

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FISIOLÓGICA

Diretor: *Prof. Jaime A. A. Cavalcanti*

MECANISMO DE AÇÃO DA INSULINA (*)

Acad. ISAIAS RAW

Há mais de sessenta anos, Von Mering e Minkowsky fizeram suas primeiras experiências em animais pancreatectomizados, trabalhos estes que há vinte e cinco anos atrás culminaram com a descoberta por Banting e Best, da Insulina.

Até o aparecimento dos trabalhos sobre metabolismo intermediário, graças a Warburg, Meyerhof, Cori e outros hábeis pesquisadores, pouco se pode progredir no estudo do modo de ação do hormônio pancreático. Entretanto ainda hoje, em que se registram na literatura milhares de trabalhos sobre metabolismo dos glúcidos, podemos dizer que quase nada está assentado sobre este problema. Muitos dados foram obtidos, mas todos eles devem ser tomados com reservas. Primeiramente devemos notar que o organismo animal é um sistema muito complexo, onde existe um sem número de intercorrelações, regulações fisiológicas e mecanismos de defesa. Muito comumente, o pesquisador procurando dar uma explicação simples aos fenômenos ocorridos no decurso de suas experiências, esquece-se que os seus resultados representam uma soma de reações isoladas, um resultado final de muitos atos fisiológicos. Assim durante muito tempo atribuía-se os sintomas da pancreatectomia unicamente a falta de insulina (uma vez que a única lesão era a falta do pâncreas, e a administração

(*) Palestra Inaugural dos Seminários de Bioquímica de 1948, pronunciada em 19-3-48.

de insulina reconduzia o animal ao estado normal) deixando-se de levar em conta o aumento relativo dos efeitos das glândulas de ação oposta, isto é, hipófise, supra-renal e tireoide.

Por outro lado, não devemos deixar de assinalar que a grande maioria de experiências "in vitro" são feitas em condições muito distantes das fisiológicas. Os métodos empregados, particularmente os de rotina nos laboratórios de pesquisa metabólica, como o método das lâminas de tecido de Warburg ou o homogeneizado de Rotter, nos revelam apenas o que os tecidos podem fazer, mas não o que fazem nas condições fisiológicas. Assim lembramos que Cori demonstrou que os enzimas hepáticos que normalmente sintetizam glicogênio, "in vitro" sintetizam uma espécie de amido. O próprio esquema de metabolismo intermediário dos glicídios de Meyerhof, Parnas e Embden, atualmente adotado é até certo ponto apenas uma hipótese, pois muitos pontos estão ainda por serem demonstrados no organismo íntegro. Lembramos também que nos estudos sobre o modo de ação da insulina usam a quase totalidade dos experimentadores a insulina do comércio, cuja composição e propriedades se afastam da insulina natural.

Ação fisiológica da insulina

Sabemos que as hexoses uma vez absorvidas, são depositadas no fígado sob a forma de glicogênio, que funciona como uma reserva, transformando-se à medida das necessidades em glicose, que passa para a corrente sanguínea. A glicose sanguínea é retirada pelos tecidos, principalmente o muscular, depositando-se neste sob a forma de glicogênio. O glicogênio muscular é oxidado a ácido pirúvico, que por uma série de reações chega a anidrido carbônico e água. No caso de uma relativa anóxia, como num trabalho excessivo, o ácido pirúvico armazena-se e é reduzido a ácido láctico, que pode voltar a ácido pirúvico, sendo então metabolizado. No caso de um maior excesso de ácido láctico este passa para o sangue, sendo deste retirado principalmente pelo fígado reformando glicogênio.

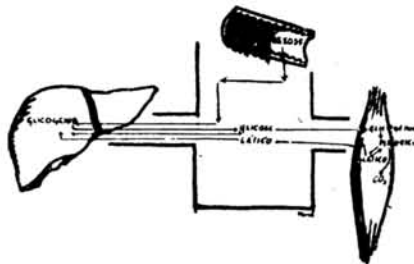


FIG. 1

Os trabalhos de Cori demonstraram que a passagem (reversível no fígado mas irreversível no músculo) de glicose a glicogênio se faz por várias reações de que participa o ácido fosfórico formando-se esteres fosfóricos.

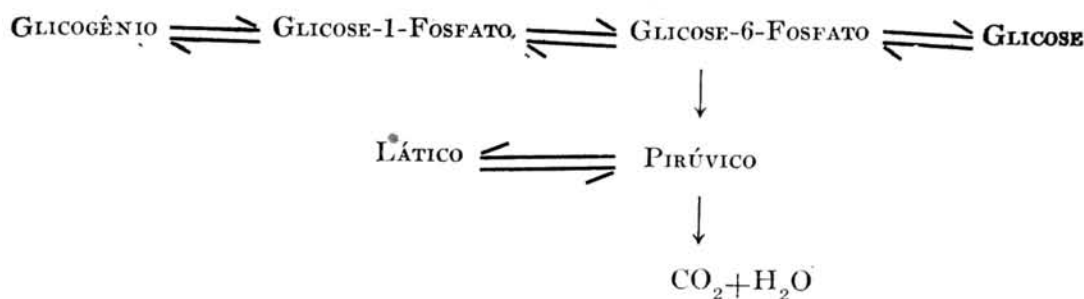


FIG. 2

A injeção de insulina tem vários efeitos: hipoglicemia, glicogênio, deposição, anticetogenese e hipofosfatemia. Isto significa que uma injeção de insulina determina uma diminuição da glicose do sangue e um aumento do glicogênio dos tecidos (no indivíduo normal a insulina determina uma diminuição do glicogênio hepático) uma menor formação de ácido aceto-acético, beta hidroxibutírico e acetona, bem como uma diminuição do fósforo inorgânico do sangue.

Até 1938 não era conhecida a ação glicorreguladora autônoma do fígado, função esta que permite ao fígado regular a glicemia. Sabemos que após a injeção ou a administração endovenosa de uma dose de glicose, a glicemia aumenta, voltando ao normal duas ou três horas mais tarde. Imaginava-se antigamente que a volta da glicemia ao normal se devia a uma descarga de insulina que determinava uma deposição de glicogênio, principalmente hepática. Soskin demonstrou (fig. 3) que mesmo num animal em que se retira o pâncreas e se administra uma injeção constante de insulina, a diminuição da hiperglicemia alimentar, isto é, a curva glicêmica, é normal, indicando isto que a função de glicorregulação é do fígado, ativamente, e não do pâncreas pela libertação de uma quantidade adicional de insulina. Os trabalhos de Soskin e col. (1934-1938, fig. 4), Bodo (1933), Mirsky (1937) e outros, demonstraram que mesmo "in vitro" isto acontece. Assim o acréscimo de glicose impede a glicogenolise.

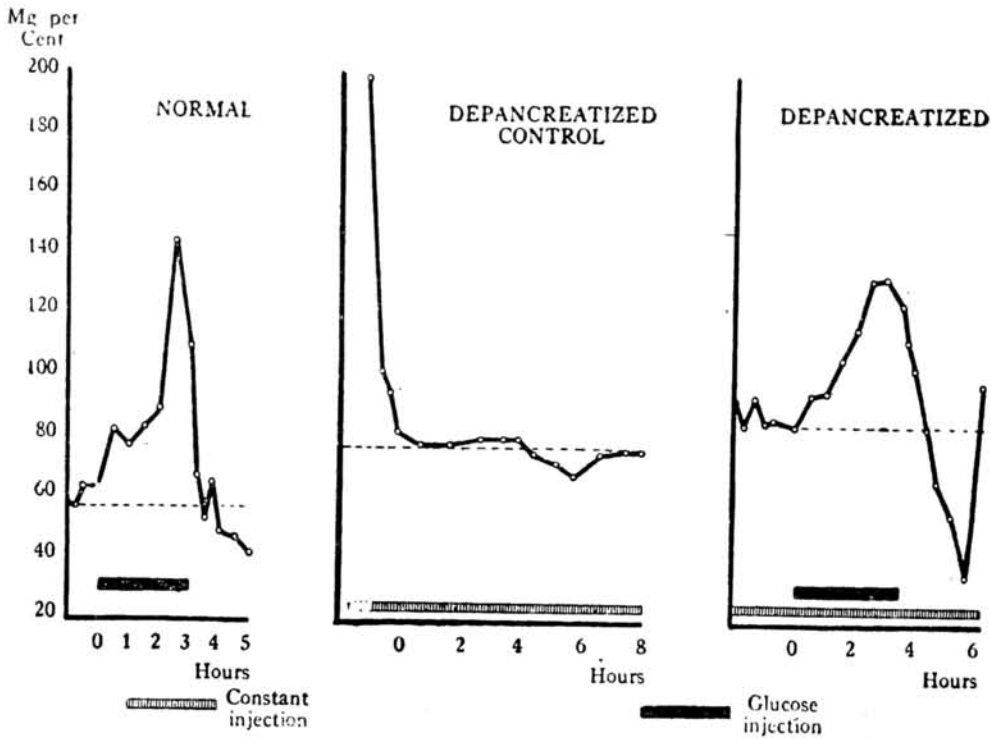


FIG. 3

Normal: resultado após a administração de glicose. Contrôlo despancreatizado: manutenção da glicemia pela administração de uma injeção constante de insulina. Despancreatizado: curva glicêmica em animal com administração de injeção constante de insulina.

Soskin e Allweis, *Am. J. Phys.* 110: 4 (1934).

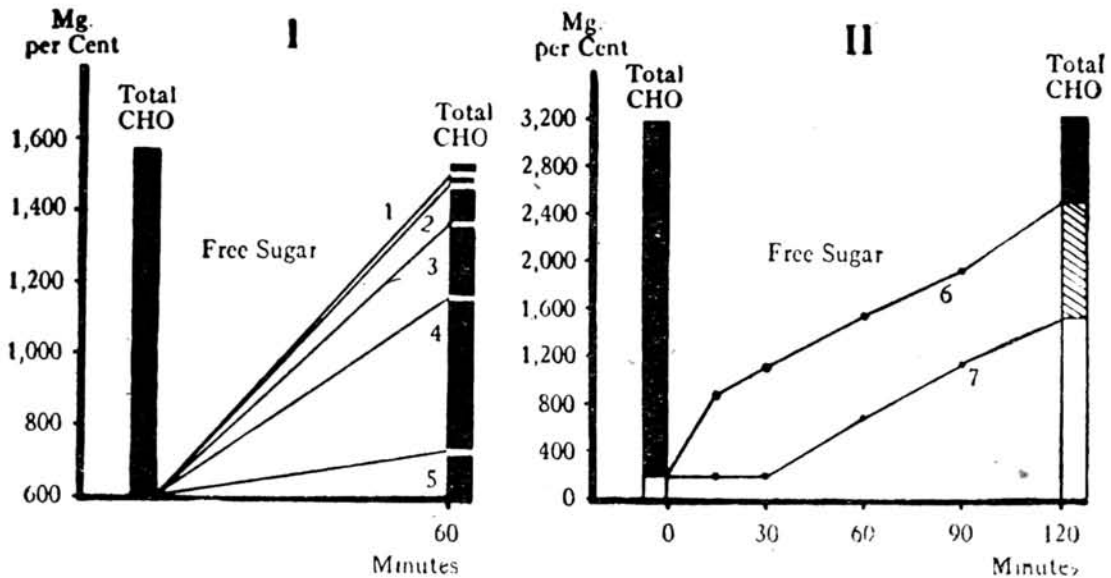


FIG. 4

Inibição da glicogenolise hepática por glicose adicionada:

- I: influência de diferentes quantidades de glicose adicionadas no aparecimento de glicose em polpa de fígado, em 1 hora: 1- sem glicose, 2-5mg 3-10 mg 4- 20mg 5- 40 mg.
- II: comparação do aparecimento de glicose, em diferentes intervalos de tempo, com e sem adição de glicose: 6- sem adição 7- com 20 mg.

Soskin e col., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 42: 689 (1939)

Êstes resultados hoje bem assentados (mas pouco citados na literatura, principalmente clínica) afastaram definitivamente a idéia de que a insulina seja responsável, por mecanismo direto, pela manutenção da glicemia.

Teorias de diabete

Encontramos na literatura, conforme está bem esquematizado no livro recente de Soskin e Levine, duas-teorias fundamentais de diabete. A primeira conhecida por “teoria da não utilização”, proposta por Minkowski imagina que o diabetes represente uma menor utilização da glicose pelos tecidos. Como o fígado estaria fornecendo uma quantidade constante de glicose, esta, não sendo utilizada, determinaria uma hiperglicemia e uma glicosúria. Esta teoria, de acôrdo com os resultados que mais tarde citaremos, caiu totalmente em desuso, e atualmente é pouco defendida. Soskin propôs uma segunda teoria que, apesar de parecer mais correta que a anterior, sofre fortes críticas principalmente dos clínicos. Pela teoria de Soskin, conhecida pelo nome de “teoria da superprodução”, o diabete é o resultado das desregulação hepática, distúrbio êste que determinaria então uma superprodução e conseqüente hiperglicemia e glicosúria.

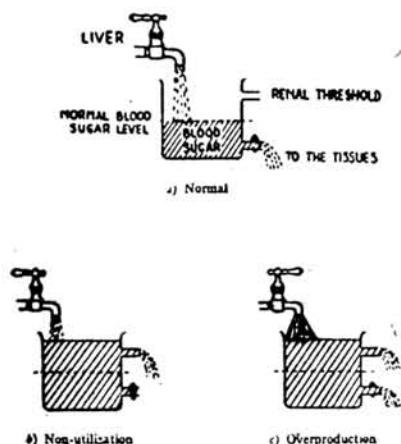


FIG. 5

Diagramas mostrando as analogias mecânicas ilustrando as teorias de diabete seg. Soskin e Levine, *Carbohydrate metabolism*, 1946, Univ. Chicago Press.

Nos próprios trabalhos de Soskin encontramos dados para defender uma outra teoria, que denominaremos de “teoria da não utilização com superprodução secundária”. Imaginemos que a utilização dos tecidos esteja diminuída. Como tôdas as reações (ou quase tôdas) da glicogênese e glicogenólise são reversíveis, o fí-

gado sendo dotado de poder regulador determinaria um aumento de glicemia, procurando ultrapassar a barreira determinada pela menor utilização dos tecidos, quando falta o hormônio pancreático. Representaria assim, como documentaremos adiante, a hiperglicemia, um mecanismo de defesa do organismo.

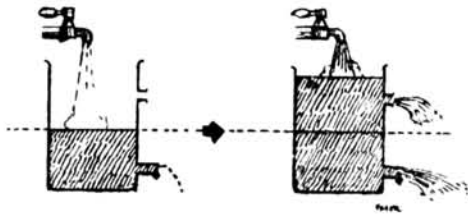


FIG. 6

Representação mecânica da teoria de não utilização com superprodução secundária.

Ação da insulina nas reações glicose-glicogênio

Trabalhos de Mann já em 1928 e trabalhos de Cori e col. (1940-41) mostraram que o músculo pode depositar glicogênio na ausência da insulina. Entretanto a presença da insulina facilita e mesmo acelera a retirada de glicose do meio ou do sangue, como demonstraram Dambrosi e Luckens (1933) e mais recentemente Gemmil e col. (1940-41) e Soskin (1941-42).

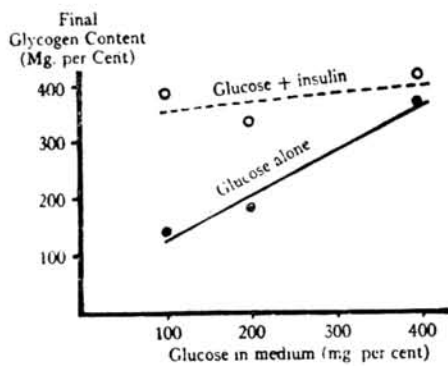


FIG. 7

Influência da insulina na deposição de glicogênio no diafragma de rato "in vitro" Soskin e col., Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 46: 390 (1941).

Mesmo no animal íntegro Soskin e Levine demonstraram que a insulina facilita a utilização de glicose. Conforme notamos na figura 8, a insulina permite que o organismo utilize uma dada quantidade de glicose, que, na ausência desta, precisaria de uma glicemia, através da lei da ação de massas facilita as reações de utilização.

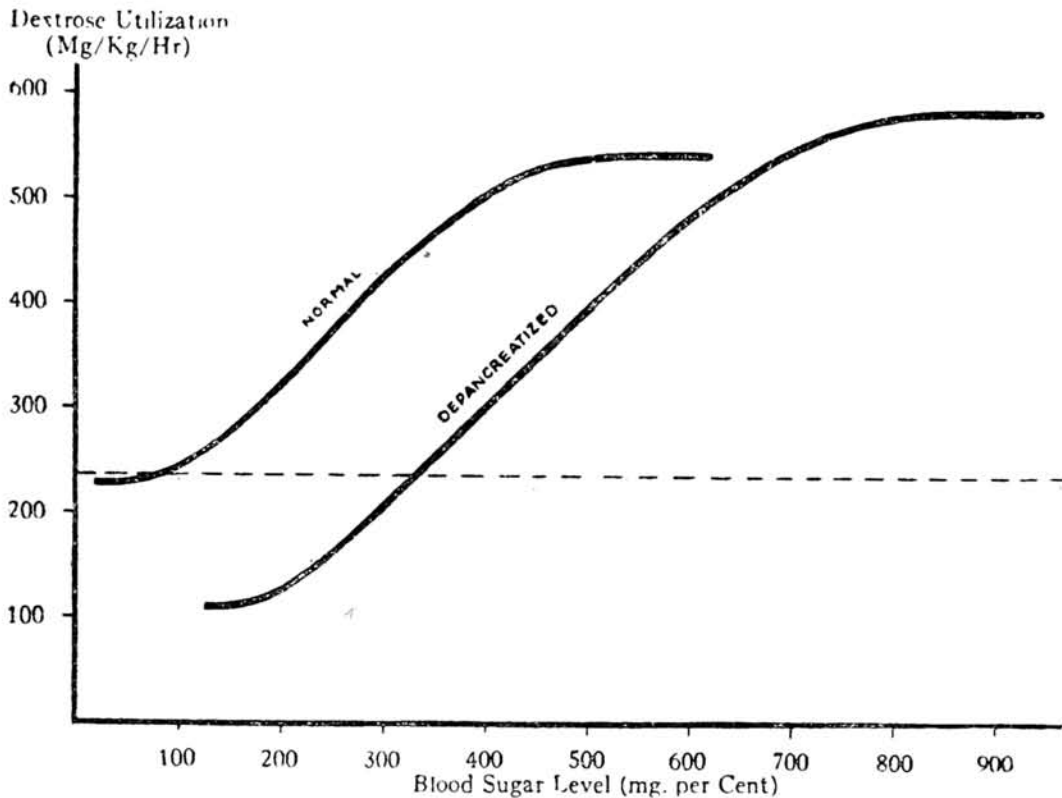


FIG. 8.

Utilização de glicose em cão normal e despancreatizado — Soskin e Levine, *Am. Jour. Phys.* 120: 761 (1937).

Podemos pois afirmar que insulina facilita a glicogeniogênese e a utilização da glicose. Estes dados concordes com Soskin ("the lack of insulin causes a diminution in both utilisation and storage of carbohydrate by the peripheral tissues at any given blood sugar level.") Soskin e Levine, *Carbohydrate Metabolism*, p. 186), mostram evidentemente que o diabético utiliza glicose, mas tem esta utilização dificultada. Não podemos admitir uma teoria de não utilização tão absoluta como admitia Minkowski, entretanto podemos admitir que na glicemia normal, o diabético tem uma menor utilização (*).

Entretanto se esta ação catalítica está demonstrada para o tecido muscular não acontece o mesmo com alguns outros tecidos. Hemácias, tecido nervoso e testículo não são influenciáveis

(*) Em trabalho recente Stadie e Zapp (setembro de 1947, *J. Biol. Chem.* 70: 66 (1947)), apresentam dados que parecem não concordar com os gráficos apresentados por Soskin e Levine (fig. 8), isto é, demonstram que a insulina sempre facilita a utilização de glicose, mesmo nas mais altas glicemias, o que contradiz os resultados citados, mas apesar disso Soskin já havia emitido o mesmo conceito em 1946, como vemos na citação acima feita.

pela insulina. Particularmente, o tecido nervoso e testículo constituem interessante problema, uma vez que êstes tecidos têm como única fonte de energia a glicose. O próprio coração do diabético é mais rico em glicogênio do que o coração normal.

A ação da insulina sobre o parenquima hepático é muito discutida. No diabético a taxa de glicogênio no fígado é menor do que no indivíduo normal. A administração de insulina do diabético determinaria um aumento de glicogênio hepático (com concomitante diminuição de hipoglicemia). Isto levou imediatamente os autores a pensarem que a insulina tem ação na glicogeniogênese hepática. Entretanto esta não é a função da insulina no fígado. Soskin e col. (1939) retira dois lobos de fígado, um antes e outro depois da administração de insulina no animal. Coloca êstes lobos de fígado "in vitro" e determina a glicose que aparece devido a glicogenólise. Verificou Soskin que a glicogenólise é menor no lobo retirado após a administração de insulina. O mesmo fato já havia sido verificado antes em experiências diferentes por Issekutz e Szende (1934), Cori (1930) entre outros.

A prova mais interessante que demonstra que a insulina inibe a glicogenólise hepática, foi-nos fornecida por Kosterlitz e Wedder (1933) e Bollman e Mann (1934). Sabemos que a administração de galactose num animal normal determina uma galactemia transitória, pois a galactose deposita-se no fígado sob a forma de glicogênio. Os AA. ao administrarem a galactose a um animal diabético imaginaram que a galactemia seria mais prolongada, pois supunham que a insulina fôsse necessária para a glicogenese hepática. Entretanto verificaram que ao invés de uma galactemia mais prolongada, havia uma galactemia menos intensa e menos duradora, acompanhada de uma hiperglicemia. Isto significa que na ausência de insulina (animal diabético) há uma maior deposição da galactose, e maior glicogenólise, resultante disto os fenômenos observados. Conclue-se que no diabético há maior glicogenólise, o que seria devido a falta de insulina. Estas experiências constituem a nosso ver uma das mais demonstrativas provas (não ditadas por Soskin) de que no diabetes há uma superprodução de glicose a custa (primeiramente) de glicogênio.

Entretanto poderíamos explicar a inibição da glicogenólise hepática, no diabético pela ação da insulina no músculo, determinando maior utilização muscular, podendo então o fígado, por me-

canismo autônomo diminuir a glicemia, diminuindo a glicogenólise. Esta explicação fascinante, para enquadrar estas experiências na hipótese da menor utilização com superprodução secundária, não explica, ao menos por enquanto as experiências "in vitro"

Já citamos antes, que no indivíduo normal a insulina determina uma diminuição do glicogênio hepático conforme demonstraram Bodo e Nuewrith (1933), Cori (1925), Corkill (1930). Podemos explicar este fato como resultante da ação da insulina sobre o músculo, o que determinaria uma retirada da glicose sanguínea e deposição de glicogênio no músculo. O fígado, para manter a glicemia, determinaria glicogenólise, o que ocasionaria a diminuição do glicogênio hepático.

Não podemos deixar de citar as opiniões de Peters (1946) e as experiências de Lundsgaard (1938) que levam um grande número de autores a imaginar que a insulina não tem ação no fígado.

Fosforilação

Admitido que a insulina atua na glicogeniogênese e na glicogenólise, procuram os autores explicar esta dupla ação por uma única hipótese, o que deu origem de 1941 para cá a idéia de que a insulina agiria nas reações de fosforilação da glicose.

Muitos trabalhos foram feitos, dosando-se os diversos compostos fosforilados do metabolismo intermediário; lançando mão de técnicas de dosagem de isótopos radioativos, a maioria dos trabalhos são atualmente feitos lançando mão do P_{32} .

Sacks (1943) fez vários trabalhos em que demonstrou maior transformação de fósforo nas frações correspondentes a ATP, fosfocreatina e frutose 6-fosfato. A radioatividade da glicose 6-fosfato só aumenta em estado post-absortivo, o que tem sido de explicação difícil. (*) Todavia apenas podemos dizer que a insulina aumenta o metabolismo dos derivados fosforilados. A dificuldade de se fazer experiências com órgãos isolados, com enzimas puros, tem dificultado muito os trabalhos.

(*) Reservamos para outra ocasião a discussão mais detalhada sobre fosforilação.

Em 1945 Price Cori e Colowitz fizeram um trabalho que teve enorme repercussão. Mostraram êstes autores que a insulina anula a inibição que o hormônio da hipófise anterior efetua sobre a fosforilase. Êstes dados vieram concordar com as experiências de Houssay. Êste autor demonstrou que a hipofisectomia fazia desaparecer os sintomas de diabete. Êstes resultados nos levam a conclusão que uma das ações da insulina é anular a inibição do hormônio da hipófise anterior sobre a fosforilação. Entretanto não pode ser êste o único modo de ação da insulina uma vez que a insulina age mesmo "in vitro" (*) independentemente de uma ação prévia do hormônio da hipófise anterior. Por outro lado Price e col. demonstraram em seu trabalho (**) que o hormônio da hipófise anterior inibe a oxidação de glicose no fígado, mas permite a transformação de glicogênio em ácido láctico no músculo.

Surge ainda outro problema: se as reações de glicose a glicogênio são iguais no músculo e no fígado, a insulina deveria agir de igual modo nos dois tecidos. Entretanto vimos que no fígado, ou a insulina impede a glicogenólise, ou não age, efeitos contrários a sua ação no músculo. De fato a fosforilase do fígado e do músculo parecem ser diferentes, pois Cori não conseguiu a síntese de amido com a fosforilase do músculo, como conseguiu com a do fígado.

Esta rápida visão dos estudos de fosforilação que apenas se iniciaram, nos mostram que existem numerosos problemas até hoje insolúveis, mas é evidente que um dos modos de ação da insulina consiste em anular o efeito inibidor da hipófise anterior. Parece todavia que ainda age a insulina em outro ponto da glicogênese e da glicogenólise.

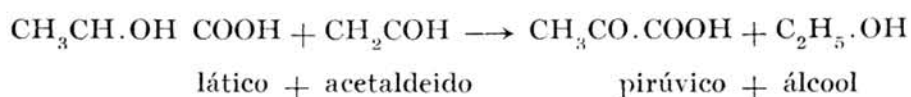
Formação de ácido pirúvico

E' bastante difícil se obter uma resposta de ácido pirúvico no animal. Esta resposta só é evidente quando além da insulina

(*) Corkill e Nelson (1947) não obtiveram o mesmo resultado que Cori e col., mas provavelmente isto se deve a não penetração da insulina no tecido, nas suas experiências.

(**) O trabalho de Price Cori e Colowirz (J. Biol. Chem. 160: 633 (1945) à apenas uma nota prévia, não tendo ainda nos chegado à mão a descrição mais completa de suas experiências. Cori mais recentemente (1947) mostrou que o efeito inibidor da hipófise é através da suprarrenal, desaparecendo pela adrenalectomia.

damos uma dose de glicose, como demonstraram Bueding e Coldfard (1943). Entretanto conforme demonstraram Leloir e Muñoz (1938) a administração de glicose e insulina determina um rápido desaparecimento de álcool do sangue de um indivíduo em coma alcoólico. Esta reação estudada por Stotz e col. (1942-43) é a seguinte:



Este efeito da insulina-glicose, no indivíduo em coma alcoólico, efeito utilizado em clínica, demonstra que a insulina acelera a produção de ácido pirúvico. Himwich e col. (1943) mostraram que a injeção de glicose com insulina determina maior resposta de ácido pirúvico, do que glicose só.

Oxigênio

A insulina não determina aumento de consumo de oxigênio, como Gemmil e col. (1940-41) demonstraram. Rice e Evans (1943), Krebs e Eggleton (1938), Shor (1939), demonstraram aumento do consumo de oxigênio no músculo de pombo, mas como assinalam Soskin e Levine não podemos raciocinar com as experiências em aves, pois elas não têm diabetes.

Ação sobre outros metabolismos

Stadie (1940), Bach e Holmes (1937), demonstraram que a insulina impede a desaminação dos amino-ácidos, impedindo assim a neoglicogênese, a custa destes, no fígado. Stadie e col. (1940) demonstraram ainda que a insulina impede, na lâmina de fígado, a cetogênese.

Concluindo podemos dizer que a insulina atua principalmente no músculo, facilitando a glicogeniogênese e a glicogenólise. Atua no fígado, diminuindo a glicogênese a partir de aminoácidos e a glicogenólise. A insulina age possivelmente nas reações de fosforilação, direta ou indiretamente, bem como suprimindo a ação do hormônio da hipófise anterior.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- SOSKIN and LEVINE — Carbohydrate metabolism, 1946, Chicago Univ. Press.
- JENSEN and TENENBAUM — The influence of hormones on enzymatic reactions, Adv. in Enzymology 4: 257 (1944).
- STOTZ — Pyruvate metabolism, Adv. in Enzymology 5: 129 (1945).
- HEVESY — Some applications of radioactive indicator in turnover studies, Adv. in Enzymology 7: 11 (1947).
- PETERS and VAN SLYKE — Quantitative clinical chemistry (Interpretations) 2^d edition, 1946, Willians & Wilkins.

Agradeço ao colega Josef Fehér os desenhos originais.

Respondendo a perguntas:

Nos vertebrados todos, com exceção das aves, encontramos os sintomas de diabetes, pela administração do aloxano ou ablação de tecidos contendo as ilhotas de Langerans. Nas aves o aloxano não determina síndrome diabética, mas em doses mais elevadas determina uma intoxicação com sua transformação em ácido úrico que se deposita nos tecidos, constituindo a chamada gota visceral de Gomori e Golner. As células beta estão lesadas. É interessante lembrar que subindo a escala filogenética, nos reptéis encontramos uma bifurcação, evoluindo um ramo para as aves e outro para os mamíferos.