

ANDERSON CARLOS MARÇAL

**DIETA NORMOCALÓRICA DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA
MÉDIA: EFEITOS SOBRE A SECREÇÃO DE INSULINA, TECIDO
ADIPOSO E FÍGADO DE RATOS JOVENS**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título de Doutor
em Ciências.

Área de Concentração:
Fisiologia Humana

Orientadora:
Profa. Dra. Carla Roberta de O. Carvalho

São Paulo

2009

RESUMO

Marçal AC. Dieta normocalórica de ácidos graxos de cadeia média: efeitos sobre a secreção de insulina, tecido adiposo e fígado de ratos jovens [Tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2009.

Ácidos graxos de cadeia média (AGCM) são mais rapidamente metabolizados que os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), esta característica permitiu utilizá-lo na suplementação dietética para convalescentes. Por outro lado, apresentam resultados contraditórios quanto ao efeito sobre a sensibilidade à insulina, tanto em humanos quanto em animais experimentais. Nesse projeto foi avaliado o efeito da substituição dos ácidos graxos da dieta considerada normal para ratos, por AGCM em proporção de 45% e 90% do seu conteúdo total, sobre a sensibilidade periférica e secreção de insulina, bem como a possível modulação das etapas iniciais da sinalização intracelular desse hormônio no tecido adiposo perigonadal, hepático e nas ilhotas pancreáticas isoladas. A dieta isocalórica de AGCM nas duas formulações utilizadas induziu redução do ganho de peso corporal, resistência à ação da insulina e aumento da adiposidade. Este último efeito se deve em parte a um aumento do tamanho e do número de adipócitos. Ainda neste tecido, constatamos uma reduzida captação de glicose quando estimulada por insulina, independente da quantidade de transportadores para glicose (GLUT1 e GLUT4). O grau de fosforilação basal dos resíduos de tirosina do IRS1 foi aumentado, sem o mesmo incremento detectado em relação aos controles após estímulo com o hormônio. Ademais, a insulina foi incapaz de aumentar o grau de associação entre as proteínas IRS2 e PI3K. Além disso, outra proteína envolvida na captação de glicose, porém independente de insulina, a AMPK, apresentou-se com menor grau de fosforilação no tecido adiposo dos ratos alimentados com a dieta modificada, detectada pela relação estequiométrica entre a AMPK fosforilada (pAMPK) e AMPK. No tecido hepático observou-se aumento da expressão protéica do IR e da subunidade p85 da PI3K com diminuição do grau de fosforilação do IR após o estímulo com insulina. Nas ilhotas pancreáticas isoladas de animais alimentados com AGCM a secreção estática de insulina foi reduzida quando incubadas em altas concentrações de glicose, por outro lado, essas ilhotas são mais responsivas a leucina e arginina. Além disso, constatamos uma diminuição do conteúdo total de insulina e aumento do percentual de morte celular de ilhotas pancreáticas isoladas. Detectou-se aumento da expressão do IRS1 e da subunidade de 85kDa da PI 3-quinase nas ilhotas dos ratos alimentados com dieta contendo 45% de TCM. Constatamos também, redução da expressão da proteína AKT1 para os grupos alimentados com AGCM nas duas concentrações utilizadas. Concluímos que a alimentação com AGCM induz resistência à insulina compensada pela hiperinsulinemia, redução do ganho de peso corporal e aumento da adiposidade. É possível considerarmos que o reduzido conteúdo de insulina tem relação com o aumento de apoptose e com a diminuição na expressão da proteína Akt1, detectados nas ilhotas pancreáticas isoladas. A sensibilidade da resposta secretora de insulina estimulada por glicose manteve-se igual entre os grupos; no entanto, a resposta máxima foi menor nas ilhotas dos animais com AGCM frente a concentrações suprafisiológicas dessa hexose (11,1 a 20mM). Paralelamente, as alterações detectadas na expressão e no grau de fosforilação de algumas proteínas centrais na via intracelular da insulina no tecido adiposo, no fígado e nas ilhotas pancreáticas isoladas, podem ter papel importante nos mecanismos celulares que

resultaram na resistência à insulina, na redução da lipólise, no aumento da adiposidade e na modificação da secreção desse hormônio, mantendo normal a glicemia dos animais. Assim, a utilização em longo prazo dessa estratégia nutricional deve levar em conta a possibilidade de interferir no crescimento normal do indivíduo, na sensibilidade à insulina e na sua secreção.

Palavras-chave: Receptor para insulina. Sinalização intracelular. Resistência periférica à insulina. Ácidos graxos de cadeia média. Ilhotas pancreáticas. Tecido adiposo.

ABSTRACT

Marçal AC. Effects of medium chain fatty acids normal calorie diet on insulin secretion, adipose tissue and liver of young male Wistar rats. [Thesis]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2009.

Medium chain fatty acids (MCFA) are naturally metabolized in a faster way in comparison to long chain fatty acids (LCFA), giving us the possibility of using them as a dietetic supplement. On the other hand, there are contradictory results related to their effects on insulin sensitivity, both in humans and experimental animals. In the present thesis we studied the effects of the addition of medium chain fatty acids to the normal diet, in place of the other fatty acids, in the proportion of 45% and 90% of total content. The peripheral insulin sensitivity, its secretion, as well as the possible modulation of its signaling pathway in the perigonadal adipose tissue, liver and isolated pancreatic islets were investigated. The mentioned diet with MCFA, in both percentages, was able to induce weight gain, reduced insulin sensitivity and an increase in adipose tissue. Regarding the adipose tissue, we observed an increase in the number and size of the adipocytes and a decreased insulin-stimulated glucose transport that was not related to the concentration of the glucose transporters GLUT 1 or GLUT4. We observed an increase in the protein content of IR and p85 PI3K subunit, associated with a decrease in the IR phosphorylation after insulin stimulation. The IRS-1 basal tyrosine phosphorylation level was higher in the treated animals as compared to the control group, even after insulin stimulation. Besides that, the same hormone was not able to increase the association between IRS-2 and PI3K. AMPK, a non-insulin dependent protein related to glucose transport, showed decreased phosphorylation levels in the adipose tissue of treated animals in comparison to the control ones, as shown by the ratio between pAMPK and AMPK. Isolated pancreatic islets from treated animals presented a decrease in insulin secretion in the static incubation with high glucose concentration, but a higher sensitivity to leucine and arginine. A decrease in total insulin concentration and an increase in the percentage of cell death in those islets were also observed. IRS-1 and p85 PI3K subunit protein contents were increased in the islets from 45% MCFA-treated animals. AKT1 protein content was reduced in both groups of treated animals as compared to the control group. In conclusion, the MCFA proposed diet induced insulin resistance that was balanced by the hyperinsulinemia, the gain weight reduction and the increase in the adipose tissue. The decreased insulin content in the islets of treated animals is possibly related to the increase in cell death and the reduction of AKT1 protein content. The glucose-stimulated insulin secretion was the same among both treated groups, with a decreased maximum response to higher glucose doses (11.1mM and 20mM) as compared to the control group. In addition, the resulted changes in the expression and phosphorylation levels of some of the important proteins related to the intracellular insulin signaling in adipose tissue, liver and pancreatic islets may have a crucial role in the molecular mechanisms underlying the observed insulin resistance, the decreased lipolysis, the increase in adipose tissue and the modulation of insulin secretion that was able to keep the normal glucose levels in the treated animals. In this regard, the possibility of using this kind

of diet as a nutritional strategy should take into consideration the chances of interfering with normal growth, insulin synthesis and secretion.

Key words: Insulin receptor, intracellular signaling, insulin resistance, medium chain fatty acids, pancreatic islets, adipose tissue.

1 INTRODUÇÃO

O excesso de adiposidade corporal tem afetado de maneira crescente um grande contingente de pessoas no mundo inteiro (Atkinson; Nitzk, 2001). Essa condição está relacionada a um desequilíbrio metabólico que contribui para o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, hiperlipemia, hipertensão e doenças vasculares (Branddon et al., 1986). A prevalência de indivíduos com sobrepeso e obesos está associada a vários fatores como o estilo de vida sedentário, consumo de alimentos ricos em carboidratos, baixo consumo de fibras e elevada ingestão de alimentos ricos em gorduras (Andersen, 2000).

A insulina também exerce efeitos pleiotrópicos de fundamental importância na regulação da homeostase energética dentre os quais podemos destacar:

- Captação de glicose no músculo estriado e no tecido adiposo;
- Lipogênese e síntese protéica;
- Síntese de glicogênio hepático e muscular;
- Estimulação do crescimento e diferenciação celular;
- Possui efeito anti-catabólico, inibindo produção hepática de glicose, a cetogênese, proteólise e lipólise (Goodman; Gilman, 2006).

A insulina é um hormônio centralmente envolvido nos eventos que cursam com o desenvolvimento e instalação da obesidade. A secreção desse hormônio, pelas células betas pancreáticas em resposta principalmente aos níveis circulantes de glicose, apresenta alterações no padrão secretório tanto em modelos animais quanto em humanos obesos (Bray; York, 1979; Bernardis, et al., 1982; Campfield; Smith, 1983; Penicaud et al., 1987; Timmers et al., 1990; Chen et al., 1993; Yamatani et al., 1998).

1.1 VIAS DE SINALIZAÇÃO INTRACELULAR DA INSULINA E IGF₁

Vários trabalhos têm demonstrado que os elementos da sinalização intracelular da insulina já caracterizados em tecidos como fígado, músculo e tecido adiposo são também expressos nas células beta das ilhotas pancreáticas (Figura 1) (Velloso et al., 1995; Kulkarni et al., 1999; Saltiel; Kahn, 2001). Diversas evidências vindas de distintas fontes mostram a ocorrência de uma estreita relação entre falência na secreção deste hormônio, resistência à insulina e ação parácrina

presentes no DM tipo 2. No entanto, o papel que estas proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina exercem neste tecido ainda não está bem definido.

A deleção do receptor para insulina e de seus substratos em roedores tem sido associada a diversas alterações metabólicas. A ausência total do receptor de insulina em camundongos leva a morte neonatal precedida de cetoacidose (KULKARNI, 2002). Por outro lado, os animais *knockout* para os substratos 1 e 2 do receptor de insulina apresentam resultados diferentes. Camundongos *knockout* para o IRS₁ apresentam retardo no crescimento corporal, resistência à insulina e hiperinsulinemia, acompanhado de hiperplasia das ilhotas pancreáticas (Araki et al., 2002). Desta maneira, começou-se a estabelecer um papel maior deste substrato em mediar os efeitos de crescimento deste hormônio e do IGF₁. Por outro lado, nos camundongos *knockout* para IRS₂ houve desenvolvimento de resistência à insulina que progrediu para o estabelecimento de DM com hipoplasia das ilhotas pancreáticas e diminuição da secreção de insulina (Withers et al., 1998). Outros dois substratos da família dos IRS, o IRS₃ e o IRS₄, foram também detectados nas ilhotas pancreáticas (KULKARNI et al., 1999). Camundongos com deleção global do IRS₃ não apresentam alteração no metabolismo da glicose (Liu et al., 1999), porém a falta do IRS₄ no animal levou ao desenvolvimento de hipoglicemia, intolerância à glicose e retardo no crescimento (Fantin et al., 2000).

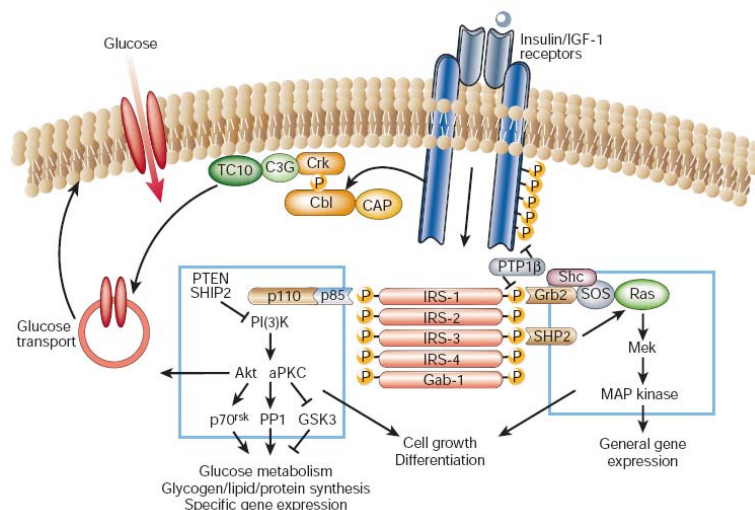


Figura 1 – Modelo esquemático da sinalização do receptor para insulina. Fonte: Saltiel; Kahn, 2001.

Os IRS são diretamente fosforilados em tirosina pela ativação do receptor de insulina e do IGF-1. Uma vez fosforilados tornam-se capazes de associarem a

moléculas de sinalização que apresentam domínios denominadas porções SH2 (segunda homologia a proteína src), como a enzima fosfatidilinositol 3'-quinase (PI3-quinase ou também conhecida como PI3K) (Folli et al., 1992).

A PI3K consiste de duas subunidades, uma catalítica de 110 kDa e uma regulatória de 85 kDa, que contém dois sítios SH2 (Carpenter; Antley, 1990), e desempenha um papel central nas ações metabólicas e mitogênicas da insulina. A associação/ativação da PI3K pela insulina pode transmitir múltiplos sinais intracelulares. PI3K catalisa a fosforilação dos fosfoinositóis na posição três e produz fosfatidilinositóis, especialmente PI 3,4,5P₃, que se liga a domínios denominados plecstrin (PH) de diferentes moléculas sinalizadoras, alterando suas atividades e localizações intracelulares (Lietze et al., 2000). Além disto, esta enzima lipídica possui atividade serina quinase e tanto a subunidade catalítica quanto a subunidade regulatória podem interagir com outras proteínas sinalizadoras. Fosfatidilinositóis 3-fosfato regulam três classes principais de moléculas sinalizadoras: família das proteínas serina/treonina quinases AGC, família das GTPases Rho e a família de tirosinas quinases TEC. PI 3-quinase também ativa a via mTOR/FRAP e pode estar envolvida na regulação da fosfolipase D, resultando em hidrólise de fosfatidilcolina e aumento de ácido fosfatídico e diacilglicerol (DAG). A proteína mais bem caracterizada das quinases AGC é a PDK-1, quinase dependente de fosfoinositol-1, que ativa a serina/treonina quinase AKT, também conhecida como PKB. AKT tem sido sugerida como uma importante proteína na transmissão do sinal insulínico, fosforilando a enzima glicogênio sintase quinase 3 (GSK3), os fatores de transcrição denominados forkhead e a proteína ligadora do elemento responsivo ao AMPc (Cross et al., 1994; Nakae et al., 1999). Outros membros da família AGC que estão a jusante da PI3K são as quinases reguladas por glicocorticóides e PKC atípicas (PKC-zeta e lambda) (Standaert et al., 1997). AKT e PKCs atípicas parecem ser necessárias para a captação de glicose estimulada pela insulina. A atividade desta via é também determinada por fosfatases como SHP2 (Ishihara et al., 1999).

Além da PI3K, pelo menos três outras proteínas com porção SH2 associam-se ao IRS₁, Syp, Nck e GRB-2 (Cheatham; Kahn, 1995). A proteína Syp (SHP2) é uma fosfotirosina fosfatase que contém duas porções SH2 e se liga à tirosina 1172 do IRS₁ (Sun et al., 1991). Esta ligação ativa a fosfatase que parece exercer um importante papel no crescimento celular induzido pela insulina. A Nck tem 47 kDa, é uma proteína adaptadora com três porções SH3 e uma SH2 e é fosforilada em

aminoácidos tirosina e serina, em resposta a diversos fatores de crescimento. Ela provavelmente conecta o IRS₁ a vias metabólicas envolvidas no crescimento celular. A GRB-2 é uma pequena proteína citoplasmática que contém duas porções SH3 e uma SH2 que se liga à tirosina 895 do IRS₁. A GRB-2 age como uma molécula adaptadora que liga o fator permutador de guanina para a p21 ras, chamado mSOS (son-of-sevenless), à fosfoproteínas como o receptor do EGF e o IRS-1. O complexo GRB/mSOS ativa a p21ras, estimulando a ligação de GTP. Por analogia, a interação do complexo GRB/mSOS ao IRS-1 pode mediar a estimulação da p21ras pela insulina. A proteína ras se liga a Raf-1, a qual fosforila e ativa a MAP quinase quinase (MAPKK), que finalmente ativará a MAP quinase (também conhecida como ERK) (Saltiel; Kahn, 2001).

Além dos membros da família de proteínas IRS (White, 1998), existem as proteínas Gab-1, p60dok, Cbl, APS, isoformas da proteína Shc e a JAK2 que atuam como substratos do receptor de insulina (Pessin; Saltiel, 2000; SAAD et al., 1996). Embora os IRS apresentem uma grande homologia, os estudos utilizando animais *knockouts* e linhagens celulares indicam que estas diferentes isoformas devam desempenhar papéis intracelulares importantes no sentido da complementaridade na via de transmissão do sinal insulínico e do IGF₁, do que da redundância.

Vale ressaltar que existem outras condições que modulam a captação e metabolização de glicose além da via clássica de sinalização da insulina. A captação da glicose também pode ser aumentada em condições especiais como durante atividade física, hipóxia e estresse químico, estes diferentes eventos promovem a depleção do ATP intracelular e foram demonstrados em adipócitos isolados por vários autores.

A proteína quinase ativada por AMP (AMPK) é uma importante enzima que participa na captação da glicose independente da insulina, a AMPK é ativada quando a razão AMP/ATP é alterada, ou seja, em condições que favoreçam o consumo e redução do ATP culmina com a elevação das concentrações intracelulares de AMP, desta forma, a molécula AMPK é ativada (Santomaro et al., 2007; Towler; Hardie, 2007).

1.2 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA SECREÇÃO DE INSULINA

As células beta pancreáticas respondem secretando insulina a glicose extracelular, ativadores da fosfolipase C (acetilcolina e colicistocinina) e ativadores da adenilato ciclase (glucagon e GIP) (Hedescov 1980; Prentki; Matschinsky, 1987; Turk et al., 1993). A glicose é captada por estas células através do transportador de glicose GLUT2, é subsequentemente fosforilada pela ação da glicocinase e metabolizada promovendo redução da condutância ao íon K^+ . Esta redução na condutância ao K^+ resulta em despolarização da membrana e abertura dos canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem. O aumento de Ca^{2+} intracelular ativa a maquinaria exocitótica, finalizando com a migração das vesículas armazenadoras de insulina em direção à membrana e subsequente extrusão do conteúdo para o meio intersticial (Hedescov, 1980; Sutter, 1982; Petersen; Findlay, 1987; Best et al., 1987; Henquin, 1994; Ahrén, 2000). Um efeito secundário da elevação do Ca^{2+} intracelular é a estimulação da adenilato ciclase e da fosfolipase C, gerando AMPc e DAG (Flatt, 1996). A secreção de somatostatina é induzida também por glicose e dependente de íons Ca^{++} e AMPc (Kanno et al., 2002; Goepel et al., 2000; Arimura; Fishback, 1981). A atividade secretora da ilhota pancreática é também modulada por estímulos de origem nervosa e hormonal externos à ilhota (Smith et al., 1991), bem como por outros nutrientes como os ácidos graxos (AG).

O armazenamento, mobilização e utilização dos diferentes substratos energéticos são regulados por mecanismos neuro-hormonais específicos e muito sensíveis. O aumento da atividade parassimpática promove o armazenamento dos substratos energéticos, glicose e ácidos graxos livres. Por sua vez, glicose e ácidos graxos também podem promover alterações autonômicas, tanto na atividade parassimpática (Nijijima, 1985) quanto sobre a atividade simpática (Leon-Quinto et al., 1998; Magnan et al., 1999).

1.3 PARTICIPAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS NA SECREÇÃO DE INSULINA

O mecanismo pelo qual os AG induzem secreção de insulina é semelhante ao da glicose e é dependente do comprimento da cadeia do AG e do número de insaturações (Opara et al., 1992; Opara et al., 1994). O maior conjunto de ácidos graxos encontrados nas dietas ocidentais consiste de moléculas que contém no

mínimo 12 átomos de carbono, denominados ácidos graxos de cadeia longa (AGCL). Por outro lado, a hiperlipemia com aumento dos ácidos graxos livres é uma das anormalidades associadas com DM e tal alteração é observada mesmo em estados que precedem o DM franco podendo inclusive participar da patogênese desta doença, tanto em humanos quanto em modelos animais (Unger, 1995; Lee et al., 1994). Além disto, a exposição de ilhotas pancreáticas isoladas a AGCL apresenta efeitos distintos dependendo do tempo da exposição, ou seja, períodos curtos (1-3h) há aumento da secreção de insulina estimulada pela glicose e períodos maiores (6-24h) há inibição deste efeito (Sako; Grill, 1990; Zhou; Grill, 1994; Zhou; Grill, 1995; Warnotte et al., 1994). Dentre os efeitos desencadeados pela exposição por curto período a AGCL está o aumento da expressão protéica do substrato do receptor de insulina, IRS-1, que parece envolver acilação de proteínas celulares (Haber et al., 2003). Por outro lado, muitos dos efeitos inibidores dos AGCL sobre a secreção de insulina envolvem diminuição da atividade de enzimas como a piruvato desidrogenase e acetil-CoA carboxilase (Zhou et al., 1995; Zhou et al., 1996; Brun et al., 1997) e expressão de genes do GLUT2, glicoquinase, insulina e somatostatina além de aumentar a síntese e secreção de glucagon (Gremlich et al., 1997).

1.4 ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA MÉDIA (AGCM)

Nas dietas ocidentais, a ingestão de ácidos graxos provenientes da dieta é principalmente constituída de AGCL (Unger, 1995; Lee et al., 1994). Porém, ácidos graxos de cadeia média (AGCM) também podem ser utilizados como aporte energético. A partir da década de 1950 tornou-se possível o aumento do consumo com AGCM, pela produção de triacilglicerol de cadeia média (TCM) semi-sintético, uma vez que são pouco encontrados em alimentos naturais. Como estes AGCM ou TCM são mais rapidamente metabolizados que os AGCL, tornaram-se instrumentos importantes na nutrição enteral ou parenteral em humanos, quando a digestão, absorção ou mesmo o transporte de lípidos de cadeia longa estavam alterados. Desta maneira, TCM ou AGCM tem sido utilizado em nutrição de convalescentes há algumas décadas (Bach; Babayan, 1982; Ingenbleek, 1980).

No entanto, a suplementação dietética com AGCM/TCM apresenta resultados contraditórios sobre a sensibilidade à insulina em humanos e modelos animais (Bach et al., 1996). Assim, nossa hipótese é que a oferta alimentar crônica

de AGCM/TCM pode modificar a sensibilidade periférica à insulina e sua secreção de modo independente a redução de peso corporal.

CONCLUSÕES

As conclusões do presente trabalho demonstram:

- A dieta isocalórica de AGCM nas duas formulações utilizadas induz redução do ganho de peso corporal e resistência à ação da insulina.
- Aumento da quantidade do tecido adiposo perigonadal associado a um aumento do tamanho e do número de adipócitos provenientes de animais alimentados com AGCM com reduzida captação de glicose quando estimulada por insulina;
- O grau de fosforilação basal dos resíduos de tirosina do IRS1 foi aumentado. Por outro lado, a insulina foi incapaz de aumentar o grau de associação entre as proteínas IRS2 e PI3K. Apesar destas distintas modificações, o grau de fosforilação basal e pós-estímulo com insulina da proteína AKT e da quantidade dos transportadores para glicose (GLUT1 e GLUT4) mantiveram-se semelhantes entre os grupos.
- A análise da relação estequiométrica entre a pAMPK/AMPK evidenciou diminuição da fosforilação/atividade da proteína AMPK em tecido adiposo perigonadal de animais suplementados com AGCM.
- No tecido hepático observou-se aumento da expressão protéica do IR e PI3K com diminuição do grau de fosforilação dos resíduos de tirosina do IR após o estímulo com insulina, por outro lado, não observamos alterações no grau de fosforilação da proteína AKT neste tecido.
- Nas ilhotas pancreáticas isoladas de animais alimentados com AGCM a secreção estática de insulina foi reduzida quando incubadas em altas concentrações de glicose, por outro lado, as ilhotas provenientes de animais alimentados com AGCM são mais responsivas a outros secretagogos como leucina e arginina. Além disso, constatamos uma diminuição do conteúdo total de insulina e aumento do percentual de morte celular de ilhotas pancreáticas

isoladas. Detectou-se aumento da expressão do IRS1 e da subunidade de 85kDa da PI 3-quinase nas ilhotas dos ratos alimentados com dieta contendo 45% de TCM.

- Constatamos redução da expressão da proteína AKT₁ para os grupos alimentados com AGCM nas duas concentrações utilizadas, associado a um aumento da fragmentação do DNA em ilhotas pancreáticas isoladas.

Concluimos, portanto, que as alterações detectadas na expressão e no grau de fosforilação de algumas proteínas centrais na via intracelular da insulina, no tecido adiposo, fígado e nas ilhotas pancreáticas isoladas, podem ter papel importante nos mecanismos celulares que resultaram na resistência à insulina, na redução da lipólise, no aumento da adiposidade e na modificação da secreção desse hormônio, mantendo normal a glicemia dos animais. Assim, a utilização em longo prazo dessa estratégia nutricional deve levar em conta a possibilidade de interferir no crescimento normal do indivíduo, na sensibilidade à insulina e na sua secreção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Ahrén B. Autonomic regulation of islet hormone secretion – Implications for health and disease. *Diabetologia*. 2000;43(4):309-410.

Andersen RE. The spread of the childhood obesity epidemic. The spread of the childhood obesity epidemic. *CMAJ*. 2000;163(11):1461-2.

Atkinson RL, Nitzke SA. School based programmes on obesity. 2001;323(7320):1018-9.

Araki E, Lipes MA, Patti M, Brüning C, Haag III B, Johnson S, Kahn R. Alternative pathway of insulin signaling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature*. 1994;372(6502):186-90.

Arimura N, Fishback JB. Somatostatin: regulation of secretion. *Neuroendocrinology*. 1981;33(4):246–56.

Bach AC, Babayan VX. Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr*. 1982;36 (5):950-62.

Bach AC, Ingernbleek Y, Frey A. The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? *J Lip Res*. 1996; 37(4):708-26.

Baldeweg SE, Golay A, Natali A, Balkau B, Del Prato S, Coppack SW. Insulin resistance, lipid and fatty acid concentrations in 867 health Europeans. *Eur J Clin Invest*. 2000; 30(1):45-52.

Bandyopadhyay G, Kanoh Y, Sajan MP, Standaert ML, Farese RV. Effects of adenoviral gene transfer of wild-type, constitutively active, and kinase-defective protein kinase C-lambda on insulin-stimulated glucose transport in L6 myotubes. *Endocrinology*. 2000;141(11):4120-12.

*De acordo com:

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

Bandyopadhyay G, Standaert ML, Galloway L, Moscat J, Farese RV. Evidence for involvement of protein kinase C (PKC)-zeta and noninvolvement of diacylglycerol-sensitive PKCs in insulin-stimulated glucose transport in L6 myotubes. *Endocrinology*. 1997; 138(11):4721-31.

Blachier F, Leclercq-Meyer V, Marchand J, Woussen-Colle MC, Mathias PCF, Sener A, Malaisse WJ. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release. Functional response of islets to L-arginine and L-ornithine. *Biochim Biophys Acta*. 1989;1013(2):144-51.

Behrmer OA, DeTolosa EMC, De Freitas-Neto AG. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: EDART/Ed/USP; 1976.

Bernardis LL, Luboschitsky R, Bellinger LL, McEwen G. Nutritional studies in the weanling rat with normophagic hypothalamic obesity. *J Nutr*. 1982; 112(7):1441-55.

Best L, Tomlinson S, Hawkins PT, Downes CP. Production of inositol trisphosphates and inositol tetrakisphosphate in stimulated pancreatic islets. *Biochim Biophys Acta*. 1987;927(1):112-6.

Biddinger SB, Kahn R. From mice to men: Insights into the insulin resistance syndromes. *Annu Rev Physiol*. 2006;68:123-58.

Boden G, Chen X. Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest*. 1995;96(3):1261-8.

Boden G. Fatty acids and insulin resistance. *Diabetes Care*. 1996;19(4):394-5.

Braddon FE, Rodgers B, Wadsworth ME, Davies JM. Onset of obesity in a 36 year birth cohort study. *Br Med J*. 1986;293(6542):299-303.

Bray GA, York DA. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiol Rev*. 1979;59(3):719-809.

Brinton, EA. Controversies in dyslipidemias: Atheroprevention in diabetes and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1055(1):159-78.

Brun T, Assimacopoulos-Joannet P, Corkey BR, Prentki, M. *Diabetes*. 1997;46(3): 393-400.

Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB *et al.* Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2000;23(1):57-63.

Boschero AC, Crepaldi SC, Carneiro EM, Delattre E, Atwater I. Prolactin induces maturation of glucose sensing mechanisms in cultured neonatal rat islets. *Endocrinology.* 1993;133(2):515-20.

Campfield AL, Smith FJ. Alteration of islet neurotransmitter sensitivity following ventromedial hypothalamic lesion. *Am J Physiol.* 1983;5(244)R635-40.

Carpenter CL, Cantley LC. Phosphoinositide kinases. *Biochemistry.* 1990;29(51):11147-56.

Charles S, Tamagawa T, Henquin JC. A single mechanism for the stimulation of insulin release and $^{86}\text{Rb}^+$ efflux from rat islets by cationic amino acids. *Biochem J.* 1982;208(2):301-308.

Chanez M, Bois-Joyeux B, Arnaud MJ, Peret J. Metabolic effects in rats of a diet with a moderate level of medium-chain triglycerides. *J Nutr.* 1991;121(5):585-94.

Cheatham B, Kahn CR. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr Rev.* 1995;16(2):117-42.

Chen NG, Tassava TM, Romsons DR. Threshold for glucose stimulated insulin secretion in pancreatic islets of genetically obese (*ob-ob*) mice is abnormally low. *Am Inst Nutr.* 1993;123(9):1567-74.

Crespin SR, Greenough WB, Steingerg III D. Stimulation of insulin secretion by infusion of free fatty acids. *J Clin Invest.* 1969;48(1):1934-43.

Fantin VR, Wang O, Lienhard GE, Keller SR. Mice lacking insulin receptor substrate 4 exhibit mild defects in growth, reproduction, and glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(1):E127-33.

Farese RV. Function and dysfunction of aPKC isoforms for glucose transport in insulin-sensitive and insulin-resistant states. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 283(1):E1-E11.

Farese RV, Sajan MP, Standaert ML. Insulin-sensitive protein kinases (atypical protein kinase C and protein kinase B/Akt): actions and defects in obesity and type II diabetes. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2005;230(9):593-605.

Felher JP, Vanotti A. Effects of fat infusions on glucose tolerance and insulin plasma levels. *Med Exp*. 1964;10:153-6.

Fex M, Nitert M, Wierup N, Sundler F, Ling, C, MULDER, H. Enhanced mitochondrial metabolism may account for the adaptation to insulin resistance in islets from C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Diabetologia*. 2007;50(1):74-83.

Fine JB, Digirolamo M. A simple method to predict cellular density in adipocyte metabolic incubations. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21(9):764-8.

Fisher SJ, Kahn CR. Insulin signaling is required for insulin's direct and indirect action on hepatic glucose production. *J Clin Invest*. 2003;111(4):463-8.

Flatt PR. Pancreatic B-cells as mediators of metabolic effects of regulatory peptides. *Biochem Soc Trans*. 1996;24(2):570-5.

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues. *J Biol Chem*. 1957;226(1):497-509.

Folli F, Saad MJ, Backer JM, Kahn CR. Insulin stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity and association with insulin receptor substrate 1 in liver and muscle of the intact rat. *J Biol Chem*. 1992;267(31):22171-7.

Ford ES, Giles, WH, Dietz, WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002;287(3):356-9.

Gauthier MS, Miuoshi H, Souza SC, Caciced JM, Saha AK, Greenberg AS, Ruderman NB. AMP-activated protein kinase is activated as a consequence of lipolysis in the adipocyte: potential mechanism and physiological relevance. *J Biol Chem*. 2008;283(24):16514-24.

Geliebter A, Torbay N, Bracco EF, Hashim SA, VAN ITALLIE, T.B. Overfeeding with medium-chain triglyceride diet results in diminished deposition of fat. *Am J Clin Nutr*. 1983;37(1):1-4.

Geloneze B, Tambascia MA. Laboratorial evaluation and diagnosis of insulin resistance. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):208-15.

Goberna RJ, Tamrit JJ, Fussgänger R, Tamrit J, Pfeifer EF. Action of beta-hydroxybutyrate, acetoacetate and palmitate on the insulin release from the perfuse rat pancreas. *Horm Metab Res.* 1974;6(4):256-60.

Göepel SO, Kanno T, Barg S, Rorsman P. Patch-clamp characterization of somatostatin-secreting δ -cells in intact mouse pancreatic islets. *J Physiol.* 2000;528(Pt3):497–507.

Goodman LS, Gilman AG. *The pharmacological basis of therapeutics.* 11. ed. Toronto: McGraw-hill; 2006.

Gravena C, Mathias PC, Ashcroft SJ. Acute effects of fatty acids on insulin secretion from rat and human islets of LangerHans. *J Endocrinol.* 2002;173(1):73-80.

Gylfe E. Comparison of the effects of leucines, non-metabolizable leucine analogues and other insulin secretagogues on the activity of glutamate dehydrogenase. *Acta Diabetol Lat.* 1976;13(1-2):20-24.

Haber EP, Hirabara SM, Gomes AD, Curi R, Carpinelli AR, Carvalho CRO. Palmitate modulates the early steps of insulin signalling pathway in pancreatic islets. *FEBS Lett.* 2003;544(1-3):185-8.

Han, J, Hamilton JA, Kirkland JL, Corkey BE, Guo W. Medium-chain oil reduces fat mass and down-regulates expression of adipogenic. *Obesity Res.* 2003;11(6):734-44.

Hardie DG. Minireview: Role of AMP-activated protein kinase in the metabolic syndrome and in heart disease. *FEBS Lett.* 2008;582(1):81-9.

Harkins RW, Sarett HP. Nutritional evaluation of medium-chain triglycerides in the rat. *J Am Oil Chem Soc.* 1968;45(1):26-30.

Hartman L, Lago BC. A Rapid Preparation of Fatty Acids Methyl Esters From Lipids. *Lab Pract.* 1973;22(6):475-476.

Hawley SA, Selbert MA, Goldstein EG, Edelman AM, Carling D, Hardie DG. 5'-AMP activates the AMP-activated protein kinase cascade, and Ca²⁺/calmodulin the

calmodulin-dependent protein kinase I cascade, via three independent mechanisms. *J Biol Chem.* 1995;270(45):27186-91.

Hawley SA, Davison M, Woods A, Davies SP, Beri RK, Carling D, Hardie DG. Characterization of the AMP-activated protein kinase from rat liver, and identification of threonine-172 as the major site at which it phosphorylates and activates AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem.* 1996;271(44):27879-87.

Hedekov CJ. Mechanism of glucose-induced insulin secretion. *Physiol Rev.* 1980;60(2):42-509.

Henquin JC, Meissner HP. Effects of amino acids on membrane potential and ^{86}Rb fluxes in pancreatic β -cells. *J Physiol.* 1981;240(3):E245-52.

Henquin JC, Meissner HP. Cyclic adenosine monophosphate differently affects the response of mouse pancreatic beta-cells to various amino acids. *J Physiol.* 1986;381:77-93.

Hermans MP, Schmeer W, Henquin JC. The permissive effect of glucose, tolbutamide and high K^+ on arginine stimulation of insulin release in isolated mouse islets. *Diabetologia.* 1987 ;30(8):659-65.

Hirata AE, Andrade IS, Vaskevicius P, Dolnikoff MS. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Braz J Med Biol Res.* 1997;30(5):671-4.

Idris I, Gray S, Donnelly R. Protein kinase C activation: isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes. *Diabetologia.* 2001;44(6):659-73.

Ishihara H, Sasaoka T, Hori H, Wada T, Hirai H, Haruta T, Langlois WJ, Kobayashi M. Molecular cloning of rat SH2-containing inositol phosphatase 2 (SHIP2) and its role in the regulation of insulin signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;260(1):265-72.

Kahn BB, Pedersen O. Suppression of GLUT4 expression in skeletal muscle of rats that are obese from high fat feeding but not from high carbohydrate feeding or genetic obesity. *Endocrinology.* 1993;132(1):13-22.

Kanno T, Gopel SO, Rorsman P, Wakui M. Cellular function in multicellular system for hormone-secretion: electrophysiological aspect of studies on α -, β - and δ -cells of the pancreatic islet. *Neurosci Res.* 2002;42(2):79–90.

Kotani K, Ogawa W, Matsumoto M, Kitamura T, Sakaue H, Hino Y, Miyake K, Sano W, Akimoto K, Ohno S, Kasuga M. Requirement of atypical protein kinase clambda for insulin stimulation of glucose uptake but not for Akt activation in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol.* 1998;18(12):6971-82.

Kulkarni RN. Receptors for insulin and insulin-like growth factor-1 and insulin receptor substrate-1 mediate pathways that regulate islet function. *Biochem Soc Trans.* 2002;30(2):317-22.

Kulkarni RN, Winnay JN, Daniels M, Bruning JC, Flier SN, Hanahan D, Kahn CR. Altered function of insulin receptor substrate-1-deficient mouse islets and cultured beta-cell lines. *J Clin Invest.* 1999;104(12):R69-75.

Kulkarni RN, Brüning JC, Winnay JN, Postic C, Magnuson MA, Kahn CR. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell.* 1999;96(3):329-39.

Kus V, Prazak T, Brauner P, Hensler M, Kuda O, Flachs P, Janovska P, Medrikova D, Rossmeisl M, Jilkova Z, Stefl B, Pastalkova E, Drahota Z, Houstek J, Kopecky J. Induction of muscle thermogenesis by high-fat diet in mice: association with obesity-resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;295(2):E356-67.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970;227(5259):680-5.

Lavau MM, Hashim SA. Effect of medium chain triglyceride on lipogenesis and body fat in the rat. *J Nutr.* 1978;108(4):613-20.

Lietzke SE, Bose S, Cronin T, Klarlund J, Chawla A, Czech MP, Lambright DG. Structural basis of 3-phosphoinositide recognition by plexkstrin homology domains. *Mol Cell.* 2000;6(2):385-94.

Liu SC, Wang Q, Lienhard GE, Keller SR. Insulin receptor substrate 3 is not essential for growth or glucose homeostasis. *J Biol Chem.* 1999;274(25):18093-9.

Liu YQ, Tornheim K, Leahy JL. Fatty acid-induce beta cell hypersensitivity to glucose. Increase phosphofructokinase activity and lowered glucose-6-phosphate content. *J Clin Invest.* 1998;101(9):1870-75.

Lima TM, Kanunfre CC, Pompéia C, Verlengia R, Curi R. Ranking the toxicity of fatty acids on Jurkat and Raji cells by flow cytometric analysis. *Toxicol In Vitro.* 2002;16(6):741-747.

Lima TM, Amarante-Mendes GP, Curi R. Docosahexaenoic acid enhances the toxic effect of imatinib on Bcr-Abl expressing HL-60 cells. *Toxicol In Vitro.* 2007;21(8):1678-85.

Lee TN, Gold G, Workman R, Cook CA, Konrad RJ. Glucose stimulates the association of Crk with p130Cas in pancreatic beta cells. *Pancreas.* 2004;29(4):e100-5.

Lee Y, Hirose H, Ohneda M, Johnson JH, McGarry JD, Unger RH. Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(23):10878-10882.

Leon-Quinto T, Magnan C, Portha B. Altered activity of the autonomous nervous system as a determinant of the impaired β -cell secretory response after protein-energy restriction in the rat. *Endocrinology.* 1998;139(8):3382-89.

Leveille GA, Pardini RS, Tillotson JA. Influence of medium-chain triglycerides on lipid metabolism in the rat. *Lipids.* 1967;4:287-94.

Madison LL, Seyffert WA, Unger RH, Barker B. Effect of plasma free fatty acids on plasma glucagon and serum insulin concentrations. *Metabolism.* 1968;17(4):301-4.

Magnan C, Collins S, Berthault MF, Kassis N, Vincent M, Gilbert M, Penicaud L, Katorza A, Assimacopoulos-Jeannet F. Lipid infusion lowers sympathetic nervous activity and leads to increased beta-cell responsiveness to glucose. *J Clin Invest.* 1999;103(3):413-9.

Malaisse WJ, Best S, Kawazu F, Malaisse-Lagae F, Sener A. The stimulus-secretion coupling of glucose-induced insulin release. Fuel metabolism in islets deprived of exogenous nutrients. *Arch Biochem Biophys.* 1983;224(1):102-10.

Martin TL, Alquier T, Asakura K, Furukawa N, Preitner F, Kahn BB. Diet-induced obesity alters AMP kinase activity in hypothalamus and skeletal muscle. *J Biol Chem.* 2006;281(28):18933-41.

Milburn JL, Hirose H, Lee YH, Nagasawa Y, Ogawa A, Ohneda M, Beltrandelrio H, Newgard CB, Johnson SH, Unger RH. Pancreatic beta-cells in obesity. Evidence for induction of functional, morphologic, and metabolic abnormalities by increase long chain fatty acids. *J Biol Chem.* 1995;270(3):1295-9.

Mziaut H, Trajkovski M, Kersting S, Ehninger A, Altkrüger A, Lemaitre P, Schmidt D, Saeger H, Lee M, Drechsel DN, Müller S, Solimena M. Synergy of glucose and growth hormone signalling in islet cells through ICA 512 and STAT₅. *Nat Cell Biol.* 2006;8(5):435-45.

Mayer EJ, Newman B, Quesenberry CPJr, Selby JV. Usual dietary fat intake and insulin concentrations in healthy women twins. *Diabetes Care.* 1993;16(11):1459-69.

Nicoletti I, Migliorati G, Pagliacci MC, Grignani F, Riccardi C. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *J Immunol Methods.* 1991;139(2):271-79.

Neri LM, Borgatti P, Tazzari PL, Botul R, Cappellini A, Tabellini G, Bellacosa A, Capitani S, Martelli AM. The phosphoinositide 3-kinase/AKT1 pathway involvement in drug and all-trans-retinoic acid resistance of leukemia cells. *Mol Cancer.* 2003;1(3):234-46.

Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signaling pathway in human malignancy. *Cell Signal.* 2002;14(5):381-95.

Nijjima A. Blood glucose levels modulate efferent activity in the vagal supply to the rat liver. *J Physiol.* 1985;364:105-12.

Opara EC, Garfinkel M, Hubbard VS, Buch WM, Akwari OE. Effect of fatty acids on insulin release: role of chain length and degree of unsaturation. *Am J Physiol.* 1994;266(4 Pt1):E635-E639.

Opara EC, Hubbard VS, Burch WM, Akwari OE. Characterization of the insulinotropic potency of polyunsaturated fatty acids. *Endocrinology.* 1992;130(2):517-34.

Panten U, Kriegsten E, Poses W, Schonborn J, Hasselblatt A. Effects of L-Leucine and α -ketoisocaproic acid upon insulin secretion and metabolism of isolated pancreatic islets. *FEBS Lett.* 1972;20(2):225-228.

Parker DR, Weiss ST, Troisi R, Cassano PA, Vokonas PS, Landsberg L. Relationship of dietary saturated fatty acids and body habit's to serum insulin concentration: the Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr.* 1993;58(2):129-36.

Penicaud L, Ferré P, Terretaz J, Kinebanyan MF, Leturque A, Dore E, Girard J, Jeanrenaud B, Picon L. Development of obesity in Zucker rats. Early insulin resistance in muscles but normal in white adipose tissue. *Diabetes.* 1987;36(5):626-31.

Petersen OH, Findlay I. Electrophysiology of the pancreas. *Physiol Rev.* 1987;67(3):1054-116.

Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(2):165-9.

Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metabol.* 2004;30(5):398-408.

Prada PO, Pauli JR, Zecchin HG, Carvalheira JB, Velloso LA, Saad MJ. Selective modulation of the CAP/Cbl pathway in the adipose tissue of high fat diet treated rats. *FEBS Lett.* 2006;580(20):4889-94.

Prentki M, Matschinsky FM. Ca^{2+} , cAMP, and phospholipid-derived messengers in coupling mechanisms of insulin secretion. *Physiol Rev.* 1987;67(4):1185-248.

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):785-789.

Renier G, Aribat T, Deslauriers N, Gaudreau P. Cellular mechanism of caprylic acid-induced growth hormone suppression. *Metabolism.* 1990;39(10):1108-12.

Ruderman NB, Saha AK, Kraegen EW. Minireview: Malonyl CoA, AMP-activated protein kinase, and adiposity. *Endocrinology.* 2003;144(12):5166-71.

Rodbell M. Metabolism of isolated fat cells. Effects of hormone on glucose metabolism and lipolysis. *J Biol Chem.* 1964;239:375-80.

Rhodes CJ. Type 2 diabetes – a matter of beta-cell life and death?. *Science.* 2005;307(5708):380-384.

Rhodes CJ. IGR-I and GH post-receptor signaling mechanisms for pancreatic β -cell replication. *J Mol Endocrinol.* 2000;24(3):303-11.

Ruderman NB, Saha, A.K.; Kraegen EW. Minireview: Malonyl CoA, AMP-activated protein kinase, and adiposity. *Endocrinology.* 2003;144(12):5166-71.

Saad MJ, Carvalho CR, Thirone AC, Velloso LA. Insulin induces tyrosine phosphorylation of JAK2 in insulin-sensitive tissues of the intact rat. *J Biol Chem.* 1996;271(36):22100-4.

Sako Y, Grill VE. A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B cell oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation. *Endocrinology.* 1990;127(4):1580-9.

Salans LB, Knittle JL, Hirsch J. The role of adipose cell size and adipose tissue insulin sensitivity in the carbohydrate intolerance of human obesity. *J Clin Invest.* 1968;47(1):153-165.

Salans LB, Dougherty JW. The effect of insulin upon glucose metabolism by adipose cells of different size. Influence of cell lipid and protein content, age, and nutritional state. *J Clin Invest.* 1971;50(7):1399-1410.

Saltiel AR; Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001;414(6865):799-806.

Samuel VT, Liu Z, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, Romanelly AJ, Shulman GI. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem.* 2004;279(31):32345-53.

Santomauro-Júnior AC, Ugolini MR, Santomauro AT, Do Souto RP. Metformina e AMPK: Um antigo fármaco e uma nova enzima no contexto da síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(1):120-5.

Sener A, Malaisse WJ. L-Leucine and a nonmetabolized analogue activate pancreatic islet glutamate dehydrogenase. *Nature*. 1980;288(5787):187-9.

Shimabukuro M, Zhou Y, Levi M, Unger RH. Fatty acid-induced β cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(5):2498-2502.

Smith PA, Sakura H, Coles B, Gummerson N, Proks P, Ashcroft FM. Electrogenic arginine transport mediates stimulus-secretion coupling in mouse pancreatic β -cells. *J Physiol*. 1997, v.499, p.625-35.

Smith FE, Rosen KM, Villa-Komaroff L, Weir GC, Bonner-Weir S. Enhanced insulin-like growth factor I gene expression in regenerating rat pancreas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(14):6152-6.

Smith U. Studies of human adipose tissue in culture. I. Incorporation of glucose and release of glycerol. *Anat Rec*. 1972;172(4):597-602.

Standaert ML, Galloway L, Karnam P, Bandyopadhyay G, Moscat J, Farese RV. Protein kinase C-zeta as a downstream effector of phosphatidylinositol 3-kinase during insulin stimulation in rat adipocytes. Potential role in glucose transport. *J Biol Chem*. 1997;272(48):30075-82.

Stein DT, Esser V, Stevenson B, Lane KE, Whiteside JH, Daniels MB, Chen S, McGarry JD. Essentiality of circulating fatty acids for glucose-stimulated insulin secretion in the fasted rat. *J Clin Invest*. 1996;97(12):2728-35.

Stein DT, Stevenson B, Chester MW, Basit M, Daniels MB, Chen S, Turley SD, McGARRY, J.D. The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation. *J Clin Invest*. 1997;100(2):398-403.

Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, Backer JM, Araki E, Wilden PA, Cahill DA, Godstein BJ, Whitte MF. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature*. 1991;352(6330):73-7.

Sutter BC. Hormonal regulation of insulin secretion. *J Physiol (Paris)*. 1982 ;78(1) :119-30.

Thirone ACP, Huang C, Klip A. Tissue-specific roles of IRS proteins in insulin signaling and glucose transport. *TRENDS Endocrinol Metab*. 2006 ;17(2) :70-75.

Thirone AC, Carneiro JB, Hirata AE, Velloso LA, Saad MJ. Regulation of Cbl-associated protein/Cbl pathway in muscle and adipose tissues of two animal models of insulin resistance. *Endocrinology*. 2004 ;145(1) :281-93.

Timmers K, Coleman DL, Voyles NR, Powell AM, Rokaeus A, Recant L. Neuropeptide content in pancreas and pituitary of obese and diabetes mutant mice: strain and sex differences. *Metab Clin Exp*. 1990;4(39):378-383.

Towbin H, Staehelin T, Gordon, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1979;76(9):43050-4.

Towler MC, Hardie G. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res*. 2007;100(3):328-41.

Turk J, Corbett JA, Ramandham S, Bohrer A, McDaniel ML. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;197(3):1458-64.

Ungen RH. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes*. 1995;44(8):863-70.

Velloso LA, Carneiro EM, Crepaldi SC, Boschero AC, Saad MJ. Glucose- and insulin-induced phosphorylation of the insulin receptor and its primary substrates IRS-1 and IRS-2 in rat pancreatic islets. *FEBS Lett*. 1995;377(3):353-7.

Warnotte C, Gilon P, Nenquin M, Henquin JC. Mechanisms of the stimulation of insulin release by saturated fatty acids. A study of palmitate effects in mouse beta-cells. *Diabetes*. 1994;43(5):703-711.

Watson RT, Pessin JE. GLUT4 translocation: The last 200 nanometers. *Cell Signal*. 2007;19(11):2209-17.

Weinhaus AJ, Poronnik P, Tuch BE, Cook DI. Mechanisms of arginine-induced increase in cytosolic calcium concentration in the beta-cell line NIT-1. *Diabetologia*. 1997;40(4):374-382.

Weyer C, Foley JE, Bogardus C, Tataranni PA, Pratley RE. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance. *Diabetologia*. 2000;43(12):1498-1506.

White MF. The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Mol Cell Biochem.* 1998;182(1-2):3-11.

White MF, Kahn CR. The insulin signaling system. *J Biol Chem.* 1994;269(1):1-4.

Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman GI, Bonner-Weir S, White MF. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature.* 1998;391(6670):900-04.

Woods SC, Porte D Jr. Neural control of the endocrine pancreas. *Physiol Rev.* 1974;54(3):596-619.

Yamatani K, Ohnuma H, Nijima A, Garashi M, Sugiyama K, Daimon M, Manaka H, Tominaga M, Sasaki H. Impaired vagus nerve-mediated control of insulin secretion in Wistar fatty rats. *Metab Clin Exp.* 1998;10(47):1167-73.

Yang J, Maika S, Craddock L, King JA, Liu Z. Chronic activation of AMP-activated protein kinase- α 1 in liver leads to decreased adiposity in mice. *Biochem Biophysical Res Commun.* 2008;370(2):248-53.

Ximenes HM, Hirata AE, Rocha MS, Curi R, Carpinelli AR. Propionate inhibits glucose-induced insulin secretion in isolated rat pancreatic islets. *Cell Biochem Funct.* 2007;25(2):173-8.

Zhou YP, Berggren PO, Grill V. A fatty acid-induced decrease in pyruvate dehydrogenase activity is an important determinant of beta-cell dysfunction in the obese diabetic db/db mouse. *Diabetes.* 1996;45(5):580-6.

Zhou YP, Grill VR. Long term exposure to fatty acids and ketones inhibits B-cell functions in human pancreatic islets of LangerHans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;43(5):1584-90.

Zhou YP, Grill VR. Long-term exposure of rat pancreatic islets to fatty acids inhibits glucose-induced insulin secretion and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle. *J Clin Invest.* 1994;93(2):870-6.

Zhou YP, Östenson CG, Ling ZC, Grill VR. Deficiency of pyruvate dehydrogenase activity in pancreatic islets of diabetic GK rats. *Endocrinology.* 1995;136(8):3546-51.