

CARLA RODRIGUES BROMATI

**ESTUDO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS
ENVOLVIDAS NO ESTRESSE DE RETÍCULO
ENDOPLASMÁTICO DURANTE O REMODELAMENTO
DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS MATERNAS NO
PERÍODO PERINATAL**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Mestre
em Ciências pelo Departamento de
Fisiologia e Biofísica.

Área de concentração: Fisiologia
Humana.

Orientador: Prof. Dr. Silvana
Bordin

SÃO PAULO
2009

RESUMO

BROMATI, C. R. ESTUDO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NO ESTRESSE DE RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO DURANTE O REMODELAMENTO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS MATERNAS NO PERÍODO PERINATAL. Dissertação de Mestrado – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2009.

Durante a gestação o pâncreas endócrino materno sofre adaptações morfo-funcionais que compensam a resistência à insulina característica deste período. Dentre elas há aumento do número, da massa e da secreção de insulina e redução da apoptose de células β pancreáticas. A prolactina (PRL) é o principal hormônio responsável por estas mudanças. No período pós-parto, ocorre reversão destes eventos mesmo na presença de altos níveis de PRL. *In vitro*, as ações da PRL não são revertidas pela retirada desse hormônio, mas pela adição de dexametasona (DEX) no meio de cultura. Neste trabalho avaliamos se o estresse do retículo endoplasmático (RE) está envolvido na apoptose que ocorre no período pós-parto, e se os glicocorticóides (GC) participam da ativação deste mecanismo. Nossos resultados revelaram que o aumento da fragmentação do DNA de ilhotas maternas ocorre no terceiro dia pós parto (L3) em paralelo com a diminuição dos níveis da fosforilação da AKT (pAKT), uma conhecida cinase pró sobrevivência. A diminuição dos níveis de pAKT em ilhotas de ratas L3 está relacionada com o aumento da expressão do TRB3, uma pseudocinase inibidora da AKT. TRB3 induz a Resposta a Proteínas Desdobradas (UPR) do RE, um mecanismo que inicialmente visa restaurar a homeostasia celular, mas que, se continuamente ativado, pode desencadear apoptose. Os níveis de BiP, ATF4 e CHOP, marcadores da UPR, estão aumentados em ilhotas pancreáticas de ratas L3. Experimentos de Imunoprecipitação da cromatina (ChIP) e re-ChIP confirmaram a ligação de CHOP e do heterodímero CHOP-ATF4 no promotor de TRB3 em ratas L3. O tratamento de ratas lactantes com PBA, uma chaperona química inibidora da UPR, restaurou os níveis de pAKT e inibiu o aumento da apoptose em ilhotas de ratas L3. Além disso, PBA reduziu os níveis de CHOP. O tratamento de células RINm5F por 24h com DEX promoveu aumento no conteúdo de BiP e ATF4, a fosforilação do eIF2 α (p-eIF2 α), o processamento do XBP-1e a expressão do TRB3. Entretanto, observamos diminuição da ligação do CHOP no promotor do TRB3 após tratamento com DEX por 16 e 24h. O tratamento por 72h com DEX não alterou p-eIF2 α e diminuiu o processamento do XBP-1; nenhum dos tratamentos alterou o conteúdo de CHOP. Somente o tratamento com DEX por 72h promoveu apoptose das células RINm5F, evento que foi revertido pela PRL. Concluímos que a apoptose que ocorre em ilhotas pancreáticas de ratas L3 é desencadeada por estresse do RE. No entanto, não são os GC que induzem este mecanismo.

Palavras-chave: Apoptose. Glicocorticóides. Gestação. Estresse de retículo endoplasmático. Lactação. Ilhotas Pancreáticas.

ABSTRACT

BROMATI, C. R. STUDY OF ENDOPLASMATIC RETICULUM STRESS-RELATED PROTEINS IN THE MATERNAL PANCREATIC ISLETS REMODELING DURING THE PERIPARTUM. Master Thesis. Institute of Biomedical Sciences, São Paulo University, 2009.

Maternal endocrine pancreas from pregnant rats undergoes several adaptations that comprise increase of pancreatic islets beta cell number, mass and insulin secretion and reduction of apoptosis. In addition, prolactin (PRL) is the main hormone that accounts for these changes. In the post-delivery period occurs reversion of these events even in the presence of high levels of PRL. The actions of PRL *in vitro* are not reverted by the absence of this hormone, in the contrary are reverted by the addition of dexametasone (DEX) in the culture media. In this study we evaluated whether the endoplasmatic reticulum stress (ER stress) was involved in apoptosis that occurs on the post-delivery period and whether glucocorticoids (GC) participate on the activation of this mechanism. Our initial approach revealed that a transient increase of DNA fragmentation in maternal islets occurred at the third day after the delivery (L3) in parallel with decreased levels of serine phosphorylated AKT (pAKT), a known pro-survival kinase. Decreased pAKT levels in islets from L3 rats were found to correlate with increased expression of TRB3, a pseudo kinase that inhibits AKT activity. TRB3 expression was described to be induced by Unfolded Protein Response (UPR), an initially corrective process that, if continuously activated, targets cell death. The levels of BiP, ATF4 and CHOP, hallmarks of the UPR, were increased in pancreatic islets from L3 rats. Chromatin immunoprecipitation (ChIP) and Re-ChIP experiments further confirmed increased binding of the heterodimer ATF4/CHOP and CHOP alone to the TRB3 promoter in L3 rats. Treatment of lactating rats with PBA, a chemical chaperone described as an inhibitor of UPR, restored pAKT levels and inhibited the transient increase of apoptosis in islets from L3 rats. Moreover, PBA reduced CHOP levels in islets from early lactating rats. RINm5F cells treated with DEX (24h) showed an increase in BiP, ATF4, p-eIF2 α and in XBP-1 splicing. DEX also induced TRB3, however inhibited the binding of CHOP to TRB3. Treatment for 72h did not alter p-eIF2 α , diminished XBP-1 splicing and promoted apoptosis, the unique event reverted by PRL. We concluded that apoptosis of islets in L3 is generated by ER stress, but is not induced by GC.

Keywords: Apoptosis. Endoplasmic Reticulum Stress. Glucocorticoids. Lactation. Pancreatic Islets. Pregnancy.

INTRODUÇÃO

A gestação é um período em que a mulher é transitoriamente submetida a drásticas alterações metabólicas que resultam em um quadro semelhante à síndrome metabólica, mas que, geralmente, são cuidadosamente reguladas para fornecer o suprimento ideal de substratos para a mãe e para o feto. As variações na demanda de nutrientes são obtidas por aumentos da ingestão calórica, do metabolismo lipídico e da resistência à insulina nos tecidos periféricos. A resistência à insulina é normalmente compensada por importantes mudanças estruturais e funcionais na ilhota pancreática, a fim de suprir de insulina as necessidades do organismo materno (ROSSI et al., 1993).

Na gestação também há grandes variações hormonais como o aumento dos níveis de lactogênio placentário, tireotropina coriônica humana, LHRH, somatostatina, TRH e outras proteínas únicas na gravidez. Os níveis de ACTH materno são quatro vezes maiores que no estado não gravídico. Tanto a hipófise quanto a placenta são fontes do ACTH circulante durante a gestação. CRH biologicamente ativo é secretado pela placenta e, em menor extensão, pela decídua e membranas fetais mas, em contradição ao efeito inibitório sobre o CRH hipotalâmico, os glicocorticóides estimulam a expressão do CRH placentário. No 3º trimestre, as concentrações plasmáticas de cortisol aumentam até três vezes acima dos níveis pré-concepcionais. Os altos níveis de estrogênio provocam um aumento na produção hepática da globulina ligante de corticosteróides (CRB) resultando em diminuição na taxa de clearance e aumento da meia vida do cortisol no plasma. A produção efetiva de cortisol pela zona fasciculada também aumenta na gravidez. O efeito final dessas alterações é a elevação do cortisol plasmático livre, que praticamente duplica no final da gestação (GREENSPAN et al., 2006; WILSON et al., 1998).

Em meados do século passado já se observava a expansão do volume das ilhotas durante a gravidez (HELLMAN et al., 1960), resultado do aumento da taxa de proliferação de células β (PARSONS et al., 1992). Em ratos, o aumento da proliferação ocorre ao redor do décimo dia de gestação, com pico ao redor do décimo quarto dia. Porém, o aumento da massa endócrina do pâncreas não é suficiente para desencadear o quadro de hiperinsulinemia característico da gravidez. Em paralelo a proliferação, ocorre o aumento da síntese e secreção de insulina, esta última decorrente

da redução do limiar de sensibilidade à glicose (PARSONS et al., 1992; SORENSON et al., 1997; KAWAI et al., 1999).

As evidências acumuladas nos últimos 30 anos mostram que a prolactina (PRL) induz as alterações morfofuncionais da ilhota pancreática observadas na gravidez, *i.e.*, (1) aumento da atividade mitogênica; (2) redução da apoptose; e, (3) aumento da sensibilidade à glicose (BRELJE et al., 1997; SORENSON et al., 2001; NIELSEN et al., 2001).

Essas alterações são, em última análise, o resultado de um ajuste complexo da atividade transcricional das células da ilhota. Neste sentido, demonstramos que diversos genes relacionados à sinalização intracelular, transcrição gênica e síntese protéica se encontram alterados tanto pelo tratamento '*in vitro*' com PRL quanto em ilhotas isoladas de ratas grávidas (BORDIN et al., 2004; ANHÊ et al., 2007a).

Por sua vez, o aumento dos níveis de glicocorticóides (GC) tem efeitos antagônicos aos da PRL, caracterizados pela indução da apoptose e inibição da proliferação celular, da síntese e secreção de insulina estimulada pela glicose (WEINHAUS et al., 2000; SHAO et al., 2004). É importante destacar que, no período pós-parto, ocorre redução da massa da ilhota, mesmo na presença de altos níveis de PRL circulante. '*In vitro*', as ações da PRL não são completamente revertidas pela retirada desse hormônio, mas sim pela adição de dexametasona no meio de cultura. Estas observações sugerem que a reversão da adaptação funcional ocorrida durante gravidez envolve um controle sofisticado de regulação da expressão gênica mediada pela ação destes dois hormônios.

Estresse do Retículo Endoplasmático

O envolvimento do retículo endoplasmático (RE) na regulação da secreção de insulina já foi extensivamente estudado por vários grupos, inclusive por nós (BORDIN et al., 1995; BORDIN et al., 1997; ANHÊ et al., 2007). Entretanto, a importância da homeostasia do RE em outros processos celulares, como a apoptose, só passou a ser foco de investigação a partir de 2002, quando foi demonstrado um importante mecanismo para a função e sobrevivência da célula β , denominado estresse do retículo endoplasmático (OYADOMARI et al., 2002)

O RE desempenha múltiplas funções celulares. O lúmen do RE é o sítio de entrada de proteínas destinadas às vias endo/exocitóticas, e por isto possui um ambiente único para o dobramento, montagem, formação de pontes de dissulfeto e glicosilação de proteínas. A síntese e a concentração de proteínas no RE são extremamente altas, especialmente em células secretoras “profissionais” como a célula β . Para realizar um processo tão desfavorável termodinamicamente, estas células dispõem de um mecanismo de segurança que garante que a síntese de grande quantidade de proteína não seja realizada à custa do prejuízo da qualidade. Desta forma, a homeostasia do lúmen do RE é cuidadosamente monitorada e mantida por um elegante mecanismo.

Unfolded Protein Response (UPR) é um mecanismo que se inicia pela presença de grande quantidade de proteínas imaturas no RE, e se caracteriza por (a) atenuação da taxa de tradução, (b) aumento da expressão de chaperonas e foldases, e (c) ativação de um sistema de degradação associado ao RE (ERAD), que, em conjunto, reduzem o risco de erros na montagem das proteínas (XU et al., 2005). O propósito inicial da UPR é adaptar o RE às alterações ambientais e restabelecer sua função normal. Se esta resposta adaptativa imediata falha, sinais de alarme desencadeados pelo RE ativam o NF κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), que induz a expressão de genes mediadores da resposta de defesa. Quando os esforços em favor da manutenção da função normal da célula entram em exaustão, o estresse do RE dispara o suicídio celular – tipicamente por apoptose –, a fim de descartar as células com disfunção irreversível. As vias gerais conhecidas até o momento deste complexo mecanismo serão resumidamente descritos a seguir.

Quando proteínas desdobradas se acumulam no RE, a resposta imediata é o recrutamento de chaperonas residentes dos seus sítios de ligação na membrana do RE. Os ancoradouros das chaperonas são diferentes proteínas transmembrânicas, que por isto funcionam como sinalizadores da função reticular para toda a célula; as principais proteínas da membrana do RE envolvidas na indução da UPR são Ire1 (*Inositol-requiring enzyme 1*), PERK (*RNA-activated protein Kinase (PKR)-like ER kinase*) e ATF6 (*Activating Transcription Factor 6*) (SHEN et al., 2004). No estado basal, estas três proteínas são inibidas pela ligação da chaperona BiP (*Binding Protein*). (BERTOLOTTI et al., 2000).

Ire-1 é uma proteína transmembrânica cinase/endonuclease residente na membrana do retículo endoplasmático que possui porção luminal e citoplasmática. Em

resposta à UPR ocorre oligomerização de Ire-1, e os domínios cinases presentes na porção citoplasmática são justapostos e autofosforilados, que ativa alostericamente a atividade endonucleásica no lúmen da cisterna reticular (RON e WALTER, 2007). Uma vez ativada, a enzima processa uma região do mRNA do fator de transcrição XBP-1 (*X Box Protein 1*), que ao ser traduzido torna-se competente para se ligar ao promotor de genes que codificam chaperonas e enzimas envolvidas na degradação associada ao RE (ERAD) (RAO et al., 2004; XUAN et al., 2009). A função nucleásica da de Ire1 também está envolvida na degradação de mRNAs codificadores de proteínas que serão translocadas para o lúmen do retículo; essa resposta complementa outros componentes da UPR por reduzir a tradução global e conseqüentemente o fluxo de proteínas recém sintetizadas para essa organela (SCHEUNER e KAUFMAN, 2008; LIPSON et al., 2008). Se o estresse for persistente, Ire-1 pode interagir com TRAF2 (*tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factor-2*), uma proteína adaptadora que acopla ASK1 (*apoptosis signal regulated kinase 1*), resultando na formação do complexo ternário Ire1-TRAF2-ASK1, que por sua vez pode ativar JNK (*c-jun-N-terminal kinase*). A importância funcional da ativação de JNK não está completamente esclarecida, mas células ASK1^{-/-} são parcialmente resistentes à apoptose por estresse de RE, sugerindo que essa via pode promover morte celular (KADOWAKI et al., 2004; RASHEVA et al., 2009).

PERK (eIF2 α 3K) é uma cinase seril-treônica que, quando liberada de BiP, se dimeriza e induz, por autofosforilação, a ativação de seu domínio cinase. A proteína-alvo da PERK é o fator de iniciação eIF2 α (*Eukaryotic Translation Initiation factor 2, alpha subunit*) (MA e HENDERSHOT, 2004).

O processo de iniciação da tradução envolve proteínas conhecidas como eIFs (fatores de iniciação eucarióticos); eIF2 α faz parte do complexo ternário, que é composto por eIF2, GTP e tRNA carregado com a metionina inicial (MET-tRNA_i^{met}). Esse complexo medeia a ligação do tRNA carregado com a metionina à subunidade ribossomal 40S. A ligação do GTP no complexo ternário é um passo limitante na formação desse complexo. Diferentes tipos de estresse - tais como hipóxia, infecção viral, falta de aminoácidos, choque térmico e estresse do RE – reduzem a tradução global por desencadear a fosforilação da subunidade α do eIF2 no resíduo serina 51. Isto inibe a troca de GDP por GTP no complexo eIF2 e previne a formação do complexo ternário, que é inativado quando fosforilado (HOLCIK e SONENBERG, 2005). Assim, o resultado da ativação da PERK na UPR é a inibição generalizada da

tradução de mRNAs, e consequente redução do aporte de proteínas no RE. Entretanto, mRNAs que codificam proteínas com função na adaptação ao estresse ganham uma vantagem seletiva para a tradução nestas condições, como o do fator de transcrição ATF4 (*Activating Transcription Factor 4*) (HARDING et al., 2001).

Semelhante à XBP-1, o ATF4 regula a região promotora de vários genes relacionados à UPR. PERK também promove a sobrevivência celular por fosforilar e ativar Nrf-2 (*NF-E2-related factor 2*), resultando em um aumento de mRNA que codificam proteínas importantes na resposta antioxidante e manutenção do equilíbrio REDOX (HERBERT, 2007; JI, 2008). No entanto, uma ativação crônica de PERK pode aumentar a expressão de CHOP (*C/EBP-Homologous Protein*) via ATF4. O aumento da expressão de CHOP está associado à translocação de BAX do citossol para a mitocôndria, diminuição da proteína anti-apoptótica Bcl-2 e aumento das proteínas ERO-1 (*ER Oxidase 1*), GADD34 (*Growth Arrest and DNA Damage-Inducible Gene*), DR5 (*Receptor Death 5*) e TRB3 (*Tribbles related protein 3*). (PIROT et al., 2007; OHOKA et al., 2005; YAMAGUCHI et al., 2004). A expressão aumentada de CHOP, portanto, retém o ciclo celular e causa morte celular (RON, 2002).

ATF6 é um fator de transcrição ligado à membrana do retículo endoplasmático. A liberação da chaperona BiP do ATF6 dispara um mecanismo de ativação distinto dos anteriormente descritos. O ATF6 desligado de BiP migra para o aparato de Golgi, onde proteases residentes (S1P e S2P) o clivam e liberam o fator de transcrição no citossol. A clivagem proteolítica do ATF6 induz diretamente a ativação transcricional do gene do XBP-1 e de chaperonas (YE et al., 2000; SEO et al., 2008)

Como dito anteriormente, as respostas adaptativas da UPR fornecem proteção contra a morte celular. Entretanto, quando à ativação das vias da UPR é persistente e excessiva, o estresse do RE dispara a morte celular. Embora pouco conhecida, acredita-se que a apoptose induzida pelo estresse do RE envolve diferentes mecanismos, incluindo a ativação direta de caspases (caspases 12 e 4), cinases (JNK e p38-MAPK) e de fatores de transcrição mediadores da apoptose (CHOP) (MOMMOI, 2004; KADOWAKI et al., 2004; OYADOMARI et al., 2004).

Modulação da AKT pela UPR

Dos sinais desencadeados pela UPR que resultam na morte celular, talvez aqueles dependentes de CHOP sejam os mais estudados atualmente. CHOP é um fator de transcrição pertencente à família C/EBP que não apresenta afinidade pela sequência palindrômica presente nos elementos responsivos a proteínas desta família. Entretanto, CHOP forma dímeros com membros de sua família, tais como o NF-IL6, e interage com regiões específicas do DNA que apresentam a sequência PuPuPuTGCAAT(A/C)CCC (UBEDA et al., 1996). Além deste mecanismo, foi descrito recentemente que CHOP modula a expressão gênica após dimerizar-se com o ATF4 (OHOKA et al., 2005).

O dímero ATF4/CHOP liga-se a regiões promotoras do DNA que contenham o AARE (*amino acids responsive element*) e induz a expressão de TRB3. TRB3 é uma pseudocinase que foi descoberta em neurônios em apoptose desencadeada por alterações do cálcio citoplasmático ou deprivação de fatores neurotróficos. Essa proteína está envolvida em muitos processos biológicos, incluindo resistência à insulina (RI), regulação do crescimento e diferenciação celular e estresse do RE (WANG et al., 2009). TRB3 se liga aos resíduos de Thr-308 e Ser-473 da AKT, inibindo a atividade desta proteína. Du et al. demonstraram que o aumento de TRB3 no fígado de ratos resulta em hiperglicemia e inativação da AKT, que é conhecida por favorecer a sobrevivência celular e inibir a apoptose.

Já é conhecido que exposição a ácidos graxos, citocinas, hiperglicemia, causa indução de estresse de RE e desencadeia apoptose das células β pancreáticas (SCHEUNER e KAUFMAN, 2008). Entretanto, até o momento não se sabe se no remodelamento fisiológico da célula β – onde a apoptose tem papel central – há indução do estresse do RE, especialmente na apoptose da célula β no período pós-parto, que até o momento se acredita ser decorrente dos altos níveis circulantes de GC.

CONCLUSÕES

A apoptose que ocorre em ilhotas pancreáticas de ratas L3 é desencadeada por estresse do RE. Este mecanismo apoptótico é descrito pela primeira vez em uma situação fisiológica.

Embora sejam capazes de ativar as vias da UPR, os GC não induzem apoptose por estresse do RE durante o período pós-parto, na medida em que não observamos nenhuma evidência da ativação das fases de execução da apoptose no tratamento com DEX por 24 e 72 horas.

Estudos adicionais são necessários para elucidar o fator que desencadeia a apoptose por estresse do RE nas células β no período pós-parto. O mecanismo pelo qual DEX ativa a UPR também precisa ser esclarecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ANHÊ, G. F.; HIRABARA, S. M.; TURRER, T. C.; CAPERUTO, L. C.; ANHÊ, F. F.; RIBEIRO, L. M.; MARÇAL, A. C.; CARVALHO, C. R.; CURI, R.; MACHADO, U.F.; BORDIN, S. Postpartum glycemic homeostasis in early lactating rats is accompanied by transient and specific increase of soleus insulin response through IRS2/AKT pathway. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 292, n. 6, p. 2225-33, 2007.

ANHÊ, G. F.; NOGUEIRA, T. C. A.; NICOLETTI-CARVALHO, J.E.; LELLIS-SANTOS, C.; BARBOSA, H. C. L.; CIPOLLA-NETO, J.; BOSQUEIRO, J. R.; BOSCHERO, A. C.; BORDIN, S. STAT3-regulated SERCA2 expression by prolactin and glucocorticoids is involved in the adaptation of insulin secretory response during the peripartum period. **J. Endocrinol.**, v. 195, n. 1, p. 17-27, 2007a.

BERTOLOTI, A.; ZHANG, Y.; HENDERSHOT, L. M.; HARDING, H. P.; RON, D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. **Nat. Cell Biol.**, v. 2, n. 6, p. 326-32, 2000.

BORDIN, S.; BOSCHERO, A. C.; CARNEIRO, E. M.; ATWATER, I. Ionic mechanisms involved in the regulation of insulin secretion by muscarinic agonists. **J. Membr. Biol.**, v. 148, p. 177-184, 1995.

BORDIN, S.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C. Modulation of Ca²⁺ and K⁺ permeabilities by oxotremorine-m (Oxo-m) in rodent pancreatic B-cells. **Exp. Physiol.**, v. 82, n. 6, p. 967-76, 1997.

BORDIN, S.; Amaral, MEC.; Anhê, G. F.; Delguingaro-Augusto, V.; Cunha, DA.; BOSCHERO, A. C. Prolactin-modulated gene expression profiles in pancreatic islets from adult female rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 220, n. 1-2, p. 41-50, 2004.

BRELJE, T. C.; SORENSON, R. L. Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: beta-cell growth, enhanced insulin secretion and the role of lactogenic hormones. **Horm. Metab. Res.**, v. 29, n. 6, p. 301-7, 1997.

GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. **Endocrinologia Básica e Clínica**. 7. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006.

HARDING, H. P.; ZENG, H.; ZHANG, Y.; JUNGRIES, R.; CHUNG, P.; PLESKEN, H.; SABATINI, D. D.; RON, D. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *perk*^{-/-} mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. **Mol. Cell**, v. 7, n. 6, p. 1153-63, 2001.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

- HELLMAN, B. The islets of Langerhans in the rat during pregnancy and lactation, with special reference to the changes in the B/A cell ratio. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, v. 39, p. 331-42, 1960.
- HERBERT, T. P. PERK in the life and dead of the pancreatic beta cell. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 35, p. 1205-7, 2007.
- HOLCIK, M.; SONENBERG, N. Translation control in apoptosis. **Nature reviews**, v. 12, p. 318-27, 2005.
- Jl, C. Dissection of endoplasmic reticulum stress signaling in alcoholic and non-alcoholic liver injury. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, 23 Suppl 1:S, p. 16-24, 2008.
- KADOWAKI, H.; NISHITOH, H. ; ICHIJO, H. Survival and apoptosis signals in ER stress: the role of protein kinases. **J. Chem. Neuroanat.**, v. 28, n. 1-2, p. 93-100, 2004.
- KAWAI, M.; KISHI, K. Adaptation of pancreatic islet B-cells during the last third of pregnancy: regulation of B-cell function and proliferation by lactogenic hormones in rats. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 141, p. 419-425, 1999.
- LIPSON, K. L.; GHOSH, R.; URANO, F. The role of IRE1alpha in the degradation of insulin mRNA in pancreatic beta-cells. **PLoS ONE**, v. 3, n. 2, p. 1648, 2008.
- MA, Y.; HENDERSHOT, L. M. ER chaperone functions during normal and stress conditions. **J. Chem. Neuroanat.**, v. 28, p. 51-65, 2004.
- MOMOI, T. Caspases involved in ER stress-mediated cell death. **J. Chem. Neuroanat.**, v. 28, n. 1-2, p. 101-5, 2004.
- NIELSEN, J. H.; GALSGAARD, E. D.; MOLDRUP, A.; FRIEDRICHSEN, B. N.; BILLESTRUP, N.; HANSEN, J. A.; LEE, Y. C.; CARLSSON, C. Regulation of betacell mass by hormones and growth factors. **Diabetes**, v. 50, p. S25-29, 2001.
- OHOKA, N.; YOSHII, S.; HATTORI, T.; ONOZAKI, K.; HAYASHI, H. TRB3, a novel ER stress-inducible gene, is induced via ATF4-CHOP pathway and is involved in cell death. **EMBO J.**, v. 24, n. 6, p. 1243-55, 2005.
- OYADOMARI, S.; ARAKI, E.; MORI, M. Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in pancreatic beta-cells. **Apoptosis**, v. 7, n. 4, p. 335-45, 2002.
- OYADOMARI, S.; MORI, M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. **Cell Death Differ.**, v. 11, n. 4, p. 381-9, 2004.
- PARSONS, J. A.; BRELJE, T. C.; SORENSON, R. L. Regulation of islet beta-cell proliferation by prolactin in rat islets. **Endocrinology**, v. 130, n. 3, p. 1459-66, 1992.
- PIROT, P.; ORTIS, F.; CNOP, M.; MA, Y.; HENDERSHOT, L. M.; EIZIRIK, D.L.; CARDOZO, A. K. Transcriptional regulation of the endoplasmic reticulum stress gene chop in pancreatic insulin-producing cells. **Diabetes**, v. 56, n. 4, p.1069-77, 2007.

RAO, R. V.; ELLERBY, H. M.; BREDESEN, DE. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. **Cell Death Differ.**, v. 11, n.4, p. 372-80, 2004.

RON, D.; WALTER, P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 8, p. 519-29, 2007.

RON, D. Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. **J. Clin. Invest.**, v. 110, p. 1383-8, 2002.

RASHEVA, V.; DOMINGOS, P. M. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. **Apoptosis**, 2009.

ROSSI, G.; SHERWIN, R. S.; PENZIAS, A. S.; LAPACZEWSKI, P.; JACOB, R. J.; SHULMAN, G. I.; DIAMOND, M. P. Temporal changes in insulin resistance and secretion in 24-h-fasted conscious pregnant rats. **Am. J. Physiol.**, v. 265, p. E845-E851, 1993.

SCHEUNER, D.; KAUFMAN, R. J. The unfolded protein response: a pathway that links insulin demand with beta-cell failure and diabetes. **Endocr. Rev.**, v. 29, p. 317-33, 2008.

SEO, H. Y.; KIM, Y. D.; LEE, K. M.; MIN, A. K.; KIM, M. K.; KIM, H. S.; WON, K. C.; PARK, J. Y.; LEE, K. U.; CHOI, H. S.; PARK, K. G.; LEE, I. K. Endoplasmic reticulum stress-induced activation of activating transcription factor 6 decreases insulin gene expression via up-regulation of orphan nuclear receptor small heterodimer partner. **Endocrinology**, v. 149, p. 3832-41, 2008.

SHAO, J.; QIAO, L.; FRIEDMAN, J. E. Prolactin, progesterone, and dexamethasone coordinately and adversely regulate glucokinase and cAMP/PDE cascades in MIN6 beta-cells. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 286, p. E304-310, 2004.

SHEN, Y.; SCHLESSINGER, K.; ZHU, X.; MEFFRE, E.; QUIMBY, F.; LEVY, D. E.; DARNELL JE, J. R. Essential role of STAT3 in postnatal survival and growth revealed by mice lacking STAT3 serine 727 phosphorylation. **Mol. Cell Biol.**, v. 24, p.407-419, 2004.

SORENSEN, R. L.; BRELJE, T. C. Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: beta-cell growth, enhanced insulin secretion and the role of lactogenic hormones. **Horm. Metab. Res.**, v. 29, p. 301-307, 1997.

SORENSEN, R. L.; BRELJE, T. C. Prolactin Receptors Are Critical to the Adaptation of Islets to Pregnancy. In: HORSEMAN, N. (Ed.). **Prolactin**. Boston: Kluwer, 2001. p. 297-316.

UBEDA, M.; RUKSTALIS, J. M.; HABENER, J. F. Inhibition of cyclin-dependent kinase 5 activity protects pancreatic beta cells from glucotoxicity. **J. Biol. Chem.**, v. 281, n. 39, p. 28858-64, 2006.

WANG, Y. G.; SHI, M.; WANG, T.; SHI, T.; WEI, J.; WANG, N.; CHEN, X. M. Signal transduction mechanism of TRB3 in rats with non-alcoholic fatty liver disease. **World J. Gastroenterol.**, v. 21;15, n. 19, p. 2329-35, 2009.

WEINHAUS, A. J.; BHAGROO, N. V.; BRELJE, T. C.; SORENSON, R. L. Dexamethasone counteracts the effect of prolactin on islet function: implications for islet regulation in late pregnancy. **Endocrinology**, v. 141, p. 1384-1393, 2000.

WILSON, E.; FOJTER, D. **Williams Textbook of Endocrinology**. 9. ed. Filadélfia: Saunders, 1998.

XU, C.; BAILLY-MAITRE, B.; REED, J. C. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. **J. Clin. Invest.**, v. 115, n. 10, p. 2656-64, 2005.

XUAN, B.; QIAN, Z.; TORIGOI, E.; YU, D. Human cytomegalovirus protein pUL38 induces ATF4 expression, inhibits persistent JNK phosphorylation, and suppresses endoplasmic reticulum stress-induced cell death. **J. Virol.**, v. 83, n. 8, p. 3463-74, 2009.

YAMAGUCHI, H.; WANG, H. G. CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 45495–45502, 2004.

YE, J.; RAWSON, R. B.; KOMURO, R.; CHEN, X.; DAVE, U. P.; PRYWES, R.; BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. **Mol. Cell**, v. 6, n. 6, p. 1355-64, 2000.