

# Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos

revisão

## RESUMO

A insulina exerce um papel central na regulação da homeostase da glicose e atua de maneira coordenada em eventos celulares que regulam os efeitos metabólicos e de crescimento. A sub-unidade  $\beta$  do receptor de insulina possui atividade tirosina quinase intrínseca. A autofosforilação do receptor, induzida pela insulina, resulta na fosforilação de substratos protéicos intracelulares, como o substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1). O IRS-1 fosforilado associa-se a domínios SH2 e SH3 da enzima PI 3-quinase, transmitindo, desta maneira, o sinal insulínico. A insulina parece exercer *feedback* positivo na sua secreção, pela interação com seu receptor em células B pancreáticas. Alterações nos mecanismos moleculares da via de sinalização insulínica sugerem uma associação entre resistência à insulina e diminuição da secreção deste hormônio, semelhante ao observado em *diabetes mellitus* tipo 2. Uma das anormalidades associadas à resistência à insulina é a hiperlipidemia. O aumento do *pool* de ácidos graxos livres circulantes pode modular a atividade de enzimas e de proteínas que participam na exocitose da insulina. Essa revisão descreve também os possíveis mecanismos de modulação da secreção de insulina pelos ácidos graxos em ilhotas pancreáticas. (Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/3:219-227)

**Unitermos:** Ação da insulina; Célula beta pancreática; Substratos do receptor de insulina; Ácidos graxos livres; Resistência à insulina

## ABSTRACT

Insulin plays a central role in the regulation of glucose homeostasis and acts in a coordinated fashion on cellular events that regulate the metabolic and growth processes. The insulin receptor  $\beta$ -subunit, which contains an intrinsic tyrosine kinase activity, undergoes tyrosyl autophosphorylation and is activated in response to insulin binding to the extracellular  $\alpha$ -subunit. Subsequent steps in insulin signal transduction are mediated via the phosphorylation of specific intracellular proteins, including insulin receptor substrate-1 (IRS-1). In peptide motifs with the sequence Tyr-Met-x-Met (YMXM) or Tyr-x-x-Met (YXXM), tyrosine phosphorylated IRS-1 serves as a docking protein that interacts with signaling proteins containing SH2 or SH3 domains, such as the phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase), thereby transmitting the signal downstream. The pancreatic B cell insulin receptor seems to mediate positive *feedback* for insulin secretion. Alterations in the molecular mechanisms of insulin signaling provide a potential link between insulin resistance and their impaired release, observed in non-insulin-dependent *diabetes mellitus*. Insulin resistance is also associated with elevated levels of free fatty acids (FFA) in the blood that may act directly on the exocytotic machinery to secrete insulin. The present review also describes the possible fatty acids and insulin signaling interactions on insulin exocytosis in pancreatic islets. (Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/3: 219-227)

**Keywords:** Insulin receptor substrates; Insulin action; Pancreatic beta cell; Free fatty acid; Insulin resistance

**Esther P. Haber**  
**Rui Curi**  
**Carla R.O. Carvalho**  
**Angelo R. Carpinelli**

Departamento de Fisiologia e  
Biofísica, Instituto de Ciências  
Biológicas – ICB I,  
Universidade de São Paulo, SP

Recebido em 02/10/00  
Revisado em 07/02/01  
Aceito em 14/02/01

DESDE A DESCOBERTA DA INSULINA em 1921, muito esforço tem sido dedicado ao entendimento do mecanismo molecular de ação deste hormônio. A importância do estudo da ação da insulina é dada pela prevalência da resistência à insulina, presente na patologia de diversas doenças como obesidade, *diabetes mellitus* tipo 2 e associada a outras enfermidades endócrinas como hipercortisolismo e acromegalia.

A secreção de insulina é estimulada por substratos energéticos metabolizáveis pela célula B pancreática, sendo a glicose o secretagogo mais importante. A glicose é transportada para o interior da célula B por uma proteína integral de membrana, denominada Glut2. Esta proteína possui um elevado  $K_m$  (entre 15 e 20mmol/L, portanto não saturável em concentrações fisiológicas de glicose) e um  $V_{max}$  muito elevado, permitindo que o transporte de glicose aumente rapidamente quando a glicemia se eleva.

Após entrar na célula B, a glicose é fosforilada à glicose-6-fosfato (G-6-P) por duas enzimas: a hexoquinase IV (glicoquinase) de baixa afinidade ( $K_m$  entre 6 a 11mmol/L) e a hexoquinase I de alta afinidade ( $K_m < 0,1\text{mmol/L}$ ). Entretanto, a enzima de alta afinidade é fortemente inibida pela glicose-6-fosfato e, em menor grau, pela frutose-1-6-difosfato, o que transfere para a glicoquinase o papel preponderante na fosforilação da glicose nas células B. Esse mecanismo funciona como “válvula de segurança”, permitindo a formação de glicose-6-fosfato, em concentrações fisiológicas e supra-fisiológicas de glicose no sangue (1,2). Confere ainda à glicoquinase papel fundamental na regulação do fluxo glicolítico e, portanto, na secreção de insulina, o que caracteriza essa enzima como o sensor da glicose nas células secretoras de insulina. O destino preferencial da G-6-P na célula B é a glicólise (2). Menos de 10% da G-6-P vai para a via da pentose fosfato e, além disso, as enzimas da síntese de glicogênio apresentam atividade baixa na célula B (3). O piruvato formado no citoplasma é transportado à mitocôndria, onde é convertido a acetil-CoA pela piruvato desidrogenase (PDH). Subseqüentemente, acetil-CoA entra no ciclo de Krebs levando a um aumento de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e flavina adenina dinucleotídeo (FADH<sub>2</sub>). O metabolismo de glicose gera ATP e a fração ATP/ADP aumenta no citoplasma (1). Essa relação ATP/ADP aumentada provoca o fechamento dos canais de potássio e a conseqüente despolarização da membrana celular que abre canais de cálcio, sensíveis à voltagem. O aumento do influxo de cálcio para a célula B resulta em despolarização suplementar da membrana plasmática e desencadeamento do processo excitatório (4).

A estimulação das células B pela glicose leva à ativação de isoformas da fosfolipase C (PLC), promovendo a hidrólise de fosfolípidos de membrana e gerando inositol 1-4-5-trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG). O IP3 ativa os canais de cálcio localizados na membrana do retículo endoplasmático com a saída de cálcio da organela e aumento da concentração desse íon no citossol. O DAG, por sua vez, também produz o mesmo efeito sobre a concentração de cálcio intracelular, ao ativar os canais de cálcio sensíveis à voltagem da membrana plasmática, permitindo a passagem do cátion do meio extracelular para o intracelular (5,6). O DAG também ativa a proteína quinase C (PKC) (7), que ativa proteínas dos grânulos secretórios de insulina que, juntamente com o Ca<sup>2+</sup>, promoverão a ativação do sistema de microtúbulos e microfilamentos, responsável pela translocação desses grânulos para as proximidades da membrana plasmática e conseqüente exocitose. Outra função proposta para a PKC é de ativação da adenilato ciclase (que também ocorre por outros mecanismos, durante a glicólise) com o conseqüente aumento do conteúdo intracelular de AMPc (8).

A indução da produção de AMPc ativa a proteína quinase A (PKA), que parece agir nos processos de síntese proteica da célula. A PKA pode, ainda, estimular a secreção de insulina por duas maneiras distintas: 1) pela fosforilação do canal de Ca<sup>2+</sup>, sensível à voltagem, permitindo a entrada do íon na célula; 2) pela fosforilação de alguns componentes não tão específicos da maquinaria secretória, mas que garantem a sua eficiência (8).

## AÇÃO INSULÍNICA

A ação da insulina na célula inicia-se pela sua ligação ao receptor de membrana plasmática. Este receptor está presente em praticamente todos os tecidos dos mamíferos, mas suas concentrações variam desde 40 receptores nos eritrócitos circulantes até mais de 200.000 nas células adiposas e hepáticas. O receptor de insulina é uma glicoproteína heterotetramérica constituída por 2 sub-unidades  $\alpha$  e duas subunidades  $\beta$ , unidas por ligações dissulfeto (9). A sub-unidade  $\alpha$  é inteiramente extracelular e contém o sítio de ligação da insulina. A sub-unidade  $\beta$  é uma proteína transmembrana responsável pela transmissão do sinal e possui atividade tirosina quinase (10). O ATP age como doador de fosfatos e a fosforilação ocorre em resíduos tirosina. O mecanismo molecular exato da ação da insulina é desconhecido, mas parece depender da remoção do efeito inibitório da sub-unidade  $\alpha$  sobre a atividade da sub-unidade  $\beta$  do seu receptor.

A insulina induz a autofosforilação do receptor, aumentando a sua capacidade de fosforilar um ou mais substratos protéicos intracelulares. A fosforilação de seus substratos dá início a uma série de eventos incluindo a cascata de reações de fosforilação e defosforilação que regula os seus efeitos metabólicos e de crescimento (11-13).

### **Substratos 1 e 2 do Receptor de Insulina (IRS-1 e IRS-2) e sua Associação Com a Enzima Fosfatidilinositol 3-Quinase (PI 3-Quinase) – Ação na Transmissão do Sinal Insulínico**

O primeiro substrato protéico descrito recebeu o nome de substrato 1 do receptor de insulina ou IRS-1 (11). O DNA complementar (cDNA) do IRS-1 prevê uma proteína de 1235 aminoácidos, sendo inicialmente denominada pp185 por sua mobilidade eletroforética. Posteriormente, foi observado que uma outra proteína de 190kDa, identificada como IRS-2, é rapidamente fosforilada nos grupos tirosina em resposta à insulina (15). Estas proteínas são de localização citoplasmática e apresentam sítios de fosforilação em resíduos tirosina com a seqüência repetida YMXM ou YXXM, onde Y é tirosina, M é metionina, e X é qualquer aminoácido (12,13,16). A fosforilação da tirosina permite sua associação a proteínas que possuem domínios SH2 e SH3 de reconhecimento específico para fosfotirosina.

Desta forma, as proteínas IRS-1/2 desempenham função essencial na transmissão do sinal insulínico e a fosforilação desses substratos permite a interação com diversas proteínas adaptadoras ou com atividade enzimática, caracterizando o efeito pleiotrópico da insulina.

Há uma estreita associação entre a enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI 3-quinase) com IRS-1/2 após estimulação com insulina (17). A PI 3-quinase é uma enzima que contém dois sítios SH2 e um SH3 (18) e é a mais bem estudada molécula sinalizadora ativada pela IRS-1. É uma serina/treonina quinase e tem um papel importante em muitos processos celulares, incluindo proliferação celular e captação de glicose. A molécula do IRS-1, quando fosforilada em tirosina, permite a sua associação ao domínio SH2 da sub-unidade regulatória da PI 3-quinase, levando à ativação desta enzima (19). Esta enzima catalisa a fosforilação do fosfatidilinositol (PI), do fosfatidilinositol-4-fosfato (PI-4P) e do fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PI-4,5P<sub>2</sub>), resultando na estimulação do transporte de glicose (16,19).

Algumas proteínas, como a p70<sup>S6K</sup> e AKT (proteína quinase B/PKB) são ativadas pela via ligada a PI 3-

quinase (20,21) e têm um papel importante na regulação da expressão de genes e no crescimento celular em resposta a inúmeros estímulos (22). Mais recentemente, foi observado em tecido adiposo, que a AKT em resposta ao estímulo da insulina encontra-se ligada a vesículas contendo o transportador de glicose – Glut 4 (23).

A ação insulínica pode ser afetada de maneiras diferentes por estados fisiológicos ou fatores circulantes. A secreção ou administração em excesso de glicocorticóides, glucagon, catecolaminas e hormônio de crescimento induzem resistência à insulina, presente tanto em humanos quanto em animais. Condições fisiológicas como a gestação e o “envelhecimento” também apresentam resistência à insulina. Com o uso de anticorpos específicos anti-receptor de insulina, anti-IRS-1, anti-IRS-2, anti-PI 3-quinase e antifosfotirosina, demonstrou-se, em células em cultura e em tecidos animais, que a resistência à insulina pode estar associada a alterações nas primeiras etapas da ação insulínica após a ligação do hormônio ao seu receptor (24-29).

### **Efeito da Insulina em Células B Pancreáticas e Ativação Autócrina Positiva**

A presença de proteínas que participam no sistema de sinalização inicial da insulina foi demonstrada em células B das ilhotas de Langerhans, incluindo os receptores de insulina (30-32), os substratos 1 e 2 do receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2) (33-35), fosfatidilinositol 3-quinase (PI 3-quinase) (36,37) e proteína quinase B (AKT/PKB) (38). A insulina liberada pela glicose em ilhotas isoladas pode ativar esses componentes e outras proteínas nas próprias células secretórias (39).

A insulina liga-se aos receptores na superfície das células B (30,40) e induz a fosforilação em resíduos tirosina destes (32), dos substratos IRS-1/2 (34) e PHAS-I (41). Sob estímulo de concentração máxima de glicose, a produção do fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato (PIP<sub>3</sub>), o principal produto de ativação da PI 3-quinase, coincide com a fase inicial do pico de secreção de insulina em ilhotas e células B clonais secretoras de insulina (36). Assim, parece haver ativação autócrina pela própria insulina secretada nas células B (39).

Algumas das conseqüências da ativação do receptor de insulina em células B foram descritas. A ativação leva à síntese de insulina com efeitos na transcrição e tradução, aumentando o conteúdo do hormônio liberado nas culturas de células B (41,42). Em células B TC6-F7 transfectadas para hiperexpressão do receptor de insulina, a secreção basal do hormônio e a

estimulada pela glicose são maiores quando comparadas às dos controles quinase negativos (41). Em outro estudo, células B clonais com ausência da proteína IRS-1 apresentaram diminuição da secreção basal de insulina e da estimulada pela glicose (43). Portanto, a insulina parece exercer controle positivo na sua síntese e secreção, pela interação com o receptor e esse *feedback* positivo ocorre mesmo durante o estímulo com glicose (44).

O aumento da concentração intracelular de  $Ca^{2+}$  pela ação da insulina exógena ou liberada nos grânulos secretórios tem sido investigada (39). Em um recente estudo com células B clonais, foi demonstrado que a hiperexpressão de receptores de insulina e do IRS-1 eleva a concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular, por interação com o retículo endoplasmático, e aumenta a secreção de insulina (45). A concentração intracelular aumentada do  $Ca^{2+}$  pode afetar diretamente o processo excitatório de insulina nas células B. Entretanto, esse processo parece ser mediado pela associação e consequente ativação do IRS-1/PI 3-quinase (39) e da proteína quinase C (PKC) (46).

O significado potencial do *feedback* autócrino positivo *in vivo* foi também demonstrado pela diminuição da resposta de insulina à glicose e intolerância à glicose em camundongos com ausência de receptores de insulina nas células B (47). Outra evidência foi obtida pela associação entre polimorfismo no IRS-1 em humanos e a secreção diminuída de insulina presente em um grupo de indivíduos com *diabetes mellitus* tipo 2 (48).

Há, conforme mencionado acima, evidências de que a insulina ativa o seu receptor, aumentando a síntese e secreção do hormônio. Alterações nesse processo induzem à diminuição da secreção semelhante ao observado no *diabetes mellitus* tipo 2 (39,41,43).

### Metabolismo dos Ácidos Graxos nas Células B Pancreáticas

Uma das anormalidades metabólicas associadas à resistência à insulina em seres humanos e animais é a hiperlipidemia pronunciada com elevação dos ácidos graxos livres (AGL) no plasma (49,50). A resistência à insulina nos músculos cardíaco e esquelético, induzida por aumento de AGL no plasma, ocorre por inibição do metabolismo de glicose via ciclo ácido graxo/glicose (51).

Randle propôs o ciclo glicose-AGL em estudos com coração e diafragma de rato. A princípio, observou-se que o aumento de AGL no plasma diminuía a oxidação de carboidratos e a captação de glicose por estes tecidos. Os pontos chave para suporte desta

hipótese podem ser encadeados da seguinte maneira: o aumento plasmático de AGL induz beta oxidação com aumento da produção de acetil-CoA, levando à inibição da piruvato desidrogenase e oxidação do piruvato. Ao mesmo tempo, o aumento de citrato e ATP inibe a fosfofrutoquinase e a glicólise, resultando em acúmulo da G-6-P. Esta, por sua vez, leva à inibição da atividade da hexoquinase, com redução na captação e fosforilação da glicose.

Em células B pancreáticas, os AGL do citoplasma são convertidos à acil-CoA pela acil-CoA sintetase. Em condições basais, a molécula de acil-CoA de cadeia longa (LC-CoA) é transportada para a mitocôndria via carnitina-palmitoil-transferase-1 (CPT-1), onde é beta oxidada. Na presença de concentrações elevadas de glicose, este processo é inibido e ocorre aumento na concentração de LC-CoA no citoplasma (50,52). Esse efeito se deve ao aumento da concentração de malonil-CoA formado como resultado do aumento do metabolismo da glicose. Malonil-CoA inibe a CPT-1, permitindo o referido acúmulo de LC-CoA no citoplasma (53,54). Esses ácidos graxos aumentam diretamente a exocitose de insulina por estimular o retículo endoplasmático a liberar cálcio, promovendo aumento do cálcio citoplasmático (52,55,56).

O aumento do *pool* citossólico de LC-CoA, ácido fosfatídico e DAG, resultantes do estímulo com glicose, pode modular diretamente a atividade de enzimas como PKC (57-60) ou modificar o estado de acilação de proteínas chave que participam na regulação da atividade de canais iônicos e da exocitose (61-63). Os LC-CoA inibem a atividade da glicoquinase (64,65), da glicose-6-fosfatase (66) e a conversão do acetil-CoA em malonil-CoA pela acetil-CoA carboxilase (64).

Acilação de proteínas parece ser essencial no processo de sinalização via GTP-proteínas carregadoras (proteínas G), possivelmente direcionando essas proteínas aos locais apropriados da membrana (67). As proteínas G são constituídas de 3 sub-unidades,  $\alpha$  estimulatória ( $G_s$ ) ou inibitória ( $G_i$ ),  $\beta$  e  $\gamma$ , e regulam a ação do AMPc por sua associação ao complexo hormônio-receptor na membrana celular e subsequente ativação de moléculas efetoras como adenilato ciclase e PLC. Todas as sub-unidades  $\alpha$  são modificadas por LC-CoA, como moléculas de palmitato ou miristato. Mutações nos locais de palmitoilação das sub-unidades  $\alpha$  alteram sua função regulatória (62,63,68).

O mecanismo pelo qual os LC-CoA estimulam a liberação da insulina parece ocorrer também por efeito direto na exocitose, independente dos moduladores conhecidos desse processo. Os LC-CoA podem aumentar a fusão dos grânulos secretórios com a membrana da

célula B com subsequente descarga da insulina, como demonstrado por mensuração da capacitância da membrana de células B pancreáticas de camundongo. Este efeito é fisiologicamente relevante e não está limitado a células pancreáticas clonais. Assim, a fusão aumentada dos grânulos à membrana plasmática permitiria um maior número de sítios ancoradouros disponíveis para incorporação dos grânulos do *pool* de reserva, regulando a exocitose de insulina na célula B (69).

### Modulação da Secreção de Insulina por Ácidos Graxos

A exposição aguda à glicose e aos AGL promove a secreção de insulina. No entanto, exposição crônica a altas concentrações de AGL ou de glicose pode levar à inibição da secreção de insulina, via ciclo de Randle (70).

Em ilhotas isoladas de ratos alimentados com dieta rica em lipídeos, a oxidação de glicose e a secreção de insulina foram significativamente menores quando comparadas às ilhotas controles (71). Observou-se, ainda, que a capacidade secretória das ilhotas isoladas foi similar ao padrão de resposta de secreção de insulina de indivíduos com *diabetes mellitus* tipo 2 (72). O efeito de altas concentrações dos AGL sobre a secreção de insulina é tempo-dependente. Observou-se aumento e diminuição da secreção quando as ilhotas foram expostas às altas concentrações de AGL por curtos (3-4h) ou longos (24-48h) períodos de tempo, respectivamente (73,74). Ilhotas de ratos e de humanos expostas aos ácidos graxos por 48h aumentam a secreção de insulina frente à concentração basal de glicose (3mM) e diminuem a liberação desta quando a concentração de glicose é máxima (27mM) (75).

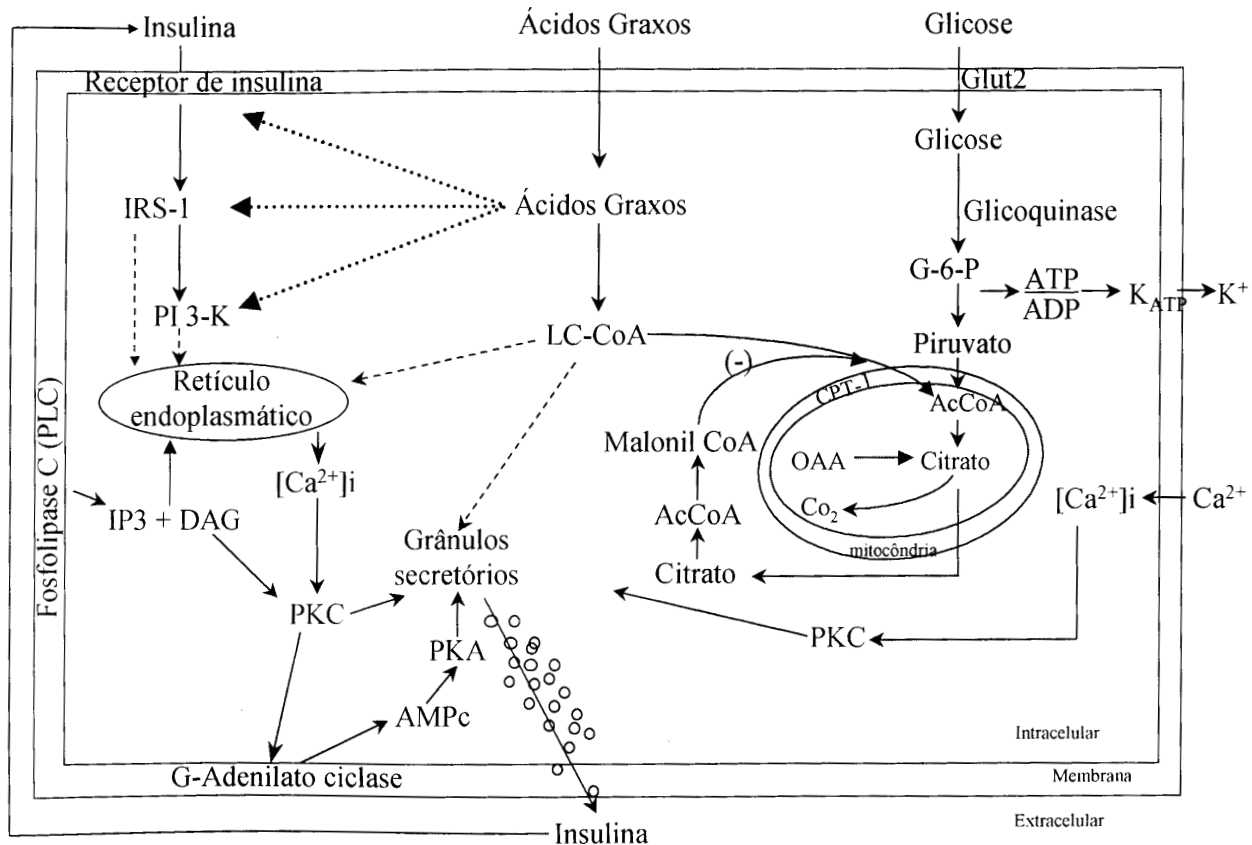
A exposição das ilhotas pancreáticas ao ácido palmítico por período prolongado correlaciona-se com a diminuição da expressão de insulina, somatostatina, Glut 2 (proteína transportadora de glicose) e glicocinase (76-78). Os mecanismos pelos quais os ácidos graxos modificam a secreção de insulina são ainda pouco conhecidos, mas podem ser induzidos por ativação dos fatores de transcrição modulados pelos ácidos graxos tais como os PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*) (79) e IDX-1 (76,80,81). O IDX-1 é um fator de transcrição expresso no duodeno e nas células B e D das ilhotas do pâncreas. Este é essencial no desenvolvimento embrionário do pâncreas (81-83) e ativa os genes para Glut2 (84), glicocinase (85), insulina (81,86) e somatostatina (80).

Os estudos de modulação dos AGL nas células B apontam que as moléculas lipídicas desempenham papéis fisiológicos ou patofisiológicos de acordo com a

circunstância. Num determinado momento, a secreção de insulina será governada não apenas pela concentração de glicose sérica, mas também pela concentração prevalente e natureza dos ácidos graxos circulantes (87). O efeito dos ácidos graxos varia muito, elevando a secreção de insulina com o aumento do comprimento da cadeia e diminuindo com o grau de insaturação (88). Ácidos graxos de cadeia longa como palmitato, ácido linoléico e linolênico potencializam a secreção de insulina em resposta à concentração basal de glicose (3,0mM). Dietas ricas em ácidos graxos saturados (banha de porco) reduzem a responsividade das ilhotas à glicose, enquanto que dietas ricas em AG monoinsaturados (óleo de oliva) e poli-insaturados (óleo de soja) aumentam esta resposta (89). AG voláteis (acetato, propionato e butirato) também modificam a secreção de insulina e este efeito parece ser decorrente de alteração no metabolismo de glicose (90). Assim, podemos concluir que os efeitos dos AGL sobre a secreção de insulina induzida pela glicose manifestam-se por alguns mecanismos diferentes, incluindo: a) dessensibilização dos transportadores de glicose, b) inibição da fosforilação da glicose pela hexocinase, c) inibição da fosfofrutoquinase pelo acúmulo do citrato com consequente queda da glicólise e d) inibição da PDH reduzindo a oxidação de glicose.

### Considerações Finais

O efeito da insulina, administrada por via exógena ou liberada pelos grânulos secretórios por *feedback* positivo, na regulação dos IR e IRS-1 em células B de modelos animais, tem sido objeto de estudo podendo contribuir para a compreensão de mecanismos moleculares pós-receptores de alteração da sensibilidade a este hormônio (39). Os resultados descritos nessa revisão fornecem fortes evidências da modulação da via de sinalização da insulina em células B pancreáticas pelos ácidos graxos. Entretanto, as consequências da exposição das ilhotas pancreáticas aos ácidos graxos a curto e a longo prazo nas primeiras etapas da sinalização insulínica, regulação dos IR e IRS-1, bem como a associação IRS-1/PI 3-quinase nas células B são ainda desconhecidas. Essas descobertas têm importância clínica relevante uma vez que o aumento de AGL no plasma pode induzir em indivíduos com *diabetes mellitus* tipo 2 o agravamento da resistência periférica e queda da secreção de insulina (91). Um sumário dos principais eventos no processo de regulação da secreção de insulina na célula B está apresentado em figura anexa.



**Figura 1.** Principais eventos no processo de regulação da secreção de insulina na célula B. Linhas sólidas indicam efeitos ou interações estabelecidas enquanto linhas tracejadas indicam eventos em mecanismos não definidos. Insulina exógena ou liberada dos grânulos secretórios interage com o receptor de insulina, que ativa IRS-1/PI 3-K, levando à liberação de  $Ca^{2+}$  intracelular do retículo endoplasmático por mecanismo desconhecido. A concentração aumentada de  $Ca^{2+}$  intracelular leva à secreção de insulina, intermediada pela PKC. A possibilidade de um mecanismo existente no efeito modulatório dos ácidos graxos nas etapas iniciais da ação insulínica nas células B está indicada pelas linhas pontilhadas.

## REFERÊNCIAS

- Matschinsky FM. Banting Lecture 1995: a lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes* 1996;45:223-41.
- Boschero AC. Acoplamento excitação-secreção nas células B pancreáticas. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1996;40:149-55.
- Perales MA, Sener A, Malaisse WJ. Hexose metabolism in pancreatic islets: the glucose-6-phosphatase riddle. *Mol Cell Biochem* 1991;101:67-71.
- Prentki M, Corkey BE. Is the beta cell signaling molecules malonyl-CoA and cytosolic long-chain acyl-CoA implicated in multiple tissue defects of obesity and NIDDM? *Diabetes* 1996;45: 273-83.
- Schrey MP, Montague W. Phosphatidylinositol metabolism in isolated guinea-pig islets of Langerhans. *Biochemistry* 1983;216:433-41.
- Best L, Dunlop M, Malaisse WJ. Phospholipid metabolism in pancreatic islets. *Experientia* 1984;40:1085-91.
- Persaud SJ, Jones PM, Howell SL. The role of protein kinase C in insulin secretion. In: Flatt P, ed. **Nutrient Regulation of Insulin Secretion**. Portland Press: London, 1992:247-70.
- Hughes SJ, Ashcroft SJ. Cyclic AMP, protein phosphorylation and insulin secretion. In: Flatt P, ed. **Nutrient Regulation of Insulin Secretion**. Portland Press: London, 1992:271-88.
- Kahn CR. Current concepts of the molecular mechanism of insulin action. *Ann Rev Med* 1985;36:429-51.
- Kasuga M, Karlsson FA, Kahn CR. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-dalton subunit of its own receptor. *Science* 1982;215:185-7.
- Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, Backer JM, Araki E, Wilden PA, et al. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature* 1991;352:73-7.
- White MF, Kahn CR. The insulin signaling system. *J Biol Chem* 1994;261:1-4.
- White MF. The insulin signaling system and the IRS proteins. *Diabetologia* 1997;40:S2-S17.

14. Eliminada na prova.
15. Sun XJ, Wang LM, Zhang Y, Patti MA, Bruning JC, Haag B, et al. Role of IRS-2 in insulin and cytokine signaling. **Nature** 1995;337:173-7.
16. Cheatham B, Kahn CR. Insulin action and the insulin signaling network. **Endocr Rev** 1995;16:117-38.
17. Folli F, Saad MJA, Backer JM, Kahn CR. Insulin stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase and association with insulin receptor substrate 1 in liver and muscle of the intact rat. **J Biol Chem** 1992;267:22171-7.
18. Carpenter CL, Cantley LC. Phosphoinositide kinases. **Biochemistry** 1990;29:11147-56.
19. Ruderman N, Kapeller R, White MF, Cantley LC. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by insulin. **Proc Natl Acad Sci USA** 1990;87:1411-5.
20. Cheatham B, Viohos CJ, Cheatham L, Wang L, Blenis J, Kahn CR. Phosphatidylinositol 3-kinase activation is required for insulin stimulation of p70<sup>S6</sup> kinase, DNA synthesis and glucose transporter translocation. **Mol Cell Biol** 1994;14:4902-11.
21. Shepperd PR, Withers DJ, Siddle K. Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signaling. **Biochem J** 1998;333:471-90.
22. Yenush L, White MF. The IRS-signaling system during insulin and cytokine action. **Bio Essays** 1997;19:491-500.
23. Kupriyanova TA, Kandor KV. Akt-2 binds to Glut-4-containing vesicles and phosphorylates their component proteins in response to insulin. **J Biol Chem** 1999;274:1458-64.
24. Carvalho CRO, Saad MJA. Resistência à insulina induzida por glicocorticóides: investigação de mecanismos moleculares. **Arq Bras Endocrinol Metab** 1998;42(1):13-21.
25. Saad MJA, Hartmann LGG, Carvalho DS, Galoro CAO, Brenelli SL, Carvalho CRO. Effect of glucagon on insulin receptor substrate-1 (IRS-1) phosphorylation and association with phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase). **FEBS Lett** 1995;370:171-4.
26. Saad MJA, Hartmann LGG, Carvalho DS, Galoro CAO, Brenelli SL, Carvalho CRO. Modulation of early steps in insulin action in the liver and muscle of epinephrine treated rats. **Endocrine** 1995;3:755-9.
27. Thirone ACP, Carvalho CRO, Brenelli SL, Velloso LA, Saad MJA. Chronic treatment with growth hormone modulates the early steps of insulin signal transduction in the liver and muscle rats. **Mol Cell Endocrinol** 1997;130:33-42.
28. Saad MJA, Maeda L, Brenelli SL, Carvalho CRO, Paiva RS, Velloso LA. Defects in insulin's signal transduction in liver and muscle of pregnant rats. **Diabetologia** 1997;40:179-86.
29. Carvalho CRO, Brenelli SL, Silva AC, Nunes ALB, Velloso LA, Saad MJA. Effect of aging on insulin receptor, insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of rats. **Endocrinology** 1996;137:151-9.
30. Verspohl EJ, Ammon HP. Evidence for presence of insulin receptors in rat islets of Langerhans. **J Clin Invest** 1980;65(5):1230-7.
31. Gazzano H, Halban P, Prentki M, Ballotti R, Brandenburg D, Fehlmann M, et al. Identification of functional insulin receptors on membranes from an insulin-producing cell line (RINm5F). **Biochemistry** 1985;24(3):867-72.
32. Rothenberg PL, Willison LD, Simon J, Wolf BA. Glucose-induced insulin receptor tyrosine phosphorylation in insulin-secreting beta cells. **Diabetes** 1995;44(7):802-9.
33. Harbeck MC, Louie DC, Howland J, Wolf BA, Rothenberg PL. Expression of insulin receptor mRNA and insulin receptor substrate 1 in pancreatic islet beta cells. **Diabetes** 1996;45(6):711-7.
34. Velloso LA, Carneiro EM, Crepaldi SC, Boschero AC, Saad MJ. Glucose- and insulin-induced phosphorylation of the insulin receptor and its primary substrates IRS-1 and IRS-2 in rat pancreatic islets. **FEBS Lett** 1995;377(3):353-7.
35. Sun XJ, Pons S, Wang LM, Zhang Y, Yenush L, Burks D, et al. The IRS-2 gene on murine chromosome 8 encodes a unique signaling adapter for insulin and cytokine action. **Mol Endocrinol** 1997;11(2):251-62.
36. Alter CA, Wolf BA. Identification of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate in pancreatic islets and insulin secreting cells. **Biochem Biophys Res Commun** 1995;208(1):190-7.
37. Gao Z, Konrad RJ, Collins H, Matschinsky FM, Rothenberg PL, Wolf BA. Wortmannin inhibits insulin secretion in pancreatic islets and beta-TC3 cells independent of its inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase. **Diabetes** 1996;45(7):854-62.
38. Holst LS, Mulder H, Manganiello V, Sundler F, Ahren B, Holm C, et al. Protein kinase B is expressed in pancreatic beta cells and activated upon stimulation with insulin-like growth factor I. **Biochem Biophys Res Commun** 1998;250(1):181-6.
39. Aspinwall CA, Qian WJ, Roper MG, Kulkarni RN, Kahn CR, Kennedy RT. Roles of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase, and release of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores in insulin-stimulated insulin secretion in beta cells. **J Biol Chem** 2000;275(29):22331-8.
40. Patel YC, Amherdt M, Orci L. Quantitative electron microscopic autoradiography of insulin, glucagon, and somatostatin binding sites on islets. **Science** 1982;217(4565):1155-6.
41. Xu G, Marshall CA, Lin TA, Kwon G, Munivenkatappa RB, Hill JR, et al. Insulin mediates glucose-stimulated phosphorylation of PHAS-I by pancreatic beta cells. An insulin-receptor mechanism for autoregulation of protein synthesis by translation. **J Biol Chem** 1998;273(8):4485-91.
42. Leibiger JB, Leibiger B, Moede T, Berggren PO. Exocytosis of insulin promotes insulin gene transcription via the insulin receptor/PI-3 kinase/p70<sup>S6</sup> kinase and CaM kinase pathways. **Mol Cell** 1998;1(6):933-8.
43. Kulkarni RN, Winnay JN, Bruning JC, Hanahan D. **Diabetes** 1998;47:A57.
44. Aspinwall CA, Lakey JRT, Kennedy RT. Insulin-stimulated insulin secretion in single pancreatic beta cells. **J Biol Chem** 1999;274(10):6360-5.
45. Xu G, Gao ZY, Borge PD, Wolf BA. Insulin receptor substrate 1-induced inhibition of endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> uptake in beta cells. Autocrine regulation of intracellular Ca<sup>2+</sup> homeostasis and insulin secretion. **J Biol Chem** 1999;274:18067-74.
46. Ashcroft SJ. Protein phosphorylation and beta-cell function. **Diabetologia** 1994;37(Suppl 2):S21-9.

47. Kulkarni RN, Winnay JN, Daniels M, Bruning JC, Flier SN, Hanahan D, et al. Altered function of insulin receptor substrate-1-deficient mouse islets and cultured beta-cell lines. **J Clin Invest** 1999;104(12):R69-75.
48. Porzio O, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Accili D, Lauro R, et al. The Gly972-->Arg amino acid polymorphism in IRS-1 impairs insulin secretion in pancreatic beta cells. **J Clin Invest** 1999;104:357-64.
49. McGarry JD. Disordered metabolism in diabetes: have we underemphasized the fat component? **J Cell Biochem** 1994;55:29-38.
50. Unger RH. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. **Diabetes** 1995;44(8):863-70.
51. Randle PJ, Kerbey AL, Espinal J. Mechanisms decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones. **Diabetes Metab Rev** 1988;4(7):623-38.
52. Prentki M, Fischer S, Glennon MC, Regazzi R, Deeney JT, Corkey BE. Malonyl-CoA and long chain acyl-CoA as metabolic coupling factors in nutrient-induced insulin secretion. **J Biol Chem** 1992;267:5802-10.
53. Chen S, Ogawa M, Ohneda M, Unger RH, Foster DW, McGarry JD. More direct evidence for a malonyl-CoA-carnitine palmitoyltransferase I interaction as a key event in pancreatic beta cell signaling. **Diabetes** 1994;43:878-83.
54. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. **Diabetes Rev** 1997;5:177-268.
55. Deeney JT, Tornheim K, Korchak HM, Prentki M, Corkey BE. Acyl-CoA esters modulate intracellular Ca<sup>2+</sup> handling by permeabilized clonal pancreatic beta cells. **J Biol Chem** 1992;267:19840-5.
56. Warnotte C, Gilon P, Nenquin M, Henquin JC. Mechanism of the stimulation of insulin release by saturated fatty acids. **Diabetes** 1994;43:703-11.
57. Littman ED, Pitchumoni S, Garfinkel MR, Opara EC. Role of protein kinase C isoenzymes in fatty acid stimulation of insulin secretion. **Pancreas** 2000;20(3):256-63.
58. Yaney GC, Korchak HM, Corkey BE. Long-chain acyl-CoA regulation of protein kinase C and fatty acid potentiation of glucose-stimulated insulin secretion in clonal beta cells. **Endocrinology** 2000;141(6):1989-98.
59. Nishizuka Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. **Science** 1992;258:607-14.
60. Limatola C, Schaap D, Moolenaar WH, van Blitterswijk WJ. Phosphatidic acid activation of protein kinase C-zeta over expressed in COS cells: comparison with other protein kinase C isoforms and other acidic lipids. **Biochem J** 1994;304:1001-08.
61. Rothman JE, Orci L. Molecular dissection of the secretory pathway. **Nature** 1992;355:409-15.
62. Bouvier M, Moffett S, Loisel TP, Mouillac B, Hebert T, Chidiac P. Palmitoylation of G-protein-coupled receptors: a dynamic modification with functional consequences. **Biochem Soc Trans** 1995;23:116-20.
63. Linder ME, Middleton P, Hepler JR, Taussig R, Gilman AG, Mumby SM. Lipid modification of G proteins: alpha subunits are palmitoylated. **Proc Natl Acad Sci** 1993;90:3675-9.
64. Powell GL, Tippett PS, Kiorpes TC, McMillin J, Coll KE, Schulz H, et al. Fatty acyl CoA as an effector molecule in metabolism. **Fed Proc** 1985;44:81-4.
65. Tippett PS, Neet KE. An allosteric model for the inhibition of glucokinase by long chain acyl coenzyme A. **J Biol Chem** 1982;257:12846-52.
66. Fulceri R, Gamberucci A, Scott UU, Giunti R, Burchell A, Benedetti A. Fatty acyl CoA esters inhibit glucose-6-phosphatase in rat liver microsomes. **Biochem J** 1995;307:391-7.
67. Schmidt MFG. Fatty acylation of proteins. **Biochim Biophys Acta** 1989;988:411-26.
68. Casey PJ. Protein lipidation and cell signaling. **Science** 1995;268:221-5.
69. Deeney JT, Gromada J, Marianne H, Olsen HL, Christopher JR, Prentki M, et al. Acute stimulation with long chain acyl-CoA enhances exocytosis in insulin-secreting cells (HIT T-15) and NMRI beta cells. **J Biol Chem** 2000;275(13):9363-8.
70. Randle PJ. Mechanism modifying glucose oxidation in diabetes mellitus. **Diabetologia** 1994;37:S155-S161.
71. Takahashi RF, Curi R, Carpinelli AR. Insulin secretion to glucose stimulus in pancreatic islets isolated from rats fed unbalanced diets. **Physiol Behav** 1991;50:787-91.
72. Capito K, Hansen SE, Hedekov CJ, Islin H, Thams P. Fat induced changes in mouse pancreatic islet insulin secretion, insulin biosynthesis and glucose metabolism. **Acta Diabetologica** 1992;28:193-8.
73. Zhou YP, Grill VE. Long-term exposure of rat pancreatic islets to fatty acids inhibits glucose-induced insulin and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle. **J Clin Invest** 1994;93:870-6.
74. Sako Y, Grill VE. A 48-hours lipid infusion in the rat, time dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and beta cell oxidation through a process likely to be coupled to fatty acid oxidation. **Endocrinology** 1990;127:1580-9.
75. Zhou YP, Grill VE. Palmitate-induced beta cell insensitivity to glucose is coupled to decreased pyruvate dehydrogenase activity and enhanced kinase activity in rat pancreatic islets. **Diabetes** 1995;44:394-9.
76. Gremlich S, Bonny C, Waeber G, Thorens B. Fatty acids decrease IDX-1 expression in rat pancreatic islets and reduce Glut2, glucokinase, insulin, and somatostatin levels. **J Biol Chem** 1997;272(48):30261-9.
77. Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V, Clarke WL, Habener JF. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. **Nat Genet** 1997;15(1):106-10.
78. Kim Y, Iwashita S, Tamura T, Tokuyama K, Suzuki M. Effect of high-fat diet on the gene expression of pancreatic GLUT2 and glucokinase in rats. **Biochem Biophys Res Commun** 1995;208(3):1092-8.
79. Lemberger T, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor-signaling pathway in lipid physiology. **Ann Rev Cell Dev Biol** 1996;12:335-63.



- 
80. Leonard J, Peers B, Johnson T, Ferreri K, Lee S, Montminy MR. Characterization of somatostatin transactivating factor-1, a novel homeobox factor that stimulates somatostatin expression in pancreatic islet cells. **Mol Endocrinol** 1993;7(10):1275-83.
81. Ohlsson H, Karlsson K, Edlund T. IPF1, a homeodomain-containing transactivator of the insulin gene. **EMBO J** 1993;12(11):4251-9.
82. Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice. **Nature** 1994;371(6498):606-9.
83. Offield MF, Jetton TL, Labosky PA, Ray M, Stein RW, Magnuson MA, et al. PDX-1 is required for pancreatic outgrowth and differentiation of the rostral duodenum. **Development** 1996;122(3):983-95.
84. Waeber G, Thompson N, Nicod P, Bonny C. Transcriptional activation of the GLUT2 gene by the IPF-1/STF-1/IDX-1 homeobox factor. **Mol Endocrinol** 1996;10(11):1327-34.
85. Watada H, Kajimoto Y, Umayahara Y, Matsuoka T, Kaneto H, Fujitani Y, et al. The human glucokinase gene beta-cell-type promoter: an essential role of insulin promoter factor 1/PDX-1 in its activation in HIT-T15 cells. **Diabetes** 1996;45(11):1478-88.
86. Petersen HV, Serup P, Leonard J, Michelsen BK, Madsen OD. Transcriptional regulation of the human insulin gene is dependent on the homeodomain protein STF1/IPF1 acting through the CT boxes. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994;91(22):10465-9.
87. McGarry JD, Dobbins RL. Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. **Diabetologia** 1999;42:128-38.
88. Stein DT, Stevenson BE, Chester MW, Basit M, Daniels MB, Turley SD, et al. The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation. **J Clin Invest** 1997;100:398-403.
89. Picinato MC, Curi R, Fabres-Machado U, Carpinelli AR. Soybean- and olive-oils-enriched diets increase insulin secretion to glucose stimulus in isolated pancreatic rat islets. **Physiol Behav** 1998;65(2):289-94.
90. Ximenes HMA, Carpinelli AR, Curi R. Effect of short-chain fatty acid (SCFA) on insulin secretion induced by glucose. **Anais da Reunião Anual da SBBq** 1998;27:9.
91. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. **Diabetes** 1997;46:3-10.

**Endereço para correspondência:**

Angelo Rafael Carpinelli  
Av. Prof. Lineu Prestes 1524 / sala 129  
05508-900 São Paulo, SP  
e.mail: angelo@fisio.icb1.usp.br