

20

CAPÍTULO

FISIOLOGIA PANCREÁTICA: PÂNCREAS ENDÓCRINO

Renan Montenegro Jr.
Mariana Chaves
Virginia Fernandes

20.1 ANATOMIA PANCREÁTICA

O pâncreas é uma glândula retroperitoneal, lobulada, com peso entre 60 e 170g, medindo de 12 a 25cm. É dividido em três partes: cabeça (proximal), corpo e cauda (distal). A primeira encontra-se em íntimo contato com o duodeno, enquanto a última com o hilo esplênico e flexura cólica esquerda. O canal de *Winsurg* é um ducto excretório, o qual acompanha toda a extensão do pâncreas. Conecta-se ao duodeno através da ampola de Vater, onde se junta ao ducto biliar. O esfíncter de Oddi, juntamente com a ampola de Vater, regula a secreção pancreática no trato gastrointestinal.

Mais de 95% da massa pancreática corresponde a células exócrinas, agrupadas em lóbulos (ácinos). O ácinos estão conectados aos ductos pancreáticos, formando uma espécie de rede. As células acinares são responsáveis pela liberação de enzimas digestivas e outros componentes não enzimáticos (bicarbonato) no duodeno, para facilitar a digestão. As Ilhotas de Langerhans são responsáveis pela função endócrina do pâncreas. São agrupamentos de células envolvidos por tecido exócrino, altamente vascularizados e innervados, compostos por vários tipos diferentes de células, sendo as principais: α , β , δ e células PP.

O suprimento sanguíneo arterial pancreático é proveniente principalmente das artérias esplênicas (cauda e corpo) e pancreático duodenais superior e inferior (cabeça). A drenagem venosa do pâncreas se dá na veia porta hepática. Assim, o fígado se torna exposto a altas concentrações dos hormônios pancreáticos, sendo o principal órgão-alvo dos seus efeitos fisiológicos.

A inervação pancreática é proveniente dos nervos vago e esplâncnicos abdominopélvicos que atravessam o diafragma. As fibras simpáticas e parassimpáticas chegam ao pâncreas passando ao longo das artérias do plexo celíaco e do plexo mesentérico superior. As fibras simpáticas e parassimpáticas também são distribuídas para as células acinares e ilhotas pancreáticas. Essa inervação simpática é a responsável pelo quadro de dor abdominal em barra que irradia para região intercostal, característico dos quadros de pancreatite.

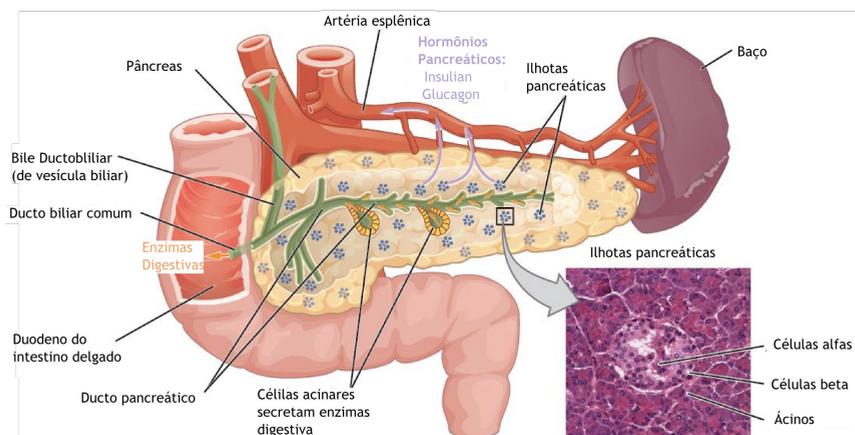


Figura 20.1 - Estrutura anatômica do pâncreas. Fonte: Traduzido de OpenStax College, 2013.

20.2 PÂNCREAS EXÓCRINO

O pâncreas exócrino corresponde à maior parte da massa pancreática, constituída basicamente por células acinares, organizadas na forma de ácinos. As células acinares sintetizam enzimas digestivas, em sua forma inativa, tais como amilases, proteases, lipases e nucleases. Posteriormente, essas enzimas são secretadas nos ductos pancreáticos e transportadas até o duodeno, onde são ativadas. As células dos ductos produzem mucina e fluidos ricos em bicarbonato, úteis na neutralização do conteúdo ácido estomacal.

20.3 PÂNCREAS ENDÓCRINO

20.3.1 ILHOTAS PANCREÁTICAS

A função endócrina do pâncreas é desempenhada por aglomerados de células, dispersas no tecido acinar pancreático, denominados Ilhotas de *Langerhans*. Foram descritas pela primeira vez em 1869, por Paul Langerhans. O pâncreas adulto normal, contém cerca de 1 milhão de ilhotas, o que constitui até 2% da massa pancreática. São distribuídas irregularmente pelo parênquima exócrino, mais densamente na região da cauda.

Existem pelo menos 6 tipos de células pancreáticas descritas: α , δ , β , células PP (ou células Y), G e ϵ .

Células α : Correspondem a cerca de 15-20% das células das ilhotas. Localizam-se na periferia, juntamente com as células δ e PP. Sintetizam e secretam glucagon, glicentina, GRPP (peptídeo pancreático relacionado com glicentina), GLP 1 e GLP 2 (peptídeo tipo glucagon 1 e 2).

Células β : São as mais numerosas, correspondendo a aproximadamente 70 – 80% das células das ilhotas pancreáticas. Localizam-se no centro da ilhota (“medula”) e são responsáveis pela síntese e pela secreção, principalmente, da insulina e peptídeo C. Em menor escala, produzem amilina, também conhecida como IAPP (polipeptídeo amilóide das ilhotas), que é um antagonista insulínico, dentre outros peptídeos.

Células δ : Representam 5-10% das células. Produzem principalmente somatostatina, um eficiente supressor da secreção de insulina, glucagon e hormônio de crescimento.

Células PP: Constituem 1% das células. Sintetizam o polipeptídeo pancreático, encontrado exclusivamente no pâncreas. Parece ser liberado durante alimen-

tação e outros estímulos vagais, mas seus efeitos metabólicos ainda não são tão bem esclarecidos.

Células G: Representam 1% das células da ilhotas. Elas produzem gastrina.

Células ϵ : São as menos numerosas, respondendo por 0,5-1%. Responsáveis pela produção de grelina.

As ilhotas pancreáticas podem receber até 15% do fluxo sanguíneo, apesar de representarem no máximo 2% da massa pancreática. A irrigação das ilhotas pancreáticas se dá de forma centrífuga, sendo as células β , localizadas no centro, as primeiras a receberem fluxo sanguíneo arterial. Posteriormente ocorre a irrigação das células mais periféricas, α e δ . Devido aos capilares fenestrados que são responsáveis por essa vascularização e possibilitam que os hormônios secretados rapidamente atinjam a circulação, essas células ficam expostas a altas concentrações de insulina, provocando uma inibição na síntese de glucagon. As ilhotas são ricamente innervadas por fibras provenientes do sistema nervoso autônomo, simpáticas e parassimpáticas, as quais desempenham um papel fundamental na modulação da secreção hormonal através de neurotransmissores e neuropeptídeos.

20.3.1.1 NEUROTRANSMISSORES PROVENIENTES DE FIBRAS PARASSIMPÁTICAS QUE MODULAM A SECREÇÃO HORMONAL DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS

Acetilcolina: Estimula liberação de insulina, glucagon e polipeptídeo pancreático. Sua ação se inicia após a ligação no receptor muscarínico da célula β , ativando a fosfolipase C, a via inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG) e, conseqüentemente, aumentando a concentração de cálcio intra-celular.

Polipeptídeo Intestinal Vasoativo (VIP): Amplamente distribuído na fibras parassimpáticas que innervam as ilhotas pancreáticas e o trato gastro-intestinal. Parece aumentar a concentração de cálcio intra-celular, porém os mecanismos são pouco conhecidos.

Polipeptídeo liberador de gastrina (GRP): é abundante nas fibras parassimpáticas do pâncreas, sendo liberado sob estimulação vagal. Estimula a secreção de insulina, glucagon, somatostatina e polipeptídeo pancreático. Assim como a acetilcolina, age via fosfolipase C, IP3, DAG, aumentando a concentração de cálcio intra-celular.

20.3.1.2 NEUROTRANSMISSORES PROVENIENTES DE FIBRAS SIMPÁTICAS QUE MODULAM A SECREÇÃO HORMONAL DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS

Noradrenalina: Inibe a secreção de insulina, diminuindo a concentração de AMPc e de cálcio intra-celular. Estimula a secreção do glucagon.

Galanina: Presente tanto nas fibras simpáticas que inervam as ilhotas, como no pâncreas exócrino. Inibe tanto a secreção basal de insulina quanto a estimulada.

Neuropeptídeo Y: Presente tanto na porção endócrina, quanto exócrina do pâncreas. Inibe a secreção de insulina basal e estimulada.

20.3.1.3 OUTROS MECANISMOS REGULADORES DA SECREÇÃO HORMONAL DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS

As células das ilhotas pancreáticas interagem entre si, permitindo regular e sincronizar a liberação hormonal. O mecanismo ainda não está totalmente esclarecido, porém existem algumas possibilidades, sendo elas:

- a) “célula-a-célula”, via comunicações juncionais, permitindo a passagem de moléculas e íons, despolarização da membrana e propagação de estímulos.
- b) O padrão de microvasculatura da ilhota pancreática. O fluxo sanguíneo arterial do centro à periferia permite melhor ação da insulina nas células α e γ .
- c) Interação parácrina, por difusão facilitada pelo interstício.

20.3.2 HORMÔNIOS PANCREÁTICOS

20.3.2.1 INSULINA

A insulina é um hormônio anabólico, sendo o principal regulador do metabolismo da glicose. Sua molécula é constituída por duas cadeias de polipeptídeos, denominadas A e B, unidas por duas pontes dissulfeto, com peso molecular de aproximadamente 5800 *daltons* (Figura 20.2). A cadeia A é formada por 21 resíduos de aminoácidos e a cadeia B, por 30. A insulina é produzida pelas células β pancreáticas e sua síntese é estimulada por nutrientes, tais como glicose, aminoácidos e lipídeos. Seus receptores estão presentes em diversos tecidos, incluindo hepático, adiposo e muscular, o que reflete a variedade de funções da insulina. Seus principais efeitos metabólicos são: aumento da captação periférica de glicose, destacando-se nos tecidos muscular e adiposo, estímulo à síntese protéica e bloqueio da proteólise, aumento da síntese de ácidos graxos livres e glicogênio e bloqueio da lipólise e produção hepática de glicose.

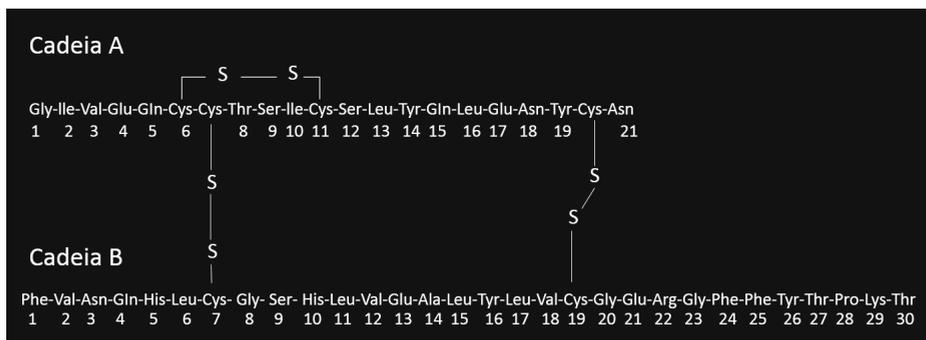


Figura 20. 2 – Estrutura molecular da insulina. Fonte: Adaptado de Sanger, 1958.

20.3.2.1.1 Síntese

A principal função da célula β é produzir, estocar e secretar insulina. Sob condições normais, a célula β está em constante reposição do estoque de insulina, de modo que, em situações agudas como sobrecarga de glicose, há disponibilidade imediata do hormônio.

A pré-pro-insulina é uma molécula de alto peso molecular, constituída por quatro domínios diferentes: peptídeo C, cadeias A e B (insulina) e um peptídeo sinalizador, sendo este último responsável pela sua rápida penetração no retículo endoplasmático (**Figura 20.3**).

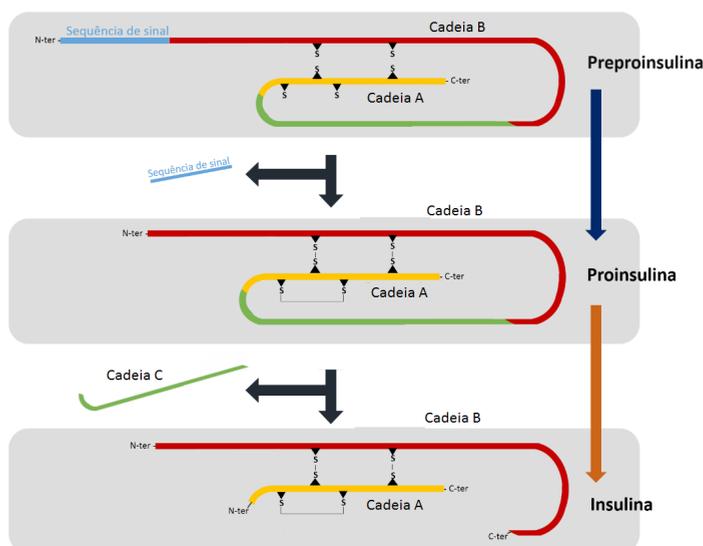


Figura 20.3 - Síntese e ativação da insulina. Fonte: Traduzido de Beta Cell Biology Consortium, 2015.

No retículo endoplasmático rugoso (RER), a pré-pró-insulina sofre clivagem de seu peptídeo sinalizador, dando origem a pró-insulina.

A pró-insulina, é formada por 2 cadeias, α -carboxiterminal e β -aminoterminar, unidas pelo peptídeo C. A principal função do peptídeo C, neste caso, é o alinhamento das pontes dissulfeto que ligam as duas cadeias, permitindo o dobramento adequado da molécula e, conseqüentemente, sua clivagem. A pró-insulina é transportada por microvesículas até o complexo de Golgi (CG), num processo ATP-dependente (Figura 20.4).

Durante o trajeto pelo CG até a formação dos grânulos de secreção, a pró-insulina é convertida em insulina através da clivagem do peptídeo C, predominantemente na junção com a cadeia β , por endopeptidases específicas (pró-convertases 2 e 3) e uma exopeptidase (carboxipeptidase H). Uma vez separados, a insulina e o peptídeo C são acondicionados em grânulos secretores. As moléculas de insulina, na presença de zinco e pH ácido, se agregam e formam exâmeros, iniciando o processo de cristalização. Sob condições normais, 95% dos hormônios secretados estão na forma de insulina e 5%, pró-insulina.

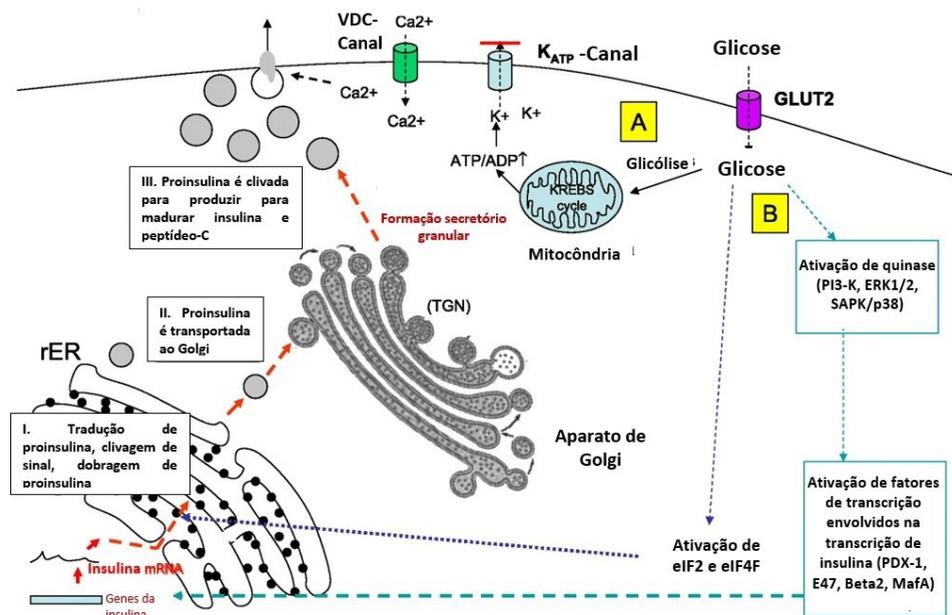


Figura 20.4 - Regulação da síntese de insulina. Fonte: Traduzido de Hartley; Brumell; Yolchuk, 2008.

20.3.2.1.1.1 Regulação da síntese de insulina na célula β

A célula β é capaz de modular a síntese e secreção de insulina de acordo com a demanda metabólica. Aumentos na concentração extra-celular de glicose, neurotransmissores, nutrientes e hormônios estimulam a síntese de pró-insulina, porém a taxa de glicose não tem efeito na sua conversão em insulina.

O limiar da concentração de glicose para estimular a síntese de insulina está entre 2 e 4 mmol/L e, para estimular sua secreção, de 4 a 6 mmol/L.

Dentre os nutrientes que podem estimular a síntese de insulina estão a ribose e alguns aminoácidos como leucina.

Hormônio de crescimento (GH), cortisol, glucagon, GPL-1, polipeptídeo inibitório gástrico (GIP), secretina, colecistoquinina, gastrina, situações como gravidez e obesidade estimulam a síntese de insulina. A somatostatina e epinefrina inibem a secreção da insulina, porém a somatostatina não tem efeito na síntese da pró-insulina.

No caso de produção excessiva de insulina pela célula β , os grânulos são degradados pelos lisossomos, através de ação proteolítica, processo conhecido como crinofagia.

20.3.2.1.2 Secreção

A insulina persiste armazenada até que algum estímulo promova sua exocitose, sendo o principal a concentração de glicose no interstício. O processo de secreção da insulina é complexo, envolvendo vários mecanismos, muitos deles ainda não muito bem esclarecidos.

Na célula β , a glicose atravessa a membrana plasmática por difusão facilitada, através de seus transportadores GLUT-1 e 2, os quais possuem baixa afinidade pela mesma (K_m entre 15-20 mM). Uma vez dentro da célula, a glicose é fosforilada em glicose-6-fosfato, via ação enzimática da glucoquinase. Essa enzima, pertencente à família das hexoquinases, possui baixa afinidade pela glicose (K_m 6-10mM), mas alta capacidade enzimática. Assim, ele regula a secreção de insulina de acordo com a concentração de glicose do meio, funcionando como um sensor de glicose da célula β . Essa enzima também está presente em abundância nas células hepáticas. Mutações no gene que codifica a glucoquinase resultam em isoformas hipotivas, levando a um tipo de diabetes monogênico conhecido como MODY-2 (*maturity-onset diabetes of the young type 2*).

A fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato leva à geração de acetil-coenzima A (Acetil CoA) e trifosfato de adenosina (ATP) no ciclo de Krebs. O aumento da relação ATP/ADP promove o fechamento dos canais de potássio (K^+) ATP-dependentes, reduzindo o efluxo de K^+ .

Os canais de potássio são compostos por dois complexos de proteínas: um receptor de sulfoniuréia (SUR1) e Kir6.2. Esses receptores são responsáveis por controlar a movimentação de cátions através da membrana, mantendo um potencial em torno de -70 mV. O acúmulo de cargas positivas dentro da célula (K^+ e Na^+) provoca a despolarização da membrana. Quando o potencial atinge em torno de -20 mV, ocorre abertura dos canais de cálcio (Ca^{2+}) voltagem-dependentes, aumento do influxo de cálcio, além da mobilização das reservas intracelulares do cátion. A elevação das concentrações intra-celulares de cálcio desencadeia exocitose dos grânulos de insulina, culminando com a sua liberação.

As sulfoniuréias, medicações utilizadas no tratamento do diabetes mellitus, e outras como diazóxido ligam-se em um sítio da subunidade SUR1 do canal de potássio ATP-sensível, fechando-o, o que culmina com a liberação de insulina. Essas drogas aumentam a secreção de insulina basal e da insulina liberada pelo estímulo oral de glicose.

As células β expressam as enzimas adenilatociclase (AC), fosfolipase C (PLC), fosfolipase A2 (PLA2) e fosfolipase D em sua membrana. Elas são ativadas por estímulos via receptores acoplados à proteína G e por aumento na concentração de Ca^{2+} intra-celular. O acúmulo de cálcio induz a formação de proteoquinases

(PK). A adenilatociclase induz a geração de AMPc, um potente estimulador da secreção de insulina, ativando assim a proteoquinase A (PKA). A fosfolipase C atua no ciclo dos fosfatidilinositóis induzindo a formação de inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG). O IP3 promove aumento do cálcio intra-celular, por meio da abertura de canais de cálcio do retículo endoplasmático. O DAG ativa a proteoquinase C (PKC) e, a partir dele, a fosfolipase A2 aumenta a formação do ácido aracdônico, culminando com a formação das prostaglandinas e leucotrienos, os quais inibem e estimulam, respectivamente, a secreção de insulina. Uma outra proteína citosólica, a calmodulina dependente de cálcio, juntamente com a PKC e a PKA, induz a fosforilação de diversos componentes, contribuindo para o processo de secreção da insulina (Figura 20.5).

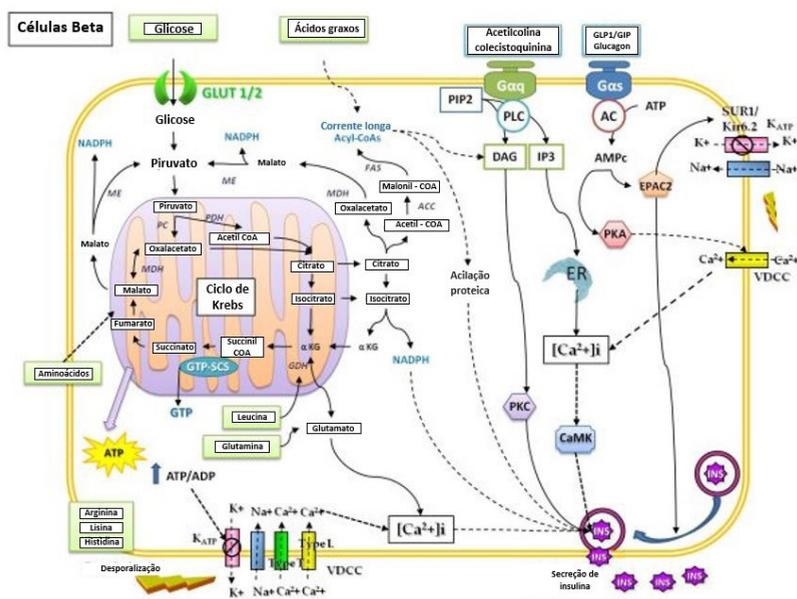


Figura 20.5 - Regulação da secreção de insulina. Traduzido de Vega-Monray; Fernandez-Mejia, 2011.

O principal regulador da secreção da insulina é a glicose, o que ocorre de maneira dose dependente, seguindo uma curva sigmoide.

A resposta secretória da insulina é maior após uma ingestão oral de glicose do que após a sua infusão intravenosa, o que é conhecido como efeito incretínico. Esse processo está relacionado a diversos hormônios gastrointestinais, como o GLP-1 e GIP (peptídeo inibidor gástrico). Esses hormônios não são secretagogos, mas aumentam a percepção da célula β à presença de hiperglicemia. Durante uma infusão intravenosa de glicose, é observado um padrão bifásico de secreção de insulina, sendo a primeira fase de caráter agudo e a se-

gunda, lento (Figura, 20.6). A primeira fase reflete o “pool” de insulina, prontamente disponível para a secreção, enquanto a segunda fase está diretamente relacionada à taxa de elevação da glicose.

Como observado anteriormente, um aumento da razão ATP / ADP causada pelo metabolismo da glicose nas células β é um dos principais mecanismos pelo qual a primeira fase de secreção de insulina é deflagrada. Contudo, existe uma série de outros fatores que podem iniciar e sustentar a segunda fase da secreção de insulina. Alguns destes estão envolvidos na sinalização mitocondrial, como NADPH, piruvato, malato, citrato, isocitrato, Acetil-CoA e glutamato.

Outros fatores que também modulam a liberação da insulina incluem aminoácidos, ácidos graxos livres (AGL), hormônios e neuropeptídeos.

Os principais aminoácidos que estimulam a secreção de insulina são a arginina, lisina e leucina, este último em menor escala. O efeito dos aminoácidos é independente dos níveis de glicose. Os AGL parecem ter efeitos mínimos na célula β . A elevação aguda dos níveis séricos de AGL induz adequadamente uma resposta compensatória na secreção de insulina, o que não é observado em exposições crônicas e no diabetes mellitus tipo 2 (DM 2).

Peptídeo gastrointestinal, opióides, glucagon, peptídeo vasoativo intestinal (VIP) e colecistocinina estimulam a liberação de insulina, enquanto a adrenalina, noradrenalina e a somatostatina, inibem a sua secreção. Outros hormônios que podem estimular a secreção de insulina por induzirem resistência insulínica são hormônio do crescimento, glucocorticóides, prolactina, lactogênio placentário e esteroides sexuais.

O sistema nervoso autônomo, com suas fibras simpáticas e parassimpáticas, inerva as ilhotas pancreáticas. A secreção de insulina é estimulada pelas fibras vagais, enquanto sua inibição se dá pelas fibras simpáticas. É ativado, por exemplo, em situações de jejum prolongado, hipoglicemia ou atividade física, onde ocorre liberação de noradrenalina, diminuição da AC e da PKA, inibindo a secreção de insulina e estimulando a liberação do glucagon. Do contrário, estímulos sensoriais em situações pré-refeições, como aroma, visão ou expectativa de alimentação, desencadeiam um reflexo condicionado e estimulação vagal. A acetilcolina é então liberada, sensibilizando a célula β , via ativação da PLC, aumento do IP3 e PKC, estimulando a secreção de insulina e prevenindo o aumento precoce dos níveis de glicose.

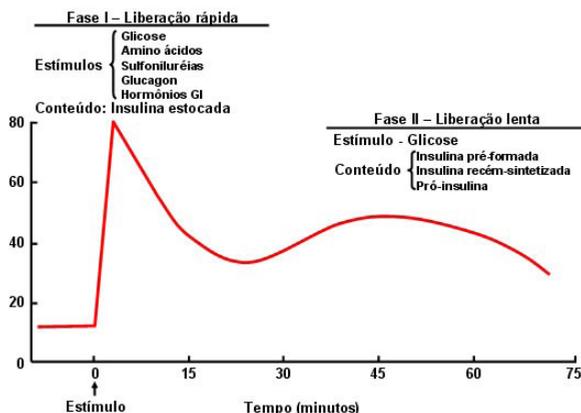


Figura 20.6 - Sinalização da insulina. Fonte: Adaptado de Nomura *et al.*, 1984.

20.6.2.1.3 Etapas da Sinalização Insulínica

O receptor de insulina é uma proteína tetramérica, composta por duas subunidades α e duas subunidades β , pertencente à família das tirosinas quinases. Está amplamente distribuído pelos tecidos e muitas vezes não está relacionado ao controle glicêmico ou lipídico, a exemplo do que ocorre nos ovários, onde está envolvido com a regulação do estrógeno e dos andrógenos. Funciona como uma enzima alostérica, na qual a subunidade α inibe a atividade tirosina quinase da subunidade β . A ligação da insulina à subunidade α promove a atividade quinase da subunidade β , levando à mudança conformacional, autofosforilação e potencializando ainda mais sua atividade.

O receptor de insulina, quando ativado, fosforila vários substratos protéicos em tirosina. No mínimo, dez substratos já foram identificados, sendo que quatro desses pertencem à família dos substratos do receptor de insulina, conhecidas como proteínas IRS (1 a 4). Outros substratos incluem Gab-1, P62^{dok}, várias isoformas da proteína Shc, Cbl, JAK2 e APS. A fosforilação em tirosina das IRS's cria sítios de reconhecimento para moléculas intracelulares que contém o domínio SH2 (domínio homólogo 2 ao Src), intermediando a sinalização insulínica. Dentre essas moléculas, destacam-se as proteínas Grb2 e Nck, sendo a mais importante a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K).

As proteínas IRS's também podem se fosforilar em serina, provocando um *feedback* negativo na sinalização da insulina, atenuando a transmissão do sinal através da diminuição da capacidade do receptor em se fosforilar em tirosina após estímulo com insulina. Essa ação inibitória na sinalização pode acarretar resistên-

cia à insulina. Várias enzimas foram implicadas no envolvimento da fosforilação da serina, como Akt, JNK cinase e PI 3-quinase. Outro fator inibitório da sinalização insulínica inclui a ação das PTPases (proteína tirosina fosfatase), responsáveis pela desfosforilação do receptor de insulina e seus substratos, destacando-se a PTP1B.

As IRS-1 e 2 estão amplamente distribuídas nos tecidos. Camundongos *Knockout* para IRS-1 apresentam resistência ao IGF-1 e à insulina, retardo no crescimento, podendo ou não apresentar intolerância à glicose. Os camundongos *Knockout* para IRS-2 apresentam falência de células β , hiperglicemia acentuada, resistência insulínica (principalmente hepática) e diabetes mellitus tipo 2. Já os animais *knockout* para IRS 3 e 4 exibem crescimento normal e metabolismo da glicose praticamente normal.

Vias de Sinalização

Existem várias vias de sinalização da insulina: a via do fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), CAP/Cble a via da *Ras* – Proteína Mitogênica Ativada-quinase (*Ras*-MAPK). A via PI3K é a mais importante, levando às ações metabólicas como transporte de glicose, glicólise, síntese de glicogênio, metabolismo de lipídeos e síntese protéica, além do crescimento celular e inibição da apoptose. A inibição da PI3K bloqueia quase todas as respostas metabólicas estimuladas pela insulina.

A PI3K é uma enzima constituída por duas subunidades, sendo uma regulatória (p85) e outra catalítica (p110). A subunidade catalítica é instável e só detectada em associação com a subunidade regulatória. Tem um papel fundamental na mitogênese e na diferenciação celular. A subunidade regulatória contém dois domínios SH2 os quais permitem sua ligação com os sítios YMXM e YXXM (Y= tirosina, M= metionina e X= qualquer aminoácido) fosforilados das proteínas IRS, ativando o domínio catalítico associado. A enzima catalisa a fosforilação dos fosfoinosítídeos na posição 3 do anel de inositol, produzindo fosfatidilinositol-3-fosfato, fosfatidilinositol-3,4-difosfato e fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3). O PIP3 recruta outras serina/treonina/cinases para a membrana plasmática, como a PDK-1 (quinase 1 fosfoinositol-dependente), e a AKT ou PKB (proteína homóloga ao oncogene viral *v-akt* do timoma murino). A AKT é ativada pela PDK-1. A AKT tem um papel importante no controle do crescimento, da proliferação, do metabolismo, da apoptose e da migração celular, pois é responsável pela fosforilação de diversas proteínas. Em resposta à insulina, a PDK-1 também pode fosforilar isoformas atípicas da PKC (ζ e λ), as quais estão envolvidas na síntese protéica e captação periférica de glicose através do transporte de GLUT4 para a superfície da membrana celular.

A via da CAP/Cbl também é necessária para que a insulina estimule o transporte de glicose. O Cbl é um proto-oncogene, o qual está associado à proteína adaptadora CAP. O complexo CAP-Cbl é fosforilado, migra para a membrana celular e interage com duas proteínas associadas, a Crk II – C3G. A C3G ativa uma nova proteína, a TC10, causando um segundo sinal para a translocação do GLUT4, paralelamente a via PI3K.

A *Ras* é uma proteína envolvida na regulação do crescimento celular e do seu metabolismo. A via da *Ras*-MAP-quinase inicia-se com a fosforilação das proteínas IRS e/ou Shc, que interagem com a proteína Grb2. A Grb2 está constitutivamente associada à SOS, a qual ativa a *Ras*. Uma vez ativada, a *Ras* estimula a fosforilação em serina da cascata da MAP-quinase (Raf -> MAP quinase MEK -> ERK 1 e ERK 2), que leva à proliferação e diferenciação celulares. Essa via não parece desempenhar um papel significativo nos efeitos metabólicos da insulina, mas sim nos efeitos proliferativos e de diferenciação da mesma. Estudos demonstram que essa via pode estar aumentada no DM 2, podendo contribuir para a aterosclerose associada à resistência insulínica.

A proteína quinase mTOR (proteína alvo da rapamicina em mamíferos) pertence a família da PI3K. Está envolvida na síntese e degradação de proteínas. A AKT estimula diretamente o crescimento celular através da ativação do complexo mTOR, que fosforila a p70 S6-quinase e IF-4E-BP1 (também conhecido como PHAS-1). A consequência é ativação da síntese ribossomal, aumentando a tradução do mRNA e síntese de proteínas.

A sinalização insulínica também controla a atividade de vários fatores de transcrição nuclear, incluindo a Foxo- 1 (isoforma 1 do fator de transcrição da família "forkhead box"). A Foxo- 1, que é inativada pela AKT após sinalização insulínica, modula a atividade de genes envolvidos no metabolismo de nutrientes, agindo juntamente com outros fatores transcripcionais como o SREBP3, membros da família de receptores PPARs e o PGC1 α (coativador dos receptores PPARs). As proteínas Foxo podem regular expressão de genes envolvidos em apoptose, ciclo celular, reparo de DNA, estresse oxidativo, longevidade e controle de crescimento. Na presença de insulina, através da via PI3K, a Akt catalisa a fosforilação da Foxo1 em Ser253, o que culmina na produção hepática de glicose (Figura 20.7).

A insulina regula o transporte, acoplamento e fusão das vesículas de GLUT₄ na membrana plasmática. Esses processos envolvem uma série de proteínas, conhecidas como SNARE *proteins* (VAMP-2 e VAMP-3). Durante a translocação até a membrana plasmática, as v-SNARE's interagem com suas respectivas t-SNARES (syntaxina 4 e SNAP23), regulando o acoplamento e fusão das vesículas contendo GLUT 4 na superfície celular. Um resumo sobre os receptores de glicose e dos efeitos da insulina encontram-se nas Tabelas 20.1 e 20.2, respectivamente.

Tabela 20.1 - Características dos principais transportadores de glicose:

TRANSPORTADOR	SÍTIOS DE EXPRESSÃO	FUNÇÃO
GLUT 1	Tecidos fetais, barreira hematoencefálica, rim, células sanguíneas	Transporte basal de glicose na maioria das células; Captação de glicose na gordura e musculatura esquelética
GLUT 2	Células β do pâncreas, fígado, intestino, rins, astrócitos de núcleos cerebrais	Confere a capacidade de "sensor de glicose" à célula na qual se expressa, regulando a captação de glicose.
GLUT 3	Principal transportador em neurônios Também presente em testículos e placenta	Junto com o GLUT1 regula a passagem da glicose pela barreira hematoencefálica
GLUT 4	Presentes no músculo estriado (esquelético e cardíaco) e adiposo (branco e marrom)	Medeia o transporte de glicose estimulado pela insulina
GLUT 5	Intestino delgado, testículos	Transportador de frutose
GLUT 7	Hepatócitos (Somente no RE)	Transporta glicose derivada da glicose-6-fosfatase

Fonte: Adaptado de Machado, 1998.

Tabela 20.2 - Efeitos fisiológicos da insulina:

	ESTIMULA	INIBE
FÍGADO	Síntese de glicogênio Síntese de TGL e lipoproteínas Síntese protéica	Glicogenólise e gliconeogênese Oxidação dos ácidos graxos e cetogênese Degradação do glicogênio
MÚSCULO	Síntese protéica Síntese de glicogênio Transporte de glicose Taxa de glicólise	Degradação do glicogênio Oxidação dos ácidos graxos e cetogênese Degradação de proteína
TECIDO ADIPOSEO	Transporte de glicose Taxa de glicólise Síntese de glicogênio Síntese protéica Aumenta o armazenamento de TGL	Lipólise

TGL = Triglicerídeos

Fonte: Adaptado de Jamerón, Groot, 2010.

20.3.2.1.4 Resistência à insulina

É uma condição na qual concentrações fisiológicas de insulina provocam uma resposta subnormal na captação de glicose pelas células, especialmente nas musculares e gordurosas. Em consequência da menor captação de glicose, torna-se necessária uma maior produção de insulina pelo pâncreas para a manutenção dos níveis glicêmicos normais. Pode ser adquirida ou genética e ocorrer em múltiplos níveis do ponto de vista molecular, desde o seu receptor ao pós-receptor (vias de sinalização insulínica). Está presente em diversas doenças como DM 2, obesidade, hipertensão, síndrome de ovários policísticos, infecções, síndromes genéticas e situações como gravidez, estresse e puberdade. A resistência à insulina também pode ser secundária ao uso de diversas medicações, particularmente glicocorticoides. As formas mais raras de resistência insulínica são devido a defeitos genéticos, enquanto as formas adquiridas podem ocorrer por vários mecanismos.

Nas situações mais comuns de resistência insulínica, os defeitos podem estar presentes em múltiplos níveis. Por exemplo, no DM 2 há diminuição na concentração do receptor de insulina, da atividade cinase do receptor e da fosforilação em tirosina dos substratos. Há também diminuição na concentração e fosforilação das IRS-1 e 2, na PI3K, na translocação do transportador de glicose GLUT 4 e na atividade de enzimas intra-celulares. A via da MAPK mantém sua atividade normalmente e é importante para regular ações proliferativas da insulina. Na vasculatura, essa via estimula o crescimento e a proliferação celular, a expressão de fatores pró-trombóticos e pró-fibróticos, como o inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1), podendo ser aterogênica.

No DM 2, há resistência à ação da insulina nos tecidos muscular, adiposo e hepático, acompanhada de sua menor secreção. No geral, esses pacientes apresentam hiperinsulinemia, porém em valores inapropriadamente baixos para o grau de hiperglicemia.

Os indivíduos obesos apresentam graus variados de resistência insulínica, caracterizando-se, principalmente, pelo aumento da secreção de insulina. Quanto maior o índice de massa corpórea, maior será o estado hiperinsulinêmico. Há evidências que nos indivíduos obesos, ocorre uma hiperplasia anormal da massa de células beta, responsável por manter níveis normais de glicemia na presença de resistência insulínica. Em muitas situações, essa hiperplasia precede as de alterações nos níveis glicêmicos, indicando que fatores que podem contribuir com a hiperplasia de células β . Da mesma forma que a lipotoxicidade culmina em resistência insulínica, a lipoatrofia ou lipodistrofia também está associada a esta condição.

No DM 2 e na obesidade, há aumento de ácidos graxos livres (AGL) na circulação, os quais desempenham um papel fundamental na resistência à insu-

lina. Os AGL inibem a captação muscular de glicose estimulada pela insulina na etapa do transportador de glicose e/ou fosforilação, podem inibir a capacidade da insulina de suprimir a secreção hepática de glicose, como também a secreção insulínica pelas células β pancreáticas. Os adipócitos centrais são mais resistentes à inibição da lipólise pela insulina, aumentando a oferta de ácidos graxos ao fígado, induzindo ao acúmulo de triglicérides e contribuindo para aumentar a resistência insulínica hepática.

Além de funcionar como estoque de energia, o tecido adiposo modula a sensibilidade insulínica através da produção de diversas citocinas ou adipocinas. As citocinas são proteínas de baixo peso molecular relacionadas com inflamação e resposta do sistema imune. Destacam-se a leptina, a adiponectina, TNF- α , IL-6, IL-1 e PAI-1.

A leptina regula o balanço energético através do controle hipotalâmico da saciedade e do gasto energético, possivelmente pela inativação da AMPK e elevação nos níveis locais de malonil—CoA, inibindo a fome. Obesidade grave tem sido relacionada à deficiência congênita de leptina ou mutações em seu receptor. A adiponectina é um peptídeo cujos níveis séricos correlacionam-se positivamente com a sensibilidade à insulina. Pode também estar envolvida na redução de ácidos graxos livres, triglicérides no músculo e fígado e no aumento da capacidade da insulina de suprimir a produção de glicose.

20.3.2.1.5 Vias inflamatórias na resistência à insulina

A obesidade está associada a um estado inflamatório crônico do tecido adiposo, o qual pode culminar em resistência insulínica, intolerância à glicose e DM 2. Os adipócitos produzem uma grande variedade de citocinas pró-inflamatórias e, juntamente com os AGL, estão envolvidas na fisiopatologia da obesidade e resistência insulínica.

Estudos mostraram que o tecido adiposo em obesos é infiltrado por macrófagos, o que o torna a maior fonte de citocinas pró-inflamatórias. Além da inflamação, a hipóxia e o estresse do retículo endoplasmático também contribuem para a resistência insulínica. A hipóxia gera um microambiente favorável à infiltração macrofágica, aumentando a circulação local de MCP-1, TNF- α , IL-6 e IL-1. Várias dessas citocinas são fatores de risco independentes para doenças arteriais coronarianas e cerebrovasculares.

Tanto o TNF- α quanto os AGL podem ativar cascatas de sinalização em tecidos sensíveis à insulina, as quais resultam na ativação de serinas quinases, especialmente JNK1 (Jun N-terminal quinase 1) e da IKK β (I Kappa B Quinase). Estudos em ratos com deficiência da JNK1 mostraram que, após alimentação com

dieta hiperlipídica, eles não apresentaram obesidade ou resistência insulínica, mas sim diminuição no tecido adiposo, melhora na sensibilidade à insulina e aumento na capacidade de sinalização do seu receptor. Assim, a JNK é um mediador chave da obesidade e resistência insulínica e um possível alvo para agentes terapêuticos. A IKK β também participa da via de transmissão de sinal do TNF- α e IL-1, importantes no desenvolvimento do processo inflamatório o que culmina com a regulação de fatores de transcrição, como o NF-kB. O NF-kB está envolvido na expressão de uma variedade de genes que regulam a resposta inflamatória. Outras moléculas implicadas na resistência insulínica promovida pelo TNF- α são as iNOS (óxido nítrico sintetase induzida) e SOCS (sinalizador do supressor de citocina), cujos genes são alvos das vias da JNK e IKK e apresentam expressão aumentada na obesidade. Atualmente, sabe-se que o stress do retículo endoplasmático, ou seja, uma sobrecarga na sua capacidade funcional, e o aumento do metabolismo de glicose, que gera um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, também estão implicados na ativação de vias inflamatórias e resistência insulínica.

Outros possíveis mecanismos envolvendo o TNF- α na resistência insulínica incluem aumento da lipólise e AGL, inibição do GLUT 4, do receptor de insulina e da síntese e fosforilação da IRS-1, além da diminuição da função do PPAR- γ (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma γ).

20.3.2.1.6 Modelos experimentais de resistência à insulina

Para se melhor compreender o papel de cada um dos elementos envolvidos na fisiopatologia da obesidade, pesquisadores utilizam-se de modelos experimentais que podem determinar de maneira controlada o papel de cada um dos componentes da resistência à insulina e obesidade (**Figura20.8**). As deleções selecionadas ou *Knock-outs* dos componentes de sinalização insulínica permitiram uma melhor compreensão da fisiopatologia e tratamento da resistência à insulina e obesidade.

O primeiro modelo de *knock-out* para o estudo da resistência à insulina foi o do *knock-out* para o próprio receptor da insulina. Os animais heterozigotos tinham apenas 50% dos receptores de insulina viáveis, enquanto que os homozigotos não possuíam este receptor. Na ausência do receptor de insulina, os animais desenvolviam cetoacidose diabética e morriam uma semana após o nascimento, enquanto que os heterozigotos eram capazes de sobreviver.

Com a intenção de mimetizar o DM 2 poligênico, foram realizadas combinações de *knock-outs* entre o receptor de insulina (IR) e IRS-1, IR e IRS-2, IR e IRS, IRS-1e IRS-2, do IRS-1 e da glicoquinase. O *knock-out* heterozigoto isolado do

IR ou IRS-1 propiciou apenas alterações leves na sinalização insulínica, enquanto que o *knock-out* heterozigoto combinado pode levar ao DM 2.

Em animais *Knock-out* para GLUT 4 em tecidos insulino-sensíveis como o músculo esquelético, verifica-se o aparecimento de resistência à insulina, intolerância à glicose e um aumento na síntese hepática de glicogênio. Há também diminuição da captação hepática e em tecido adiposo de glicose, evidenciando o papel do receptor na captação de glicose em todos os tecidos insulino-sensíveis.

Animais *knock-out* para receptor de insulina na célula β podem apresentar defeitos no sensor de glicose e deficiência relativa de insulina. Além disso, pode ocorrer perda da primeira fase da secreção da insulina, mimetizando o DM 2. O *knock-out* dos receptores de insulina nas células β do pâncreas mostrou o papel contra-regulatório da secreção de insulina mediado pela própria insulina.

Animais *knock-out* para receptores de insulina no sistema nervoso central são obesos, hiperfágicos e, conseqüentemente, podem apresentar resistência à insulina e hipertrigliceridemia, evidenciando a importância da insulina na regulação do apetite. Podem também apresentar hipogonadismo hipotalâmico e dificuldade em regular a hipoglicemia através de liberação de catecolaminas.

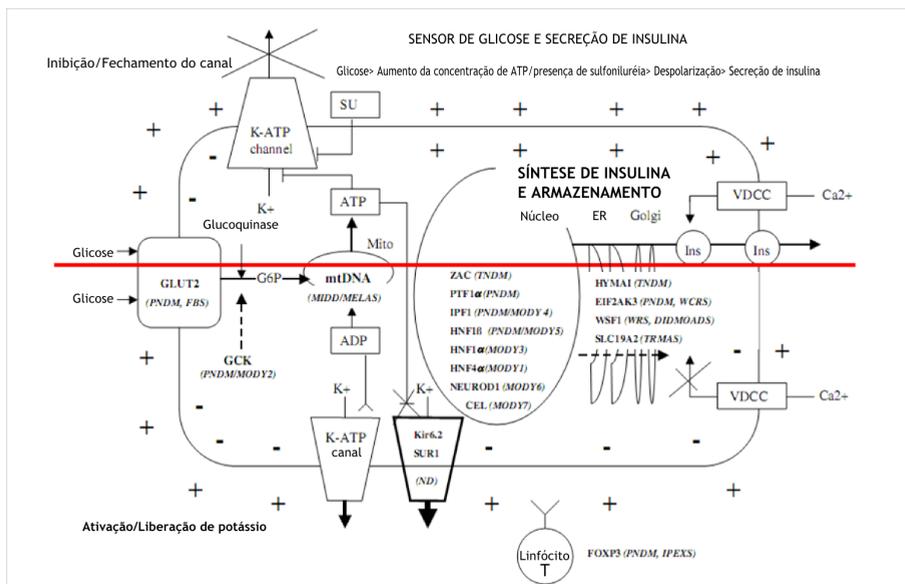
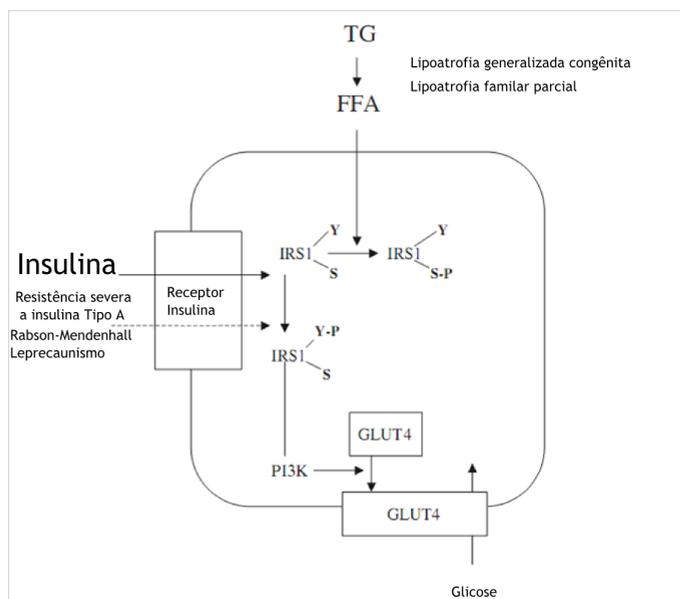


Figura 20.8 – Alterações metabólicas e resistência à insulina. Fonte: Traduzido de Lingerlan, 2006.

Como mostrado na Figura 20.8, mutações em fatores de transcrição envolvidos no desenvolvimento pancreático e na síntese de insulina, podem levar a atrofia (*PTF1 α* , *HNF1 β*) ou agenesia pancreática (*IPF1*), redução da síntese de

insulina - Diabetes Neonatal Transitório (ZAC) ou MODY (HNF1 α , HNF4 α , NEUROD1). Em genes envolvendo o empacotamento da insulina em grânulos, aparelho de Golgi ou Retículo endoplasmático, resultam em diabetes neonatal transitório (HYMAI) ou apoptose da célula β - diabetes neonatal permanente PNDM (EIF2AK3 - Síndrome Wolcott Rallison), DIDMOAD - Síndrome de Wolfram (WSF1) ou diabetes na Síndrome de Roger (anemia megaloblástica responsiva a tiamina (TRMAS)). As mutações que alteram a função dos linfócitos T também podem levar a destruição de células β e diabetes neonatal permanente devido a imunodesregulação. A redução da sensibilidade da célula β à glicose, causada por mutações, pode levar a Diabetes Neonatal Transitório (mutações GLUT 2 - parte da Síndrome Fanconi-Bickel), MODY 2 (glucoquinase). As mutações no DNA mitocondrial interferem com fosforilação oxidativa e reduzem a relação ATP/ADP.

As mutações ativadoras do canal de K ATP sensível (Kir6.2/SUR1) reduzem a sensibilidade ao ATP e favorecem o estado aberto do canal, impedindo a secreção de insulina (Figura 20.9).



Defeitos genéticos no receptor de insulina são raros, mas representam as formas mais graves de resistência à insulina. Interferem com a ligação da insulina, síntese do receptor, processamento pós-traducional e transporte do receptor à membrana. O resultado é a não fosforilação das tirosinas, e eventualmente redução da captação de glicose.

Figura 20.9 - Resistência à insulina causada por defeitos genéticos em seu receptor. Fonte: Traduzido de Lingerlan, 2006.

Esta situação ocorre na resistência insulínica tipo A, Rabson-Mendenhall e Leprechaunismo. Na presença de altos níveis de triglicerídeos e ácidos graxos, os resí-

duos de serina são fosforilados no lugar da tirosina, piorando a captação de glicose. Isto ocorre na Lipodistrofia generalizada e na lipodistrofia parcial familiar. Nestas situações, níveis mais altos de insulina são necessários para levar à captação de glicose.

20.3.2.1.7 Betatrofina

Em situações de resistência insulínica, pode ocorrer proliferação das células β pancreáticas na tentativa de compensar a necessidade de insulina e manter níveis glicêmicos normais. Esse mecanismo de expansão da massa de células β ainda não está bem esclarecido. A partir de modelos animais de resistência insulínica foi identificado um gene, o qual codifica uma proteína, expressa no fígado e tecido adiposo. Esse gene foi chamado de betatrofina.

A betatrofina está relacionado à produção e à expansão de células β e foi capaz de aumentar o tamanho da ilhota e a quantidade de insulina na célula, melhorando estados de intolerância à glicose induzidos em ratos. O mecanismo de ação desse novo hormônio ainda é desconhecido. Sua identificação abre novas possibilidades de tratamento do diabetes.

20.3.2.1.8 Peptídeo C

O peptídeo C é uma molécula derivada da pró-insulina durante o processo de síntese da insulina. Sua função primordial é o alinhamento das pontes dissulfeto que ligam as duas cadeias α e β da insulina permitindo o dobramento adequado da molécula e sua posterior clivagem. O peptídeo C é um hormônio ativo com importantes funções fisiológicas, porém durante um longo tempo foi considerado uma molécula biologicamente inativa. Após liberado, o peptídeo C é armazenado em grânulos secretórios nas células β pancreáticas e co-secretado com a insulina, em quantidades equimolares, após estímulo com glicose.

O peptídeo C se liga a membrana celular através de receptores possivelmente acoplados à proteína G, estimulando vias de sinalização intra-celular. A proteína G ativa os canais de cálcio, aumentando sua concentração intracelular, o que estimula a eNOS (óxido nítrico sintetase endotelial) e promove a desfosforilação da Na⁺/K⁺-ATPase na sua forma ativa. As atividades de ambas as enzimas estão diminuídas no diabetes tipo 1 (DM 1), especialmente nos tecidos renal e nervoso.

Estudos recentes mostraram que a infusão intravenosa de peptídeo C em pacientes com DM 1 melhora a disfunção renal, neural e vascular; diminui a filtração glomerular e a excreção urinária de albumina e melhora a circulação arteriolar na musculatura esquelética e pele. Esses efeitos não foram observados em pacientes saudáveis, cujos níveis de peptídeo C são normais. Assim, existe a possibilidade de a reposição de peptídeo C

juntamente com insulina prevenir o desenvolvimento ou retardar a progressão de complicações da doença, em longo prazo, nos pacientes com DM₁.

Os efeitos benéficos do peptídeo C são, em parte, relacionados a sua habilidade de estimular o fluxo sanguíneo e promover o recrutamento capilar em tecidos periféricos, assim como à estimulação direta da Na⁺K⁺ATPase. Os mecanismos moleculares do efeito vasodilatador do peptídeo C ainda não foram bem estabelecidos, mas parecem ter relação com o aumento da concentração intracelular de cálcio, estimulando a atividade da enzima eNOS e, assim, a secreção de óxido nítrico (ON). Estudos em ratos mostraram que o peptídeo C, juntamente com a insulina, diminui o fluxo coronariano no estágio inicial do DM 1 e otimiza a produção de ON.

O peptídeo C já mostrou ter efeitos na redução da hiperfiltração e hipertrofia glomerulares, além da diminuição da excreção urinária de albumina no DM 1. Foi observado que o peptídeo C e o captopril (inibidor da enzima conversora de angiotensina) são igualmente efetivos em diminuir a taxa de filtração glomerular, porém não foi detectado um efeito aditivo de ambos os tratamentos. Pacientes com DM 1 e neuropatia, tratados com peptídeo C por 3 meses, apresentaram uma melhora significativa na velocidade de condução nervosa sensorial e motora e aumento na sensibilidade vibratória, porém não houve diferença na sensibilidade térmica. O tratamento também preveniu a progressão da neuropatia diabética e diminuiu alterações estruturais dos nervos (desmielinização, edema paranodal, aumento da regeneração de fibras nervosas).

20.3.2.1.9 Regulação do Metabolismo dos Carboidratos, Lipídeos e Proteínas pela Insulina

20.3.2.1.9.1 Carboidratos

A concentração de glicose plasmática, em condições basais, é mantida estável pela regulação do balanço entre sua entrada na circulação e captação pelos tecidos. Esse processo é importante para a manutenção adequada do suprimento de glicose cerebral.

O fígado e a musculatura esquelética são os principais tecidos que regulam a glicose plasmática. O fígado produz glicose através da glicogenólise (quebra de glicogênio) e, juntamente com o rim, através da gliconeogênese. Os principais substratos da gliconeogênese são lactato, piruvato, glicerol e aminoácidos como alanina e glutamina.

O metabolismo dos carboidratos é regulado pela atividade do sistema nervoso central (simpático e parassimpático) e por hormônios, sendo a insulina o

principal. A insulina inibe a gliconeogênese e a glicogenólise, além de estimular a captação periférica de glicose pelos tecidos, principalmente tecido adiposo e muscular esquelético. Baixas concentrações de insulina já são suficientes para promover a inibição hepática de glicose, enquanto que altas concentrações são necessárias para estimular sua captação periférica. Em situações de estresse, como hipoglicemias, onde a mobilização de glicose imediata é necessária, são liberados hormônios contra-reguladores e o sistema nervoso autônomo é ativado. As fibras simpáticas estimulam diretamente a glicogenólise e a gliconeogênese hepáticas e inibem a produção de insulina.

Nas células musculares, a glicose é rapidamente fosforilada por uma hexoquinase e tanto pode ser estocada como glicogênio (via ativação da enzima glicogênio sintase) ou oxidada a fim de gerar ATP (via piruvato quinase).

O transporte de glicose e a síntese de glicogênio muscular iniciam-se com a desfosforilação do glicogênio sintase, através da ativação de fosfatases específicas (proteína fosfatase 1- PP1) e da inibição da PKA e GSK3 pela Akt. Todas essas etapas são estimuladas pela insulina. Após inibição da GSK3, a glicogênio sintase aumenta sua atividade. A ativação da PP1 pela insulina é um processo dependente da PI3K.

A Insulina inibe a gliconeogênese e a glicogenólise hepáticas. A inibição da gliconeogênese ocorre tanto via regulação da transcrição de genes que codificam enzimas hepáticas, quanto ao processo de fosforilação/desfosforilação descritos acima. A principal enzima envolvida nesse processo de regulação é conhecida como PEPCK (fosfoenolpiruvato carboxiquinase). A PEPCK também aumenta a transcrição de enzimas glicolíticas, como a glucoquinase e piruvato quinase, e de enzimas lipogênicas, como a ácido graxo sintase e acetil-CoA carboxilase.

A insulina também inibe o fator de transcrição Foxo A Akt, através da via PI3K, catalisa a fosforilação da Foxo1, reduzindo a produção hepática de glicose. A Foxa2, outro fator de transcrição pertencente à mesma família, também é inibido pela insulina no período pós-prandial, enquanto no jejum, sob baixos níveis de insulina, entra no núcleo e atua na regulação de genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos e corpos cetônicos.

20.3.2.1.9.2 Lipídeos

A insulina estimula a síntese de lipídeos e inibe a sua degradação. O metabolismo de lipídeos é regulado por uma família de fatores de transcrição denominada SREBP (elemento regulatório de esterol ligado à proteína). Essas proteínas estão ancoradas na membrana do retículo endoplasmático (RE) e seus domínios NH₂-terminal e COOH-terminal, estão projetados no citoplasma. Quando as

células estão depletadas de ácidos graxos, as SREBPs são transportadas do RE ao Complexo de Golgi, onde passam por uma série de clivagens por proteases específicas (S1P e S2P). O domínio NH₂-terminal é liberado, entra no núcleo e controla a expressão de genes relacionados à síntese de colesterol, ácidos graxos, fosfolípidos e triglicérides. O NADPH é um cofator necessário para todo esse processo.

No fígado, há três tipos de SREBP (SREBP-1a, SREBP-1c, SREBP-2). Após estímulo da insulina, a SREBP-1c induz a transcrição genes, envolvidos na produção de enzimas que participam da síntese de lipídeos, entre as quais a acetil-CoA carboxilase (ACC) e a ácido graxo sintetase (FAS). A ACC converte acetil-CoA em malonil-CoA e a FAS converte malonil-CoA em palmitato, sendo este um dos ácidos graxos saturados mais utilizados pelos tecidos. A insulina estimula a síntese de ácidos graxos no fígado na vigência de excesso de carboidratos. No jejum, a SREBP-1c está reduzida no fígado. Em situações de resistência insulínica, os níveis de SREBP-1c aumentam no fígado, podendo levar a esteatose hepática.

A gordura é armazenada na forma de triglicérides, sendo esse processo estimulado pela insulina. Nos adipócitos, a insulina induz a produção de lipase lipoproteica, a qual promove a hidrólise de triglicérides das lipoproteínas circulantes (VLDL e quilomícrons), levando à formação de ácidos graxos livres para os adipócitos. Em condições de hiperglicemia, ocorre estímulo à esterificação de ácidos graxos livres em triglicérides. A insulina inibe a lipólise intra-celular dos triglicérides inibindo a enzima lipase hormônio-sensível (lipase intra-celular). Essa enzima é ativada pela PKA, a qual também é inibida pela insulina. Esse processo ocorre em virtude da diminuição dos níveis de AMPc nos adipócitos, via ativação da fosfodiesterase AMPc-específica (PDE3B). A lipase hormônio-sensível degrada as triglicérides, liberando ácidos graxos livres na circulação. Em suma, a insulina diminui o fluxo de ácidos graxos livres ao fígado, diminuindo a cetogênese e a gliconeogênese.

Os hormônios que aumentam a lipólise nos adipócitos incluem catecolaminas, hormônio de crescimento, glicocorticoides, tiroxina.

20.3.2.1.9.3 Proteínas

A insulina é um hormônio anabólico, podendo influenciar a síntese proteica de várias formas, incluindo efeitos no gene responsável pela transcrição (RNAm), na estabilidade do RNAm, estímulo à síntese proteica ribossomal, tradução de proteínas, além de inibir a proteólise. A síntese proteica muscular, em resposta à alimentação, requer um aumento na concentração tanto de aminoácidos quanto de insulina. Diariamente, um adulto de 70kg produz e degrada aproximadamente 280g de proteínas. Situações catabólicas como fome ou deficiência de insulina,

aumentam a degradação de proteínas, principalmente do músculo esquelético, por ser um reservatório importante de aminoácidos. O aumento de aminoácidos circulantes tem como consequência o fornecimento de substratos para nova síntese proteica ou gliconeogênese no fígado.

20.3.2.2 PRÓ-GLUCAGON / GLUCAGON

O pró-glucagon é um precursor de vários peptídeos, incluindo o glucagon, glicentina e os hormônios *glucagon-like* (GLP-1 e 2). É produzido nas células α , células L do intestino delgado, no cólon, hipotálamo e nos núcleos do trato solitário cerebral. Os GLP-1 e 2 estão localizados na porção C-terminal inativa, constituindo a maior parte da molécula.

O glucagon humano é um hormônio polipeptídico, composto por 29 aminoácidos, dispostos em uma cadeia única, com peso aproximado de 3500 daltons. É produzido pelas células α das ilhotas de Langerhans. O principal papel fisiológico do glucagon é estimular a produção de metabólitos energéticos pelo fígado, além de aumentar a concentração de glicose e corpos cetônicos no sangue.

20.3.2.2.1 Síntese e secreção

O padrão de clivagem proteolítica do pró-glucagon difere entre as células α , cerebrais e células L intestinais. Nas células α , o pró-glucagon recebe a ação de uma enzima proteolítica específica, a convertase pró-hormonal 2 (PC2), cujo sítio de clivagem permite que o glucagon seja o único hormônio biologicamente ativo, deixando para trás sua porção biologicamente inativa. Do contrário, nas células L e cerebrais, o pró-glucagon é clivado por meio de um grupo diferente de enzimas, as convertases pró-hormonais 1 e 3 (PC1/PC3), gerando principalmente GLP-1 e GLP-2. Assim, um único precursor é capaz de gerar o hormônio responsável por aumentar os níveis de glicose (glucagon) e um hormônio incretínico capaz de estimular a célula β (GLP-1).

A secreção do glucagon é regulada por neuropeptídeos, hormônios (pancreáticos e gastrointestinais), aminoácidos e sistema nervoso autônomo. Assim como a insulina, o principal estímulo da regulação da secreção do glucagon é o nível plasmático de glicose.

Insulina e glucagon são antagonistas fisiológicos e a regulação desses hormônios se dá de uma maneira recíproca. Durante o período de alimentação, há aumento da secreção de insulina, a qual remove a glicose sérica, estimulando sua captação periférica (muscular, hepática, gordurosa) e há diminuição dos níveis séricos de glucagon. No jejum, os níveis séricos de glicose são mantidos principal-

mente pela produção hepática, em parte pelo aumento da secreção de glucagon e inibição da secreção de insulina pelas células β . Esse balanço hormonal, mantém os níveis de glicose de 60-120mg/dl, respectivamente no jejum e durante alimentação. Uma refeição rica em carboidratos, especialmente a glicose, suprime a liberação do glucagon via produção do GLP-1 e estimula a liberação de insulina pelas células β . A Tabela 20.3, abaixo, lista os efeitos da secreção de glucagon sobre alguns processos fisiológicos.

Tabela 20.3 - Efeitos fisiológicos da secreção de glucagon:

	ESTIMULA	INIBE
SECREÇÃO DE GLUCAGON	Aminoácidos	Glicose
	Gastrina	Somatostatina
	Cortisol	Secretina
	Hormônio do crescimento	Ácidos Graxos Livres
	Catecolaminas	Insulina
	Acetilcolina	GABA
	Estresse / Hipoglicemia	GLP-1
	GIP /Colecistocinina/Jejum	Gravidez

Fonte: Adaptado de Burcelin; Katz; Charron, 1996.

Em pessoas normais, tanto os níveis séricos de glucagon quanto de catecolaminas estão aumentados durante exercícios físicos, principalmente quando prolongados. O aumento do glucagon, neste caso, parece ter relação com o grau e duração do exercício.

A secreção do glucagon pela célula α está aumentada em situações de estresse, que podem ou não ser induzidas por hormônios, tais como cortisol, vasopressina, β -endorfinas, catecolaminas. Nas células L intestinais, a epinefrina estimula a secreção do glucagon via aumento do influxo de cálcio, processo dependente da proteína quinase A (PKA), levando à exocitose. Aminoácidos como a glutamina, alanina, piruvato e arginina estimulam tanto a secreção de insulina quanto a de glucagon.

A glicose estimula a secreção de GABA pelas células β , além de reduzir a atividade elétrica e exocitose, por desativar canais iônicos da membrana, como os canais de cálcio, induzindo a despolarização da membrana. Esse processo também constitui um mecanismo de supressão do glucagon. As células α expressam receptores de insulina e são dispostas na periferia da ilhota pancreática, em volta das células β . Essa disposição anatômica, juntamente com a direção centrífuga do

fluxo sanguíneo, pode favorecer a ação da insulina em inibir a secreção do glucagon, porém os mecanismos ainda não estão bem esclarecidos.

Os receptores de glucagon são pertencentes a uma família de receptores acoplados à proteína G. Esta família também inclui os receptores de GLP-1 e 2, GIP, PTH, calcitonina e VIP. Estão em diversos tecidos, incluindo hepático, adiposo, cardíaco, sistema nervoso central e células β . O glucagon se liga ao seu receptor, o qual é alvo de mudanças conformacionais, permitindo a dissociação das subunidades e ativação da das proteínas Gs e Gq. A ativação da Gq leva a ativação da fosfolipase C, produção de PIP3 e posterior liberação de cálcio intracelular. A ativação da Gs promove ativação da adenilato ciclase, aumento de AMPc intracelular e ativação da PKA.

A PKA dá sequência a uma série de fosforilações de enzimas-chave relacionadas à glicogenólise, glicólise e gliconeogênese, as quais incluem piruvato carboxilase, fosfoenolpiruvato e frutose 1,6 bifosfato. Este processo está ilustrado na Figura 20.10.

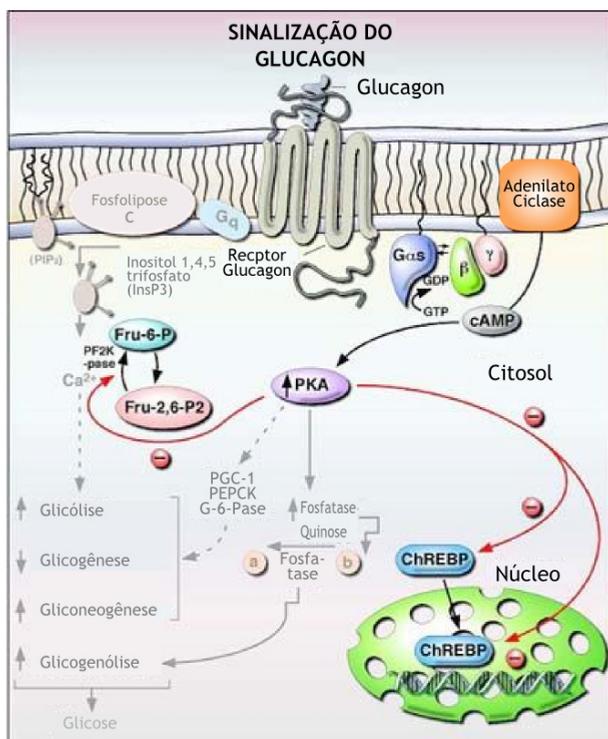


Figura 10 – Sinalização celular, após ligação do glucagon ao seu receptor e conseqüente ativação. Fonte: Traduzida e adaptada de Guoqiang Jiang; Bei B. Zhang, 2002.

O glucagon também modula a expressão de genes que codificam essas enzimas e regula o metabolismo dos ácidos graxos via redução do malonil-CoA e estímulo a oxidação dos ácidos graxos. O fator transcripcional dependente de AMPc é um mediador das ações do glucagon. Um de seus mecanismos de ação é por meio de supressão da atividade agonista do PPAR- γ , o que estimula a gliconeogênese hepática. O PPAR- γ é alvo de terapia no tratamento de pacientes com DM2, sendo as tiazolidinedionas drogas ativadoras do receptor.

Glucagon tem meia vida curta, aproximadamente cinco a seis minutos após sua liberação na corrente sanguínea. Cerca de 50% do glucagon são removidos da circulação pelo fígado e rins, e o restante é alvo de ação de enzimas circulantes, incluindo DPP4 (dipeptidil petidase-4).

20.3.2.2.2 Efeitos fisiológicos do glucagon

Os principais tecidos-alvo do glucagon são o fígado e o tecido adiposo. Nos períodos de jejum, o glucagon estimula a glicogenólise, cetogênese e a gliconeogênese pelo fígado, lipólise no tecido adiposo, glicogenólise no músculo e diminui a glicólise, fundamentais para suprir as necessidades cerebrais. A ação do glucagon no fígado é responsável por cerca de 75% da produção de glicose no jejum.

No tecido adiposo, a importância do glucagon se dá em períodos de privação de alimento ou supressão da insulina. No adipócito, o glucagon estimula a fosforilação da lipase hormônio-sensível, mediada pela PKA, enzima responsável pela degradação das triglicérides em diacilglicerol (DAG) e ácidos graxos livres (AGL) na circulação. A DAG pode ter reesterificação hepática em triglicérides ou servir de substrato para a gliconeogênese hepática. Os AGL também podem ser reesterificados no fígado ou receber β -oxidação e serem metabolizados em corpos cetônicos, servindo como fonte de energia adicional.

Durante atividade física intensa, há necessidade de maior quantidade circulante de glicose e ácidos graxos livres. O músculo esquelético necessita de uma quantidade maior de energia, porém as reservas de glicogênio e lipídeos são suficientes para um curto período. As catecolaminas desempenham um papel importante no exercício, pois estimulam a secreção do glucagon e a diminuição na insulina, aumentando assim a glicogenólise, gliconeogênese e lipólise, fornecendo glicose e ácidos graxos livres para serem utilizados como fonte de energia.

No tecido vascular periférico, o glucagon funciona como um vasodilatador, devido a efeitos tônicos locais, aumenta o débito cardíaco e a frequência cardíaca.

Em resumo, a sinalização hepática do glucagon estimula a quebra do glicogênio armazenado, mantém o débito hepático de glicose por meio da gliconeogênese e cetogênese, utilizando como precursores aminoácidos e ácidos graxos, respectivamente.

20.3.2.3 SOMATOSTATINA

A somatostatina é um hormônio sintetizado pelas células δ das ilhotas pancreáticas, formado por uma sequência de 14 aminoácidos, em cadeia única. O gene que codifica o seu hormônio precursor, a pró-somatostatina, está transcrito em órgãos, como pâncreas, sistema nervoso central e musculatura lisa intestinal; assim como o pró-glucagon, pode gerar duas moléculas de somatostatina, biologicamente ativas: SS-14 e SS-28. O pâncreas e o sistema nervoso central secretam exclusivamente a SS-14, mais potente em inibir o glucagon e a insulina, enquanto o intestino, a SS-28, mais potente em inibir o hormônio de crescimento. A somatostatina inibe praticamente todas as funções gastrointestinais e pancreáticas. O efeito inibitório na secreção de insulina é associado à diminuição do AMPc, hiperpolarização da membrana e diminuição da concentração intracelular de cálcio.

A liberação da somatostatina é estimulada pelas refeições ricas em gorduras, carboidratos e proteínas.

20.3.2.4 INCRETINAS

As incretinas são hormônios derivados das células intestinais, membros da família do glucagon, secretados em resposta a nutrientes, principalmente glicose e gordura. Estimulam a secreção pancreática de insulina, de maneira dependente da alimentação. Essa resposta insulínica, chamada de efeito incretínico, é responsável por cerca de 50% da secreção total de insulina liberada após ingestão de glicose.

O conceito de efeito incretínico surgiu da comparação entre os níveis de insulina sérica após infusão intravenosa e ingesta via oral de glicose, em modelo experimental. Foi comparada a resposta insulínica frente administração venosa versus oral, concluindo ser maior a resposta quando da administração via oral. Esses resultados sugerem que algum fator hormonal, liberado pelo intestino, estimularia a secreção de insulina somente em resposta à ingestão de glicose e estaria envolvido na transmissão de sinais entre o intestino e as células β .

Atualmente, sabe-se que os principais hormônios incretínicos são o GIP e o GLP-1, o primeiro a ser descrito foi o GIP, um hormônio formado por 42 ami-

noácidos, produzido pelas células k intestinais, as quais estão distribuídas pelo estômago, duodeno e jejuno.

O GLP-1 é um hormônio incretínico, produzido por clivagem pós-traducional da molécula de pró-glucagon. Na célula α , sob a ação da convertase pró-hormonal 2 (PC2), o pró-glucagon libera o glucagon e nas células L intestinais, através das convertases pró-hormonais 1 e 3, libera o GLP-1 e 2, entre outros peptídeos. O GLP-1 possui cerca de 50% de homologia com a molécula de glucagon. O GLP-2 não é considerado uma incretina, pois não possui efeito insulínico. Tanto o GLP-1 quanto o GLP-2 são produzidos pelas células L intestinais, localizadas no jejuno distal, íleo, cólon e reto.

Os níveis séricos das incretinas caem rapidamente em virtude da inativação pela enzima DPP4, cujo sítio de ação é a alanina na posição 2. O GLP-1 apresenta meia-vida em torno de dois a três minutos, enquanto o GIP de cinco a sete minutos. Tanto a inibição da DPP4 quanto análogos do GLP-1 ou agonistas do receptor de GLP-1 são estratégias usadas como terapia em pacientes com intolerância à glicose ou DM 2.

A regulação da secreção dos hormônios incretínicos inclui fatores hormonais, nutricionais e neurais. O principal estímulo para a secreção de GLP-1 são refeições ricas em carboidratos e gorduras, porém aminoácidos e fibras também podem provocar sua liberação. Alguns estudos realizados em humanos mostraram que a proteína, quando ingerida isoladamente, não contribui significativamente para o efeito incretínico, ao contrário da gordura, que tem efeito importante na secreção de insulina e aumento nas concentrações plasmáticas de incretinas.

Os níveis séricos de GLP-1 seguem um padrão bifásico de secreção após alimentação, com um pico precoce cerca de cinco a quinze minutos e um tardio de trinta a sessenta minutos. O curto tempo da fase secretória precoce levou à especulação do envolvimento de vias neurais e hormonais responsáveis pela transmissão de sinais, uma vez que esse tempo é insuficiente para a chegada do alimento ao intestino. A secreção tardia ocorre pelo contato direto do nutriente com as células intestinais.

O sistema nervoso vagal é um importante mediador da secreção de GLP-1 induzida por nutrientes. Estudos em ratos mostraram que a vagotomia bilateral inibiu a secreção de GLP-1 após ingestão de gordura, enquanto a estimulação direta aumentou a secreção de GLP-1. A **Figura 20.11** mostra os mecanismos intracelulares que levam a secreção de GLP-1 pelas células intestinais.

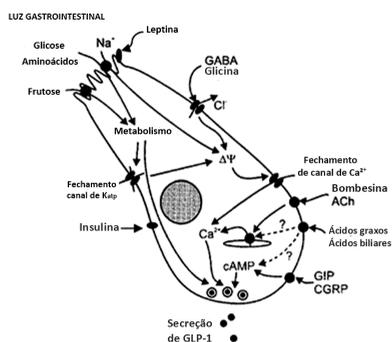


Figura 20.11 – Secreção de GLP-1 pelas células intestinais em resposta a presença de nutrientes no lúmen intestinal. Fonte: Traduzida de Reimann; Ward; Gribble, 2006.

Receptores do GLP-1 foram identificados em diversos órgãos, incluindo cérebro, coração, estômago, intestino, pâncreas (células α , β e δ) e rins. São receptores acoplados à proteína G e pertencem à mesma família do glucagon. Alguns receptores específicos são necessários a sua secreção, incluindo o GPR119, GPR120 e GPR40. No intestino, os ácidos graxos provenientes da dieta interagem com esses receptores, estimulando a secreção de GLP-1.

O mecanismo de ação do GLP-1 inicia-se com sua ligação ao seu receptor. Na célula β , a ativação do receptor dispara vias de sinalização que podem mediar respostas agudas, como potencializar a secreção insulínica, ou respostas em longo prazo, incluindo transcrição gênica e replicação celular. O GLP-1 estimula a produção de AMPc via ativação da adenilato ciclase e subsequente ativação da PKA e Epac, o que leva ao bloqueio dos canais de potássio, despolarização da membrana, aumento do influxo de cálcio e exocitose das vesículas secretoras de insulina. O GLP-1 também modula a produção de insulina, transcrição do seu gene e o crescimento de células β por vias dependentes ou independentes da PKA, sendo o PDX-1, um fator de transcrição da insulina, essencial para essa via de sinalização. O GLP-1 pode estimular a proliferação de células β através de várias vias, incluindo a via PI3K/PKB, a qual promove a translocação nuclear do PDX-1, a via PI3K/PKC δ e a via CREB/IRS-2. A ativação da via da MAPK pode levar à diferenciação de células progenitoras em células β pancreáticas e diminuir a lipogênese hepática. O GLP-1 também induz efeitos anti-apoptóticos e protege a célula β contra a glico e lipotoxicidade, ambos mediados pela via PI3K/PKB (Figura 20.12).

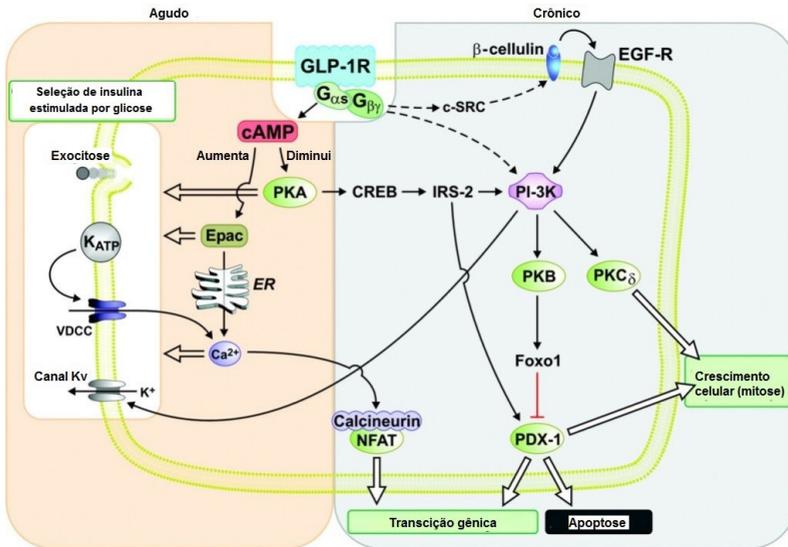


Figura 20.12 – Efeitos da ativação do receptor de GLP₁ nas células β pancreáticas. Fonte: Adaptada de Salehi; Aulinger; D’Alessio, 2008.

O GLP-1 expressa uma diversidade de ações fisiológicas, refletindo a variedade de tecidos onde seu receptor se mostra. Os análogos do GLP-1 e o agonista do seu receptor, utilizados no tratamento do DM 2, também possuem ações semelhantes.

20.3.2.4.1 Células α e β pancreáticas

O GLP-1 e o agonista do seu receptor estimulam a diferenciação de células precursoras das ilhotas em células produtoras de insulina. Além de promover a proliferação da célula β, também mostraram ter um papel protetor contra a apoptose de células β induzida por citocinas inflamatórias (aumenta a expressão do Bcl-2, antiapoptótico e diminui a expressão do bax, pró-apoptótico). Esse efeito proliferativo é limitado pelo próprio GLP-1, induzindo mecanismos regulatórios de sinalização intracelular, o que inibe a expansão celular inapropriada. A preservação da massa de células β pode ser resultado de uma ação direta na própria célula, por via da modulação da proliferação, neogênese e apoptose e/ou de uma ação indireta, reduzindo os níveis de glicose e ácidos graxos livres, evitando a glico e lipotoxicidade. O GLP-1 estimula a expressão do transportador de glicose GLUT 2 e da enzima glucoquinase, aumentando a sensibilidade da célula à glicose, o que potencializa a secreção insulínica.

O GLP-1 aumenta a biossíntese de pró-insulina e estimula a secreção de insulina e somatostatina, de forma dependente da glicose. Em pacientes com DM 2, o efeito incretínico é menor em razão dos níveis diminuídos de GLP-1 no estado pós-prandial, diminuindo o estímulo fisiológico à secreção de insulina e à supressão do glucagon. Ao contrário do GLP-1, as sulfoniuréias aumentam tanto a secreção de insulina basal quanto estimulada pela refeição.

O GLP-1 também modula a função das células α , pela inibição da secreção do glucagon, de forma dependente da glicose. Mesmo sob altas concentrações de GLP-1, os mecanismos contrarregulatórios estão preservados, no caso de baixos níveis séricos de glicose, inclusive a secreção de glucagon.

20.3.2.4.2 Trato gastro-intestinal

O GIP e o GLP-1 diminuem a motilidade intestinal e o esvaziamento gástrico, além de exercerem efeito inibitório na secreção ácida gástrica estimulada pela refeição, tendo como consequência a saciedade.

20.3.2.4.3 Sistema nervoso central e periférico

O GLP-1 e o agonista do seu receptor regulam o controle do apetite, aumentando a saciedade, o que diminui a ingesta calórica e promove perda de peso. Agem nos receptores cerebrais, principalmente localizados no núcleo hipotalâmico, inibindo a expressão de fatores orexígenos. Portanto, o GLP-1 pode ser considerado um hormônio anorexígeno, assim como a leptina, produzida pelo tecido adiposo.

20.3.2.4.4 Sistema cardio-vascular

Os estudos dos efeitos cardiovasculares do GLP-1 são principalmente em animais. Há indícios de que o agonista do receptor de GLP-1 reduz o tamanho da área de infarto miocárdico, captação de glicose, melhora a resistência vascular periférica e a função ventricular esquerda. O GLP-1 melhora a função endotelial, atenua lesões ateroscleróticas, reduz albuminúria e lesão glomerular, além de aumentar a excreção de sódio, o que pode conferir efeito anti-hipertensivo e renoprotetor. A **Figura 20.13** resume os efeitos sistêmicos do GLP-1.

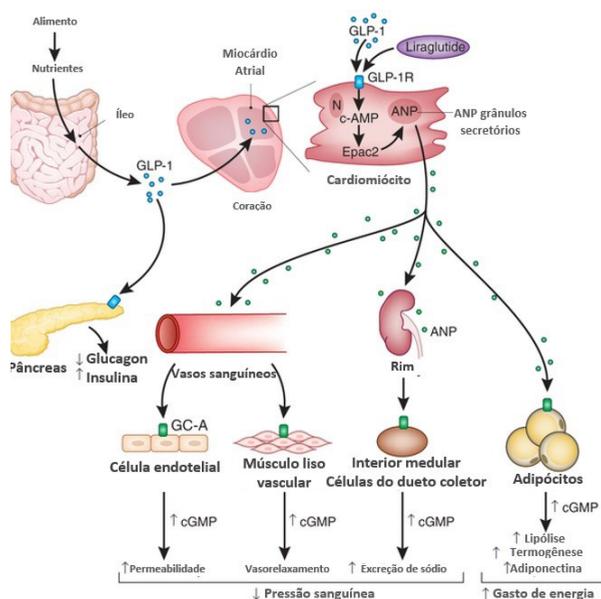


Figura 20.13 – Efeitos do GLP-1 em diversos sistemas. Fonte: Traduzida de Buglioni; Burnett Jr, 2013.

20.3.2.4.5 Metabolismo lipídico

O GLP-1 e o agonista do seu receptor melhoram o perfil lipídico em jejum e pós-prandial (triglicérides e ácidos graxos livres), possivelmente pela lentificação do esvaziamento gástrico e pela inibição da lipólise mediada pela insulina.

20.3.2.4.6 Músculo, fígado e tecido adiposo

O GLP-1 e o agonista do seu receptor diminuem a liberação hepática de glicose, melhoram a sensibilidade hepática à insulina, estimulam a glicogênese e a captação de glicose nos tecidos muscular e adiposo. No tecido adiposo em humanos, o GLP-1 pode apresentar efeitos lipolíticos ou lipogênicos, dependendo da sua concentração. Quando em baixos níveis, exerce efeito lipogênico e, em altos níveis, efeito lipolítico. Agonistas do receptor de GLP-1 aumentam a sensibilidade à insulina e foram capazes de reverter a esteatose hepática em ratos ob/ob.

20.3.2.4.7 Metabolismo ósseo

O GIP induz à formação óssea enquanto o GLP-1 a inibe. A Tabela 20.4 mostra os efeitos da secreção de GLP-1 em outros processos endócrinos.

Tabela 20.4 - Efeito da secreção de GLP_1 :

SECREÇÃO DE GLP_1	ESTIMULA	INIBE
	Carboidratos, gordura, aminoácidos, fibras Peptídeo liberador de gastrina GIP Acetilcolina Leptina Insulina	Somatostatina

Fonte: Adaptado de Drucker, 2001.

20.3.2.5 POLIPEPTÍDEO PANCREÁTICO (PP)

É um polipeptídeo formado por 36 resíduos de aminoácidos, produzido pelas células *Y* das ilhotas pancreáticas. Tem como efeitos regular funções gastrointestinais como contração e esvaziamento da vesícula biliar, inibir secreção pancreática exócrina, modular o esvaziamento e secreção de ácidos gástricos e diminuir a motilidade gastrointestinal. Pode elevar-se em diversas condições, incluindo etilismo, insuficiência renal crônica, hipoglicemia, insulnomas, gastrinomas e estados inflamatórios.

20.3.2.6 GRELINA

A forma ativa da grelina é um peptídeo constituído por 28 aminoácidos, produzido por células endócrinas na mucosa gástrica e pelas células ϵ das ilhotas pancreáticas. Seu precursor, a pré-pró-grelina, é codificada pelo gene GRELINA. Porém, alguns tecidos já foram implicados na produção do hormônio, incluindo hipofisário, hipotalâmico, cardíaco e renal. A grelina estimula a secreção do hormônio do crescimento tanto pela produção do GHRH hipotalâmico, quanto pelos seus receptores nos somatotrofos hipofisários. Além disso induz o aumento do apetite, secreção ácida gástrica, aumenta o esvaziamento gástrico e ajuda a regular o balanço energético. A grelina está relacionada com o aumento da glicemia plasmática, tanto pelo aumento da secreção de GH quanto pela redução dos níveis de insulina.

20.4 HOMEOSTASE ENERGÉTICA NO JEJUM E NA ALIMENTAÇÃO

O ser humano está em constante necessidade de energia para garantir as funções vitais do organismo. Para isso, é capaz de estocar nutrientes provenientes de uma refeição e mobilizá-los durante períodos de jejum. Os principais substratos energéticos são os carboidratos (glicose), lipídeos e as proteínas. A glicose é a principal fonte de energia para a maioria dos tecidos, sendo estocada na forma de glicogênio. O glicogênio é um polissacarídeo de alto peso molecular, formado por várias unidades de glicose ligadas linearmente por ligações α -1,4 e α -1,6 nas ramificações que ocorrem a cada 8-12 resíduos.

As principais reservas de glicogênio encontram-se no fígado, o qual estoca glicose para consumo extra-hepático, e o músculo, para consumo próprio, uma vez que não possui a enzima glicose 6 fosfatase. O fígado contém estoque de glicogênio que está prontamente disponível para suprir a demanda energética.

A musculatura esquelética representa cerca de 40% da massa corporal e é o principal reservatório de proteínas, que podem ser degradadas, liberando aminoácidos. Um homem normal de 70 kg pode fornecer em torno de 25.000 kcal, proveniente de proteínas, porém a proteólise em excesso pode levar à disfunção celular e morte. Dessa forma, o organismo desenvolveu mecanismos para minimizar a proteólise durante o jejum, preservando a função e sobrevivência das células. O tecido adiposo, fígado e lipoproteínas circulantes são locais de estoque para os lipídeos. Os ácidos graxos livres provenientes da dieta são estocados na forma de triglicérides, os quais constituem a forma mais eficaz de geração de energia. Cada grama (g) de triglicérides fornece cerca de 9,5 Kcal, enquanto o glicogênio contém 4 Kcal/g.

Em todos esses processos, a insulina desempenha um papel chave na manutenção da homeostase energética, regulando o fornecimento de substratos energéticos, auxiliada pela ação contrarregulatória do glucagon.

20.4.1 METABOLISMO HEPÁTICO E MUSCULAR DA GLICOSE

Em indivíduos normais, a concentração de glicose plasmática no jejum gira em torno de 65 a 100 mg/dL (3.6 a 5.6 mmol/L) e, após uma refeição, não deve exceder 160-180mg/dl (8.9 a 10 mmol/L). O cérebro utiliza em torno de 50 a 60% da glicose corporal, os órgãos esplâncnicos 20 a 25%, enquanto a musculatura é responsável pelos 20 a 25% restantes. A estabilidade nos valores de glicose é um equilíbrio constante entre a taxa que entra na circulação e a captação periférica nos tecidos. O fígado e o tecido muscular esquelético são os principais tecidos que

regulam o metabolismo da glicose. A glicose plasmática circulante também entra em equilíbrio com a glicose dos glóbulos vermelhos do sangue, por um processo de difusão facilitada, independente da insulina.

20.4.1.1 JEJUM

A secreção hepática de glicose está em torno de 1,8 a 2,2mg/min/kg de peso corporal, após jejum noturno. Nas primeiras 12-24h de jejum, a maior parte da glicose será fornecida a partir dos estoques de glicogênio, via glicogenólise. À medida que o estoque vai sendo depletado, a maior parte da glicose será proveniente da gliconeogênese e irá suprir, principalmente, a demanda metabólica do sistema nervoso central.

Nos primeiros estágios da fome ocorre primeiramente um declínio nos níveis de insulina e um aumento modesto nos níveis de glucagon, onde terá um efeito na gliconeogênese e glicogenólise hepáticas. À medida que o jejum se prolonga, o músculo e o tecido adiposo irão fornecer substratos necessários à gliconeogênese e à cetogênese. A diminuição dos níveis de insulina provoca proteólise e lipólise, fornecendo aminoácidos do músculo e glicerol do tecido adiposo ao fígado. A noradrenalina também estimula a lipólise. A hipoinsulinemia induz a ativação da gliconeogênese, assim como contribui para a redução do metabolismo da glicose por tecidos extra-hepáticos, como o músculo. No fígado e no músculo esquelético, a quebra do glicogênio é regulada pela insulina e por hormônios contrarreguladores, incluindo glucagon, epinefrina, hormônio de crescimento e cortisol. Esses hormônios estimulam a glicogenólise e a gliconeogênese, compensando a ação hepática da insulina.

20.4.1.1.1 Gliconeogênese

A gliconeogênese é responsável por aproximadamente 35-60% do fornecimento de glicose hepática, após um período aproximado de 12h de jejum e por 97% após 60h. Durante a fase precoce do jejum, os principais substratos da gliconeogênese são o lactato (50-60%) e a alanina. O músculo esquelético é a maior fonte de aminoácidos, sendo os principais a alanina e a glutamina. A alanina liberada do músculo é transportada pelo sangue até o fígado, onde é convertida em glicose. A hipoinsulinemia no jejum é o maior estímulo à proteólise. Os rins utilizam a glutamina como substrato principal para a gliconeogênese. Em homens normais, após jejum noturno, os rins podem contribuir em até 10% do total da produção corporal de glicose, chegando até 25% em jejuns prolongados. Outro substrato é o glicerol, derivado da hidrólise dos triglicérides do tecido adiposo. No

jejum, a diminuição nos níveis de insulina induz a lipólise, aumentando os níveis de glicerol e ácidos graxos livres (AGL). No fígado, os AGL, combinados com a diminuição da relação insulina/glucagon, estimula a β -oxidação, acúmulo de acetil-CoA, o qual modula o fornecimento de piruvato à gliconeogênese.

A gliconeogênese hepática se inicia com o piruvato, o qual pode ser originado do lactato, por meio da enzima lactato desidrogenase, aminoácidos etc. Duas moléculas de piruvato, através de uma série de reações, dão origem a uma molécula de glicose-6-fosfato. A gliconeogênese compartilha uma série de enzimas com a glicólise. A direção do fluxo é determinada por vários fatores e o balanço entre os níveis de glucagon e insulina é determinante neste processo. Aumento do glucagon e diminuição na insulina reduzem a atividade na piruvatoquinase e estimulam a PEPCK. Diminuição da insulina e aumento dos ácidos graxos não esterificados (NEFA), durante o jejum, inibem a piruvato desidrogenase. Piruvato não pode ser transformado em fosfoenolpiruvato (PEP) por ação da piruvato cinase, por isso, na mitocôndria, ele sofre a ação da piruvato carboxilase na presença de dióxido de carbono e é transformado em oxaloacetato. Este composto não atravessa a membrana interna da mitocôndria, mas pode ser transformado em malato (produto da redução do oxaloacetato), que migra para o citosol e é oxidado, transformando-se em oxaloacetato. A enzima fosfoenolpiruvato carboxicinase, tanto na mitocôndria como no citosol, catalisa a transformação de oxaloacetato em PEP. As etapas de PEP até frutose-1,6-bisfosfato são etapas da via glicolítica, invertidas. Na sequência, frutose-1,6-bisfosfatase gera frutose-6-fosfato, que é, em seguida, transformada em G6P. A última etapa é catalisada pela glicose-6-fosfatase, com a liberação de glicose.

20.4.1.1.2 Glicogenólise

É a quebra do glicogênio, pelo fígado ou tecido muscular, para a liberação de glicose e sua utilização como fonte de energia pelos tecidos (fígado) ou para consumo próprio (músculo).

Para que haja a glicogenólise, o glucagon é capturado pelos receptores específicos, ativando a proteína G e, conseqüentemente, a enzima adenilatociclase (AC) no interior da célula. A AC transforma ATP em AMPc, que, por sua vez, ativa a PKA. A PKA inibe a glicogênese por inativar a glicogênio sintase, ativar a glicogênio fosforilase e ativar a proteína inibidor-1.

A fosforilase libera a glicose na forma de glicose-1-fosfato, que é transformada em glicose-6-fosfato. Esta recebe ação da glicose-6-fosfatase hepática, a qual é convertida em glicose, pronta para ser liberada aos tecidos. A glicogenólise

continua ocorrendo até que o indivíduo se alimente e restitua os níveis normais de glicose sérica.

20.4.1.1.3 Cetogênese

Os corpos cetônicos, β -hidroxibutirato e acetoacetato, podem ser utilizados como fonte de energia alternativa pelo sistema nervoso central, quando o estoque de carboidratos não for suficiente para suprir suas necessidades. Após uma noite de jejum, os corpos cetônicos são responsáveis por até 6% da energia total necessária e, após cerca de 72h, pode chegar até 40%. Esse aumento decorre da maior mobilização do tecido adiposo por meio da lipólise.

A cetogênese ocorre quase que exclusivamente no fígado. Um fator determinante na taxa de produção de corpos cetônicos é o suprimento hepático de ácidos graxos não esterificados, o que é determinado pela lipólise. Os principais hormônios reguladores são a insulina e o glucagon. A insulina inibe a cetogênese, enquanto o glucagon estimula, porém sua ação estimulatória só ocorre na deficiência de insulina. Durante a oxidação de ácidos graxos na mitocôndria, o acetil-CoA poderá entrar no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), juntamente com o oxaloacetato, ou ser usado para produção de corpos cetônicos. O uso de corpos cetônicos pelo sistema nervoso central é uma forma de evitar o uso de proteínas como fonte de energia.

20.4.1.2 ALIMENTAÇÃO

Após ingestão de uma refeição rica em carboidratos, há um crescimento na concentração plasmática de glicose, o que aumenta a secreção de insulina e diminui os níveis de glucagon. Dessa forma, o organismo entra num estado anabólico, que o aumento na concentração de insulina estimula a síntese proteica, supressão hepática da produção de glicose e aumento da sua captação periférica, síntese de glicogênio e lipídeos. O fígado é responsável pela captação de cerca de 1/3 da glicose proveniente de uma refeição. A regulação da produção hepática de glicose é realizada por inúmeros fatores, incluindo insulina (inibe), glucagon e AGL (estimulam). Os AGL também aumentam a atividade da glucose-6-fosfato, enzima que controla a liberação hepática de glicose.

20.4.1.2.1 Glicólise

A glicólise corresponde ao metabolismo de glicose para obtenção de energia. Quando a glicose entra na célula, através de seus transportadores (GLUTs), é

fosforilada em glicose-6-fosfato e pode tanto ser convertida em glicogênio quanto entrar na via glicolítica ou via da pentose fosfato. Sob condições fisiológicas, se a glicogênese e a glicólise ocorrem de maneira equivalente, porém, a medida que a concentração sérica de insulina vai aumentando, predomina a síntese de glicogênio. Na via glicolítica, 90% da glicose é objeto de oxidação, enquanto o processo anaeróbio equivale a 10%. Logo, os possíveis destinos da glicose são:

- armazenada: glicogênio, amido, sacarose;
- oxidada através da glicólise: piruvato;
- oxidada através das vias pentoses fosfatos.

A via glicolítica apresenta três etapas. A primeira inicia-se a partir da fosforilação da glicose pela ação da hexocinase e a glicose-6-fosfato (G6P). Quando o fígado necessita exportar glicose para outros tecidos, a G6P é alvo da ação da enzima glicose-6-fosfatase, que catalisa a reação reversa daquela catalisada pela hexocinase. A G6P é transformada no seu isômero frutose-6-fosfato (F6P), por ação da enzima fosfoglicose isomerase e, em seguida, transformada no composto frutose-1,6-bisfosfato. Esta reação também é irreversível e é catalisada pela fosfofruto-cinase. Na segunda etapa, a frutose-1,6-bisfosfato recebe a ação da aldolase gerando uma molécula de diidroxiacetona fosfato e uma molécula de gliceraldeído-3-fosfato (GAP). Sob a ação da triose fosfato isomerase, diidroxiacetona fosfato é convertida em gliceraldeído-3-fosfato. A terceira etapa, tem início com a produção de 1,3-bisfosfoglicerato, composto gerado pela ação da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase sobre o GAP. Essa enzima tem como coenzima o NAD (nicotinamida adenina di-nucleotídeo). O composto 1,3-bisfosfoglicerato possui elevado potencial energético permitindo que, na reação seguinte, catalisada pela fosfoglicerato quinase, ocorra produção de ATP. A outra reação onde ocorre síntese de ATP é catalisada pela piruvato cinase, enzima que transforma fosfoenolpiruvato em piruvato. Esta é a terceira reação irreversível da via glicolítica. As principais fontes de energia para a glicólise incluem os carboidratos (lactose, sacarose, amido), glicose e glicogênio.

20.4.1.2.2 Glicogênese

É a produção de glicogênio a partir da glicose. O glicogênio, ao ser sintetizado, é armazenado no fígado e músculos, sendo utilizado como fonte de energia, quando as taxas de glicose sanguíneas caem.

O glicogênio pode ser formado da adição de glicose a uma cadeia de glicogênio preexistente ou por via de uma proteína iniciadora chamada glicogenina. Essa proteína é necessária à produção de glicogênio quando não há mais reserva deste. A glicogenina se catalisa, fazendo com que resíduos de glicose se liguem à tirosina-94 de sua cadeia e, com o auxílio da glicogênio-sintase, há formação de uma nova cadeia de glicogênio. A glicogênio-sintase é uma enzima-chave no controle da taxa de síntese de glicogênio muscular. A insulina estimula sua atividade, por via de uma série de cascatas de fosforilação/desfosforilação, levando a formação de uma enzima chamada glicogênio sintase fosfatase, a qual pode estar envolvida na patogênese da resistência insulínica no DM2.

O lactato usado para a síntese de glicogênio pode ser derivado do tecido adiposo, fígado ou intestino. A produção do lactato e a glicogênese podem ocorrer simultaneamente, em distintas regiões do fígado. Assim, a glicose captada pelo fígado pode ser metabolizada a lactato via glicólise, depois convertida em glicose pela gliconeogênese e usada para a síntese de glicogênio. A **Figura 20.14** mostra a distribuição corporal de glicogênio, considerando um adulto com 70 kg de peso corporal.

Armazenamento de glicose e de glicogênio no organismo (adulto, 70 kg)				
Tecidos	Tipos	Quantidade	% de massa tecidual	Calorias
Fígado	Glicogênio	75 g	3-5%	300
Músculo	Glicogênio	250 g	0,5-1,0%	1.000
Sangue e líquido extracelulares	Glucose	10 g	----	40
Distribuição tecidual das reservas energéticas de carboidratos (adulto, 70 kg).				

Figura 20.14 – Distribuição corporal de glicose/glicogênio. Fonte: Extraído de Adeva-Andany; González-Lucán; Donapetry-García, Fernández-Fernández; Ameneiros-Rodríguez, 2016.

20.4.1.3 HIPOGLICEMIA

A glicose é a principal fonte de energia do sistema nervoso central. Em condições fisiológicas, durante o jejum, o cérebro requer constante suprimento de glicose, o que corresponde a cerca de 2/3 da captação de todos os tecidos. Durante períodos prolongados de jejum, o cérebro pode se adaptar e utilizar fontes alternativas de energia, incluindo corpos cetônicos.

Durante um episódio de hipoglicemia em indivíduos normais, o limiar de glicemia para ativar os mecanismos contrarregulatórios é bem mais alto do que para disparar os sinais e sintomas de hipoglicemia. Assim, a resposta hormonal inicial, além da diminuição da secreção de insulina, é a secreção de glucagon e epinefrina. A epinefrina estimula diretamente as células α a secretarem glucagon. As células α também secretam glutamato e, de uma maneira autócrina, estimulam a secreção de glucagon. Outros neurotransmissores que também estimulam sua secreção incluem a acetilcolina e o VIP. Todas essas alterações ocorrem quando os níveis de glicose estão em torno de 70 mg/dl (3,9 mmol/L), antes que o indivíduo apresente sinais ou sintomas de hipoglicemia.

À medida que a glicemia continua a cair, aproximadamente 60 mg/dL (3.3 mmol), começam a ser percebidos sinais e sintomas adrenérgicos, como ansiedade, palpitação, tremores, boca seca, sudorese e sintomas colinérgicos como parestesias e fome. Se os níveis persistem em queda, o indivíduo pode evoluir com tonturas, confusão mental, danos cerebrais permanentes, convulsões e parada cardiorrespiratória.

O glucagon, assim como a epinefrina, aumenta a produção hepática de glicose rapidamente, em torno de dez minutos, via glicogenólise inicialmente e gliconeogênese no caso de persistência da hipoglicemia. A epinefrina inibe a captação muscular de glicose, estimula a lipólise (glicerol e AGL) e estimula a liberação muscular de lactato, piruvato e aminoácidos para serem utilizados como precursores da gliconeogênese.

O cortisol e o GH estimulam a gliconeogênese, lipólise e proteólise, além de inibirem a captação periférica de glicose. Para desencadear suas ações, são necessários tempos mais prolongados de hipoglicemias, portanto, não são importantes no caso de eventos agudos.

20.5 CONDIÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADAS

Existem várias doenças relacionadas aos hormônios pancreáticos, em especial à insulina, destacando-se o *Diabetes Mellitus* (DM). O DM pertence a um grupo de doenças metabólicas caracterizado por hiperglicemia crônica, resultante de defeitos

na secreção e/ou ação da insulina. O DM pode ser classificado em dois grandes grupos: DM tipo 1, cuja causa primária é a falência de células β por destruição auto-imune e o DM tipo 2, cuja causa primária é a resistência insulínica, associada ou não à falência progressiva das células β . O DM 2 é a forma frequente de diabetes e é considerado uma das grandes epidemias mundiais do século XXI, além de um problema de saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima uma incidência de 300 milhões de casos de DM 2 em 2030. Apresenta fatores genéticos importantes, é de caráter poligênico, onde múltiplos genes podem estar envolvidos em mecanismos predisponentes. Fatores ambientais também podem predispor ao surgimento de DM 2, tais como idade, sedentarismo, hábitos alimentares e obesidade.

A resistência à insulina é um dos principais fatores predisponentes ao desenvolvimento de DM 2 e está relacionada também a hipertensão, dislipidemia, aterosclerose e obesidade, configurando a síndrome metabólica (SM). Sabe-se que indivíduos com SM apresentam risco cardiovascular aumentado, em parte pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias e do aumento do estresse oxidativo, além da presença de um estado pró-trombótico. Para diagnóstico de SM, utilizam-se os critérios da *National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATPIII)*. O indivíduo deve apresentar pelo menos três dos cinco critérios: obesidade visceral, hiperglicemia, hipertensão arterial, hipertrigliceridemia e baixos níveis de colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade).

Indivíduos com DM 2 apresentam disfunção das células β , caracteristicamente a perda da primeira fase da secreção de insulina estimulada pela glicose. Esse defeito também está em estados de pré-diabetes ou intolerância à glicose, quando ocorre hiperglicemia no período pós-prandial. A segunda fase de secreção insulínica também é prejudicada no DM 2, porém em menor extensão, aparecendo na evolução da doença. Outra característica de pacientes com DM 2 é a perda do padrão oscilatório de secreção de insulina, que pode ocorrer precocemente, antes mesmo do diagnóstico da doença, ou tardiamente. Alterações na pulsatili- dade da secreção insulínica prejudicam o controle regulatório da insulina sobre a produção hepática de glicose.

Há evidências de que a disfunção das células β possa ocorrer até dez anos antes do diagnóstico de DM 2. À medida que a resistência insulínica progride, as células β respondem com aumento na secreção insulínica, na tentativa de compensar a hiperglicemia. Nos obesos há aumento compensatório da massa de células β , estimulado pelos ácidos graxos livres provenientes da dieta e pelo GLP-1. Quando há falha nos mecanismos compensatórios, ocorre falência progressiva das células β e instalação do DM 2. No momento do diagnóstico, o paciente já pode apresentar deficiência de 50% da secreção insulínica (Figura 20.15).

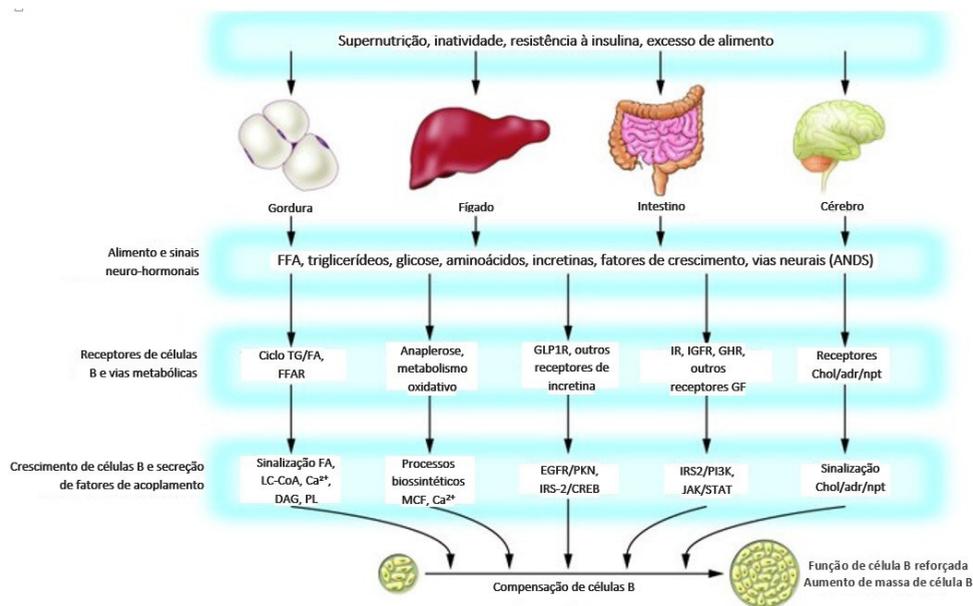


Figura 20.15 – Compensação das células β ante a privações/excesso de alimento. Fonte: Adaptado de Nolan, 2006.

Existem vários mecanismos que podem explicar a disfunção da célula β no DM 2, incluindo glicotoxicidade e lipotoxicidade.

A glicotoxicidade se caracteriza pelos efeitos tóxicos da hiperglicemia crônica sobre a função da célula β , levando à intolerância à glicose, exaustão e apoptose. Essa hipótese foi aventada da recuperação da função de células β em portadores de DM 2 após tratamentos que reestabeleceram a normoglicemia. Conforme já citado, o mecanismo compensatório inicial para a glicotoxicidade é a redução da primeira fase de secreção da insulina, promovendo menor supressão da liberação hepática de glicose após refeições, conseqüentemente, aumentando ainda mais a glicemia pós-prandial. Alguns pacientes que se apresentam em um estado de glicotoxicidade podem não conseguir redução adequada de níveis glicêmicos, necessitando de tratamento periódico com insulina, podendo posteriormente responder a antidiabéticos orais. O termo lipotoxicidade se refere aos efeitos tóxicos de ácidos graxos livres e triglicérides na função de células β . Geralmente encontra-se em pacientes com DM 2 e obesidade visceral. Em pacientes normoglicêmicos, os lipídeos parecem não alterar a função de células β , sendo utilizados por ela como fonte de energia. É necessária a hiperglicemia para mediar seus efeitos tóxicos, além de elevações crônicas dos ácidos graxos livres.

O DM 2 está associado a complicações crônicas, incluindo retinopatia, nefropatia, neuropatia e risco aumentado de doenças cardiovasculares, se não for

bem controlado. Atualmente, a morbidade e a mortalidade atribuídas ao diabetes ainda são elevadas, o que faz da prevenção a maneira mais eficaz de evitar complicações. Além do tratamento medicamentoso, a prevenção está associada a mudanças no estilo de vida, principalmente relacionadas à dieta e à prática de exercícios físicos. Por serem medidas relativamente seguras e de baixo custo, a dieta, a atividade física e a perda de peso são terapias de primeira linha, no caso de não haver contraindicações, pois diminuem a resistência insulínica, previnem ou retardam a progressão para DM 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEVA-ANDANY, M.M.; GONZÁLEZ-LUCÁN, M; DONAPETRY-GARCÍA, C; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, C; AMENEIROS-RODRÍGUEZ, E. *BBA Clin.* 5(27): 85–100, 2016. Adults: Challenges for researcher clinician and patient. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, Boston. 7: 171-185, 2006.
- ARAÚJO, T. G.; OLIVEIRA, A. G.; SAAD, M. J. Insulin-resistance-associated compensatory mechanisms of pancreatic beta cells: a current opinion. *Front. Endocrinol.*, Lausanne. 4: 146, 2013.
- ASMAR, M. *et al.* GIP may enhance fatty acid re-esterification in subcutaneous, abdominal adipose tissue in lean humans. *Diabetes*, Alexandria (VA). 59(9): 2160-2163, 2010.
- BAGGIO L. L.; DRUCKER D. J. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, Philadelphia (PA. 132(6): 2131-2157, 2007.
- BALAGE M. *et al.* Amino acids and insulin are both required to regulate assembly of the eIF4E-eIF4G complex in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Bethesda (MD). 281(3): E565-E574, set. 2001.
- BELL, G. I. Molecular defects in diabetes mellitus. *Diabetes*, Alexandria (VA). 40(4): 413-422, 1990.
- BELL, G.L. *et al.* Structure and function of mammalian facultative sugar transporters. *J. Biol. Chem.*, Baltimore. 268(26): 19161-19164, 1993.
- BEN-SHLOMO, S. *et al.* Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via

- activation of AMP-activated protein kinase. **J. Hepatol.**, Amsterdam. 54(6): 1214-1223, 2011.
- BERGMAN R. N.; ADER M. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Trends Endocrinol. Metab.**, New York. 11(9): 351-356, 2000.
- BETA CELL BIOLOGY CONSORTIUM. **Insulin-maturation**. 2015. Disponível em: <http://www.betacell.org/images/CMS/insulin-maturation_01_w500.jpg>. Acesso em: 01 ago. 2016.
- BOLLEN, M.; KEPPENS, S.; STALMANS, W. Specific features of glycogen metabolism in the liver. **Biochem. J.**, Londres. 336(1): 19-31, 1998.
- BUGLIONI. A.; BURNETT, J. C. A gut-heart connection in cardiometabolic regulation. **Nature Medicine**. 19: 534-536, 2013.
- BURCELIN, R.; KATZ, E. B.; CHARRON, M. J. Molecular and cellular aspects of the glucagon receptor: role in diabetes and metabolism. **Diabetes Metab.**, Paris. 22(6): 373-396, 1996.
- CARREL, G. *et al.* Contributions of fat and protein to the incretin effect of a mixed meal. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda (Md). 94(4): 997-1003, 2011.
- CERNEA, S.; RAZ, I. Therapy in the early stage: incretins. **Diabetes Care**, Alexandria (VA). 34(Sup. 2): S264-S271, 2011.
- CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo. 50(2): 190-197, 2006.
- CNOP, M. *et al.* Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. **Diabetes**, Alexandria (VA). 54(Sup. 2): S97-S107, 2005.
- DEZAKI, K.; SONE, H.; YADA, T. Ghrelin is a physiological regulator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis. **Pharmacol. Ther.**, Oxford. 118(2): 239-249, 2008.
- DING, X. *et al.* Exendin-4, a glucagon-like protein-1 (GLP-1) receptor agonist,

reverses hepatic steatosis in ob/obmice. **Hepatology**, Philadelphia (PA). 43: 173-181, 2006.

DRUCKER, D. J. Minireview: the glucagon-like peptides. **Endocrinology**. Disponível em: <<http://cnx.org/content/col11496/1.6/>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

EKBERG, K. *et al.* A melioration of sensory nerve dysfunction by C-Peptide in patients with type 1 diabetes. **Diabetes**, Alexandria (VA). 52(2): 536-541, 2003.

FELIG, P.; SHERWIN, R. S. Carbohydrate homeostasis, liver and diabetes. **Prog. Liver Dis.**, New York. 5: 149-171, 1976.

FERRANNINI, E.; DEFRONZO, R. A. Insulin actions in vivo: glucose metabolism. In: DEFRONZO, R. A. *ET AL.* **International text book of diabetes mellitus**. Chichester (UK): John Wiley & Sons, 2004.

GERICH, J. E. *et al.* Renal gluconeogenesis. Its importance in human glucose homeostasis. **Diabetes Care**, Alexandria (VA). 24: 382-391, 2001.

GONZALEZ-MUNOZ, C.; NIETO-CERON, S.; CABEZAS-HERRERA, J. *ET AL.* Glucagon increases contractility in ventricle but not in atrium of the rat heart. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam. 587(1-3): 243-247, 2008.

GUTZWILLER, J. P.; TSCHOPPS, B. *ET AL.* Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and in insulin-resistant obese men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield. 89: 3055-3061, 2004.

HARTLEY, T.; BRUMELL, J.; VOLCHUK, A. Glucose stimulated insulin biosynthesis and secretion in pancreatic β -cells. **American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism**, Bethesda (MD). 296(1): E1-E10, 2008.

HIROSUMI, J.; TUNCMAN, G.; CHANG, L. *ET AL.* A central role for JNK in obesity and insulin resistance. **Nature**, Londres. 420: 333-336, 2002.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked

- insulin resistance. *Science*, Washington (DC). 259(5091): 87-91, 1993.
- JAMESON J. L.; GROOT, L. J. *Endocrinology: adult and pediatric*. 6. ed. Philadelphia: Saunders, 2010.
- JIANG, G.; ZHANG, B. B. Targeting β -Cell Mass in Type 2 Diabetes: Promise and Limitations of New Drugs Based on Incretins. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 284(4): 671-678, 2003.
- KAHN, C. R. *et al.* *Joslin's diabetes mellitus*. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- LANDAU, B. R. *et al.* Contributions of gluconeogenesis to glucose production in the fasted state. *J. Clin. Invest.*, Ann Arbor (MI). 98: 378-385, 1996.
- LINGERLAND, A. S. Monogenic diabetes in children and young. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 7(3): 171-185, 2006.
- MACHADO, F. Transportadores de glicose. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, São Paulo. 42(6): 413-421, 1998.
- MASSILLON, D.; BARZILAI, N.; HAWKINS, M. *et al.* Induction of hepatic G-6-Pase gene expression by lipid infusion. *Diabetes*, Alexandria (VA). 46: 153-157, 1997.
- MCINTOSH, C. H.; WIDENMAIER, S.; KIM, S. J. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (Gastric Inhibitory Polypeptide; GIP). *Vitam. Horm.*, New York. 80: 409-471, 2009.
- MEIER, J. J. *et al.* Glucagon-like peptide 1 abolishes the postprandial rise in triglyceride concentrations and lowers levels of non-esterified fatty acids in humans. *Diabetologia*, Berlin. 49: 452-458, 2006.
- MOLLER, D. E.; FLIER, J. S. Insulin resistance--mechanisms, syndromes, and implications. *N. Engl. J. Med.*, Boston. 325(13): 938-948, 1991.
- NAKAMOTO, H. *et al.* Synergistic effects of C-peptide and insulin on coronary flow in early diabetic rats. *Metabolism*, Duluth (MN). 53(3): 335-339, 2004.
- NAUCK, M. A.; HEIMESAAT, M. M.; BEHLE, K. *ET AL.* Effects of glucagon-

like peptide 1 on counterregulatory hormone responses, cognitive functions, and insulin secretion during hyperinsulinemic, stepped hypoglycemic clamp experiments in healthy volunteers. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield. 87: 1239-1246, 2002.

NAUCK, M. A. *ET AL.* Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (MI). 91(1): 301-307, 1993.

NIKOLAIDIS, L. A.; MANKAD, S.; SOKOS, G. G. *ET AL.* Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. **Circulation**, Dallas (TX). 109: 962-965, 2004.

NOLAN, C. J.; PRENTKI, M. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. **J. Clin. Invest.** 116: 1802-1812, 2006.

NOMURA, M. *ET AL.* A mathematical insulin-secretion model and its validation in isolated rat pancreatic islets perfusion. **Comput. Biomed. Res.**, New York. 17(6): 570-579, 1984.

OPENSTAX COLLEGE. **Illustration from Anatomy & Physiology**. 2013. Disponível em: <<http://cnx.org/content/col11496/1.6/>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

PARKER, H. E.; REIMANN, F.; GRIBBLE, F. M. Molecular mechanisms underlying nutrient stimulated incretin secretion. **Expert Rev. Mol. Med.**, Cambridge (UK). 12: e1, 2010.

PESSIN, J. E.; SALTIEL, A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (MI). 106(2): 165-169, 2000.

PRENTKI, M.; NOLAN, C. J. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (MI). 116: 1802-1812, 2006.

REIMANN, F.; WARD P.; GRIBBLE F. Signaling mechanisms underlying the release of glucagon-like peptide 1. **Diabetes**, Alexandria (VA). 55(Sup. 2):

S78-S85, 2006.

ROCCA, A. S.; BRUBAKER, P. L. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. **Endocrinology**, Baltimore (MD). 140: 1687-1694, 1999.

ROTHMAN, D. L. *ET AL.* Quantitation of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in fasting humans with NMR. **Science**, Washington (DC). 245: 573-576, 1991.

SALEHI, M.; AULINGER, B. A.; D'ALESSIO, D. A. Targeting β -Cell Mass in Type 2 Diabetes: Promise and Limitations of New Drugs Based on Incretins. **Endocrine Reviews**. 29(3): 367-379, 2008.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, Londres. 414(6865): 799-806, 2001.

SAMNEGARD, B. *ET AL.* C-peptide and captopril are equally effective in lowering glomerular hyperfiltration in diabetic rats. **Nephrol. Dial. Transplant**, Berlin; New York. 19(6): 1385-1391, 2004.

SANGER, F. **The chemistry of insulin**. Nobel Lecture, 1958. Disponível em: <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1958/sanger-lecture.pdf>. Acesso em: 01 ago. 2016.

SEINO, Y.; FUKUSHIMA, M.; YABE, D. GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences. **J. Diabetes Investig.**, Tokyo. 1(1-2): 8-23, 2010.

THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporters. **Diabetes Care**, Alexandria (VA). 13(3): 209-218, 1990.

VEGA-MONROY, M. L. L.; FERNANDEZ-MEJIA, C. Beta-cell function and failure in type 1 diabetes. In: WAGNER, D. (ed.). **Type 1 Diabetes - Pathogenesis, Genetics and Immunotherapy**. Rijeka: InTech, 2011. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/type-1-diabetes-pathogenesis-genetics-and-immunotherapy/beta-cell-function-and-failure-in-type-1-diabetes>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

- WAHREN, J. *ET AL.* Role of C-peptide in human physiology. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, Bethesda (MD). 278(5): E759-E768, 2000.
- WAREN, J. *ET AL.* Splanchnic and peripheral glucose and amino acid metabolism in diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (MI). 51: 1870-1878, 1972.
- WIERUP, N.; SUNDLER, F.; HELLER, R. S. The islet ghrelin cell. **J. Mol. Endocrinol.**, Bristol. 52(1): R35-R49, 2013.
- XU, H. *ET AL.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (MI). 112(12): 1821-1830, 2003.
- YI, P.; PARK, J. S.; MELTON, D. A. Betatrophin: a hormone that Controls Pancreatic β Cell Proliferation. **Cell**, Cambridge (Ma). 153(4): 747-758, 2013.
- ZECCHIN, H. G.; CARVALHEIRA, J. B. C.; SAAD, M. J. A. Mecanismos moleculares de resistência à insulina na síndrome metabólica. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**. 14(4): 574-589, 2004.