

SINALIZAÇÃO MEDIADA PELA INSULINA EM VIAS ANABÓLICAS**INSULIN-MEDIATED SIGNALING IN ANABOLIC WAY**

Bruno Cesar Correa Salles¹, Michele Caroline Terra¹, Fernanda Borges de Araújo Paula².

¹Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas. Brasil.

²Universidade Federal de Alfenas, Alfenas. Brasil.

E-mail: bruno.alfenas@hotmail.com.

RESUMO

O anabolismo é um processo pelo qual a insulina exerce seus efeitos metabólicos na síntese de moléculas complexas através de moléculas mais simples. Os efeitos anabólicos são alcançados através de sua ligação a subunidade alfa de seu receptor tirosina quinase de membrana. A ativação do receptor de membrana promoverá a ativação das vias IR/IRS/PI3K/Akt e IRS/MAPK que podem ser consideradas como as principais vias anabólicas de ação da insulina. A via IR/IRS/PI3K/Akt levará a captação de glicose, aumento na síntese de glicogênio, de proteínas e lipídeos. Por outro lado, a via IRS/MAPK promoverá a proliferação e diferenciação celular. Tecidos como o hepático, o muscular e o adiposo, podem ser considerados os mais importantes por apresentarem as maiores concentrações do receptor de insulina.

Palavras-chave: Insulina; Anabolismo; Sinalização.

ABSTRACT

The anabolism is a process by which insulin exerts its effects on the metabolic synthesis of complex molecules through simpler molecules. The anabolic effects are achieved by binding the alpha subunit of its receptor tyrosine kinase membrane. Activation of membrane receptor promote the activation of pathways IR/IRS/PI3K/Akt and IRS/MAPK that can be considered as the main metabolic pathways by that insulin acts. The path IR/IRS/PI3K/Akt lead to glucose uptake, the increase in glycogen synthesis, proteins and lipids. On the other hand, the path IRS/MAPK promote cell proliferation and differentiation. Tissues such as the liver, muscle and adipose can be considered the most important because they have the highest insulin receptor levels.

Keywords: Insulin; Anabolism; Signaling.

1 INTRODUÇÃO

A manutenção da homeostase de glicose assim como o crescimento e diferenciação celular são funções essenciais, reguladas por um hormônio anabólico conhecido como a insulina. Oskar Minkowski e Josef von Mering em 1889, iniciaram os estudos que em 1923 levaram Bating e MacLeod a receberem o prêmio Nobel pelo isolamento da insulina (NELSON, 2011). A descoberta do hormônio insulina permite hoje, uma vida longa e produtiva a pessoas portadoras de diabetes mellitus, uma doença mundialmente conhecida, devido aos seus altos índices de prevalência e aos seus impactos negativos sobre a qualidade de vida da população diabética.

De acordo com Malheiros (2006), a insulina está sempre associada com a condição inicial de hiperglicemia, mas a presença deste hormônio também significa uma situação de alto suprimento energético para as células e nesta situação, as reações anabólicas serão favorecidas.

A insulina é considerada um hormônio anabólico, que além do papel fundamental no transporte de glicose e metabolismo energético celular, possui funções na ativação da síntese de glicogênio, de proteínas, de lipídeos e da transcrição de genes específicos. Ao mesmo tempo, inibe a degradação destas substâncias (SAAD, 2002; BASIS, 1977). O receptor proteico de superfície celular específico para a insulina é um receptor tirosina-quinase (RTK) capaz de se auto-fosforilar e promover a atividade intrínseca de tirosina-quinase, sendo que o resultado final da ativação do receptor será uma cascata de sinalização intracelular. (LEITE; CALLADO; RIBEIRO, 2012; LEMMON; SCHLESSINGER, 2010; NELSON, 2011).

Dentre os diversos substratos do receptor de insulina (IRS) podemos destacar os substratos 1-4 do receptor de insulina (IRS1-4), que irão integrar o metabolismo intermediário ao seu efeito celular final (CAMPOREZ; ALMEIDA; MARÇAL, 2013). A expressão do receptor de insulina ocorre em praticamente todos os tecidos de mamíferos, porém sua concentração poderá variar desde 40 receptores nos eritrócitos circulantes a mais de 200.000 receptores no tecido adiposo, no tecido muscular e no tecido hepático (HABER et al., 2001). Nos tecidos periféricos, a insulina atua através da via IRS/PI3K/AKT, afetando o metabolismo de glicogênio, de lipídeos e a captação de glicose, bem como da via IRS/MAPK/ERK, que atua no controle da expressão gênica, do crescimento e da diferenciação celular (STEPHENS et al., 1998; BASIS, 1977; GOALSTONE; DRAZNIN, 1997; KONG et al., 2014; LEMMON; SCHLESSINGER, 2010; NELSON, 2011; MUSCLE; VIA, 2014; NADEEM; AHMED; EL-DENSHARY, 2015). Alguns dos efeitos da insulina

podem ser observados em segundos ou minutos, porém outros como a síntese de proteínas e expressão gênica podem levar dias (HILAL-DANDAN & BRUNTON, 2015).

2 RECEPTORES TIROSINA-QUINASES

Os receptores ligados a quinase constituem um grande e heterogêneo grupo de receptores de membrana, que responde principalmente a mediadores proteicos. Segundo Lemmon e Schlessinger (2010), atualmente foram descritos 58 RTKs humanos, divididos em 20 subfamílias, dos quais cada um é caracterizado por três segmentos: um domínio extracelular, que funciona como um local obrigatório para um ligante específico; um domínio transmembranar e um domínio tirosina-quinase citoplasmático. Em muitos receptores o domínio intracelular possui propriedades enzimáticas, como é o caso dos receptores de insulina (RI) que promovem a transdução do sinal intracelular, integrando o metabolismo intermediário (LEITE; CALLADO; RIBEIRO, 2012; LEMMON; SCHLESSINGER, 2010; NELSON, 2011).

3 RECEPTOR DE INSULINA

O receptor tirosina-quinase da insulina é uma glicoproteína heterotetramérica, descoberta em 1971 por Cuatrecas e Kono (RAMALINGAM; OH; THURMOND, 2014). O RI é composto por duas subunidades alfa idênticas que projetam-se para fora da face externa da membrana plasmática, cada uma com 135kDa, e duas subunidades beta transmembrana, com as regiões carboxiterminais projetando-se para dentro do citosol, cada uma com 95 kDa (BASIS, 1977; NELSON, 2011; MANUSCRIPT; SIGNALING, 2014). A região alfa e as porções de duas subunidades beta extracelulares, compreendem o domínio de ligação da insulina (ADAMO *et al.*, 1988; NELSON, 2011).

Os domínios intracelulares das subunidades beta contém a atividade proteína quinase, que é responsável pela transferência de um grupo fosfato da adenosina trifosfato (ATP) para o grupo hidroxil de resíduos de tirosina (Tyr) em proteínas alvo-específicas. Para que ocorra a fosforilação de uma proteína alvo há a necessidade da exposição do sítio ativo da enzima (GOALSTONE; DRAZNIN, 1997; SAAD, 2002; NELSON, 2011; KONG *et al.*, 2014). A ligação da insulina à subunidade alfa de seu receptor de membrana promove uma mudança conformacional, que permite a autofosforilação de três resíduos de Tyr da subunidade beta no dímero (Tyr¹¹⁵⁸, Tyr¹¹⁶² e Tyr¹¹⁶³), o que possibilita um ponto de atração para proteínas-alvo específicas (MANUSCRIPT; SIGNALING, 2014).

O resultado da ligação da insulina ao seu receptor é uma cascata de reações de fosforilação de diversos substratos incluindo o IRS1-4, que irá integrar o metabolismo intermediário ao seu efeito celular final (CAMPOREZ; ALMEIDA; MARÇAL, 2013).

Segundo Zavodnik et al., (2011) a cascata de sinalização dependente de insulina nos tecidos cardíaco, muscular esquelético e hepático assim como nas células endoteliais são similares, mas a resposta biológica é variada e específica para cada tecido. No fígado, a insulina inibe a liberação de glicose e aumenta o acúmulo de glicogênio, através do bloqueio da gliconeogênese e glicogenólise (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002). No tecido muscular haverá um aumento na captação de glicose via transportador de glicose 4 (GLUT4) e acúmulo de glicogênio. Já no tecido adiposo a insulina promoverá uma regulação com o aumento da síntese de ácidos graxos e de colesterol.

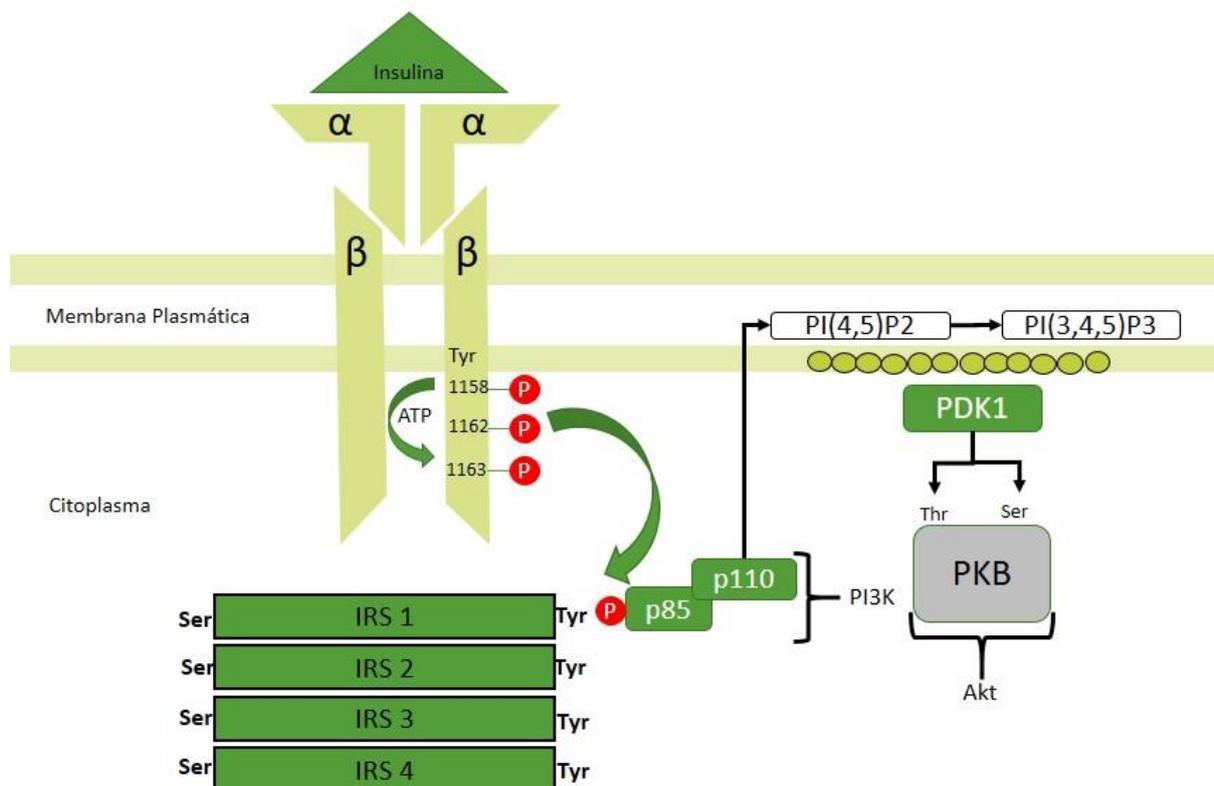
4 VIAS DE SINALIZAÇÃO IR/IRS/PI3K/AKT

Após a ligação da insulina na subunidade alfa de seu receptor e sua autofosforilação na subunidade beta, resíduos de Tyr do IRS são fosforilados, passando a reconhecer moléculas contendo domínio com homologia a Src 2 (SH2) (NELSON, 2011; (CAMPOREZ; ALMEIDA; MARÇAL, 2013); SAAD, 2002; GOALSTONE; DRAZNIN, 1997).

A enzima fosfoinositídeo-3-quinase (PI-3K) é uma das moléculas com homologia em SH2. A PI-3K possui um domínio catalítico p110 e uma subunidade regulatória p85 (CAMPOREZ; ALMEIDA; MARÇAL, 2013). Quando fosforilada, a subunidade regulatória p85, se dissocia da subunidade catalítica p110 para que seu domínio catalítico seja ativado (SAAD, 2002; NELSON, 2011). Com a ativação do seu domínio catalítico, a PI-3K poderá fosforilar lipídios de membrana, mais especificamente o fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) na posição 3 do anel inositol, dando origem ao fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3)(STEPHENS et al., 1998).

Por sua vez, o PIP3 irá promover a fosforilação da proteína-quinase B (PKB), conhecida como *V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1* (Akt) (STOKOE et al., 1997; STEPHENS et al., 1998; LEAL et al., 2011). A geração de PIP3 promove a translocação para a membrana plasmática da quinase 1 dependente de fosfoinositídeo (PDK1) (RAMACHANDRAN; SARAVANAN, 2015). A interação da PDK1 com a Akt possibilita a sua fosforilação em resíduo 308 de treonina (Thr) e resíduo 473 de serina (Ser), passando a fosforilar resíduos de Ser e ou de Thr (Figura 1) (KRYCER et al., 2010).

Figura 1- Via de sinalização da insulina IRS/PI3K/Akt. A autofosforilação do receptor de insulina possibilita a fosforilação em tirosina do substrato receptor de insulina até a ativação da Akt em resíduos de treonina e serina.



Fonte: Adaptado de CARVALHEIRA, ZECCHIN E SAAD (2002, p.420).

A modulação dos sinais da insulina via receptor de membrana, pode acontecer negativamente, se o IRS for fosforilado em Ser. Este é um dos mecanismos relacionados a resistência à insulina em um quadro de Diabetes Mellitus. Segundo Carvalho-Filho et al., (2007) está bem estabelecido que a insulina induz a fosforilação em tirosina do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1), enquanto agentes que levam a resistência à insulina, levam a fosforilação em Ser do IRS-1 o que leva a uma diminuição na interação com o RI. A fosforilação ocorre principalmente no radical hidroxila dos resíduos de serina, o que levando a um aumento em sua eletronegatividade e uma consequentemente alteração radical em sua conformação (GUAL; LE MARCHAND-BRUSTEL; TANTI, 2005; Tizard, 2014). Desse modo, uma proteína pode expor os aminoácidos antes escondidos em seu centro e mudar muito suas características.

Neste ponto da via *IR/IRS/PI3K/Akt*, podemos ter uma ramificação da sinalização, que irá culminar com a translocação do receptor GLUT4 para a membrana plasmática, assim

como poderá acelerar a síntese de glicogênio a partir da glicose via glicogênio-sintase-quinase (GSK3) inativada, a síntese de lipídeos via proteínas de ligação aos elementos reguladores de esterol (SREBP) e a síntese de proteínas via ativação da proteína alvo de rampamicina de mamíferos (mTOR) (RAUGHT; GINGRAS; SONENBERG, 2001; SHIMOMURA et al., 1999; SMITH et al., 2008; NELSON, 2011; JEON; OSBORNE, 2012). Segundo Cheng et al., (2010) a Akt possui diversos substratos de fosforilação entre os quais se destaca a GS3K, a SREBP e a proteína mTOR. A ativação destes substratos irá direcionar a via de sinalização para um efeito específico.

5 SÍNTESE DE GLICOGÊNIO VIA IR/IRS/PI3K/AKT

O glicogênio é um polímero de glicose que age como reserva de energia em ambientes nutricionais favoráveis (ROACH et al., 2012). Sua síntese se dá através de uma via que utiliza *uridina difosfato glicose* (UDP-glicose), na presença do glicogênio sintase (GS) (BERG, TYMOCZKO, STRYER, & GATTO, Jr, 2014). Neste contexto, visando a síntese de glicogênio, uma das principais proteínas alvo da Akt é a GSK3. Em estudos recentes, foi demonstrado que em modelos experimentais de diabetes induzido por *streptozotocina* (STZ) houve um aumento na atividade e expressão gênica da GSK3 (NADEEM; AHMED; EL-DENSHARY, 2015).

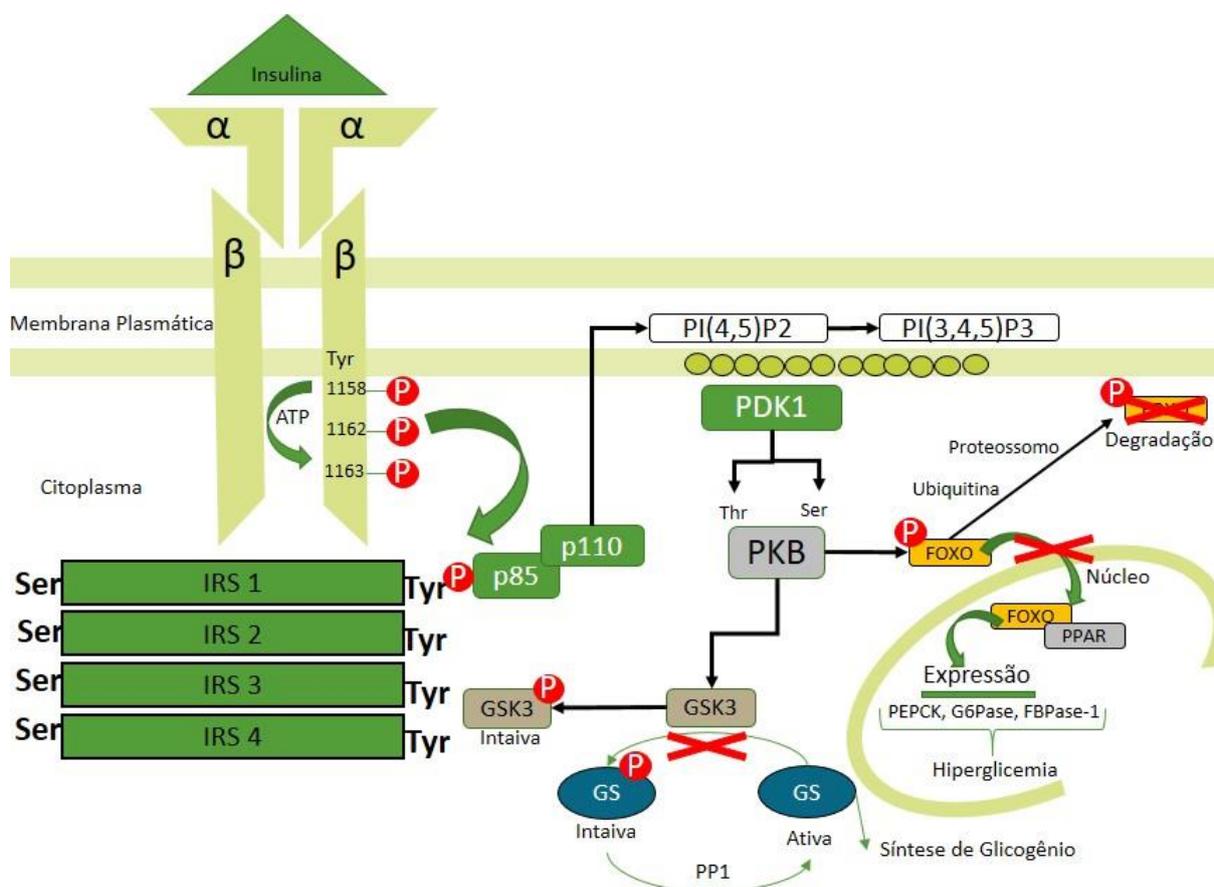
A GSK3 é uma serina/treonina quinase e está envolvida em diversas vias metabólicas (RAYASAM et al., 2009). Esta diversidade de funções atribuídas a GSK3 se dá justamente pela grande variedade de substratos existentes, podendo chegar a mais de 100 substratos (BEUREL; GRIECO; JOPE, 2015; NADEEM; AHMED; EL-DENSHARY, 2015; ROACH et al., 2012). Um dos substratos da GSK3 é justamente a enzima glicogênio sintase (GS) (Figura 2).

Em eucariotos a GS é alostericamente ativada na presença de altos níveis de glicose-6-fosfato, e negativamente regulada por sua fosforilação, sendo que a grande responsável é a GSK3 (BEUREL; GRIECO; JOPE, 2015; NELSON, 2011; ROACH et al., 2012; BERG, TYMOCZKO, STRYER, & GATTO, Jr, 2014; NADEEM; AHMED; EL-DENSHARY, 2015). Em contrapartida, a sua forma não fosforilada permanece ativa independente da presença de glicose-6-fosfato para a síntese de glicogênio (BERG, TYMOCZKO, STRYER, & GATTO, Jr, 2014).

Portanto a inativação da GSK3 via fosforilação de Ser 9 pela Akt, torna-se um ponto chave na síntese de glicogênio, principalmente nos tecidos hepáticos e musculares (SAAD,

2002; ZAVODNIK et al., 2011; BEUREL; GRIECO; JOPE, 2015). Nos tecidos hepáticos, a insulina é o principal sinal para síntese de glicogênio em consequência dos níveis glicêmicos elevados após uma refeição rica em carboidratos (BERG, TYMOCZKO, STRYER, & GATTO, JR, 2014).

Figura 2- Síntese de glicogênio via IRS/PI3K/Akt. A inativação da GSK3 e do fator de transcrição FOXO por fosforilação via Akt favorece a glicogênese e potencializando os efeitos anabólicos da insulina. A inibição do fator de transcrição FOXO impede a expressão gênica de enzimas gliconeogênicas.



Fonte: Adaptado de CARVALHEIRA, ZECCHIN E SAAD (2002, p.420).

Por outro lado, uma vez que a massa muscular é muito maior que a hepática, é nos músculos que se encontra a maioria do glicogênio utilizado como reserva de energia. Entretanto, o glicogênio sintetizado no músculo será utilizado para consumo próprio principalmente em situações de contração muscular intensa como fonte de energia rápida para o metabolismo aeróbico e anaeróbico. Já o glicogênio hepático terá a função principal de manter os níveis glicêmicos normalizados (LIMA-SILVA et al., 2007).

Além dos efeitos anabólicos na via IR/IRS/PI3K/Akt/GS3K, a Akt poderá atuar em um dos seus principais substratos que é o fator de transcrição FOXO. O fator de transcrição FOXO ao se translocar para o núcleo irá se associar ao PPAR coativador 1 alfa e aumentará a expressão gênica de enzimas gliconeogênicas como de fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), glicose-6-fosfatase (G6Pase) e frutose-1,6-bifosfatase I (FBPase 1) induzindo hiperglicemia (SAMBASIVARAO; HUNG, 2013). Na presença da Akt o fator de transcrição FOXO é fosforilado, mantendo-se inativo no citoplasma e propiciando uma potencialização nos efeitos anabólicos da insulina (COBO; BONETT, 2008; WANG; ZHOU; GRAVES, 2014).

6 TRANSPORTADORES DE GLICOSE (GLUT)

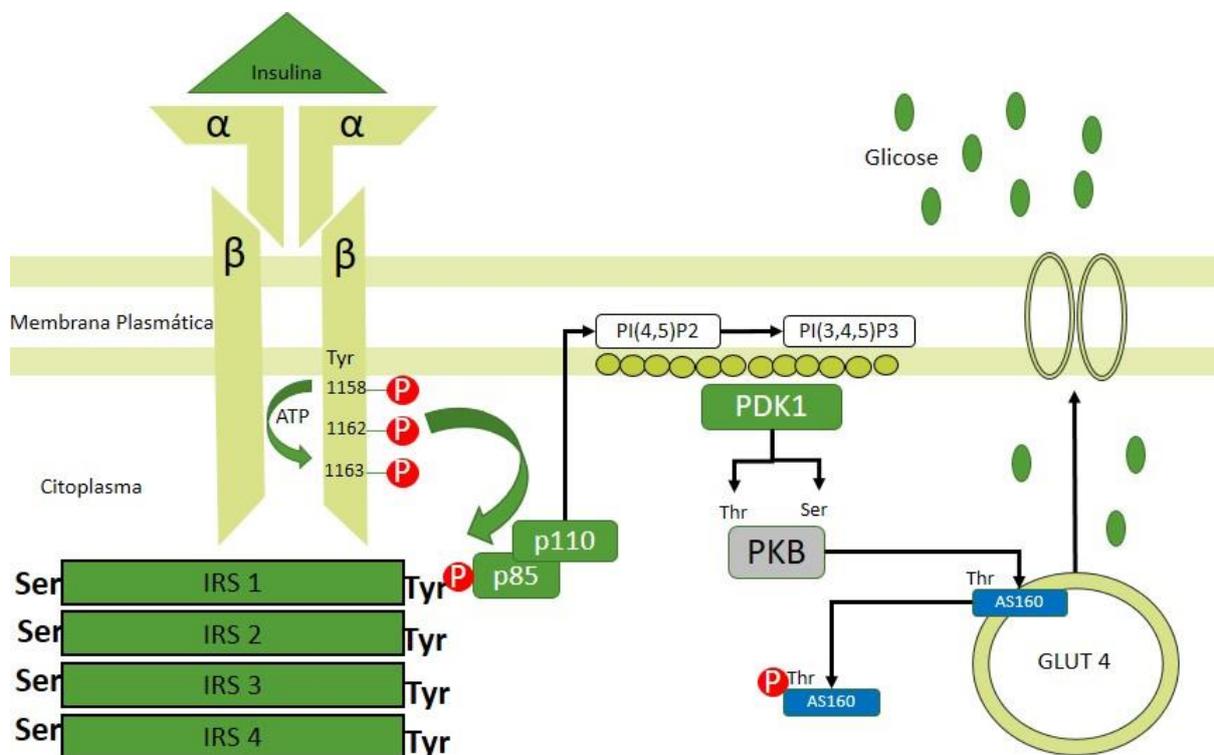
Uma outra ramificação proporcionada pela Akt se relaciona com a translocação de vesículas membranosas internas dos transportadores de glicose, denominados GLUT, para a membrana plasmática. Estes transportadores encontram-se amplamente distribuídos em diferentes tecidos (CL, 2011) e correspondem a uma família de 14 membros, com massa molecular variando entre 50 e 60 kDa (MACHADO; SCHAAN; SERAPHIM, 2006; SCHEEPERS; JOOST; SCHÜRMAN, 2004).

Dentre os vários transportadores de glicose, o GLUT4 é conhecido por ter sua regulação dependente de estímulos mediados pela insulina e encontra-se predominantemente nos tecidos adiposo e muscular (MACHADO; SCHAAN; SERAPHIM, 2006). Nos hepatócitos há um predomínio na expressão da isoforma GLUT2, um transportador não dependente de insulina já presente na membrana plasmática (DEVLIN, 1999).

Nos tecidos adiposo e muscular, a fosforilação da Akt é um passo chave para a translocação do GLUT4, do compartimento intracelular para a membrana plasmática (WEI et al., 2006). Um dos substratos da Akt é a proteína AS160, que quando fosforilada em treonina 642, se dissocia das vesículas de GLUT4, possibilitando a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática (Figura 3) (MIINEA et al., 2005; MARINHO et al., 2014). Conseqüentemente a captação de glicose nos tecidos musculares e nos adiposos estarão aumentadas e a síntese de glicogênio acentuada pela via IR/IRS/PIP3/Akt.

Ambas as ramificações da via IR/IRS/PIP3/Akt em PIP3/Akt resultarão em efeitos anabólicos da insulina.

Figura 3- Captação de glicose por GLUT 4 via IRS/PI3K/Akt. Quando fosforilada a AS160 se dissocia das vesículas de GLUT4, possibilitando a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática.



Fonte: Adaptado de CARVALHEIRA, ZECCHIN E SAAD (2002, p.420).

7 VIA DE SINALIZAÇÃO IRS/MAPK/ERK

Além do domínio SH2 da PI-3K, o IRS-1 pode se ligar também ao domínio SH2 da proteína ligada ao receptor do fator de crescimento 2 (Grb2). Em humanos, esta proteína é codificada pelo gene GRB2 e está envolvida na transdução de sinal intracelular (LOWENSTEIN et al., 1992; MATUOKA et al., 1992; NELSON, 2011).

A Grb2 é uma proteína adaptadora sem atividade enzimática intrínseca, cujo domínio SH2 é flanqueado por dois domínios SH3, que medeiam a sua ligação com proteínas ricas em prolina, como por exemplo a proteína “*Son of Sevenless*” (SOS) (NELSON, 2011).

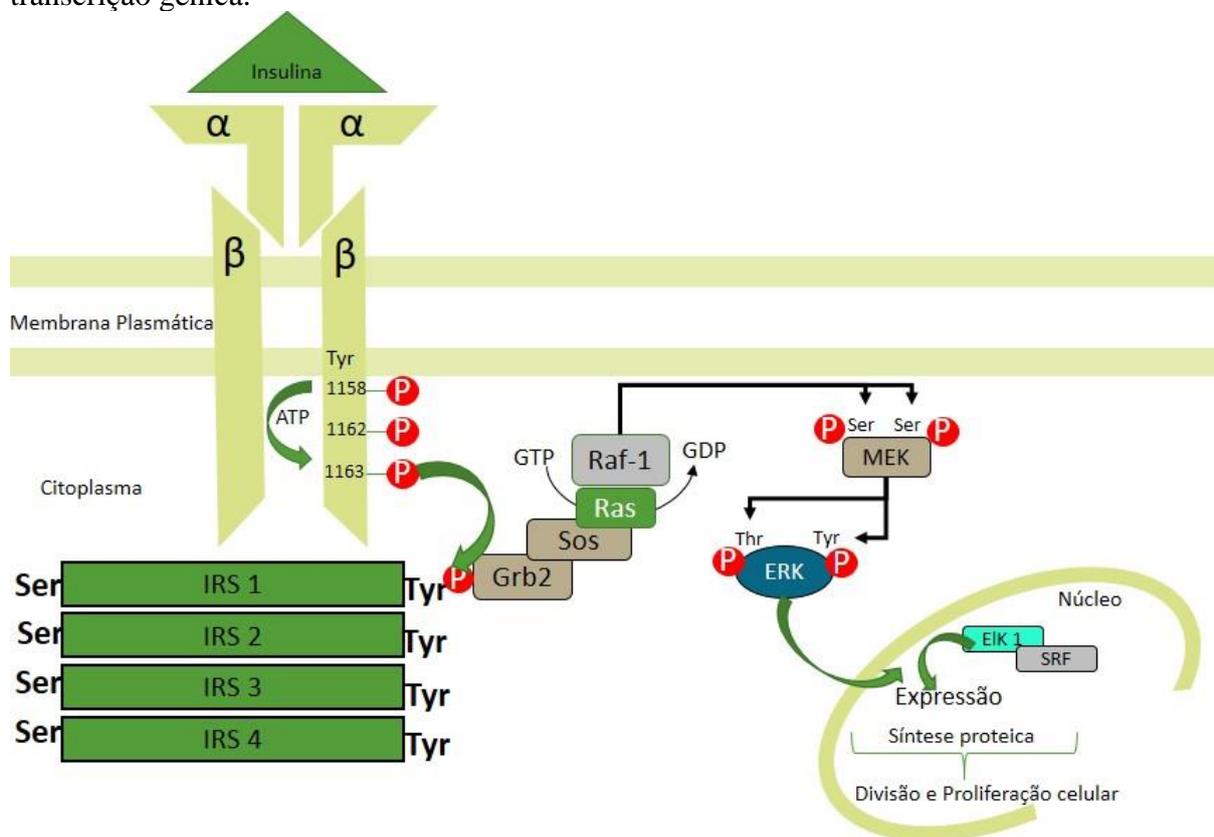
Na etapa seguinte, a SOS promove a troca de nucleotídeos de guanosina difosfato (GDP) por guanosina trifosfato (GTP) na proteína G Ras. A Ras em seu estado inativo encontra-se associada ao difosfato de guanidina (GDP) enquanto que em seu estado ativado ela se encontra associada ao trifosfato de GTP (NELSON, 2011; THOMPSON et al., 2015). Na sua forma ativa a Ras se associa a uma proteína-quinase (PK), membro de uma família de três proteínas serina/treonina quinase, denominada Raf-1, ativando-a. Uma vez ativada, a Raf-

1 pode ativar a via das PK ativadas por mitógeno (MAP quinases ou MAPK) e consequentemente a cascata de sinalização Ras/Raf/MEK/ERK (GUAN et al., 2000; THOMPSON et al., 2015).

A família das MAPK conta com outras duas quinases, a quinase ativadora da MAP quinase (MEK) e a quinase regulada por sinal extracelular (ERK) (CHONG; VIKIS; GUAN, 2003; NELSON, 2011).

A Raf ativada pode fosforilar MEK, que por sua vez catalisa a fosforilação das ERK em resíduos de Thr e um resíduo de Tyr, ativando-as (CHONG; VIKIS; GUAN, 2003; WIMMER; BACCARINI, 2010). Em consequência desta ativação a ERK entra no núcleo e promove a fosforilação de fatores de transcrição nuclear como o Elk-1, que se une ao fator de resposta ao soro (SRF), modulando a transcrição de aproximadamente 100 genes regulados pela insulina, necessários para a divisão celular e diretamente relacionados à regulação da apoptose bem como da diferenciação e proliferação celular (Figura 4) (NELSON, 2011; GUAN et al., 2000; CHONG; VIKIS; GUAN, 2003).

Figura 4- Regulação da expressão gênica via IRS/MAPK/ERK. Quando fosforilada a ERK promove a fosforilação de fatores de transcrição nuclear como o Elk-1 modulando a transcrição gênica.



Fonte: Adaptado de CARVALHEIRA, ZECCHIN E SAAD (2002, p.420); NELSON (2011, p.441).

8 REGULAÇÃO DA SÍNTESE DE LIPÍDEOS PELA INSULINA

O gasto energético para a síntese de uma nova molécula é sempre grande. Assim o organismo alternativamente promove a regulação da biossíntese como forma de equilibrar o gasto energético. Na biossíntese dos ácidos graxos a acetil-CoA-carboxilase é um ponto de regulação limitante. Da mesma forma que a ácido graxo sintase é responsável pela síntese de ácidos graxos de cadeia longa. Já na síntese de colesterol a etapa limitante é a conversão de HMG-CoA em mevalonato. Esta reação por sua vez, é catalisada pela HMG-CoA-redutase (NELSON, 2011).

A síntese da HMG-CoA-redutase assim como da acetil-CoA-carboxilase e a ácido graxo sintase é controlada por uma família de proteínas SREBP. As SREBP atuam como ativadores da transcrição de genes tais como o da HMG-CoA-redutase, o da ácido graxo sintase e o da acetil-CoA-carboxilase. Dados na literatura têm demonstrado que a insulina induz a expressão da proteína SREBP em adipócitos, em hepatócitos e em tecido muscular e ao mesmo tempo evita a sua degradação (EBERLÉ et al., 2004; KIM et al., 1998; MISEREZ et al., 2002; BENGOCHEA-ALONSO; ERICSSON, 2009; KRYCER et al., 2010).

Shimomura et al., (1999) já havia demonstrado que a expressão de mRNA da proteína SREBP encontrava-se menor no fígado de ratos diabéticos e que após o tratamento dos animais diabéticos com a insulina este quadro foi normalizado.

A família de proteínas SREBP é composta por três membros: SREBP-1a, SREBP-1c e a SREBP-2. A isoforma SREBP-1c é a mais comumente expressa na maioria dos tecidos de humanos e de ratos tais como o fígado, o tecido adiposo, o músculo esquelético, a glândula adrenal e o cérebro (EBERLÉ et al., 2004). Em contraste, a isoforma SREBP-1a é comumente expressa em células da medula óssea e no intestino.(JEON; OSBORNE, 2012; SHIMOMURA et al., 1997).

Existe um consenso de que a SREBP-1 tipicamente controla a expressão gênica para a síntese de ácidos graxos enquanto que a isoforma SREBP-2 controla a expressão de genes para a síntese de colesterol (SMITH et al., 2008; KRYCER et al., 2010).

Estudos recentes demonstraram que a via de sinalização intracelular responsável pela regulação na expressão de proteínas da família da SREBP inclui a via IR/IRS/PI3K/Akt (JEON; OSBORNE, 2012; SHIMOMURA et al., 1999; HAGEN; RODRIGUEZ-CUENCA; VIDAL-PUIG, 2010). No fígado por exemplo, os sinais intracelulares da ligação da insulina ao seu receptor de membrana via IR/IRS/PI3K/Akt promove a ativação da expressão gênica

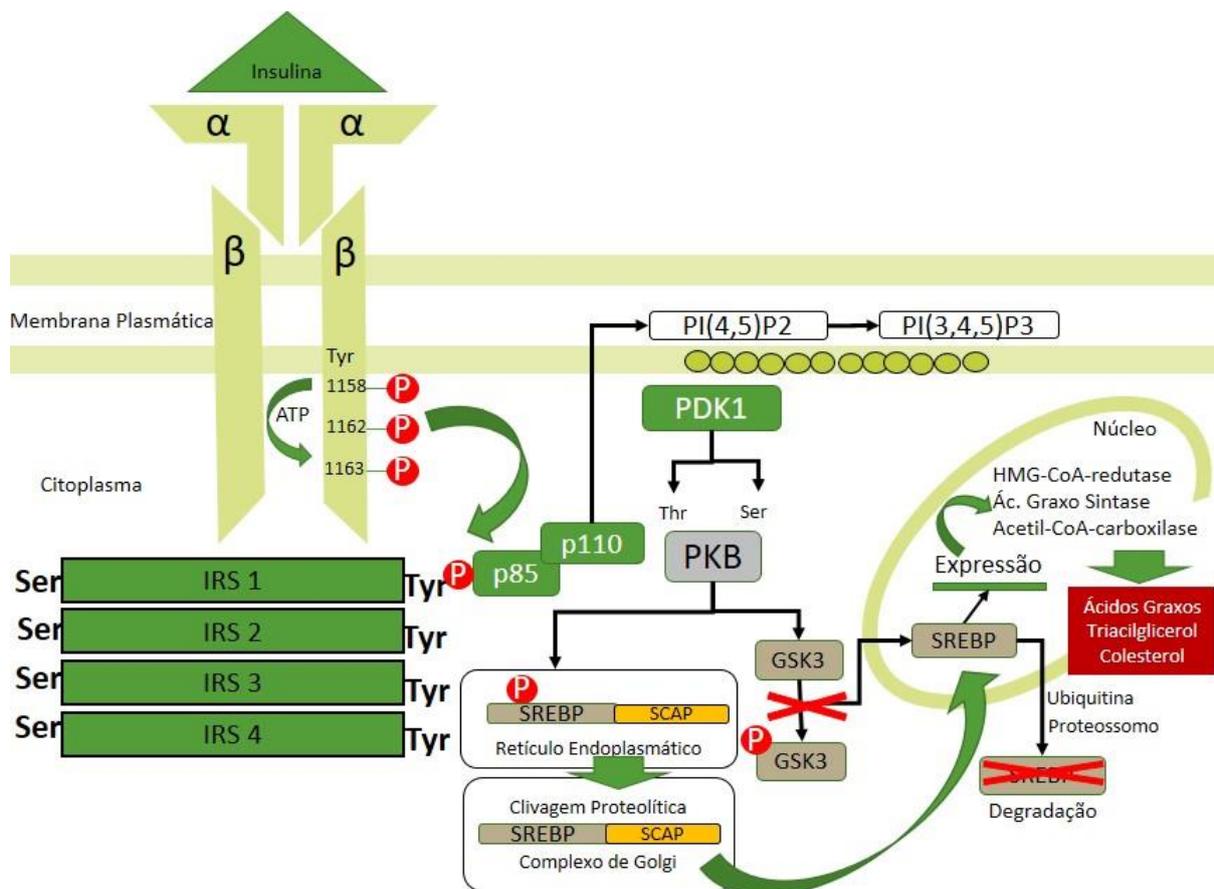
da SREBP-1c, com consequente acúmulo de proteína nuclear SREBP (JEON; OSBORNE, 2012).

Leavens et al., (2009) demonstrou que o desenvolvimento de esteatose hepática e ou acúmulo de lipídios no fígado está diretamente relacionado com a expressão gênica regulada pela Akt em ratos knockout para Akt2, a principal isoforma expressa no fígado. A SREBP na sua forma inativa encontra-se associada a proteína de ligação de clivagem (SCAP) no retículo endoplasmático, que por sua vez está retida a proteína induzida pelo gene da insulina (Insig-1) (EBERLÉ et al., 2004). Quando fosforilada pela Akt a SREBP associada a SCAP modula uma alteração conformacional da SCAP promovendo a translocação para o Complexo de Golgi. Posteriormente, irá sofrer duas clivagens proteolíticas promovendo a liberação do domínio amino terminal da SREBP que se transloca para o núcleo promovendo a expressão gênica das enzimas relacionadas com a síntese de lipídeos. Segundo Krycer et al., (2010) o mecanismo molecular preciso ainda é controverso e difere entre as isoformas de SREBP, entretanto, o mecanismo inclui um aumento no processamento assim como uma redução na sua degradação e é dependente da via IR/IRS/PI3K/Akt.

Dados recentes têm demonstrado que a redução nuclear da SREBP está relacionada com a GSK3. A GSK3 é capaz de fosforilar serina na isoforma madura da SREBP (Ser-432, -436 e -440), principalmente a SREBP-1 (BENGOECHEA-ALONSO; ERICSSON, 2009; KRYCER et al., 2010). A fosforilação cria sítios de *docking* para a ubiquitina ligase. A ubiquitina ligase é uma proteína de eucariotos, cuja função é marcar proteínas para que sejam degradadas por proteossomas na conhecida via proteolítica da ubiquitina-proteassoma (CALDEIRA et al., 2014). Como demonstrado anteriormente, a fosforilação e inativação da GSK3 pela Akt, além de regular a síntese de glicogênio e aumentar a expressão das SREBP, pode também prevenir a degradação da SREBP (Figura 5).

Por outro lado, um outro mecanismo de regulação está relacionado com a modificação covalente das enzimas HMG-CoA-redutase e acetil-CoA-carboxilase. Na presença do glucagon, as enzimas encontram-se na sua forma fosforilada (inativa) enquanto que na presença da insulina, as enzimas encontram-se na sua forma desfosforilada (ativa) (NELSON, 2011). A desfosforilação se dá através da fosfatase PP1 (fosfoproteína fosfatase). Esta mesma enzima é responsável por manter os níveis de glicogênio nos hepatócitos evitando a sua degradação e por proporcionar a desfosforilação da GS como descrito anteriormente na via IR/IRS/PI3K/Akt.

Figura 5- Regulação da síntese de lipídeos via IRS/PI3K/Akt/SREBP/SCAP. A fosforilação da SREBP madura pela GSK3 favorece a sua degradação pela via ubiquitina-proteossoma.



Fonte: Adaptado de CARVALHEIRA, ZECCHIN E SAAD (2002, p.420); KRYCER et al.(2010, p.271).

Em adipócitos a insulina também reduz a lipólise através da inibição da lipase hormônio sensível (HSL), que por meio da PI-3K/Akt estimula a atividade da AMP cíclico fosfodiesterase (PDE-3B), removendo o AMP cíclico e evitando a ativação da proteína quinase A (PKA), que por sua vez ativa a HSL (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002). Com a ativação desta via, a insulina exerce seu papel impedindo a mobilização e degradação de triacilgliceróis dos adipócitos para o tecido hepático e conseqüentemente favorecendo a síntese e secreção de lipoproteínas como a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) (SALWAY, 2009).

Outro mecanismo envolvendo a inativação da FOXO via fosforilação por Akt, têm demonstrado a diminuição de adiponectina em adipócitos. Sambasivarao e Sigmund, (2013) relataram que a ativação do gene da adiponectina é controlada pela SREBP. A adiponectina atua ativando a proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que aumenta a oxidação de ácidos graxos e inativa a acetil-CoA-carboxilase. Assim, sua diminuição plasmática sugere

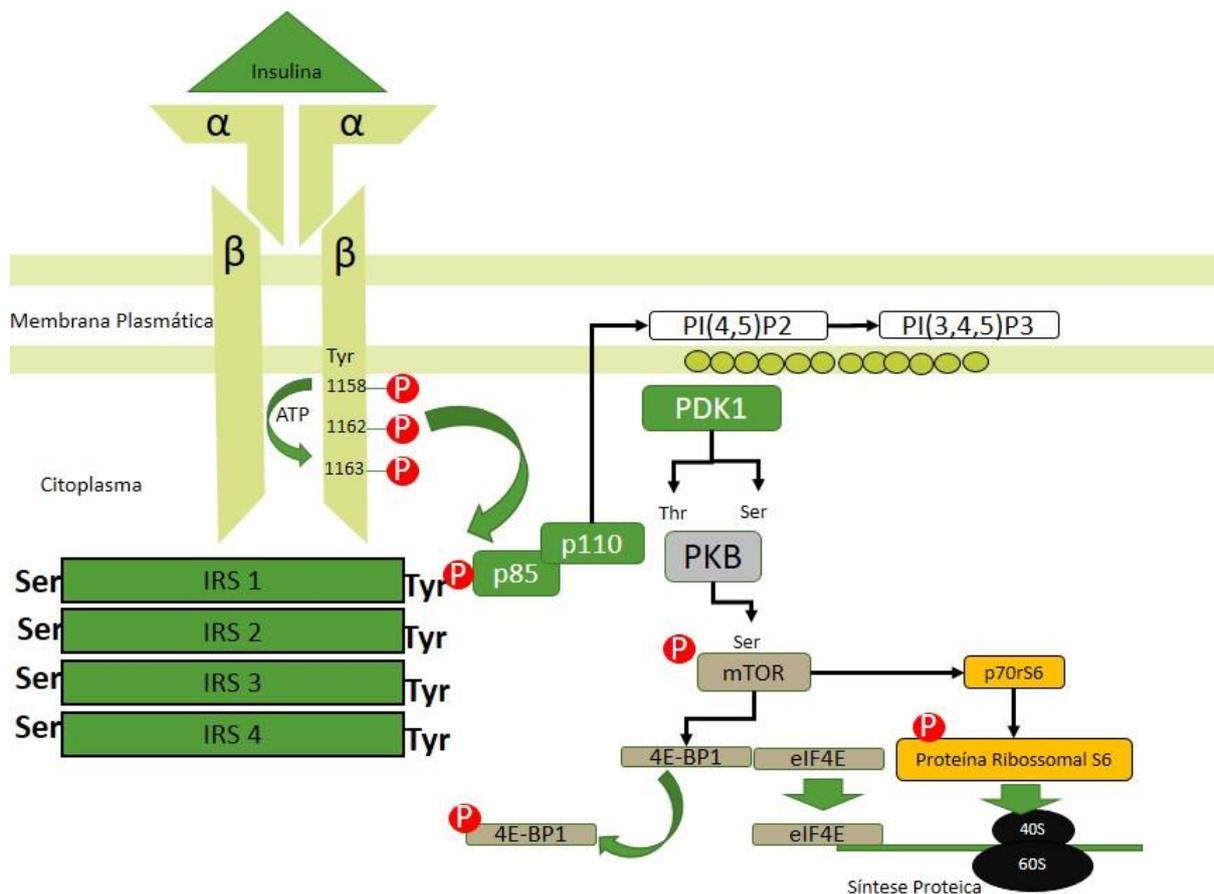
um efeito regulatório no catabolismo de ácidos graxos (ZAVODNIK et al., 2011; ZHANG et al., 2011).

9 REGULAÇÃO DA SÍNTESE DE PROTEÍNAS PELA INSULINA

Os efeitos anabólicos da insulina no metabolismo de proteínas ocorrem basicamente aumentando a sua síntese e diminuindo a sua degradação, através da ativação da proteína alvo de rampamicina de mamíferos, mTOR (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002). A síntese ribossomal de proteínas é catalisada em uma organela constituída por uma pequena subunidade chamada de 40S e uma subunidade maior chamada de 60S (ROUX et al., 2007). A proteína ribossomal S6 é um dos componentes da subunidade ribossomal 40S (DZAU; BRAUN-DULLAEUS; SEDDING, 2002; ROUX et al., 2007).

Acredita-se que a mTOR estimule a síntese proteica a partir de 3 proteínas regulatórias: p70^{s6k} (p70 *ribosomal S6 kinase*), 4E-BP1 (*eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1*) e eIF4G (*eukaryotic initiation factor 4G*)(RAUGHT; GINGRAS; SONENBERG, 2001). A p70^{s6k} promove a síntese ribossomal de proteínas através da fosforilação da proteína ribossomal S6 (DZAU; BRAUN-DULLAEUS; SEDDING, 2002; LAWRENCE JR. et al., 1997). A proteína ribossomal S6 possui um papel importante nas fases iniciais da tradução do sinal para a síntese de proteínas. Um outro mecanismo utilizado pela mTOR é a fosforilação da PHAS1 (Figura 6). A PHAS1 conhecida como proteína de ligação ao fator de tradução inicial de eucariotos (4E-BP1), se encontra associada ao fator de iniciação da tradução (eIF4E), inibindo a tradução da síntese de proteínas (ROUX et al., 2007; MA; BLENIS, 2009). Quando a PHAS1 é fosforilada em resposta a vários fatores, tais como a mTOR, ocorre a sua dissociação da eIF4E, favorecendo a tradução do mRNA e consequentemente a síntese proteica (MA; BLENIS, 2009; ROUX et al., 2007; RUVINSKY et al., 2005).

Figura 6- Regulação da síntese de proteínas via IRS/PI3K/Akt/mTOR. A fosforilação da 4E-BP1 promove a dissociação da eIF4E, favorecendo a tradução do mRNA.



Fonte: Adaptado de CARVALHEIRA, ZECCHIN E SAAD (2002, p.420); DZAU, BRAUN-DULLAEUS e SEDDING (2002, p.1253).

A via PI3K/Akt tem sido demonstrada como uma das principais e mais importantes vias de ativação da proteína mTOR para a síntese proteica (MIRON et al., 2001; SARBASSOV et al., 2005; LIMA, 2011; LEARY et al., 2013). A ativação da Akt promoverá a fosforilação em Ser 2448 da proteína mTOR e conseqüentemente a sua ativação (NAVE et al., 1999; ZHAO et al., 2010). Portanto a via de sinalização PI3K/Akt/mTOR está diretamente relacionada com os efeitos anabólicos da insulina no metabolismo de proteínas.

CONCLUSÃO

Fica evidente que as principais vias de sinalização intracelular utilizada pela insulina para mediar seus efeitos anabólicos são as vias IRS/PI3K/Akt e a IRS/MAPK. A síntese de proteínas, de lipídeos e de glicogênio, assim como a captação de glicose que irá fornecer um ambiente nutricional favorável, são os principais efeitos anabólicos observados pela ação da

insulina. Tecidos como o muscular são os responsáveis pela maior captação de glicose, enquanto que o hepático com a função chave na regulação da glicose e armazenamento na forma de glicogênio e o adiposo como principal reservatório de glicose na forma de triglicerídeos, podem ser considerados os tecidos mais relevantes para os efeitos metabólicos da insulina.

Embora tenham sido demonstradas rotas distintas e muitas vezes simplificadas de sinalização, a interconexão entre os sistemas em harmonia torna as vias de sinalização pela insulina um aglomerado de sinais tecido específico. Um grande exemplo são os RTK (ex. IR, EGF-R, PDGF-R), com estrutura e sequência similares e que quando ativados podem amplificar o sinal da insulina, possibilitando a integração de sinais de diversos receptores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ADAMO, M. et al. NUTRITIONAL STATES ON INSULIN RECEPTORS. **Annual Reviews of Biochemistry**, v. 8, p. 149 – 166, 1988.

BASIS, M. MOLECULAR BASIS OF INSULIN ACTION. **Annual Reviews of Biochemistry**, v. 46, p. 359 – 84, 1977.

BENGOECHEA-ALONSO, M. T.; ERICSSON, J. A phosphorylation cascade controls the degradation of active SREBP1. **The Journal of biological chemistry**, v. 284, n. 9, p. 5885–95, 2009.

BEUREL, E.; GRIECO, S. F.; JOPE, R. S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): Regulation, actions, and diseases. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 148, p. 114–131, 2015.

CALDEIRA, M. V. et al. Role of the ubiquitin–proteasome system in brain ischemia: Friend or foe? **Progress in Neurobiology**, v. 112, p. 50–69, 2014.

CAMPOREZ, J. P. G.; ALMEIDA, F. N.; MARÇAL, A. C. Efeitos do exercício físico sobre a via de sinalização da insulina. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 12, n. 2, p. 172–186, 2013.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivo brasileiro de endocrinologia metabólica.**, v. 46, n. 4, p. 419–425, 2002.

CARVALHO-FILHO, M. A. DE et al. Cross-talk das vias de sinalização de insulina e angiotensina II: implicações com a associação entre diabetes mellitus e hipertensão arterial e doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 2, p. 195–203, 2007.

CHENG, Z.; TSENG, Y.; WHITE, M. F. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism.

- Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 10, p. 589–598, 2010.
- CHONG, H.; VIKIS, H. G.; GUAN, K.-L. Mechanisms of regulating the Raf kinase family. **Cellular Signalling**, v. 15, n. 5, p. 463–469, 2003.
- CL, M. **Entendendo a Regulação da Glicose no Corpo**. [s.l.: s.n.].
- COBO, J. A.; BONETT, A. M. **Fator FOXO e sinalização nutricional na reprodução de**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2008.
- DZAU, V. J.; BRAUN-DULLAEUS, R. C.; SEDDING, D. G. Vascular proliferation and atherosclerosis: new perspectives and therapeutic strategies. **Nature Medicine**, v. 8, n. 11, p. 1249–1256, 2002.
- EBERLÉ, D. et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. **Biochimie**, v. 86, n. 11, p. 839–848, 2004.
- GOALSTONE, M. L.; DRAZNIN, B. Conferences and Reviews Insulin Signaling Insulin Signaling. **Conferences and Reviews**, v. 167, n. 3, p. 166–173, 1997.
- GUAL, P.; LE MARCHAND-BRUSTEL, Y.; TANTI, J.-F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. **Biochimie**, v. 87, n. 1, p. 99–109, 2005.
- GUAN, K. L. et al. Negative regulation of the serine/threonine kinase B-Raf by Akt. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 35, p. 27354–27359, 2000.
- HABER, E. P. et al. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 3, p. 219–227, 2001.
- HAGEN, R. M.; RODRIGUEZ-CUENCA, S.; VIDAL-PUIG, A. An allostatic control of membrane lipid composition by SREBP1. **FEBS Letters**, v. 584, n. 12, p. 2689–2698, 2010.
- JEON, T.-I.; OSBORNE, T. F. SREBPs: metabolic integrators in physiology and metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 23, n. 2, p. 65–72, 2012.
- KIM, J.-G. et al. Luminescence and crystal field parameters of the Na₃[Eu(DPA)₃]·12H₂O complex in a single crystalline state. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 274, n. 1-2, p. 1–9, 1998.
- KONG, K. et al. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. **National institutes of Health**, v. 493, n. 7431, p. 241–245, 2014.
- KRYCER, J. R. et al. The Akt–SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 5, p. 268–276, 2010.
- LAWRENCE JR., J. C. et al. PHAS proteins as mediators of the actions of insulin, growth factors and cAMP on protein synthesis and cell proliferation. **Adv Enzyme Regul**, v. 37, p.

239–267, 1997.

LEAL, A. D. C. et al. Mutações no gene do receptor do fator de crescimento insulina-símile 1 (IGF1R) como causa de retardo do crescimento pré- e pós-natal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, n. 8, p. 541–549, 2011.

LEARY, A. et al. The PI3K / Akt / mTOR Pathway in Ovarian Cancer : Biological Rationale and Therapeutic Opportunities. In: **Ovarian Cancer - A Clinical and Translational Update**. [s.l: s.n.]. p. 275 – 301.

LEAVENS, K. F. et al. Akt2 Is Required for Hepatic Lipid Accumulation in Models of Insulin Resistance. **Cell Metabolism**, v. 10, n. 5, p. 405–418, 2009.

LEITE, C. A. V. G.; CALLADO, R. B.; RIBEIRO, R. A. Receptores tirosina-quinase : implicações terapêuticas no câncer. **revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 8, n. 29, p. 130–142, 2012.

LEMMON, M. A.; SCHLESSINGER, J. Review Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. **Cell**, v. 141, p. 1117–1134, 2010.

LIMA-SILVA, A. E. et al. Metabolismo do glicogênio muscular durante o exercício físico: Mecanismos de regulação. **Revista de Nutricao**, v. 20, n. 4, p. 417–429, 2007.

LOWENSTEIN, E. J. et al. The SH2 and SH3 domain-containing protein GRB2 links receptor tyrosine kinases to ras signaling. **Cell**, v. 70, n. 3, p. 431–442, 1992.

MA, X. M.; BLENIS, J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 10, n. 5, p. 307–318, 2009.

MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D.; SERAPHIM, P. M. Transportadores de Glicose na S'índrome Metab—lica. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 50, n. 2, p. 177–189, 2006.

MALHEIROS, S. V. Regulação do metabolismo celular - um resumo. **Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular**, n. 01, p. 1–7, 2006.

MANUSCRIPT, A.; SIGNALING, I. Insulin Signaling, Resistance, and the Metabolic Syndrome: Insights from Mouse Models to Disease Mechanisms. **Journal of Endocrinology**, v. 220, n. 2, p. 1–36, 2014.

MARINHO, R. et al. Effects of different intensities of physical exercise on insulin sensitivity and protein kinase B/Akt activity in skeletal muscle of obese mice. **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v. 12, n. 1, p. 82–89, 2014.

MATUOKA, K. et al. Cloning of ASH, a ubiquitous protein composed of one Src homology region (SH) 2 and two SH3 domains, from human and rat cDNA libraries. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 19, p. 9015–9019,

1992.

MÎINEA, C. P. et al. AS160, the Akt substrate regulating GLUT4 translocation, has a functional Rab GTPase-activating protein domain. **The Biochemical journal**, v. 391, n. Pt 1, p. 87–93, 2005.

MIRON, M. et al. The translational inhibitor 4E-BP is an effector of PI(3)K/Akt signalling and cell growth in *Drosophila*. **Nature cell biology**, v. 3, n. 6, p. 596–601, 2001.

MISEREZ, A. R. et al. Sterol-regulatory element-binding protein (SREBP)-2 contributes to polygenic hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis**, v. 164, n. 1, p. 15–26, 2002.

NADEEM, R. I.; AHMED, H. I.; EL-DENSHARY, E.-E.-D. S. Effect of Imipramine, Paroxetine, and Lithium Carbonate on Neurobehavioral Changes of Streptozotocin in Rats: Impact on Glycogen Synthase Kinase-3 and Blood Glucose Level. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 9, p. 1810–1818, 2015.

NAVE, B. T. et al. Mammalian target of rapamycin is a direct target for protein kinase B: identification of a convergence point for opposing effects of insulin and amino-acid deficiency on protein translation. **Biochem Journal**, v. 344 Pt 2, p. 427–431, 1999.

RAMACHANDRAN, V.; SARAVANAN, R. Glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/Akt signaling pathway by asiatic acid in diabetic rats. **Human & Experimental Toxicology**, v. 34, n. 9, p. 884–893, 2015.

RAMALINGAM, L.; OH, E.; THURMOND, D. C. Novel roles for insulin receptor(IR) in Adipocytes and Skeletal Muscle Cells Via New and Unexpected Substrates. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 70, n. 16, p. 2815–2834, 2014.

RAUGHT, B.; GINGRAS, A. C.; SONENBERG, N. The target of rapamycin (TOR) proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 13, p. 7037–7044, 2001.

RAYASAM, G. V. et al. Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. **British Journal of Pharmacology**, v. 156, n. 6, p. 885–898, 2009.

ROACH, P. J. et al. Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. **Biochemical Journal**, v. 441, n. 3, p. 763–787, 2012.

ROSKOSKI, R. RAF protein-serine/threonine kinases: Structure and regulation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 399, n. 3, p. 313–317, 2010.

ROUX, P. P. et al. RAS/ERK signaling promotes site-specific ribosomal protein S6 phosphorylation via RSK and stimulates cap-dependent translation. **The Journal of biological chemistry**, v. 282, n. 19, p. 14056–64, 2007.

- RUVINSKY, I. et al. Ribosomal protein S6 phosphorylation is a determinant of cell size and glucose homeostasis. **Genes and Development**, v. 19, n. 18, p. 2199–2211, 2005.
- SAMBASIVARAO, S. V; HUNG, M.-C. Deciphering the Role of Forkhead Transcription Factors in Cancer Therapy. **Current Drug Target**, v. 18, n. 9, p. 1199–1216, 2013.
- SAMBASIVARAO, S. V; SIGMUND, C. D. Id3, E47 and SREBP-1c: Fat Factors Controlling Adiponectin Expression. **Circulation Research**, v. 18, n. 9, p. 1199–1216, 2013.
- SARBASSOV, D. D. et al. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. **Science (New York, N.Y.)**, v. 307, n. 5712, p. 1098–1101, 2005.
- SCHEEPERS, A.; JOOST, H.-G.; SCHÜRMAN, A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. **Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 28, n. 5, p. 364–371, 2004.
- SHIMOMURA, I. et al. Differential expression of exons 1a and 1c in mRNAs for sterol regulatory element binding protein-1 in human and mouse organs and cultured cells. **The Journal of clinical investigation**, v. 99, n. 5, p. 838–45, 1997.
- SHIMOMURA, I. et al. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 24, p. 13656–13661, 1999.
- SMITH, T. M. et al. IGF-1 induces SREBP-1 expression and lipogenesis in SEB-1 sebocytes via activation of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. **The Journal of investigative dermatology**, v. 128, n. 5, p. 1286–93, 2008.
- STEPHENS, L. et al. Protein kinase B kinases that mediate phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-dependent activation of protein kinase B. **Science**, v. 279, n. 5351, p. 710–714, 1998.
- STOKOE, D. et al. Dual Role of Phosphatidylinositol-3 , 4 , 5- trisphosphate in the Activation of Protein Kinase B. **Science**, v. 277, p. 567–570, 1997.
- THOMPSON, K. N. et al. The combinatorial activation of the PI3K and Ras / MAPK pathways is sufficient for aggressive tumor formation , while individual pathway activation supports cell persistence. **Oncotarget**, p. 1 – 15, 2015.
- WANG, Y.; ZHOU, Y.; GRAVES, D. T. FOXO transcription factors: Their clinical significance and regulation. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1 – 13, 2014.
- WEI, Y. et al. Angiotensin II-induced NADPH oxidase activation impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 46, p. 35137–35146, 2006.

WIMMER, R.; BACCARINI, M. Partner exchange: protein–protein interactions in the Raf pathway. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 35, n. 12, p. 660–668, 2010.

ZAVODNIK, I. B. et al. Diabetes mellitus: Metabolic effects and oxidative stress.

Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, v. 5, n. 2, p. 101–110, 2011.

ZHANG, X. et al. Akt, FoxO and regulation of apoptosis. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1813, n. 11, p. 1978–1986, 2011.

ZHAO, J. et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR) regulates TLR3 induced cytokines in human oral keratinocytes. **Molecular immunology**, v. 48, n. 1-3, p. 294–304, 2010.