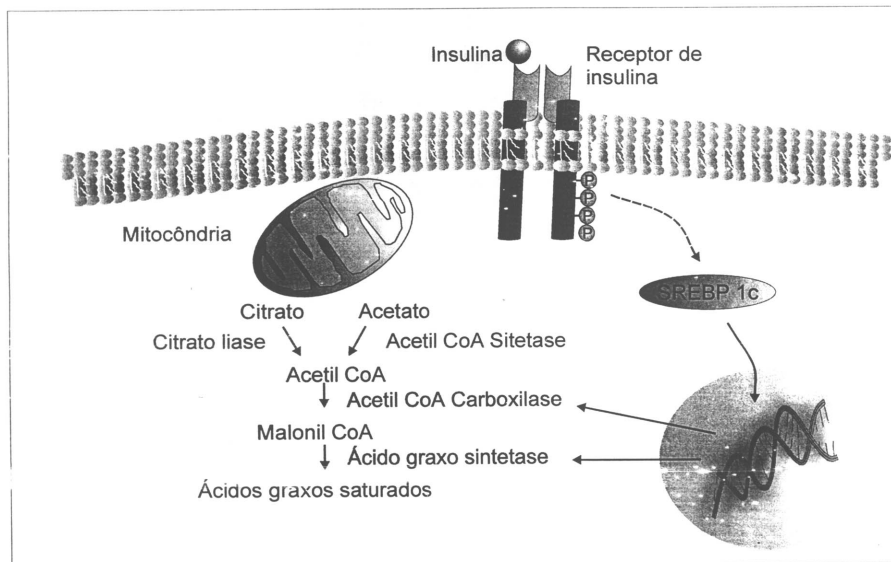


Figura 3. Regulação do metabolismo de lipídios no fígado. A insulina via SREBP 1c aumenta a expressão de genes que estimulam a síntese de ácidos graxos, tais como a acetil Coa carboxilase e a ácido graxo sintetase.

Perspectivas

Houve um progresso científico considerável na compreensão dos mecanismos de ação da insulina, e nas alterações moleculares que levam à resistência à insulina. No entanto, muitas lacunas permanecem desconhecidas. É necessário definir algumas das etapas das vias de transmissão do sinal de insulina, elucidar os mecanismos de interrelação (*cross-talk*) com outros hormônios, determinar a susceptibilidade genética da resistência à insulina e as interações entre os genes e o ambiente. Esses estudos irão propiciar novos *insights* em relação ao diabetes e resistência à insulina, talvez permitindo uma abordagem terapêutica individualizada incluindo a prevenção dessas doenças.

REFERÊNCIAS

1. Patti ME, Kahn CR. The insulin receptor — a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **J Basic Clin Physiol Pharmacol** 1998;9:89-109.
2. White MF. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. **Mol Cell Biochem** 1998;182:3-11.
3. Saad MJ, Carvalho CR, Thirone AC, Velloso LA. Insulin induces tyrosine phosphorylation of JAK2 in insulin-sensitive tissues of the intact rat. **J Biol Chem** 1996;271:22100-4.
4. Carvalho JB, Siloto RM, Ignacchitti I, Brenelli SL, Carvalho CR, Leite A, et al. Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. **FEBS Lett** 2001;500:119-24.
5. Pessin JE, Sattiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest** 2000;106:165-9.
6. Araki E, Lipes MA, Patti ME, Bruning JC, Haag B 3rd, Johnson RS, et al. Alternative pathway of insulin signaling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. **Nature** 1994;372:186-90.
7. Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. **Nature** 1998;391:900-4.
8. Fantin VR, Wang Q, Lienhard GE, Keller SR. Mice lacking insulin receptor substrate 4 exhibit mild defects in growth, reproduction, and glucose homeostasis. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 2000;278:E127-33.
9. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. **Science** 1996;271:665-8.
10. Carvalho JB, Ribeiro EB, B. GR, Telles MM, Velloso LA, Gontijo JA, et al. Characterization of selective insulin resistance to insulin signaling in the hypothalamus of obese Zucker rats. **Diabetes** 2002;51:A41.
11. Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, et al. Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. **J Clin Invest.** 2001;108:437-46.
12. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, et al. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikk β . **Science** 2001;293:1673-7.
13. Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, et al. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. **Science** 1999;283:1544-8.

14. Saad MJ, Araki E, Miralpeix M, Rothenberg PL, White MF, Kahn CR. Regulation of insulin receptor substrate-1 in liver and muscle of animal models of insulin resistance. **J Clin Invest.** 1992;90:1839-49.
15. Saad MJ, Folli F, Kahn JA, Kahn CR. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. **J Clin Invest** 1993;92:2065-72.
16. Folli F, Saad MJ, Backer JM, Kahn CR. Insulin stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity and association with insulin receptor substrate 1 in liver and muscle of the intact rat. **J Biol Chem** 1992;267:22171-7.
17. Shepherd PR, Nave BT, Siddle K. Insulin stimulation of glycogen synthesis and glycogen synthase activity is blocked by wortmannin and rapamycin in 3T3-L1 adipocytes: evidence for the involvement of phosphoinositide 3-kinase and p70 ribosomal protein-S6 kinase. **Biochem J** 1995;305:25-8.
18. Backer JM, Myers MG Jr, Shoelson SE, Chin DJ, Sun XJ, Miralpeix M, et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. **Embo J** 1992;11:3469-79.
19. Lietzke SE, Bose S, Cronin T, Klarlund J, Chawla A, Czech MP, et al. Structural basis of 3-phosphoinositide recognition by pleckstrin homology domains. **Mol Cell** 2000; 6:385-94.
20. Czech MP, Corvera S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. **J Biol Chem** 1999;274:1865-8.
21. Kohn AD, Summers SA, Birnbaum MJ, Roth RA. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. **J Biol Chem** 1996; 271: 31372-8.
22. Bandyopadhyay G, Standaert ML, Zhao L, Yu B, Avignon A, Galloway L, et al. Activation of protein kinase C (alpha, beta, and zeta) by insulin in 3T3/L1 cells. Transfection studies suggest a role for PKC-zeta in glucose transport. **J Biol Chem** 1997;272:2551-8.
23. Kotani K, Ogawa W, Matsumoto M, Kitamura T, Sakaue H, Hino Y, et al. Requirement of atypical protein kinase clambda for insulin stimulation of glucose uptake but not for Akt activation in 3T3-L1 adipocytes. **Mol Cell Biol** 1998;18:6971-82.
24. Kitamura T, Ogawa W, Sakaue H, Hino Y, Kuroda S, Takata M, et al. Requirement for activation of the serine-threonine kinase Akt (protein kinase B) in insulin stimulation of protein synthesis but not of glucose transport. **Mol Cell Biol** 1998;18:3708-17.
25. Kim YB, Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Henry RR, Kahn BB. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. **J Clin Invest** 1999;104:733-41.
26. Ribon V, Saltiel AR. Insulin stimulates tyrosine phosphorylation of the proto-oncogene product of c-Cbl in 3T3-L1 adipocytes. **Biochem J** 1997;324:839-45.
27. Ribon V, Herrera R, Kay BK, Saltiel AR. A role for CAP, a novel, multifunctional Src homology 3 domain-containing protein in formation of actin stress fibers and focal adhesions. **J Biol Chem** 1998;273:4073-80.
28. Baumann CA, Ribon V, Kanzaki M, Thurmond DC, Mora S, Shigematsu S, et al. CAP defines a second signaling pathway required for insulin-stimulated glucose transport. **Nature.** 2000;407:202-7.
29. Chiang SH, Baumann CA, Kanzaki M, Thurmond DC, Watson RT, Neudauer CL, et al. Insulin-stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10. **Nature** 2001;410:944-8.
30. Paez-Espinosa EV, Rocha EM, Velloso LA, Boschero AC, Saad MJ. Insulin-induced tyrosine phosphorylation of Shc in liver, muscle and adipose tissue of insulin resistant rats. **Mol Cell Endocrinol** 1999;156:121-9.
31. Boulton TG, Nye SH, Robbins DJ, Ip NY, Radziejewska E, Morgenbesser SD, et al. ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. **Cell.** 1991;65:663-75.
32. Lazar DF, Wiese RJ, Brady MJ, Mastick CC, Waters SB, Yamauchi K, et al. Mitogen-activated protein kinase kinase inhibition does not block the stimulation of glucose utilization by insulin. **J Biol Chem** 1995;270:20801-7.
33. Thomas G, Hall MN. TOR signaling and control of cell growth. **Curr Opin Cell Biol** 1997;9:782-7.
34. Miron M, Verdu J, Lachance PE, Birnbaum MJ, Lasko PF, Sonenberg N. The translational inhibitor 4E-BP is an effector of PI(3)K/Akt signaling and cell growth in Drosophila. **Nat Cell Biol** 2001;3:596-601.
35. Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. **Nature** 1995;378:785-9.
36. Brady MJ, Nairn AC, Saltiel AR. The regulation of glycogen synthase by protein phosphatase 1 in 3T3-L1 adipocytes. Evidence for a potential role for DARPP-32 in insulin action. **J Biol Chem** 1997;272:29698-703.
37. Pilkis SJ, Granner DK. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. **Ann Rev Physiol** 1992;54:885-909.
38. Sutherland C, O'Brien RM, Granner DK. New connections in the regulation of PEPCK gene expression by insulin. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci** 1996;351:191-9.
39. Bergman RN. New concepts in extracellular signaling for insulin action: the single gateway hypothesis. **Recent Prog Horm Res** 1997;52:359-85.
40. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. **Cell** 1997;89:331-40.
41. Horton JD, Shimomura I. Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. **Curr Opin Lipidol** 1999;10:143-50.
42. Edwards PA, Tabor D, Kast HR, Venkateswaran A. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. **Biochim Biophys Acta** 2000;1529:103-13.
43. Sakakura Y, Shimano H, Sone H, Takahashi A, Inoue N, Toyoshima H, et al. Sterol regulatory element-binding proteins induce an entire pathway of cholesterol synthesis. **Biochem Biophys Res Commun** 2001;286:176-83.
44. Foretz M, Guichard C, Ferre P, Foufelle F. Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of

- insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. **Proc Natl Acad Sci USA** **1999**;96:12737-42.
45. Shimomura I, Bashmakov Y, Ikemoto S, Horton JD, Brown MS, Goldstein JL. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Proc Natl Acad Sci USA** **1999**;96:13656-61.
46. Foretz M, Pacot C, Dugail I, Lemarchand P, Guichard C, Le Liepvre X, et al. ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. **Mol Cell Biol** **1999**;19:3760-8.
47. Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H. Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed mice. **Proc Natl Acad Sci USA** **1998**;95:5987-92.
48. Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. **Nature** **1999**;401:73-6.
49. Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. **J Biol Chem** **1999**;274:30028-32.
50. Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. **Mol Cell** **2000**;6:77-86.
51. Anthonisen MW, Ronnstrand L, Wernstedt C, Degerman E, Holm C. Identification of novel phosphorylation sites in hormone-sensitive lipase that are phosphorylated in response to isoproterenol and govern activation properties *in vitro*. **J Biol Chem** **1998**;273:215-21.
52. Kitamura T, Kitamura Y, Kuroda S, Hino Y, Ando M, Kotani K, et al. Insulin-induced phosphorylation and activation of cyclic nucleotide phosphodiesterase 3B by the serine-threonine kinase Akt. **Mol Cell Biol** **1999**;19:6286-96.

Endereço para correspondência:

Mario J.A. Saad
Departamento de Clínica Médica
FCM - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
13081-970 - Campinas, SP
Fax: (019) 3788-8950
e.mail: msaad@fcm.unicamp.br