DANIELLA ESTEVES DUQUE GUIMARÃES

CÉLULA MUSCULAR ESQUELÉTICA RESISTENTE À INSULINA APRESENTA RESPOSTA ALTERADA À IL-6 NO METABOLISMO DE CARBOIDRATO, MAS NÃO NO DE LIPÍDIO

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

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Ubiratan Fabres Machado

Versão corrigida: A versão original encontra-se arquivada no setor de comunicação do ICB.

São Paulo
2012

RESUMO

Duque-Guimarães DE. Célula muscular esquelética resistente à insulina apresenta resposta alterada à IL-6 no metabolismo de carboidrato, mas não no de lipídio. [Tese (Doutorado em Fisiologia Humana)] São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2012.

Em geral, o desenvolvimento da resistência à insulina está associado à ativação crônica de vias inflamatórias. A interleucina-6 (IL-6) possui uma dupla função na modulação da sensibilidade à insulina com evidências indicando tanto aumento como redução na ação da insulina. Além disso, a IL-6 também é produzida e secretada pelo músculo esquelético durante o exercício, onde é geradora de um imediato e positivo efeito na sensibilidade à insulina. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito da exposição de IL-6 durante 1 hora e 24 horas no metabolismo energético de células musculares esqueléticas resistentes à insulina. Em cultura primária de células musculares de indivíduos saudáveis, 1 hora de exposição à IL-6 aumentou a síntese de glicogênio e a captação de glicose, o que não foi observado em células musculares de indivíduos diabéticos tipo 2, e parece envolver as proteínas Jak2 e Stat3. Diferentemente, a IL-6 aumentou a oxidação de ácido graxo em células de ambos os grupos, saudáveis e diabéticos tipo 2. Em células musculares da linhagem L6, a IL-6 durante 24 horas reduziu a síntese de glicogênio e a captação de glicose em condições normais, o que não foi observado em células induzidas à resistência à insulina por exposição ao palmitato. Estas respostas parecem estar relacionadas à redução na fosforilação induzida pela IL-6 da Jak2, Stat3 e Akt. No entanto, no metabolismo lipídico, a IL-6 aumentou oxidação de ácido graxo tanto em células L6 normais como resistentes à insulina, o que pode estar relacionado com o aumento da fosforilação de ACC observado. Sendo assim, o presente estudo demonstra que em células musculares normais a IL-6 induz efeitos opostos no metabolismo de carboidratos, de acordo com o tempo de exposição: a utilização de glicose aumenta após 1 hora, mas diminui após 24 horas; porém, no metabolismo lipídico a IL-6 aumenta a oxidação de ácido graxo tanto em 1 como em 24 horas. Por outro lado, os resultados evidenciam que células musculares resistentes à insulina são parcialmente resistentes à IL-6: nestas células o efeito da IL-6 está abolido no metabolismo de carboidrato, enquanto permanece efetivo no metabolismo lipídico.

Palavras-chaves: IL-6. Metabolismo. Músculo esquelético. Resistência à insulina.

ABSTRACT

Duque-Guimarães DE. Insulin-resistant skeletal muscle cell shows altered response to IL-6 on carbohydrate metabolism but not on lipid metabolism. [Ph.D. Thesis (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2012.

Chronic activation of inflammatory pathways triggers insulin resistance. Interleukin 6 (IL-6) has a dual role in modulating insulin sensitivity with evidence for this cytokine as both an enhancer and inhibitor of insulin action. IL-6 is produced and secreted by skeletal muscle during exercise, and has a positive effect on skeletal muscle insulin sensitivity. Thus, the aim of this study was to investigate the effect of IL-6 exposure for 1 hour and 24 hours on energy metabolism of insulin-resistant skeletal muscle cells. In primary cultured skeletal muscle cells from healthy individuals, 1 hour of exposure to IL-6 increased glycogen synthesis and glucose uptake, which was not observed in skeletal muscle cells of type 2 diabetic subjects, and appears to involve JAK2 and STAT3 proteins. In contrast, IL-6 increased fatty acid oxidation in cells from both groups, healthy and type 2 diabetes. On the other hand, in skeletal muscle cell line L6, IL-6 for 24 hours reduced glycogen synthesis and glucose uptake in normal conditions, which was not observed in insulin-resistant L6 cells. These responses seem to be related to a decrease in phosphorylation induced by IL-6 of Jak2, Stat3, and Akt. In contrast, on lipid metabolism, IL-6 increased fatty acid oxidation in both normal and insulin-resistant L6 cells, which may be related to increased phosphorylation of ACC observed. Therefore, this study demonstrates, in normal skeletal muscle cells, IL-6 induces opposite effects on the glucose metabolism, according to the time of exposure: the glucose utilization increases after 1 hour, but decreases after 24 hours, but on lipid metabolism, IL-6 increases fatty acid oxidation both in 1 hour and in 24 hours. On the other hand, the results suggest that insulin-resistant skeletal muscle cells are partially resistant to IL-6. On these cells, the effect of IL-6 is abolished on the glucose metabolism, while remaining effective on lipid metabolism.

Key words: Interleukin-6. Metabolism. Skeletal muscle. Insulin resistance.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes Mellitus

Uma epidemia de diabetes mellitus (DM) está em curso. Aproximadamente 7% da população entre 20 e 79 anos de idade têm a doença atualmente, e 70% dessas pessoas vivem em países em desenvolvimento. Em países desenvolvidos representa a quarta principal causa de morte. Estimativas indicam que em 2030, 438 milhões de pessoas da população adulta estarão com diabetes mellitus (IDF, 2009).

O aumento da prevalência de diabetes representa um grave problema para a saúde humana, pois propicia o desenvolvimento de sérias complicações como a nefropatia, retinopatia, neuropatia e doenças cardiovasculares (ADA, 2006). Além disso, o diabetes tem um custo econômico muito elevado para a sociedade de todos os países atingidos (Brandle et al, 2003; Hogan et al, 2003).

O diabetes mellitus é conhecido como uma desordem metabólica de múltipla etiologia caracterizada por crônica hiperglicemia com distúrbios no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, decorrentes de defeitos na secreção e/ou ação da insulina (WHO, 1999).

Muitos fatores são conhecidos por contribuir para o desenvolvimento do diabetes mellitus e suas complicações. Estão incluídos nessa lista, fator perinatal, genético, dietético, estilo de vida, idade e obesidade (Singh et al, 2004). Pesquisas demonstram que o desencadeamento de um contexto inflamatório também está envolvido no desenvolvimento da doença e seus desdobramentos. Processos inflamatórios são associados com diabetes tipo 1 e tipo 2, apesar de etiologia distinta entre os dois tipos de diabetes (CDC, 2005). Diabetes tipo 1 é frequentemente desenvolvido na infância ou juventude e surge a partir de uma destruição autoimune das células das ilhotas pancreáticas levando a perda da produção de insulina (Gross et al, 2002). De outro modo, o diabetes tipo 2 é a forma mais comum da doença e ocorre principalmente em adultos, embora a prevalência em pessoas jovens esteja aumentando em conjunto com a obesidade infantil. A maioria dos indivíduos com essa forma de diabetes é obesa e, em geral, o excesso de peso torna-se um importante fator causador ou responsável pelo agravamento da doença. O Diabetes tipo 2 é caracterizado por uma desordem na secreção e/ou ação da insulina. Em geral, em indivíduos diabéticos do tipo 2 a secreção de insulina é insuficiente para compensar a resistência à insulina, ou mesmo para atender uma ação insulínica essencialmente normal (Hamman, 1992; Ozcan et al, 2004; Tuomilehto et al, 2001).

1. 2 Fisiopatologia do Diabetes Mellitus tipo 2

Para uma melhor compreensão da fisiopatologia do Diabetes tipo 2, torna-se importante o conhecimento dos mecanismos fisiológicos envolvidos na regulação da homeostase glicêmica.

De acordo com a literatura, a glicemia, definida como a concentração de glicose no sangue, é estabelecida pela razão de entrada e remoção da glicose da circulação. Essa concentração de glicose no sangue é derivada principalmente de três fontes: 1) absorção intestinal após a alimentação; 2) efluxo hepático de glicose decorrente da glicogenólise (degradação das reservas de glicogênio hepático) e da gliconeogênese (síntese de glicose principalmente a partir de substratos não glicídicos como lactato, aminoácidos e glicerol); e 3) captação de glicose por todos os tipos celulares do organismo (Machado et al, 2008).

Durante as primeiras 8-12 horas de jejum, a glicogenólise representa o principal mecanismo envolvido na disponibilidade de glicose na circulação. O aumento da concentração de glucagon, e a diminuição dos níveis de insulina facilitam esse processo e promovem o aparecimento da glicose na circulação. Em períodos mais longos de jejum, o principal mecanismo que mantém a glicemia é a gliconeogênese, processo que ocorre predominantemente no fígado, mas também no rim, e também induzido pela diminuição da insulina e pelo aumento do glucagon. Assim, insulina e glucagon são potentes reguladores do metabolismo da glucose. Além da insulina e glucagon, outros hormônios glicoreguladores como amilina, peptídeo semelhante ao glucagon tipo 1 (GLP-1), polipeptídeo liberador de insulina dependente de glicose (GIP), epinefrina, cortisol e hormônio do crescimento (GH) também participam do controle das concentrações de glicose em uma estreita faixa de variação (Cryer, 1992).

A insulina é um hormônio polipeptídico anabólico produzido pelas células beta do pâncreas, cuja síntese e secreção ocorrem principalmente com o aumento dos níveis circulantes de glicose após as refeições. Sinais neurais autonômicos indicativos da ingestão de carboidratos e alimentação rica em aminoácidos são fatores que também ativam a secreção de insulina. Nesse contexto encontram-se também as incretinas, que são hormônios produzidos pelo trato gastrointestinal na presença de nutrientes. O GIP e o GLP-1 são as duas principais incretinas e, dessa forma, possuem função primordial no estímulo e biossíntese de insulina de modo dependente de glicose (Girard, 2008). A insulina age em vários tecidos periféricos, especialmente em músculo, fígado e tecido adiposo. Seus efeitos metabólicos imediatos incluem: aumento da captação de glicose, principalmente no tecido muscular e

adiposo, aumento da síntese de proteínas, triglicerídeo e glicogênio, bem como bloqueio da produção hepática de glicose (via diminuição da gliconeogênese e glicogenólise), da lipólise e da proteólise. Além disso, a insulina tem efeitos tardios na expressão de genes e síntese protéica, assim como na proliferação e na diferenciação celulares. Outras funções da insulina incluem o aumento da produção de óxido nítrico no endotélio, a inibição da apoptose e aumento da sobrevida celular (Joshi et al, 2007; Rasmussen et al, 1990).

No período pós-prandial, hormônios intestinais, como o GLP-1, são liberados e estimulam a secreção de insulina pelo pâncreas e inibem o esvaziamento gástrico, além de suprimir a liberação de glucagon. Essa elevação na razão insulina/glucagon, combinada à participação do sistema nervoso central em resposta a sinais periféricos (como os hormonais), reduz a produção endógena de glicose pelo fígado e estimula a captação de glicose pelos tecidos periféricos como o músculo esquelético e tecido adiposo. Esse conjunto de respostas fisiológicas limita o aumento da glicemia pós-prandial e favorece o retorno da glicemia ao valor basal (Sandoval et al, 2009).

No diabetes mellitus tipo 2, a função da células beta pancreática está alterada no estado pós-prandial, o que é evidenciado pela perda da resposta rápida da secreção de insulina após uma refeição. Ocorre também uma resistência periférica à ação da insulina. Assim, a fisiopatologia do diabetes tipo 2 passa a ser caracterizada pela combinação de uma série de fatores que incluem a resistência à insulina no fígado, músculo e tecido adiposo, um progressivo declínio da massa e da função das células beta pancreáticas e um defeito na supressão dos níveis de glucagon, aumentando a produção hepática de glucose (Aronoff et al, 2004).

1.3 Resistência Periférica à Insulina

Em condições fisiológicas, a glicemia se mantém constante com pequenas variações entre jejum e estado alimentado. Essa limitada faixa de variação é mantida por um delicado balanço entre sensibilidade à insulina e sua secreção.

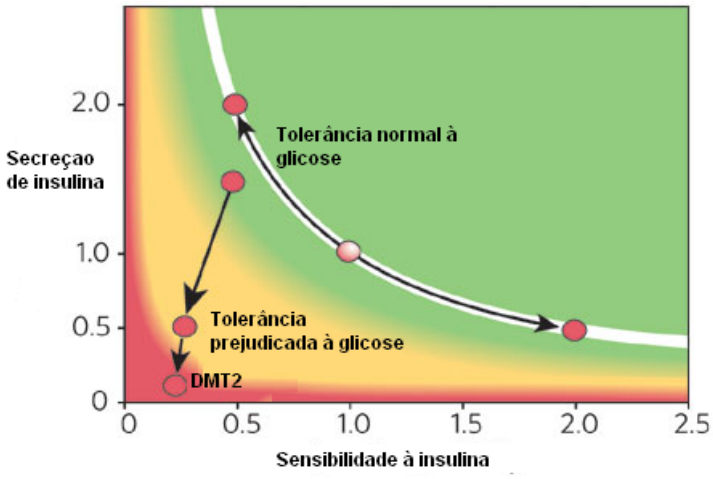
A resistência à insulina é definida como a incapacidade dos tecidos periféricos alvos da insulina responderem normalmente às concentrações circulantes desse hormônio, resultando assim em uma diminuição da ação biológica do hormônio nesses tecidos. Como consequência, as células beta pancreáticas aumentam sua capacidade secretória, a fim de evitar a hiperglicemia. Após esse período de compensação, em geral, ocorre o desenvolvimento da intolerância a glicose apesar da elevada concentração de insulina

plasmática. A sobrecarga da função secretória das células beta do pâncreas desencadeia a falência dessas células, a qual resulta na diminuição da secreção de insulina. Esse processo está fortemente relacionado com o desenvolvimento do diabetes tipo 2, o qual é o resultado da combinação desses dois fatores: resistência à insulina e prejuízo da função secretória das células beta do pâncreas (figura 1) (Kahn et al, 2006; Petersen, Shulman, 2002).

A maioria dos estudos sugere que a resistência à insulina seja o resultado de defeitos na sinalização insulínica. Tratando-se de ações celulares, a resistência insulínica pode ser atribuída à diminuição do número de receptores ou sua afinidade pela insulina, alterações na transdução do sinal pelo receptor, alterações no processo de fosforilação de proteínas envolvidas na sinalização e alterações em outros eventos citoplasmáticos pós-receptor. Redução na atividade do receptor tirosina cinase e no transporte de glicose, diminuição da atividade da glicogênio sintase e do estímulo da piruvato desidrogenase são alguns desses eventos que podem ocorrer durante o processo do desenvolvimento e instalação da resistência a insulina (Pessin, Saltiel, 2000; Petersen, Shulman, 2006).

Diversos outros fatores também são descritos como relacionados ao desenvolvimento da resistência à insulina, incluindo alterações gênicas (Mercado et al, 2002), aumento na produção das espécies reativas de oxigênio (Houstis et al 2006), estresse do retículo endoplasmático (Nakatani et al, 2005) e inflamação em adipócitos associada ao aumento da secreção de adipocinas (citocinas secretadas pelo tecido adiposo) pró-inflamatórias. Além disso, o excesso de tecido adiposo gera um aumento de ácidos graxos livres na corrente sanguínea. A alteração no padrão de secreção dos adipócitos causa prejuízos diretos em tecidos periféricos dependentes de insulina como o músculo e o fígado (Scherer, 2006; Wellen, Hotamisligil, 2005).

Figura 1 - Relação entre sensibilidade insulínica e secreção de insulina pelas células β do pâncreas



Fonte: Adaptado Kahn et al (2006).

1.4 Ácidos Graxos e Resistência à Insulina

Ácidos graxos são uma importante fonte de energia para muitos tecidos, incluindo o músculo esquelético, o qual é também indicado como o principal sítio de manifestação da resistência à insulina. Em geral, indivíduos com alto risco de desenvolver diabetes tipo 2 e modelos experimentais de resistência à insulina (induzido por dieta) apresentam uma elevada concentração de ácidos graxos livres na circulação (Shafrir, Raz, 2003). Além disso, a resistência à insulina, sistêmica ou muscular, pode se desenvolver também em indivíduos saudáveis após uma aguda elevação na concentração de ácidos graxos causada por infusão intralípidica (Kraegen et al, 2001).

Há mais de 50 anos, Randle e colaboradores demonstraram, utilizando coração e diafragma de rato, que ácidos graxos podem induzir resistência insulínica através do ciclo glicose-ácido graxo. Eles hipotetizaram que o aumento na oxidação de ácidos graxos causado por elevação intramitocondrial das razões de acetil-coa/coa e NADH/NAD+, com subsequente inativação da piruvato desidrogenase resulta em aumento das concentrações de citrato intracelular que inibem assim a atividade da fosfofrutoquinase, a enzima chave no controle da glicólise. Isso leva ao aumento da concentração da glicose-6-fosfato que, em seguida, inibe a atividade da hexoquinase II, resultando em uma aumentada concentração de glicose intracelular e com isso, redução na captação de glicose (Randle et al, 1963). Entretanto, Shulman e colaboradores apontaram que o principal fator para o desenvolvimento da resistência à insulina causada por excesso de ácido graxo é o acúmulo intracelular de

lipídios e seus intermediários como diacilglicerol ou ceramidas em órgãos como o músculo e o fígado (Perseghin et al, 2003; Roden et al, 1996).

A literatura demonstra que aumento de diacilglicerol provoca ativação da PKC-θ e PKC-ε em músculo e fígado, respectivamente, o que resulta em diminuição da fosforilação em tirosina de IRS1/IRS2 e redução na atividade de PI3K, prejudicando assim a cascata de sinalização da insulina. No músculo, essas alterações geram diminuição na utilização de glicose (síntese de glicogênio) pela reduzida translocação do transportador de glicose (GLUT4) para a membrana plasmática em resposta à insulina. Similarmente, no fígado, a consequência aparece na diminuição da síntese do glicogênio hepático devido a redução na atividade da glicogênio sintase, além de aumento da gliconeogênese (Erion, Shulman, 2010).

Além disso, a proteína PKC é conhecida como ativadora da via inflamatória do IKK/IκB/NFκB, a qual está relacionada à perda de sensibilidade à insulina em tecidos como adiposo, muscular e hepático (Barma et al, 2009). Em geral, NFkB permanece no citoplasma ligado ao inibidor proteico IkB. A ativação dessa via ocorre através da fosforilação de IkB por IKK, que ao ser fosforilado torna-se susceptível a sua degradação e assim desliga-se do NFKB. Com isso, o fator de transcrição NFkB é liberado para o núcleo onde regula a expressão de diversos genes que participam do processo inflamatório, atua como repressor da transcrição gênica de GLUT4 (Silva et al, 2005) e participa de *cross-talk* com outros fatores transcricionais como o PPARγ, o qual regula a transcrição de genes relacionados à manutenção da sensibilidade a insulina e homeostase energética (Remels et al, 2009).

1.5 Músculo Esquelético e Resistência à Insulina

O músculo esquelético é quantitativamente o mais importante tecido envolvido na captação de glicose por estímulo da insulina, sendo de grande importância na manutenção da glicemia pós prandial (DeFronzo et al, 1981), além de ser o principal sítio de resistência à insulina em indivíduos diabéticos tipo 2 (Petersen, Shulman, 2002).

De acordo com a literatura, há uma relação entre a proporção do tipo de fibra muscular e condições como a obesidade, resistência à insulina e/ou hipertensão. Em humanos, assim como na maioria dos mamíferos, o músculo esquelético é composto de ambos os tipos de fibra, oxidativa (de contração lenta) e glicolítica (de contração rápida). As fibras do tipo oxidativa são mais sensíveis e responsivas à insulina que as fibras glicolíticas. Além disso, as fibras de contração lenta são caracterizadas pela alta capacidade oxidativa e baixo potencial glicolítico, comparadas às fibras de contração rápida. Considerando essas

diferenças metabólicas, torna-se mais clara a compreensão sobre como alterações do tipo de fibra muscular podem contribuir para o fenótipo do diabetes. Por outro lado, estudos revelam que a distribuição do tipo de fibra muscular é bastante heterogênea entre indivíduos, e que fatores genéticos e ambientais (como o grau de atividade contrátil) são determinantes para o estabelecimento da composição do músculo esquelético (Jensen et al, 2007; Oberbach et al, 2006; Tanner et al, 2002).

O transporte de glicose do meio extracelular para o intracelular pelas células musculares é o ponto crítico para a captação de glicose. As proteínas que medeiam esse processo pertencem à classe dos transportadores de glicose (GLUT) e são responsáveis por transferir a glicose a favor do seu gradiente de concentração, por difusão facilitada. Os GLUTs foram descritos na literatura como essenciais para a manutenção da homeostase glicêmica, e no tecido muscular essa ação é mediada pelos GLUT1 e GLUT4. O GLUT1 é descrito como a isoforma responsável pelo transporte de glicose no estado basal enquanto a isoforma GLUT4 aumenta o transporte de glicose em resposta à insulina e contração (Krammer et al, 2006; Marshall 2001; Martin et al, 2006).

No estado de repouso, a maior quantidade de GLUT4, isoforma sensível à ação da insulina, está estocada em vesículas intracelulares e após estímulo é agudamente translocado para a membrana plasmática. (Machado, 1998; Kahn, 1996). Esse mecanismo é de fundamental importância no aumento da captação de glicose no período pós-prandial (Slot et al, 1991).

A ligação da insulina ao seu receptor aciona a transdução do sinal insulínico através do qual este hormônio exerce seus efeitos biológicos nas células, induzindo o deslocamento das vesículas para a superfície celular, e aumentando a quantidade de GLUT4 na membrana plasmática.

O receptor da insulina (IR) pertence a uma família de receptores de fatores de crescimento. É uma glicoproteína de membrana composta por duas sub-unidades alfa e duas sub-unidades beta ligadas por pontes dissulfeto. A insulina liga-se à sub-unidade alfa, extracelular, levando a uma alteração conformacional que retira a ação inibitória da unidade alfa sobre a unidade beta, a qual se autofosforila em resíduos de tirosina. Uma vez ativa, a sub-unidade beta fosforila substratos do receptor de insulina (IRS), que contém múltiplos sítios de fosforilação em tirosina. Pelo menos 12 substratos para o IR já foram identificados (IRS1 a 6, Gab-1, Shc 1 a 3, p62, APS), sendo IRS-1 e IRS-2 os mais diretamente relacionados à resistência à insulina (Björnholm, Zierath 2005).

Os IRSs fosforilados associam-se a PI3K (fosfatidil inositol -3 quinase), uma proteína que participa de forma importante na translocação do transportador de glicose (GLUT4) para a superfície da célula. A PI3K é formada por uma subunidade regulatória, fosforilada pelo IRS, e uma subunidade catalítica, que fosforila fosfatidil-inositóis (PI) de membrana, formando fosfatidil-inositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), que faz regulação alostérica de PDK (kinase dependente de fosfoinositídio). Essa, por sua vez, fosforila PKC (proteína kinase C atípica) e PKB (proteína kinase B ou Akt), as quais também podem interagir diretamente com IRS-1. A fosforilação do substrato de Akt (AS160) facilita a translocação de GLUT4 para a membrana, auxiliando a entrada de glicose na célula. Assim, a glicose intracelular é rapidamente fosforilada pela hexoquinase e direcionada para as vias oxidativas ou de síntese. Portanto, a ativação da via IRS-PI3K-AKT torna-se crucial para a manutenção do metabolismo da glicose no músculo esquelético (Björnholm, Zierath 2005). Estudos demonstram que outras vias de sinalização intracelular podem interferir nesta via clássica de sinalização da insulina, gerando uma resposta diminuída do músculo esquelético à insulina, contribuindo para o desenvolvimento da resistência insulínica sistêmica.

Por outro lado, diversos mecanismos têm sido propostos para explicar o transporte de glicose por meio da contração muscular. Os mais descritos são a ativação da AMPK (*AMP-activated protein kinase*) e o aumento da concentração de cálcio citoplasmático (Musi, Goodyear, 2003; Rose et al., 2006; Zheng et al, 2001).

O desequilíbrio na expressão de GLUT4 ou em seu mecanismo de translocação foi indicado como fator relacionado ao surgimento da resistência insulínica, a qual ocorre na obesidade e/ou diabetes tipo 2 (Shepherd, Kahn, 1999).

1.6 Inflamação e Resistência à Insulina

Nos últimos anos, muitas pesquisas estão direcionadas para o papel do processo inflamatório na resistência à insulina e na relação com o desenvolvimento e progressão do diabetes tipo 2 (Luca, Olefsky, 2008). A literatura cientifica indica que a obesidade é associada a um processo inflamatório e, assim, ao desenvolvimento da resistência insulínica (Hotamisligil, 1993). Aumento em marcadores inflamatórios foram detectados em indivíduos aparentemente saudáveis que, mais tarde, tornaram-se diabéticos do tipo 2, sugerindo que a inflamação inicie durante o primeiro estágio do desenvolvimento da doença, no qual, em geral, ocorre um prejuízo na tolerância à glicose (Greenfield, Campbell, 2006). Índios Pima (população caracterizada pela alta prevalência de diabetes tipo 2) que apresentam uma alta

concentração sanguínea de células do sistema imune são mais propícios a tornarem-se diabéticos do que aqueles que mostram uma concentração baixa de células imunológicas (Lillioja et al, 1988).

Estudos em humanos resistentes à insulina revelam uma clara associação entre a ativação crônica de vias de sinalização inflamatória e diminuição da sensibilidade à insulina. No caso do tecido adiposo, a sua expansão provoca hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos. Com o aumento das células adiposas, a vascularização torna-se prejudicada, gerando uma situação de hipóxia no tecido e por consequência liberação de citocinas e outros sinais pró-inflamatórios. Nesse contexto, quimiocinas localmente secretadas atraem macrófagos para o tecido adiposo, onde eles se infiltram ao redor de adipócitos em apoptose, estimulam a chegada de outros monócitos (pré-macrófagos) e secretam mais citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α) e IL-6 (IL-6). Tais citocinas participam de uma série de eventos que prejudicam a sensibilidade à insulina. Assim, esses sinais são amplificados causando, eventualmente, uma resistência insulínica sistêmica (Ye et al, 2009; Xu et al, 2003).

Vale ressaltar que a ativação do processo inflamatório associado à resistência a insulina não é exclusivo do tecido adiposo. Em geral, o mesmo processo ocorre no tecido hepático, onde é possível localizar inúmeros macrófagos além do acúmulo de lipídios intracelular e secreção de citocinas. Apesar de a inflamação hepática contribuir para o desenvolvimento da resistência à insulina secundária no músculo esquelético, esse não é o principal mecanismo pelo qual o processo inflamatório atua nesse tecido. De acordo com a literatura, há uma forte relação entre inflamação crônica e músculo esquelético resistente à insulina. Entre as possíveis explicações, pode-se citar: a infiltração de células inflamatórias no tecido muscular; geração e secreção de citocinas pró inflamatórias pelo próprio músculo esquelético e presença de diversos componentes do sistema imune inato como receptores para citocinas do tipo Toll (TLRs) (Wei et al, 2008).

1.7 Interleucina-6 (IL-6)

IL-6 é uma citocina pleitrópica que possui importantes funções na regulação da resposta imune, inflamação e hematopoiese. Pode ser definida também com uma molécula de sinalização intercelular, tradicionalmente associada ao controle e coordenação na resposta imune, sendo primordialmente secretada por macrófagos e linfócitos em resposta a lesão ou infecção (Heinrich et al, 2003). É uma proteína de baixo peso molecular, que age de forma

local e sistêmica gerando uma variedade de respostas fisiológicas também relacionadas às funções endócrinas e metabólicas (Papanicolaou, 2000). Diversos outros tipos celulares, além do macrófago e linfócito, são responsáveis pela secreção desta citocina, entre eles células: endotelial, beta pancreática, hepatócito, muscular esquelética e lisa, astrócito, da microglia e adipócito (Akira et al, 1993; Fried et al, 1998; Nagaraju et al, 1998).

A transdução do sinal intracelular da IL-6 inicia-se com a ligação à subunidade α do seu receptor de membrana (IL-6R) ou a uma versão solúvel, clivada, do receptor de membrana, que está presente no plasma (sIL-6R). Interessantemente, a associação de IL-6 com o sIL-6Rα é capaz de desencadear a resposta biológica da interleucina em células que expressam a glicoproteína de membrana (GP130). Este tipo de ativação, que se denomina *trans signalling,* permite que todos os tipos celulares sejam capazes de responder ao complexo IL-6/sIL-6R. Após a ligação de IL-6/IL-6R ocorre uma associação com GP130, e após formação desse complexo o sinal intracelular é disparado. Os efeitos intracelulares da IL-6 são induzidos principalmente através da ativação da via JAK/STAT, onde o heterodímero IL-6R-GP130 ativa principalmente a janus quinase 2 (JAK2), que após ser fosforilada, ativa o transdutor de sinal e ativador de transcrição STAT-3 (Figura 2). STATs são conhecidas como indutoras das proteínas supressoras de sinalização de citocinas (SOCS) assim como interferem na expressão de inúmeras outras proteínas. SOCS 3 atua como mediador do feedback negativo na sinalização de IL-6 além de afetar a sinalização insulínica, como por exemplo, alterando a ativação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1) (Heinrich et al, 1998; Lebrun, Van Obberghen, 2008).

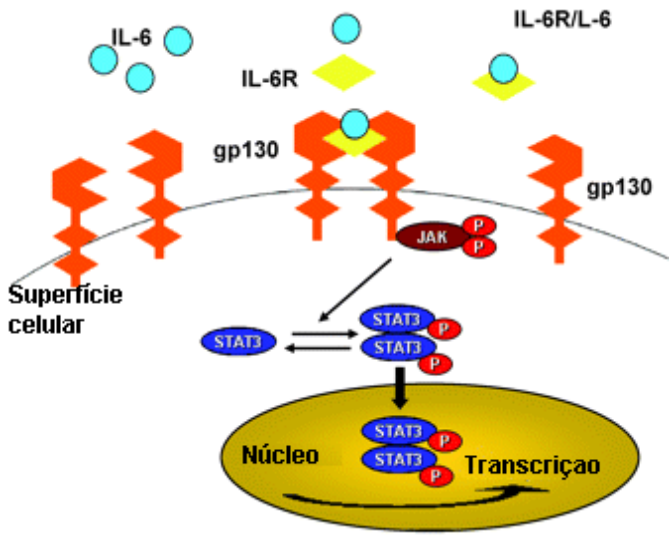
Após a IL-6 ser considerada uma adipocina pró-inflamatória cujo tecido adiposo pode contribuir com até 35 % de sua concentração basal na circulação, a literatura passou a indicar que tal fato seja uma possível explicação para a positiva correlação entre a sua concentração plasmática, a obesidade e o diabetes tipo 2 (Kern et al, 2001). Além disso, animais tratados cronicamente com IL-6 desenvolvem resistência hepática à insulina, assim como animais knockout para SOCS-3 hepático, uma proteína que reprime a sinalização de IL-6, apresentam obesidade e resistência insulínica sistêmica. Ainda no mesmo estudo, a sinalização insulínica no músculo foi afetada, sugerindo que a deleção do gene SOCS-3 hepático modula a sensibilidade à insulina em outros órgãos. Recentemente, um estudo demonstrou que após IL-6 ser expressa cronicamente no fígado, ou após célula beta pancreáticas serem suplementadas por 24 horas com a citocina, ocorre um aumento na secreção de insulina estimulada por glicose em ambos os modelos. Esses resultados sugerem que o aumento da

concentração de IL-6, o qual ocorre no estágio inicial da obesidade e durante o choque séptico, esteja envolvido no desenvolvimento da hiperinsulinemia, frequentemente desenvolvida nessas condições (Suzuki, 2011). No entanto, outro grupo demonstrou que a administração de IL-6 ou a elevada concentração desta citocina em reposta ao exercício, estimulou a secreção de GLP-1 pelas células intestinais, e com isso o aumento da produção de insulina pelas células beta pancreáticas, melhorando a glicemia (Ellingsgaard et al, 2011).

Em relação ao efeito da IL-6 em adipócitos, a maior parte dos estudos demonstrou que a citocina provoca efeitos negativos na sensibilidade à insulina, embora também tenha estudo que mostrou aumentada captação de glicose pelo tecido adiposo de indivíduos submetidos a infusão de IL-6 em concentrações fisiológicas (Lagathu et al, 2003; Lyngso et al, 2002; Rotter et al, 2003). Em hepatócitos, estudos em roedores *in vivo* e em cultura de célula humana mostraram que, através da via JAK/STAT, a IL-6 foi capaz de reduzir o estoque de glicogênio pela diminuição da glicogeniogênese e aumento da glicogenólise (Senn et al, 2002; Kim et al, 2004). Além disso, um elegante estudo utilizando animais knockout para IL-6 demonstrou o desenvolvimento de obesidade e intolerância a glicose nesses animais, o que foi parcialmente revertido após tratamento com IL-6. Recentemente, outro grupo de pesquisadores demonstrou que animais trangênicos que mantinham uma concentração elevada de IL-6 na circulação exibiram um aumento na ação da leptina central, com favorecimento da homeostase glicêmica, protegendo-os de obesidade induzida por dieta (Sadagurski et al, 2010).

Sendo assim, embora IL-6 seja mais conhecida como uma citocina pró-inflamatória, a literatura também apresenta dados consistentes sobre efeitos anti-inflamatórios benéficos ao organismo desta interleucina.

Figura 2 - Principal mecanismo de ação da IL-6



Fonte: Adaptado de Ahmed et al (2007).

1.8 IL-6 e Músculo Esquelético

Há alguns anos, foi demonstrado que a IL-6 pode ser considerada um "fator do exercício". Esta citocina, que é produzida e liberada no músculo esquelético em resposta ao exercício físico, exerce seus efeitos em outros órgãos e, atualmente, pode também ser chamada de "miocina". Neste sentido, assim como foi estabelecido o termo adipocina, o termo miocina pode ser utilizado para as citocinas e outros peptídeos que são produzidos e liberados pelas fibras musculares (Pedersen, Febbraio, 2008). A descoberta sobre a capacidade do músculo esquelético secretar IL-6 durante a atividade contrátil desencadeou uma série de questionamentos sobre a função da IL-6 no metabolismo energético, uma vez que foi criado um paradoxo. Por um lado, a IL-6 é secretada pelo músculo esquelético no período logo após a realização de exercício onde a ação da insulina está aumentada, no entanto, por outro lado, a IL-6 é associada a obesidade e ao desenvolvimento da resistência à insulina sistêmica e no músculo esquelético.

Combinado aos efeitos benéficos da IL-6 associados ao exercício, essa citocina está também envolvida com indução de proliferação de células satélites, as quais são células quiescentes precursoras de novos miotubos, que auxiliam na regeneração e hipertrofia muscular (Serrano et al, 2008). Além disso, participa do estímulo e manutenção do aumento

da concentração de cálcio intracelular, o qual é componente crucial para a resposta adaptativa do tecido muscular esquelético ao exercício (Weigert et al, 2007).

No entanto, tratamentos crônicos com IL-6 em músculo esquelético provocaram redução na captação de glicose estimulada por insulina e na fosforilação de proteínas envolvidas na cascata de sinalização insulínica (Nieto-Vazquez et al, 2008). Experimentos *in vitro* e *in vivo* com suplementação de IL-6, a curto prazo, mostraram aumento na captação de glicose e oxidação de ácidos graxos em músculo esquelético, principalmente via ativação de AMPK, que é um importante evento que ocorre na contração muscular (Al-Khalili et al, 2006; Carey et al, 2006; Glund et al, 2007). AMPK é um sensor celular de energia que se ativa quando os níveis de ATP diminuem (e os de AMP aumentam). Uma vez ativada, AMPK desliga processos que consomem energia como síntese de ácido graxo ou proteína e, por outro lado, promove processos que produzem energia, como o transporte de glicose, inclusive ativando fatores transcricionais que regulam a expressão do gene do GLUT4 e oxidação de ácidos graxos. Ativação de AMPK promove transporte de glicose via mecanismo independente de insulina tanto em músculos saudáveis como em resistentes à insulina (Hayashi et al, 1998; Musi et al, 2001).

Atualmente, os efeitos da IL-6 na resistência à insulina ainda não estão completamente elucidados. Muito da controvérsia relacionada à função da IL-6 no metabolismo parece ser resultado de comparações inapropriadas de efeitos agudos em um determinado tecido com efeitos crônicos em outros tecidos. As funções e os efeitos metabólicos da IL-6 demonstram ser tecido e contexto-específico.

Sendo assim, embora sejam facilmente encontrados na literatura estudos com suplementação crônica ou aguda de IL-6 em músculo esquelético normo tolerante à glicose, estudos que avaliem a ação da IL-6 a curto ou longo prazo em células musculares resistentes à insulina são inexistentes.

Com isso, o presente estudo hipotetiza que a exposição por 1hora à IL-6 provoque efeitos benéficos no metabolismo lipídico e de carboidrato, contribuindo para o aumento da sensibilidade a insulina em células musculares esqueléticas de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2. Por outro lado, hipotetiza-se que a exposição por 24 horas à IL-6, em células musculares resistentes à insulina, desencadeie um efeito ainda mais deletério sobre o metabolismo energético que o observado em células musculares normo tolerantes à glicose.

9 CONCLUSÃO

No presente estudo, observou-se que:

9.1 Em célula muscular esquelética de humanos, a IL-6 durante 1 hora promoveu:

- aumento na captação de glicose e síntese de glicogênio nas células de indivíduos saudáveis, no estado basal e estimulado com insulina, o que não foi observado em células de indivíduos diabéticos tipo 2;

- aumento na oxidação de ácidos graxos em células musculares de ambos os indivíduos saudáveis e diabéticos tipo 2;

- aumento no conteúdo da proteína JAK2 fosforilada em células de indivíduos saudáveis, o que não foi observado em células de indivíduos diabéticos tipo 2, além de redução no conteúdo fosforilado de STAT3 nas células de indivíduos diabéticos tipo 2.

9.2 Em célula muscular esquelética de rato da linhagem permanente L6, a IL-6 durante 24 horas promoveu:

- redução da captação de glicose e da síntese de glicogênio, no estado estimulado com insulina, em células saudáveis, o que não foi observado em células resistentes à insulina por palmitato;

- aumento na oxidação de ácidos graxos em ambas as células, saudáveis e resistentes à insulina por palmitato;

- aumento no conteúdo da proteína JAK2 fosforilada em células saudáveis, o que não foi observado em células resistentes à insulina por palmitato, além de redução no conteúdo fosforilado de STAT3 nas células resistentes à insulina;

- redução no conteúdo da proteína AKT fosforilada sob estímulo insulínico em células saudáveis, o que não foi observado em células resistentes à insulina por palmitato;

- aumento no conteúdo da proteína AMPKα fosforilada em células saudáveis, o que não foi observado em células resistentes à insulina por palmitato;

- aumento no conteúdo da proteína ACC fosforilada em ambas as células, saudáveis e resistentes à insulina.

Com base nos resultados destacados acima, conclui-se que células musculares esqueléticas resistentes à insulina possuem uma resposta alterada à IL-6. Células musculares resistentes à insulina são parcialmente resistentes à IL-6: o efeito permanece efetivo no metabolismo lipídico, porém é abolido no metabolismo de carboidrato, independente do tempo de exposição. Adicionalmente, o prejuízo na via de sinalização JAK/STAT parece ser o principal mecanismo envolvido na ausência de efeitos da IL-6 no metabolismo de carboidrato nessas células.

REFERÊNCIAS *

Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. Adv Immunol. 1993;54:1-78.

Al-Khalili L, Bouzakri K, Glund S, Heikki F, Koistinen A, Krook A. Signaling Specificity of Interleukin-6 Action on Glucose and Lipid Metabolism in Skeletal Muscle. Mol Endocrinol. 2006;20(12):3364-3375.

Alkhateeb H, Chabowski A, Glatz JF, Luiken JJ, Bonen A. Two phases of palmitate induced insulin resistance in skeletal muscle: Impaired GLUT4 translocation in followed by a reduced GLUT4 intrinsic activity. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007; 293:E783–E793.

American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2006; 29:S43–S48.

Aronoff SL, Berkowitz K, Shreiner B, Want L. Glucose metabolism and regulation: beyond insulin and glucagon. Diabetes Spectr. 2004;17(3):183-190.

Barma P, Bhattacharya S, Bhattacharya A, Kundu R, Dasgupta S, Biswas A,Bhattacharya S, Roy SS, Bhattacharya S. Lipid induced overexpression of NF-kappaB in skeletal muscle cells is linked to insulin resistance. Biochim Biophys Acta. 2009;1792(3):190-200.

Bird A. Perceptions of epigenetics. Nature. 2007;447:396–398.

Björnholm M, Zierath JR. Insulin signal transduction in human skeletal muscle: identifying the defects in Type II diabetes. Biochem Soc Trans. 2005;33:354-357.

Boden G. Interaction between free fatty acids and glucose metabolism. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2002;5:545–549.

Brandle M, Zhou H, Smith BR, Marriott D, Burke R, Tabaei BP, Brown MB, Herman WH. The direct medical cost of type 2 diabetes. Diabetes Care. 2003;26:2300–2304.

Bruce CR, Dyck DJ. Cytokine regulation of skeletal muscle fatty acid metabolism: effect of interleukin-6 and tumor necrosis factor-a Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;287:E616-E621

Carey AL, Steinberg GR, Macaulay L, Thomas WG, Holmes AG, Ramm G, Prelovsek O, Hohnen-Behrens C, Watt M, James DE, Kemp BE, Pedersen BK, Febbraio MA.Interleukin-6 Increases Insulin-Stimulated Glucose Disposal in Humans and Glucose Uptake and Fatty Acid Oxidation In Vitro via AMP-Activated Protein Kinase. Diabetes 2006;55:2688–2697.

Ceddia RB, Somwar R, Maida A, Fang X, Bikopoulos G, Sweeney G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocacion and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. Diabetologia. 2005;48(1):132-9.

* De acordo com:
International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available rom: http://www.icmje.org [2007 May 22].

(CDC) Center for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet. United States, 2005. Disponível em: <http://apps.nccd.cdc.gov/DDTSTRS/template/ndfs_2005.pdf.> Acesso em : 30 maio 2011.

Cryer PE. Glucose Homeostatis and Hypoglycemia. In: Williams Textbook of Endocrinology, 10th Edition. Philadelphia. 2003,1585-1618

DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. Diabetes. 1981;30:1000–1007.

Ellingsgaard H, Hauselmann I, Schuler B, Habib AM, Baggio LL, Meier DT, Eppler E, Bouzakri K, Wueest S, Muller YD, Hansen AM, Reinecke M, Konrad D, Gassmann M, Reimann F, Halban PA, Gromada J, Drucker DJ, Gribble FM, Ehses JA, Donath MY. Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. Nat Med. 2011;17:1481–1489.

Erion DM, Shulman GI. Diacylglycerol mediated insulin resistance Nature Med. 2010;16: 400–402.

Fan HQ, Gu N, Liu F, Fei L, Pan XQ, Guo M, Chen RH, Guo XR. Prolonged exposure to resistin inhibits glucose uptake in rat skeletal muscles. Acta Pharmacol Sin. 2007;28(3):410-6.

Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. FASEB J. 2002;16:1335–1347.

Febbraio MA, Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Nielsen HB, Krustup P, Ott P, Secher NH, Pedersen BK. Glucose ingestion attenuates interleukin-6 release from contracting skeletal muscle in humans. J Physiol. 2003;549(2):607–612.

Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. Science. 2010;330(6004):622-7.

Fernandez-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. Endocr Rev 2003; 24:278–301

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6. J Clin Endocrinol Metab. 1998; 83: 847–850.

Girard J. The incretins: From the concept to their use in the treatment of type 2 diabetes. Part A: Incretins: Concept and physiological functions. Diabetes Metab. 2008;34:550-559.

Glund S, Deshmukh A, Long YC, Moller T, Koistinen HA, Caidahl K, Zierath JR, Krook A. Interleukin-6 Directly Increases Glucose Metabolism in Resting Human Skeletal Muscle. Diabetes. 2007;56:1630–1637.

Greenfield JR, Campbell LV.Relationship between inflammation, insulin resistance and type 2 diabetes: 'cause or effect'? Curr Diabetes Rev. 2006;2(2):195-211.

Gross JL, Silveiro SP, Camargo JL, Reichelt AJ, Azevedo MJ. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002;46:16-26.

Hamman RF. Genetic and environmental determinants of non-insulindependent diabetes mellitus (NIDDM). Diabetes Metab Rev. 1992;8:287-338.

Hayashi T, Hirshman F, Kurth EJ, Winder WW, Goodyear LJ. Evidence for 5 AMP-Activated Protein Kinase Mediation of the Effect of Muscle Contraction on Glucose Transport. Diabetes. 1998;47:1369–1373.

Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. Biochem J. 2003;15(374):1-20.

Heinrich PC, Behrmann I, Muller-Newen G, Schaper F, Graeve L.Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. Biochem J.1998;334:297-314.

Hogan P, Dall T, Nikolov P; American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the US in 2002. Diabetes Care. 2003;26:917–932.

Holliday R. DNA Methylation and Epigenetic Inheritance. Methods. 2002;27(2):179-183.

Hotamisligil GS, Shargill NS , Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. Science. 1993;259:87–91.

Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. Nature. 2006;440:944-948.

Hulver MW, Berggren JR, Cortright RN, Dudek RW, Thompson RP, Pories WJ, MacDonald KG, Cline GW, Shulman GI, Dohm GL, Houmard JA. Skeletal muscle lipid metabolism with obesity. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2003;284:E741–E747.

International Diabetes Federation: Diabetes Atlas. Brussels, International Diabetes Federation, 2009. Disponível em: <http://www.idf.org/diabetesatlas/>. Acesso em: 30 maio 2011.

Jensen CB, Storgaard H, Madsbad S, Ritcher EA, Vaag AA. Altered Skeletal Muscle Fiber Composition and Size Precede Whole-Body Insulin Resistance in Young Men with Low Birth Weight. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(4):1530-1534.

Jørgensen SB, Richter EA, Wojtaszewski JFP. Role of AMPK in skeletal muscle metabolic regulation and adaptation in relation to exercise. J Physiol. 2006;1(574):17–31.

Joshi SR, Parikh RM, Das AK. Insulin: History, Biochemistry, Physiology and Pharmacology. J Assoc Physicians India. 2007; 55,Suppl:19-25.

Kahn BB. Glucose transport: pivotal step in insulin action. Diabetes. 1996;45:1644-1654.

Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: Ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. Cell Metab. 2005;1:15–25.

Kahn ST, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature. 2006,444:840-846.

Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK, Neufer PD.Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. FASEB J. 2001;15(14):2748-2750.

Kelly M, Keller C, Avilucea PR, Keller P, Luo Z, Xiang X, Giralt M, Hidalgo J, Saha AK, Pedersen BK, Ruderman NB. AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: the effect of exercise. Biochem Biophys Res Commun. 2004;23;320(2):449-54.

Kelly M, Gauthier MS, Saha AK, Ruderman NB. Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) by Interleukin-6 in rat skeletal muscle: Association with changes in cAMP, energy state, and endogenous fuel mobilization. Diabetes. 2009;58(9):1953-1960.

Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2001;280:E745–E751.

Kim JY, Hickner RC, Cortright RL, Dohm GL, Houmard JA. Lipid oxidation is reduced in obese human skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2000;279:E1039–E1044.

Kim HJ, Higashimori T, Park SY, Choi H, Dong J, Kim YJ, Noh HL, Cho YR, Cline G, Kim YB, Kim JK: Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. Diabetes. 2004;53:1060–1067.

Klover PJ, Zimmers TA, Leonidas G, Koniaris R, Mooney A. Chronic Exposure to Interleukin-6 Causes Hepatic Insulin Resistance in Mice. Diabetes. 2003;52:2784–2789.

Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bleuthmann H, Kohler G. Impaired immune and acute- phase responses in interleukin-6-deficient mice. Nature. 1994;368:339-342.

Kraegen EW, Cooney GJ, Ye J, Thompson A. Triglycerides, fatty acids and insulin resistance–hyperinsulinemia. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2001;109:S516-S526.

Kramer HF, Witczak CA, Fuji N, Jessen N, Taylor EB, Arnolds DE, Sakamoto K, Hirshman MF, Goodyear LJ. Distinct signals regulate AS160, phosphorylation in response to insulin, AICAR, and contraction in mouse skeletal muscle. Diabetes. 2006;55:2067-2076.

Lagathu C, Bastard JP, Auclair M, Maachi M, Capeau J, Caron M: Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone. Biochem Biophys Res Commun. 2003;311:372–379.

Lebrun P, Van Obberghen E. SOCS proteins causing trouble in insulin action. Acta Physiologica. 2008;192(1):29-36.

Lillioja S, Mott DM, Howard BV, Bennett PH, Yki-Järvinen H, Freymond D, Nyomba BL, Zurlo F, Swinburn B, Bogardus C.Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. N Engl J Med. 1988;318:1217–1225.

Luca C, Olefsky J. Inflammation and Insulin resistance. FEBS Lett. 2008;582(1):97–105.

Lyngso D, Simonsen L, Bulow J. Metabolic effects of interleukin-6 in human splanchnic and adipose tissue. J Physiol. 2002;543:379 –386.

Machado UF. Transportadores de glucose. Arq Bras Endocrinol Metab. 1998, 42(6):413-421.

Machado UF, Carpinelli AR, Zechin HG, Saad MJA. Pâncreas Endócrion. In: Margarida de Mello Aires. Fisiologia. 3a ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.p.1032-1050.

Marshall BA, Ren JM, Johnson DW, Gibbs EM, Lillquist JS, Soeller WC, Holloszy JO, Mueckler M. Germline manipulation of glucose homeostasis via alteration of glucose transporter levels in skeletal muscle. J Biol Chem. 1993;268:18442-18445.

Martin OJ, Lee A, McGraw TE. GLUT4 Distribution between the plasma membrane and the intracellular compartments is maintained by an insulin modulated bipartite dynamic mechanism. J Biol Chem. 2006;281:484-490.

Meier JJ, Nauck MA. Is the diminished incretin effect in type 2 diabetes just an epi-phenomenon of impaired beta cell function? Diabetes. 2010;59(5):1117-25.

Merrill GF, Kurth EJ, Hardie DG,Winder WW. AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 1997;273:E1107–E1112.

Mercado MM, McLenithan JC, Silver KD, Shuldiner AR. Genetics of insulin resistance. Curr Diabetes Rep. 2002;2(1):83-95.

Muhonen P, Holthofer H. Epigenetic and microRNA-mediated regulation in diabetes. Nephrol Dial Transplant. 2009;24(4):1088-1096.

Musi N, Fujii N, Hirshman MF, Ekberg I, Froberg S, Ljungqvist O, Thorell A, Goddyear LJ. AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) Is Activated in Muscle of Subjects With Type 2 Diabetes During Exercise. Diabetes. 2001;50(5):921-927.

Musi N, Goodyear LJ. AMP-activated protein kinase and muscle glucose uptake. Sca Physiol Soc. 2003;178:337-345.

Nagaraju K, Raben N, Merritt G, Loeffler L, Kirk K, Plotz P. A variety of cytokines and immunologically relevant surface molecules are expressed by normal human skeletal muscle cells under proinflammatory stimuli. Clin Exp Immunol. 1998;113:407-414.

Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka T, Ozawa K, Hori M, Yamasaki Y, Matsuhisa M. Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress in Insulin Resistance and Diabetes. J Biol Chem. 2005; 280(1):847–851.

Nieto-Vazquez I, Fernandez-Veledo S, Alvaro C, Lorenzo M.Dual Role of Interleukin-6 in Regulating Insulin Sensitivity in Murine Skeletal Muscle. Diabetes. 2008;57:3211–3221.

Oberbach A, Bossenz Y, Lehmann S, Niebauer J, Adams V, Paschke R, Schon MR, Bluher M, Punkt K. Altered fiber distribution and fiber-specific glycolytic and oxidative enzyme activity in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2006; 29:895–900.

Osler ME, Zierath JR. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle. Endocrinology. 2008;149(3):935-41.

Özcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Özdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmic Reticulum Stress Links Obesity, Insulin Action, and Type 2 Diabetes. Science. 2004;306(5695):457-461.

Papanicolaou DA. Interleukin-6: The Endocrine Cytokine. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85(3):1331-1333.

Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, Wolsk-Petersen E, Febbraio M. The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? Proc Nutr Soc. 2004;63(2):263-7.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. Physiol Rev. 2008;1379–1406.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle-derived interleukin-6-a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver, and brain. Brain Behav Immun. 2005;19(5):371-6.

Pedersen BK, Fischer CP. Beneficial health effects of exercise--the role of IL-6 as a myokine. Trends Pharmacol Sci. 2007; 28(4):152-6.

Perseghin J, Petersen K, Shulman GI. Cellular mechanism of insulin resistance: potential links with inflammation. Int J Obes. 2003;27:S6–S1.

Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. J Clin Invest. 2000; 106(2):165–169.

Petersen KF, Shulman GI. Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. The Am J Cardiol. 2002;90(Suppl1):11-18.

Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. Am J Med. 2006;119(5Suppl1):S10-6.

Petersen EW, Carey AL, Sacchetti M, Steinberg GR, Macaulay SL, Febbraio MA, Pedersen BK. Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. Am J Physiol. 2005;288(1):E155-E162.

Pimenta AS, Gaidhu MP, Habib S, So M, Fediuc S, Mirpourian, Musheev M, Curi R, Ceddia RB. Prolonged Exposure to Palmitate Impairs Fatty Acid Oxidation Despite Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Skeletal Muscle Cells. J Cell Physiol. 2008;217:478–485.

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-Reactive Protein, Interleukin 6, and Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus. JAMA. 2001;286(3):327-334.

Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA.The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet. 1963;1(7285):785–9.

Rasmussen H, Zawalich KC, Ganesan S, Calle R, Zawalich WS. Physiology and pathophysiology of insulin secretion. Diabetes Care. 1990;13(6):655-666.

Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science. 2001;10(5532):1089-93.

Remels AH, Langen RC, Gosker HR, Russell AP, Spaapen F, Voncken JW, Schrauwen P, Schols AM.PPARgamma inhibits NF-kappaB-dependent transcriptional activation in skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009;297(1):E174-83.

Roden M, Price TB,Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of Free Fatty Acid–induced Insulin Resistance in Humans J Clin Invest. 1996;97:2859–2865.

Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. News Physiol Sci. 2004;19:92–96.

Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. CMAJ. 2006;174:341-8.

Rose AJ, Kiens B, Richter EA. Ca2+–calmodulin-dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise. J Physiol. 2006;574(3):889–903.

Rotter V, Nagaev I, Smith U. Interleukin-6 (IL-6) Induces Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes and Is, Like IL-8 and Tumor Necrosis Factor-α, Overexpressed in Human Fat Cells from Insulin-resistant Subjects. J Biol Chem. 2003;278(46):45777–45784.

Ruderman NB, Keller C, Richard AM, Saha AK, Luo Z, Xiang X, Giralt M, Ritov V, Menshikova EV, Kelley DE, Hidalgo J, Pedersen BK, Kelly M. Interleukin-6 Regulation of AMP-Activated Protein Kinase Potential Role in the Systemic Response to Exercise and Prevention of the Metabolic Syndrome. Diabetes. 2006;55(Suppl2):S48-S54.

Sadagurski M, Norquay L, Farhang J, D'Aquino K, Copps K, White MF. Human IL-6 enhances leptin action in mice. Diabetologia. 2010;53:525–535.

Sandoval DA, Obici S, Seeley RJ. Targeting the CNS to treat type 2 diabetes. Nat Rev Drug Discov. 2009;8:386-398.

Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. Physiol Rev. 2007; 87:507–520.

Scherer PS. Adipose Tissue: From Lipid Storage Compartment to Endocrine Organ. Diabetes. 2006;55:1537-1545.

Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Mooney RA. Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. Diabetes. 2002;51:3391–3399.

Serrano AL, Baeza-Raja B, Perdiguero E, Jardí M, Muñoz-Cánoves P.Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. Cell Metab. 2008;7(1):33-44.

Shafrir E, Raz I. Diabetes: mellitus or lipids? Diabetologia. 2003;46:433-440.

Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action. N Engl J Med. 1999;341:248-257.

Silva JL, Giannocco G, Furuya DT, Lima GA, Moraes PA, Nachef S, Bordin S, Britto LR, Nunes MT, Machado UF. NF-kappaB, MEF2A, MEF2D and HIF1-a involvement on insulin- and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle. Mol Cell Endocrinol .2005;240(30):82-93.

Singh R, Shaw J, Zimmet P. Epidemiology of childhood type 2 diabetes in the developing world. Pediatr Diabetes. 2004;5:154-168.

Solinas G, Vilcu C, Neels JG, Bandyopadhyay GK, Luo JL, Naugler W, Grivennikov S, Wynshaw-Boris A, Scadeng M, Olefsky JM, Karin M. JNK1 in hematopoietically derived cells contributes to diet-induced inflammation and insulin resistance without affecting obesity. Cell Metab. 2007;6(5):386-97.

Suzuki T, Imai J, Yamada T, Ishigaki Y, Kaneko K, Uno K, Hasegawa Y, Ishibara H, Oka Y, Katagiri H. Interleukin-6 Enhances Glucose-Stimulated Insulin Secretion From Pancreatic β-Cells Potential Involvement of the PLC-IP_3–Dependent Pathway. Diabetes. 2011;60(2):537-547.

Tanner CJ, Barakat HA, Dohm GL, Pories WJ, MacDonald KG, Cunningham PR, Swanson MS, Houmard JA. Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002;282:E1191–E1196.

Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance. N Engl J Med. 2001;344:1343-1350.http://www.nejm.org/toc/nejm/344/18/

Van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Møller K, Saltin B, Febbraio MA, Pedersen BK. Interleukin-6 Stimulates Lipolysis and Fat Oxidation in Humans. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:3005-3010.

Weigert C, Hennige AM, Brodbeck K, Haring HU, Schleicher ED: Interleukin-6 acts as insulin sensitizer on glycogen synthesis in human skeletal muscle cells by phosphorylation of Ser473 of Akt. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005;289:E251 –E257.

Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, Rudling M, Dickson SL, Ohlsson C, Jansson JO. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. Nat Med. 2002;8(1):75-9.

Wellen KE, Hotamisligil, GS. Inflammation, stress, and diabetes. J Clin Invest. 2005;115(5):1111–1119.

Wei Y, Chen K, Whaley-Connell AT, Stump CS, Ibdah JA, Sowers J. Skeletal muscle insulin resistance: role of inflammatory cytokines and reactive oxygen species. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008;294: R673–R680.

Whiteman EL, Cho H, Birnbaum M. Role of Akt/protein kinase B in metabolism. Trends Endocrinol Metab. 2002;13(10):444-451.

Wolsk E, Mygind H, Grøndahl TS, Pedersen BK, van Hall G. IL-6 selectively stimulates fat metabolism in human skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010;299(5):E832-40.

World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabete Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva, World Health Org., 1999. Disponível em: <http://www.staff.ncl.ac.uk/philip.home/who_dmg.pdf> Acesso em: 30 maio 2011.

Wu Z, Xie Y, Morrison RF, Bucher NL, Farmer SR. PPARgamma induces the insulin-dependent glucose transporter GLUT4 in the absence of C/EBPalpha during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes. J Clin Invest. 1998,101(1): 22–32.

Ye J. Emerging Role of Adipose Tissue Hypoxia in Obesity and Insulin Resistance. Int J Obes. 2009;33(1):54–66.

Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. J Clin Invest. 2003;112:1821–1830.

Zheng D, MacLean PS, Pohnert SC, Knight JB, Olson AL, Winder WW, Dohm GL. Regulation of muscle GLUT-4 transcription by AMP-activated protein kinase. J Appl Physiol. 2001;91(3):1073-1083.