

Vanádio e Diabetes

— a mimetização da acção da insulina*

HELENA PAULA CALDEIRA¹, MADALENA HUMANES²,
JOSÉ ARMANDO L. DA SILVA³, J. J. R. FRAÚSTO DA SILVA³

1. INTRODUÇÃO

O papel determinante de vários iões metálicos em biologia é hoje amplamente reconhecido; há, todavia, que distinguir aqueles que são essenciais e têm funções metabólicas identificadas (sódio, potássio, cálcio, ferro, cobre, etc.) de outros para os quais embora tenha sido reconhecida a sua essencialidade não se conhece a forma como actuam (por exemplo o crómio) e ainda daqueles, sem estas características, que são usados como fármacos (por exemplo o lítio, o bismuto, o ouro) ou em diagnóstico médico (por exemplo o gadolínio).

A utilização de metais em sistemas biológicos não é assim, necessariamente, sinónimo da sua essencialidade. Em alguns casos um elemento essencial pode ser substituído por outros em consequência da sua semelhança de características, por exemplo dimensão, carga, configuração electrónica, etc., ou do seu comportamento ácido-base ou redox. Esta substituição pode inibir ou activar uma enzima, ter um efeito sinérgico, actuar num processo alternativo de biomineralização ou de transporte de iões, etc. Assim, estas substituições podem ter efeitos nocivos, mas podem ser também toleradas e aproveitadas com finalidades terapêuticas. Na realidade, muitos metais são usados como agentes terapêuticos há longo tempo, mas em muitos casos ainda se ignora o seu papel. Entre estes está o vanádio, um elemento para o qual é conhecida a sua presença em alguns organismos - tunicados, fungos, algas, azotobactérias, um líquen e um verme marinho - e que é aceite como essencial em alguns animais superiores (por exemplo pintos), embora entre estes não se lhe conheçam funções biológicas próprias. Entre os seus efeitos farmacológicos destaca-se actualmente um, o efeito mimético da insulina, observado com alguns dos seus compostos [1,2], ainda bastante pouco conhecido e que é objecto deste trabalho.

2. A INSULINA E A DIABETES

A glucose é a principal fonte de energia do organismo humano. A manutenção da concentração sanguínea deste açúcar dentro de determinados níveis e o controlo do seu transporte para o interior das células envolvem mecanismos fisiológicos muito complexos, constituindo um dos exemplos mais importantes da integração do metabolismo nos mamíferos. Nele desempenham funções básicas diversas hormonas (mensageiros químicos) que são os principais reguladores do metabolismo dos combustíveis biológicos - hidratos de carbono, gorduras e proteínas. A utilização de um ou de outro destes combustíveis em reacções cujo fim principal é a produção de energia utilizável - sob a forma de ATP (adenosina tri-fosfato) - constitui um excelente exemplo da coordenação necessária entre as vias metabólicas destas substâncias, que são accionadas alternativamente ou complementarmente quando se torna conveniente ou necessário [3].

Interessa recordar que o objectivo do metabolismo é produzir energia (ATP), capacidade redutora (NADH, nicotinamida adenina dinucleotido, forma reduzida, e FADH₂, flavina adenina dinucleotido, forma reduzida) e fragmentos moleculares para as construções biológicas. A energia necessária para a síntese de ATP é obtida na oxidação de moléculas como a glucose, ácidos gordos e aminoácidos, e o intermediário comum na maioria destas oxidações é um composto chamado acetil coenzima A. Todos os átomos de carbono do grupo acetil são completamente oxidados a CO₂ com a formação concomitante de NADH e FADH₂. Estes transportadores de equivalentes redutores [3] transferem os seus electrões através da cadeia respiratória até ao oxidante terminal - O₂ - (fosforilação oxidativa) levando ao bombeamento de protões através da membrana mitocondrial interior. O gradiente protónico assim obtido é

utilizado para sintetizar ATP quando os protões regressam à matriz através de um sistema enzimático (ATP-sintase). A glicólise, oxidação da glucose a piruvato, também produz ATP, mas fornece apenas 2 ATP enquanto que a fosforilação oxidativa produz 30 ou 32 ATP quando a glucose é totalmente oxidada a CO₂. Todavia, a glicólise é rápida e dá-se em condições anaeróbicas, enquanto que a fosforilação oxidativa requer o abastecimento constante de O₂. O principal regulador destes mecanismos é uma hormona, a insulina (do latim *insula*, ilha), produzida e segregada pelas chamadas células β , localizadas nos ilhéus de Langerhans do pâncreas, ver Figura 1, sendo a sua acção antagonizada por outra hormona pancreática, a glucagina (nota 1), segregada pelas chamadas células α do mesmo órgão, por outras duas hormonas, a epinefrina (adrenalina) e a nor-epinefrina, segregadas pela medula adrenal e pelos terminais dos nervos do sistema simpático, por glicocorticóides (cortisona, cortisol, corticosterona) segregados pelo córtex adrenal, e ainda pela hormona de crescimento (GH). Disfunções do mecanismo de regulação da glicémia (concentração de glucose no sangue) resultando em insuficiência de insulina e excesso relativo de glucagina dão origem a uma situação patológica - a diabetes *mellitus* (diabetes-do grego *sifão* e *mellitus*-do latim e grego *mel*) - com grande incidência populacional, principalmente nos países desenvolvidos, atingindo

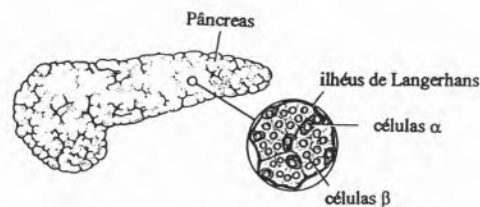


Fig. 1 - Representação simplificada do pâncreas

cerca de 2% dos homens e 4% das mulheres acima dos 50 anos [4] e cuja prevalência tem vindo a crescer. A designação deriva da excessiva excreção de urina doce (por conter glucose) característica da doença.

A glicémia varia, num adulto normal e em jejum, entre 60-80 mg/dl. Quando a concentração de glucose no sangue aumenta, por exemplo após uma refeição rica em hidratos de carbono, há libertação de insulina para a corrente sanguínea. Esta insulina vai actuar em receptores específicos localizados nas membranas celulares de diversos órgãos acelerando o transporte da glucose através destas membranas (difusão passiva facilitada por transportadores provenientes de vesículas internas), seguindo-se a sua fosforilação (a glucose 6-fosfato) e, depois, a sua degradação para produzir energia, ou a sua polimerização na forma de glicogénio (reserva), ou a sua conversão em ribose 5-fosfato por incorporação em nucleótidos e glicerol 3-fosfato para a síntese de gorduras (ésteres de ácidos gordos e glicerol). De todo este processo resulta uma diminuição dos níveis de glucose circulante até que haja reposição dos níveis observados antes da refeição. As células β reagem por sua vez a esta diminuição por um mecanismo de "feed-back" negativo, isto é, reduzindo a secreção de insulina, cujos níveis também regridem aos observados antes da refeição, enquanto as células α segregam glucagina que estimula o fígado a mobilizar as suas reservas de glucose na forma de glicogénio e a produzir mais glucose a partir do lactato, glicerol e aminoácidos por um mecanismo metabólico designado por gluconeogénese. Esta acção é complementada pelos glicocorticóides ao nível do fígado e especialmente pela adrenalina ao nível dos músculos esqueléticos e cardíaco. O mecanismo bioquímico pormenorizado destes processos é descrito em textos didácticos de nível adequado [3,5].

Se houver um defeito em qualquer destes processos que cause falta, insuficiência ou impedimento da acção da insulina, haverá uma perda de controlo sobre a glicémia verificando-se um aumento exagerado da concentração de glucose no sangue (hiperglicémia) a qual, todavia, não é devidamente utilizada pelas células dos diferentes órgãos e tecidos. Assim, o organismo tem de recorrer a outras fontes de energia, designadamente a mobilização das reservas de glucose (glicogénio) e a libertação de gorduras com libertação de ácidos gordos e de proteínas com libertação de aminoácidos. Os aminoácidos são convertidos em glucose (através da gluconeogénese), com consequente aumento da produção deste açúcar e eliminação de amónia e ureia, e os ácidos gordos são convertidos no fígado nos chamados corpos cetónicos (ácido acetocético, acetona, ácido β -hidroxibutírico), os quais funcionam como combustíveis alternativos à glucose, especialmente no cérebro e músculo cardíaco. (Neste processo verifica-se um aumento relativo da concentração da glucagina, que é responsável pelo estímulo da glicogenólise bem como do catabolismo das gorduras (lipólise) e incremento da sua utilização a partir dos depósitos de reserva. O mesmo se verifica com a hormona de crescimento.) O excesso de ácido acetocético e hidroxibutírico resultam em acidose [4,6,7], levando ao abaixamento do pH do sangue, com consequências graves quando prolongada.

A necessidade de eliminação do excesso de glucose e os efeitos da mobilização de gorduras e proteínas levam às manifestações clínicas características da doença: poliúria (excreção excessiva de urina, resultando por vezes em grave desidratação), polidipsia (sede desmesurada), polifagia (apetite excessivo), perda de peso, astenia, letargia e outras. Estabelece-se também um meio propício ao desenvolvimento bacteriano, com infecções difíceis

de debelar, nomeadamente ao nível da pele e dos aparelhos respiratório e urinário [4,6,7].

Com o decorrer dos anos a diabetes complica-se com fenómenos vasculares, por exemplo obstrução de vasos sanguíneos, um quadro clínico a que se chama microangiopatia, fenómenos esses que são detectados ao nível da retina, do rim e dos nervos, originando as chamadas retinopatia, nefropatia e neuropatia diabéticas. Também se observam lesões vasculares do miocárdio, das artérias cerebrais e dos membros inferiores, mas todo o território arteriolar pode ser atingido sendo de notar que o excesso de glucose pode determinar a ocorrência de reacções anormais de glicosilação. Na prática a gravidade da diabetes é directamente proporcional aos valores da glicémia [8] há todavia, outros factores a ter em conta (por exemplo, hormonais). Por outro lado, a desidratação devida à maior eliminação de água intra e extracelular determinada pela elevada concentração de glucose, que aumenta a pressão osmótica no sangue, aliada a acidose prolongada e perda de cationes essenciais pode levar ao estado de coma e mesmo à morte.

Apesar dos meios e da terapêutica farmacológica actuais terem aumentado a esperança de vida dos doentes diabéticos, não se consegue ainda um controlo glicémico perfeito. Torna-se assim urgente o conhecimento dos mecanismos moleculares e celulares que estão na base desta doença, bem como a sua correcção por via farmacológica, genética ou outra.

2.1. Tipos de Diabetes

A diabetes *mellitus* considera-se subdividida em dois tipos [6,9,10]:

Tipo I - Diabetes *mellitus* insulino-dependente

É também designada por diabetes juvenil pois ocorre normalmente antes dos 40 anos. É a forma menos comum (talvez cerca de 10% dos

casos) e corresponde à ausência quase total de secreção de insulina pelo pâncreas. Trata-se sempre de uma forma grave de diabetes. Pode ser desencadeada por diferentes factores, tais como infecções várias, o caso mais frequente, por agressão directa do pâncreas, ou como resultado de uma reacção de autoimunidade que ataca as células produtoras de insulina. O seu início é brusco e a terapêutica eficaz consiste na administração de insulina exógena a estes doentes.

Tipo II - Diabetes *mellitus* não insulino-dependente

Neste caso o pâncreas pode produzir insulina em quantidades normais mas o organismo não responde à hormona, por qualquer razão ainda não identificada, pelo que a glucose se acumula no sangue e pode provocar danos irreversíveis em vários tecidos [8]. Verifica-se num grupo mais heterogêneo de doentes. É geralmente uma diabetes do adulto obeso e do idoso, embora possa também surgir na criança. Neste caso não há agressão do pâncreas, como se disse, e não há dependência da insulina. É de início lento, podendo ser desencadeada por um factor extrínseco, e tem uma certa relação de antecedentes familiares. Com frequência os doentes alimentam-se em excesso, pois a estimulação excessiva das células β devido à glucose leva a um aumento da insulina no sangue, provocando a sensação de fome. As crises de hiperinsulinémia ligam-se não só à obesidade mas também à inactividade muscular (vida sedentária) e à insuficiência hepática [4]. A terapêutica deste tipo de diabetes (não insulino-dependente) não requer, normalmente, terapêutica com esta hormona. Habitualmente consegue-se um bom controle da glicémia através da administração de antidiabéticos orais e de uma dieta adequada. Estes doentes podem, no entanto, ao fim de sete a dez anos de curso da doença, passar a ter necessidade de uma terapêutica insulínica [4,9-11].

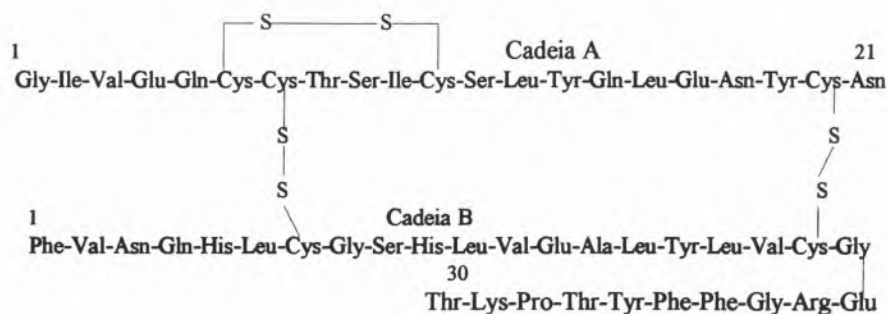


Fig. 2 - Estrutura primária da insulina humana

3. INSULINA

A insulina, Figura 2, é um dipéptido com uma massa molecular de cerca de 6 kDa, constituído por 51 resíduos. É uma proteína globular, com reacção ácida, que possui aminoácidos hidrófilos à superfície e hidrófobos no seu interior [12,13]. Difere de animal para animal, mas tem as mesmas características gerais. As insulinas bovina, porcina e humana são bastante semelhantes. Em particular, a humana e a porcina diferem apenas num aminoácido [4,12,14]. As moléculas de insulina podem agregar-se em dímeros e hexâmeros, sendo cada um destes estabilizado por dois iões Zn^{2+} . Pensa-se que é sob a forma de hexâmeros que a hormona se encontra nos grânulos secretores das células β .

A regulação da taxa de secreção de insulina pelas células β é o resultado da interacção de vários activadores e inibidores dessa secreção. Os activadores da secreção de insulina são, principalmente, os açúcares metabolizáveis, como a glucose, mas também, entre outros agentes e substâncias, aminoácidos, como a leucina, diversas hormonas como, por exemplo, a própria glucagina (um efeito tipo "feed-back" cruzado para contrariar grandes oscilações do nível médio de glicémia) e várias hormonas gastrointestinais, e ainda

o neurotransmissor acetilcolina [4,12,13,15,16], bem como o ião Ca^{2+} . Outras espécies químicas inibem essa secreção, como, por exemplo, os iões Mg^{2+} e Na^{+} e os neurotransmissores adrenalina (epinefrina) e nor-epinefrina [12,16], do grupo das catecolaminas.

As principais acções da insulina são:

1) Facilitar a entrada de glucose nas células hepáticas, do tecido muscular e adiposo, bem como a síntese do glicogénio (este facto é particularmente importante no caso do músculo esquelético, dado o seu muito maior volume, bem como no fígado, mas também se verifica no tecido adiposo) [12,13,17];

2) Facilitar a entrada de aminoácidos, de nucleosídeos e de iões (K^{+} , Mg^{2+} , Ca^{2+}) no tecido muscular, tecido adiposo e glândula mamária [12,18];

3) Estimular processos intracelulares tais como a síntese de ácidos nucleicos, proteínas, lípidos e ácidos gordos [12,18];

4) Inibir a gluconeogénese no fígado e a degradação intra-celular de proteínas.

A deficiência de insulina resulta no aumento da glicogenólise (despolimerização do glicogénio) no fígado e da lipólise (hidrólise dos lípidos) nos tecidos adiposos. Do aumento da glicogenólise resulta ele-

1
His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-
16
-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr
15
29

Fig. 3 - Estrutura primária da glucagina

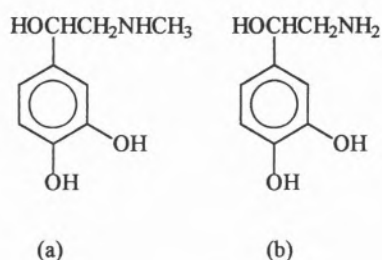


Fig. 4 - Fórmula da epinefrina (adrenalina) (a) e da nor-epinefrina (b)

vação da glucose em circulação e da lipólise resulta um aumento dos ácidos gordos livres [12,16]. Verifica-se também um aumento da síntese dos corpos cetônicos nas células hepáticas, o que tem consequências importantes pois a sua saída para a circulação e posterior excreção do excesso na urina é acompanhada de saída de cátions essenciais [12,14,16].

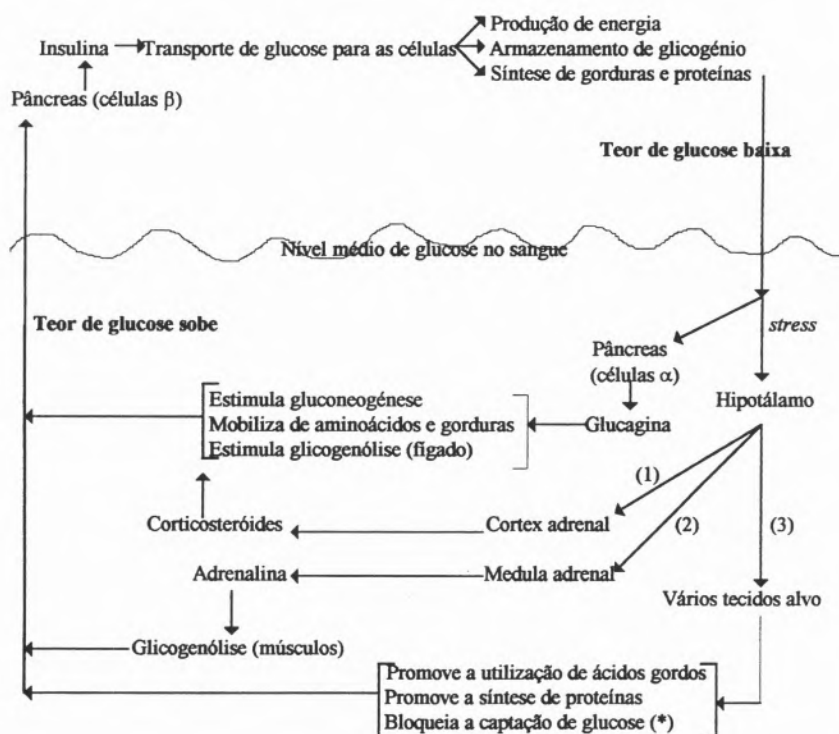
Um outro processo metabólico que aumenta na falta de insulina é a transformação da glucose em sorbitol, um açúcar-alcool. Deste processo podem resultar consequências graves, tais como lesões neurológicas, devidas à acumulação de sorbitol nos neurónios [14,16].

4. GLUCAGINA E OUTRAS HORMONAS "ANTI-INSULINA"

A glucagina, Figura 3, é um polipeptídeo com 29 resíduos, massa molecular 3,5 kDa, segregado pelas chamadas células α do pâncreas em resposta a baixos níveis de glucose no sangue. O principal alvo deste mensageiro químico primário é o fígado, no qual, através de uma cascata de sinais [3,5], estimula a despolimerização

do glicogénio e a síntese de glucose a partir de lactato, glicerol e aminoácidos por gluconeogénese, inibindo simultaneamente a formação de glicogénio e a síntese de ácidos gordos. O resultado destas acções é a libertação de glucose pelo fígado e a elevação do teor deste açúcar no sangue. Da mesma forma, a glucagina activa uma enzima (lipase) que mobiliza ácidos gordos (tri-acil gliceróis) nos tecidos adiposos. De notar que a acção da glucagina é semelhante à das catecolaminas epinefrina (adrenalina), Figura 4-a, e, em menor grau, nor-epinefrina, Figura 4-b, hormonas segregadas

pela medula adrenal e pelos terminais dos nervos do sistema simpático em resposta a baixos níveis de glucose no sangue, mas estas últimas são mais activas nos músculos que no fígado. A epinefrina estimula também a secreção de glucagina e inibe a secreção de insulina, pelo que estas hormonas têm de ser consideradas no mecanismo de manutenção do nível de glucose no sangue, aumentando a quantidade de glucose libertada pelo fígado e reduzindo a captação pelos músculos. De notar que estas hormonas actuam no exterior das membranas celulares.



(*) Excepto no tecido nervoso

- (1) Estimulo pela ACTH (hormona adrenocorticotropina)
- (2) Via neurónios pré-ganglionares do sistema nervoso simpático (na medula espinal) que estimulam a medula adrenal através de acetilcolina
- (3) Estimulo pela GH (hormona do crescimento)

Fig. 5 - Esquema muito simplificado da regulação da glucose num organismo

Na Figura 5 apresenta-se um esquema simplificado do mecanismo de regulação da glucose no sangue.

5. TRATAMENTO DA DIABETES

Para evitar as deficiências de insulina foram desenvolvidos diversos métodos terapêuticos, que são referidos seguidamente.

5.1. Insulinas Terapêuticas

A insulina é apenas administrada na forma de injectável, por via subcutânea, intramuscular, ou em situações de urgência por via endovenosa, pois não é activa por administração oral. Desde a sua descoberta em 1922 e até 1936, a única insulina que se utilizou, de origem animal, era impura e de acção curta. Em 1936 Hagedorn *et al.* [19] obtiveram a primeira insulina neutra e de acção prolongada juntando-lhe uma proteína básica, a protamina. Posteriormente foi adicionado zinco, formando a insulina-protamina-zinco de acção ainda mais prolongada. A cristalização da insulina permitiu o seu isolamento numa forma pura, o que levou a uma acentuada diminuição de reacções imunológicas e ao aumento da potência, tornando menores as quantidades administradas necessárias ao equilíbrio do doente. Mais tarde, um processo de recombinação enzimática, por acção da tripsina, da insulina de porco tornou possível obter um produto igual à insulina humana, que se denominou insulina humana monocomponente

(IHM). Actualmente produz-se insulina recorrendo às técnicas da engenharia genética utilizando a bactéria *Escherichia coli* como sistema de expressão [4,6,9,20].

A administração injectável de insulina tem, todavia, efeitos que são normalmente consequência de um mau controlo da terapêutica, como por exemplo hipoglicémia (a mais perigosa), reacções alérgicas no local de injeção, hipopotassiemia (abaixamento do nível do teor do ião K⁺) e desenvolvimento de resistência ao medicamento [4,9,21]. A terapêutica por via oral surge assim como uma alternativa interessante.

5.2. Antidiabéticos Orais

Um dos acontecimentos importantes na história do tratamento da diabetes *mellitus* foi a introdução de agentes hipoglicemiantes eficazes por via oral [6]. Hoje conhecem-se dois grupos principais de antidiabéticos orais: as diguanidas e as sulfonilureias.

a) Diguanidas

Pouco depois da descoberta da insulina foi introduzido no mercado o primeiro composto com acção antidiabética oral, a sintalina (dihidrocloreto de dexametilendiguanida) depois de Watanabe, em 1918, ter descoberto que a guanidina (Figura 6-a) era hipoglicemiante em coelhos [22].

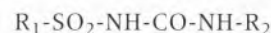
A guanidina e seus derivados por substituição revelaram-se, porém, demasiado tóxicos para serem usados em terapêutica. As diguanidas (Figura 6-b) revelaram-se mais eficazes e menos tóxicas que as guanidinas substituídas. Existem no mercado as seguintes: fenformina (hidroclorato de 1-feniletildiguanida), metformina (hidroclorato de 1,1-dimetildiguanida) e butformina (hidroclorato de 1-butildiguanida). As diguanidas apresentam o risco de desenvolver acidose láctica, pelo que se deve evitar utilizá-las em doentes com insuficiência hepática,

insuficiência renal e doenças cardiovasculares. Podem provocar perturbações gastrointestinais e estão contra-indicadas durante a gravidez. Actualmente a mais utilizada é a metformina, a menos prejudicial. Normalmente escolhem-se as diguanidas quando o diabético é obeso [4,6,9,13,21].

As diguanidas são fármacos que não induzem a secreção de insulina; embora ainda não se conheça bem o seu mecanismo de acção pensa-se que actuam atrasando a absorção intestinal da glucose e de outros hidratos de carbono (o que é vantajoso para os obesos). Podem também reduzir a glicémia em jejum sem alterar os níveis de insulina [9,21].

b) Sulfonilureias

Em 1943, Janbon *et al.* [23] descobriram, no decorrer de estudos clínicos sobre o tratamento da febre tifóide, que uma sulfamida, a *p*-amino-benzeno-sulfonamida-isopropiltiazol, induzia o abaixamento do nível de glucose, isto é, provocava hipoglicémia. Um colega de Janbon, Loubatières [24], aprofundou o estudo desta substância e de outras sulfonamidas e verificou que eram activas sobre a produção de insulina, sendo inactivas em animais cujo pâncreas havia sido removido [4,6]. A fórmula geral destes compostos (sulfonilureias) é a seguinte, Figura 7:



R₁ é um grupo arilo; R₂ é um grupo alquilo, (normal ou cíclico).

Fig. 7 - Fórmula geral das sulfonilureias

Franke e Fuchs [25] verificaram também que o agente antibacteriano carbutamida (R₁ = 1-(4-aminofenil-); R₂ = *n*-butilo) baixava a glicémia. Algum tempo depois foi

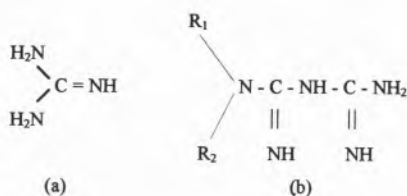


Fig. 6 - Fórmula da guanidina (a) e fórmula geral das diguanidas (b)

introduzido o composto tolbutamida ($R_1=CH_3$; $R_2=n$ -butilo) que igualmente baixava a glicémia, não tinha acção antibacteriana e era menos tóxico que a carbutamida [4,6].

Nos anos que se seguiram foram sendo estudados vários compostos semelhantes, com comportamentos diferentes relativamente ao início e duração da sua acção. Embora muitos destes compostos tenham sido experimentados e alguns sejam ainda hoje usados, o aparecimento de uma segunda geração de sulfonilureias, muito mais potentes, veio alterar a terapêutica oral da diabetes com este tipo de compostos. Estas novas sulfonilureias, por exemplo a glipizida ($R_1=N$ -{4-[2-(5-metil-pirazino-2-carboxamido)etil]fenil-; $R_2=ciclo$ -hexilo) são administradas em doses muito mais pequenas mas têm uma acção muito prolongada. A sua toxicidade é nitidamente menor, mas a sua acção prolongada faz aparecer o perigo de hipoglicémias tardias [4].

Não se conhece exactamente o mecanismo de acção das sulfonilureias, mas pensa-se que, em contraste as diguanidas, a sua acção hipoglicémica se deve sobretudo a efeitos pancreáticos, resultantes de uma estimulação da libertação de insulina pelas células β dos ilhéus de Langerhans. Além desse efeito, e ainda ao nível do pâncreas, pensa-se que as sulfonilureias bloqueiam a saída de potássio das células, com consequente abertura dos canais de cálcio e aumento intracelular deste ião, o qual posteriormente determina a libertação de insulina [6,9,21]. Recentemente foi sugerido que as sulfonilureias actuam, de facto, em diversos passos da secreção da insulina [8].

Os principais efeitos secundários das sulfonilureias consistem em perturbações cutâneas, reacções alérgicas (incluindo fotossensibilidade), perturbações gastrointestinais, disfunção hepática (icterícia) e hipoglicémia em alguns casos (raros). Algumas sulfonilureias podem ser teratogénicas [4,6,9,21].

6. NOVOS HORIZONTES NO TRATAMENTO DA DIABETES -VACINAS

Em 1993, investigadores americanos das Universidades da Califórnia e de Stanford demonstraram que ao inocularem uma proteína denominada GAD (do inglês, Glutamic Acid Decarboxylase) em ratos predispostos para a diabetes tipo I não se verificava a necrose das células do pâncreas responsáveis pela produção de insulina. Ora como antes se referiu, a diabetes tipo I pode surgir quando há uma infecção, designadamente viral, e aqueles investigadores confirmaram que o vírus que desencadeia este processo é o vírus "cox-sackie", causador de constipações e infecções de garganta, muito encontrado em diabéticos jovens. Acontece que este vírus possui uma proteína semelhante a uma outra presente nas células β do pâncreas e induz o sistema imológico a produzir anticorpos contra essas células ao reagir com a proteína do vírus [26].

Ao ser injectado o GAD em ratos predispostos para a diabetes tipo I, o resultado observado demonstra que se obteve a que o sistema imológico não reconhecesse as células β como próprias do organismo, deixando assim de produzir anticorpos contra elas. Nestas condições este processo funciona como uma vacina [26], havendo que estudar a possibilidade de extensão a seres humanos.

7. O EFEITO MIMÉTICO DA INSULINA APRESENTADO POR ALGUNS IÕES INORGÂNICOS

Sendo conhecida a importância dos iões metálicos na regulação dos processos biológicos e observadas as maiores perdas de iões metálicos nos diabéticos, consequência da maior frequência de excreção de urina, uma outra linha de investigação tem sido desenvolvida com o

objectivo de verificar o possível efeito mimético da insulina por compostos de iões metálicos.

Diversos elementos têm sido utilizados para este fim, sendo de referir, entre outros, o zinco, o crómio, o manganês, o cobre, o vanádio e também o não-metal selénio [27,28]. Assim, a partir dos anos 80 diversos investigadores verificaram o efeito hipoglicémico em ratos de, por exemplo, alguns complexos imidazólicos e de salicilaldeído com cobre(II) [28,29]. No caso dos complexos imidazólicos [29] verificou-se que os níveis de glucose foram reduzidos numa forma dose-dependente e que o seu efeito máximo foi atingido ao fim de 3 horas. Este efeito verificou-se ser reversível ao fim de 24 horas. Doses mais elevadas do mesmo composto causaram choque hipoglicémico irreversível e foram letais. Verificou-se ainda que a actividade hipoglicémica varia com o tipo de ligando imidazólico do complexo [29].

Estas experiências foram determinadas pela verificação de que a ocorrência de diabetes faz subir o nível de cobre no soro sanguíneo e na urina, bem como os níveis de concentração hepática e renal [27], com provável redução da actividade superoxidase (Cu/Zn) das células pancreáticas β [27]. Também em relação ao zinco (que, como se referiu, participa directamente na estabilização da insulina pancreática, modulando a sua acção) se verificou um aumento de excreção urinária do metal, provavelmente devido a um aumento da concentração de aminoácidos no plasma sanguíneo [27] e a uma diminuição da absorção intestinal. Os níveis hepáticos e renais do zinco são também elevados sendo contraditórios os resultados obtidos no plasma [27]. Uma explicação interessante relativa à remoção do cobre e do zinco nas células pancreáticas poderá ser a possibilidade de que um excesso de glucagina promova o aumento da formação de metalotioneína que complexa aqueles metais [27].

Outro metal que se tem demonstrado ter um papel importante na manutenção dos níveis de glucose é o crómio, que tem sido apontado como componente de um "factor de tolerância à glucose" [30]. Embora os resultados obtidos na tentativa de isolar este factor não tenham sido bem sucedidos até à data, é um facto que a deficiência de crómio leva a um metabolismo anormal dos açúcares tendo a administração de complexos deste metal um efeito favorável [31, entre outras]. Mertz sugeriu em 1989 [32] que os diabéticos não conseguem converter o Cr^{3+} numa forma fisiologicamente activa, mas as razões deste efeito ainda não foram demonstradas.

Também os compostos de vanádio mimetizam muitas acções da insulina *in vitro* e *in vivo*. Este elemento tem sido o mais estudado sobre este ponto de vista. O seu comportamento deve ser enquadrado nas suas propriedades químicas e no conhecimento das suas acções e funções nos organismos vivos, que analisaremos adiante com maior pormenor.

8. O VANÁDIO E A DIABETES

Na Natureza o vanádio existe essencialmente no estado de oxidação cinco, na forma de vanadato. No homem o vanádio tem sido encontrado nos fluidos corporais sob a forma de vanadato (estado de oxidação +5) e intracelularmente na forma de oxovanádio(IV), correntemente designado por vanadilo (estado de oxidação +4). A entrada do vanadato na célula é provavelmente feita através de um sistema transportador de aniões como o fosfato, HPO_4^{2-} , e uma vez dentro da célula, é reduzido a vanadilo pela glutatona [33-37]. No interior das células menos de 1% do vanádio fica livre [2], consequência da afinidade do vanádio pelos componentes intracelulares.

O vanadato é, como se referiu, um ião análogo ao fosfato, o que po-

derá justificar o seu efeito inibitório em enzimas envolvidas no mecanismo de transferência e libertação de fosfato [37]. Entre outras enzimas inibidas pelo vanádio destacam-se as ATP fosfohidrolases, a ribonuclease, a gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase, a fosfatase alcalina, a ATPase de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, a ATPase de Na^+/K^+ e a fosfotirosil-proteína fosfatase [37]. Entre estas saliente-se o poder inibitório do vanadato na actividade da ATPase de Na^+/K^+ em membranas de ilhéus pancreáticos [35] e a inibição da fosfotirosil-proteína fosfatase [37,38], importante no metabolismo da glucose.

As propriedades insulinomiméticas de compostos de vanádio, e o facto deste ser um elemento essencial ao crescimento e desenvolvimento de certas espécies, levou a que se pusesse a hipótese de que pudesse estar envolvido no próprio mecanismo de acção da insulina.

Fizeram-se então determinações do conteúdo em vanádio em vários órgãos, designadamente no rim, músculo e fígado de ratos "BB Wistar" normais e diabéticos. Este estudo mostrou haver um decréscimo do conteúdo deste metal no fígado destes últimos, sugerindo que poderá, de facto, estar directa ou indirectamente envolvido no mecanismo de acção da insulina [39]. De qualquer forma, o estudo não é conclusivo nem dele se pode inferir que o vanádio é um elemento essencial.

Desde 1979 diversos grupos têm descrito os efeitos insulinomiméticos do vanádio no metabolismo da glucose usando como modelos vários tipos de células, por exemplo células do tecido adiposo (adipócitos), células musculares ou células hepáticas (hepatócitos) isoladas [33]. No entanto, o mecanismo de acção não é conhecido, tanto para o

Tabela 1 - Algumas acções miméticas da insulina apresentadas pelo vanádio documentadas em sistemas *in vitro* [35,40-43]

Actividade	Direcção de activação	Tecido alvo
Transporte de hexoses ^{1,5}	Estimulado	Adipócitos do músculo de ratos e de seres humanos
Síntese de lípidos ²	Estimulada	Adipócitos de rato
Oxidação da glucose ^{1,2,3,4}	Estimulada	Adipócitos de rato
Degradação de lípidos ²	Inibida	Adipócitos de rato
Enzima glicogénio-sintetase ²	Estimulada	Adipócitos de rato
Glicogénese ^{1,2,3}	Estimulada	Fígado de rato
Actividade mitogénica ^{2,4}	Aumentada	Várias células cultivadas
Transporte de K^+ ^{4,5}	Estimulado	Várias células
Influxo de sódio ⁵	Estimulado	Células cardíacas de rato e de seres humanos
ATPase de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ⁵	Inibida	Membranas plasmáticas de adipócitos de rato
Influxo de Ca^{2+} ^{4,5}	Estimulado	Tecido adiposo
Glicogénólise ⁵	Inibida	Vários tipos de células

¹meta-vanadato (VO_3^-); ²orto-vanadato (VO_4^{3-}); ³peróxidos de vanadato ($\text{VO}(\text{O}_2)^{2-}$) ou ($\text{VO}(\text{O}_2)^+$); ⁴vanadilo (VO^{2+});

⁵vanadato (casos não especificados nos artigos).

caso dos compostos de vanádio, como da própria insulina. Os estudos efectuados permitem sugerir a possibilidade de obter novos fármacos preparados com compostos de vanádio, assim como apresentar hipóteses verosímeis sobre o mecanismo de acção da insulina. Apresentam-se seguidamente alguns exemplos do efeito mimético da insulina causado por compostos de vanádio. Os estudos com células isoladas são menos complexos do ponto de vista de interpretação, sendo assim precursores de análises mais aprofundadas.

8.1. Estudos *In Vitro*

Na Tabela 1 resumem-se algumas das acções *in vitro* mimetizadas por compostos de vanádio.

No entanto, nem todos os efeitos *in vitro* dos compostos de vanádio e da acção metabólica da insulina são comparáveis e parecem depender do tipo de tecido [2].

Um aspecto interessante é, sem dúvida, o facto de não se terem encontrado em algumas experiências grandes diferenças de comportamento entre as várias formas de vanádio. Um outro aspecto relevante é a ausência de efeito na inibição da lipólise por adição de glutatona (uma proteína intracelular contendo grupos tiólicos oxidáveis pelo vanadato, que é reduzido a vanadilo). Estes resultados podem levar a supor que o vanadilo é uma das formas do vanádio que actua preferencialmente.

8.2. Estudos *In Vivo*

Os ratos tornados diabéticos pela estreptozotocina (STZ) (uma droga que destrói as células β do pâncreas [34]) revelaram ser o modelo animal mais apropriado para estes estudos, uma vez que reflectem tanto os sintomas da diabetes insulino-dependente como da não-insulino-dependente. Estes animais exibem uma baixa produção de insulina e altos níveis de glucose circulante [44]. A administração de vanádio

por via oral faz diminuir os teores de glucose no sangue e faz desaparecer bastantes sintomas da doença, como sejam por exemplo a hiperfagia (apetite desmesurado), a polidipsia (sede excessiva), a poliúria (excreção excessiva de urina), etc. [2]. Descrevem-se seguidamente os estudos *in vivo* realizados com vanadatos, com peroxovanadatos e com sais de vanadilo.

8.2.1. Estudos com vanadato

A administração oral de vanadato, parece ser uma terapêutica profilática eficaz para ratos com diabetes induzida [45], verificando-se que conduz a uma normalização dos níveis de glucose plasmática. A administração oral normaliza também os níveis basais de insulina plasmática, enquanto que a secreção de insulina induzida pela glucose é só muito ligeiramente aumentada; isto é, há uma normalização da glicémia na ausência de um significativo aumento da secreção de insulina [46]. Isto leva a crer que os locais de acção do vanadato são os tecidos alvo da insulina [44]. A interrupção do tratamento com o vanadato leva a um rápido reaparecimento da hiperglicémia [46].

Embora a terapêutica com insulina seja mais eficaz a nível cardíaco, a terapêutica com vanadato também preserva a função contráctil basal e a reactividade à norepinefrina do miocárdio relativamente à diabetes não tratada [45], para além de aumentar o peso corporal.

Estes resultados sugerem que o vanádio, no estado de vanadato, poderá ter uma acção semelhante à da insulina em relação ao metabolismo da glucose, *in vivo*, no coração, no fígado e tecidos periféricos [46], e que a terapêutica oral com este agente poderá reduzir a severidade da diabetes e melhorar a "performance" do miocárdio [45].

Verificou-se [44] também que o vanadato atinge a circulação sanguínea e mimetiza a insulina no processo de aceleração do transporte da glucose através das membranas celulares e seu metabolismo,

conduzindo a estados normais de glicémia na ausência de qualquer aumento significativo da insulina. Adicionalmente, o vanadato restitui a resposta dos tecidos à insulina, normaliza os níveis de glicogénio hepático e activa a síntese de enzimas-chave para o metabolismo dos hidratos de carbono [44].

A sua administração melhora também a manutenção dos níveis de glucose em ratinhos geneticamente insulino-resistentes, hiperglicémicos e obesos, os quais apresentam anomalias metabólicas semelhantes ao homem diabético não insulino-dependente. Este anião parece assim exercer um efeito directo, semelhante à insulina, no fígado e tecidos periféricos, produzindo uma acção hipoglicemiante, aumentando a glicogénese e a oxidação da glucose diminuindo também a hipercetonémia (aumento de corpos cetónicos no sangue) e a hipertrigliceridémia (aumento de triglicéridos no sangue), sem afectar os níveis de insulina [47]. Indirectamente, previne a exaustão do "stock" pancreático de insulina [48,49].

Deve referir-se que Malabu *et al.* [50], através da administração de metavanadato de sódio na comida de ratos tornados diabéticos pela estreptozotocina, verificaram, utilizando como controlos animais diabéticos com alimentação restringida (igual à ingerida pelos ratos diabéticos tratados com vanadato), que o efeito hipoglicemiante do vanadato no referido estudo poderia ser inteiramente atribuído à inibição da alimentação. Face aos resultados obtidos por muitos outros autores, esta hipótese afigura-se improvável embora possa admitir-se uma contribuição derivada deste efeito.

8.2.2. Estudos com peroxovanadatos

Os compostos de peroxovanádio(V), tanto os monoperoxovanadatos como os diperoxovanadatos [51,52], são muito mais potentes como agentes insulinomiméticos do

que o vanadato. A administração destes compostos *in vivo* activa o receptor (nota 2) da insulina, assim como a fosforilação da tirosina no fígado. Para além disso, estes compostos diminuem a insulina circulante e as concentrações plasmáticas de glucose[51]. Os estudos com este tipo de compostos são em número reduzido e o seu interesse tende a diminuir por razões de toxicidade, ver 8.3.

8.2.3. Estudos com vanadilo

Como se referiu, a penetração intracelular do vanadato está associada à sua redução a vanadilo pela glutatona. Se o efeito do vanádio envolver uma interacção com o receptor de insulina a nível intracelular, então poderá por-se a hipótese de que a forma activa do vanádio seja efectivamente a forma vanadilo, VO^{2+} .

Ramanadham *et al.* [53] examinaram os efeitos da administração oral de vanadilo (solução aquosa de sulfato de vanadilo) a ratos tornados diabéticos pela estreptozotocina. Os animais tratados, apesar de exibirem pesos corporais e níveis de insulina mais baixos, apresentavam concentrações plasmáticas normais de glucose, lípidos, creatinina e hormonas tiroideias. Além disto, as alterações da função cardíaca e da produção de glicerol pelo tecido adiposo dos animais diabéticos foram também corrigidas após o tratamento com o vanadilo. O sulfato de vanadilo exerce igualmente um efeito hipoglicemiante, sendo este efeito directamente proporcional aos níveis de glucose antes do tratamento, isto é, quanto mais hiperglicémicos são os ratos maior a quantidade de sulfato de vanadilo necessária para a normalização da glicémia [2,54]. Mais recentemente, Özcelikay *et al.* [55] confirmaram também a normalização dos níveis de glucose sanguíneos em ratos tornados diabéticos, pela administração de sulfato de vanadilo. Verificaram ainda que as artérias aorta dos ratos tornados diabéticos pela estreptozotocina são mais reactivas aos efeitos contrácteis

da nor-epinefrina e do KCl que as dos ratos controlo, e que o tratamento com sulfato de vanadilo é benéfico para a prevenção e recuperação destas alterações da reactividade vascular de forma semelhante à insulina.

Pederson *et al.* [36] concluíram que após a administração de vanadilo durante 3 semanas e posterior interrupção durante 13 semanas os ratos permanecem normoglicémicos, isto é, apresentam níveis normais de glucose no sangue, durante as referidas 13 semanas. A tolerância à glucose verificou-se ser normal, apesar dos níveis plasmáticos de insulina, estimulados pela glucose, estarem diminuídos. O tamanho e conteúdo em insulina dos ilhéus de Langerhans do pâncreas permanecem mais semelhantes aos dos ilhéus controlo [36], provavelmente porque a normalização dos níveis de glucose atenua a estimulação das células β residuais protegendo-as da exaustão [34]; parece assim verificar-se que há uma protecção dos ilhéus pancreáticos impedindo a sua destruição pela estreptozotocina [36]. Cam *et al.* [56], procuraram testar esta hipótese atrasando a administração de sulfato de vanadilo 3, 10 ou 17 dias após a indução da diabetes, demonstrando o vanadilo leva à normalização dos níveis plasmáticos dos triglicéridos e do colesterol sem aumentar a insulina circulante e reduz os níveis de glucose em todos os casos. A lipólise estimulada pela epinefrina no tecido adiposo isolado também é normalizada. Este estudo leva a crer que a eficácia do sulfato de vanadilo como anti-diabético não está relacionada com a protecção das células β em relação aos efeitos tóxicos da estreptozotocina e que a melhoria da função pancreática resulta da diminuição da hiperglicémia por acção directa do vanádio [56].

Com base nos resultados obtidos, pode dizer-se que o sulfato de vanadilo permite um controlo do estado diabético com base em diferentes critérios [33]:

- Clínicos (Redução do consu-

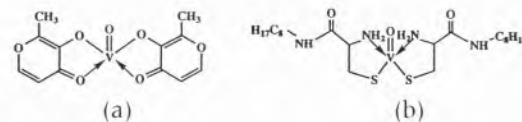


Fig. 8 - Fórmula do bis(maltolato)oxovanádio(IV) (a) e do Naglivan (b)

mo hídrico e prevenção das cataratas associadas à diabetes)

- Bioquímicos (redução da glicémia e da hiperlipidémia)
- Farmacológicos (prevenção da insuficiência contráctil cardíaca)
- Celulares (diminuição da lipólise medida em adipócitos)

Estes resultados sugerem que o vanadilo poderá normalizar a tolerância à glucose e poderá substituir a insulina na correcção do estado diabético [36].

Embora a toxicidade do vanadilo seja reduzida, ver 8.3, é conveniente optimizar a sua absorção celular. Assim se forem utilizados compostos neutros, especialmente complexos metalo-orgânicos, para permitir maior solubilidade em meio não-aquoso (como as membranas celulares) é possível reduzir as doses terapêuticas e desenvolver novos meios na terapêutica da diabetes. Foram estudados alguns compostos de vanadilo obedecendo a estes critérios, como por exemplo, o bis(maltolato)oxovanádio(IV), Figura 8-a. Este composto normaliza os valores dos lípidos e glucose num espaço de tempo inferior ao de outros compostos, e regulariza também a ingestão de líquidos e comida, sem aumentar os níveis de insulina. A potência do bis(maltolato)oxovanádio(IV) é aproximadamente 50% maior que a do sulfato de vanadilo [57]. Como se referiu, o complexo é neutro, o que facilita a sua entrada nas células. Schechter *et al.* [58], tentaram também melhorar a permeabilidade do ião vanadilo sintetizando outros transportadores hidrófobos para facilitar a penetração nas células. Verificaram assim que estes transportadores, contendo grupos hidroxamato,

exibiam um efeito potenciador na estimulação do metabolismo da glucose quando administrados conjuntamente com os iões vanadilo. Diversos compostos de coordenação de oxovanádio(IV) têm sido utilizados com as mesmas características, como o Naglivan (bis(N-octilcisteínaamida)oxovanádio(IV), Figura 8-b, que embora não seja solúvel em água não leva a uma perda de peso, como acontece por administração do vanadilo. Outros complexos com ligandos como o salicilaldeído, os ácidos oxálico, malónico e tartárico, e ainda o ester metílico da cisteína, têm sido testados. Este último mostrou-se levemente mais eficaz no abaixamento dos níveis de glucose no sangue quando comparado com os outros complexos [2].

8.3. Toxicidade

A introdução do vanádio como agente na terapêutica impõe conhecimentos profundos dos riscos toxicológicos da sua administração, o que exige estudos a longo prazo por forma a provar que é clinicamente seguro. Será assim necessária uma mais completa avaliação dos efeitos laterais do vanádio em animais antes de eventuais estudos no homem [33,34]. Por exemplo, recentemente foi descoberto que os compostos de peroxovanadato podem ser activados química ou fotoquimicamente levando à cisão das cadeias de ADN dos pacientes. Isto quando vários investigadores procuravam identificar o mecanismo molecular pelo qual estes compostos destroem células cancerosas. Embora esta propriedade de cindir o ADN possa ser benéfica numa droga anti-cancerosa, poderá ter sérias implicações no tratamento a longo prazo da diabetes [59].

Cam *et al.* [56] verificaram que o tratamento prolongado com sulfato de vanadilo (cinco meses) não causa toxicidade hepática aparente, nem alterações morfológicas ao nível do rim. Todavia, Domingo *et al.* [60], demonstraram que, apesar de se verificar que a administração

de metavanadato de sódio, ortovanadato de sódio e sulfato de vanadilo a ratos com diabetes induzida pela estreptozotocina melhorava significativamente alguns sintomas da diabetes (hiperglicémia, hiperfagia, polidipsia), também se observaram sinais de toxicidade em todos os ratos tratados através da avaliação de vários parâmetros da função hepática e renal. Estes efeitos incluem perda de peso, lesões ao nível do fígado e rim e mesmo efeitos letais. Além disso houve uma acumulação tecidual geral de vanádio o que implica um risco adicional de toxicidade. A ordem de toxicidade encontrada foi vanadilo < ortovanadato < metavanadato [60].

A administração de «tiron» (sal dissódico do ácido 4,5-dihidroxi-1,3-benzenodissulfónico), um agente quelante largamente utilizado em química analítica, a ratos diabéticos tratados com metavanadato de sódio, resultou numa diminuição da toxicidade sem afectar a sua acção mimética da insulina [61].

Noutras experiências, realizadas por Bhanot *et al.* [62], o bis(maltolato) oxovanádio (IV) não mostrou a toxicidade verificada com as administrações do sulfato de vanadilo, não se verificando diarreia nem mortalidade em ratos após 6 meses de estudo [2].

No seguimento destes resultados, e no sentido de reduzir o efeito da toxicidade do vanádio e aumentar a sua eficiência de absorção no tracto gastrointestinal, o grupo de que os autores do presente artigo fazem parte está a desenvolver estudos preliminares com complexos neutros de vanadilo com 1-alquil-3--hidroxi-2-metilpiridin-4-onas, ligandos obtidos na reacção do maltol com diversas aminas [63]; enquanto outro grupo desenvolve trabalhos com complexos de vanádio com bases de Schiff resultantes da reacção de aldeídos aromáticos (*e.g.* piridoxal, salicilaldeído, *o*-vanilina, etoxi-salicilaldeído) com aminoácidos (*e.g.* alanina, va-

lina, isoleucina, tirosina, *o*-tirosina, β -(3-4-dihidroxifenil)-L-alanina e outros) [64]. Estes ligandos poderão formar complexos neutros com o vanadilo e o facto de assim se poder modificar a sua hidrofobicidade poderá eventualmente ajustar a maior ou menor facilidade de entrada no interior das células. Aí, a libertação do vanadilo em meio ácido, que reduz a estabilidade efectiva dos complexos, permite que este ião actue.

9. O MECANISMO DE ACÇÃO DA INSULINA E A ACÇÃO INSULINO-MIMÉTICA DO VANÁDIO - HIPÓTESES EXPLICATIVAS

Existem várias hipóteses para o mecanismo de acção do vanádio no que diz respeito, principalmente, ao metabolismo da glucose. A ideia mais frequentemente admitida é a das propriedades inibitórias do vanadato sobre as fosfatases tirosina-específicas intracelulares, pois tudo parece indicar que a acção da insulina está associada à activação de uma tirosina-quinase [37]. Também tem sido referida a possibilidade de o vanadato activar a autofosforilação dos receptores da insulina. Estas hipóteses podem ser explicáveis pela semelhança entre o vanadato e o fosfato.

Outras hipóteses têm sido propostas, como por exemplo o aumento do cálcio intracelular (mensageiro secundário), a inibição da ATPase de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ (tanto os iões vanadato como os iões vanadilo inibem a ATPase de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$), a alteração do pH intracelular ou intravesicular e a modificação dos transportadores de glucose [33,44].

Embora muitos dos mecanismos propostos se baseiem no estudo da acção do vanadato, o sucesso da administração de compostos de vanadilo pode tornar aquelas hipóteses menos credíveis. De facto, alguns investigadores referem o vanadilo como possível inibidor de al-

gumas enzimas envolvidas no processo de manutenção dos níveis de glucose no sangue [38], a que nós acrescentamos uma nota sobre a possibilidade de complexação deste ião pelas catecolaminas epinefrina e nor-epinefrina [35,65], que pode anular a acção antagónica destas relativamente à insulina.

10. COMENTÁRIOS FINAIS

Do ponto de vista clínico a utilização de vanádio oferece perspectivas interessantes por ser uma substância que atravessa a barreira gastrointestinal e mimetiza a insulina em vários tecidos-alvo, sendo mesmo superior à insulina na estimulação de determinados efeitos em tecidos já pouco sensíveis ou mesmo insensíveis à hormona [33-35]. Por outro lado, e para além da sua possível importância como antidiabético, a utilização do vanádio, através das suas propriedades insulino-miméticas, poderá ser também muito importante para a elucidação dos mecanismos de acção da insulina, tanto ao nível celular como molecular, que não estão ainda esclarecidos.

AGRADECIMENTOS

À Prof Matilde Marques do I.S.T. pelos esclarecimentos de terminologia de alguns fármacos, ao Prof. J. Costa Pessoa por diversas indicações bibliográficas e à Eng. Isabel Cavaco pelo apoio dado na elaboração das figuras.

As investigações próprias referidas no presente artigo são suportadas pelo programa PRAXIS, PRAXIS/2/2.1/QUI/14/94.

* Este trabalho corresponde a uma adaptação da monografia apresentada nas provas de capacidade científica e aptidão pedagógica de Helena Paula Caldeira

NOTAS

¹ Alguns autores usam a forma inglesa glucagon e outros o português glucagão.

² A insulina actua por ligação aos receptores que se encontram na membrana plasmática nas células alvo. Os receptores são glicoproteínas. A insulina liga-se fortemente a eles comportando-se o conjunto como uma enzima que catalisa a fosforilação de resíduos de tirosina em certas proteínas intracelulares [3].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. J. J. R. Fraústo da Silva, R. P. J. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements - the Inorganic Chemistry of Life*, Oxford University Press, Oxford, 1991.
2. C. Orvig, K. H. Thompson, M. Battell, J. H. McNeill, em *Metal Ions in Biological Systems - vanadium and its role in biology*, vol.31, ed. H. Siegel com A. Siegel, Marcel Dekker, Inc., 1995, 575-594.
3. L. Stryer, *Biochemistry*, 4ª Edição, Freeman, New York, 1995.
4. J. Garrett, W. Osswald, *Terapêutica Medicamentosa e Suas Bases Farmacológicas- Manual da farmacologia e Terapêutica*, 2ª Edição, Porto Editora, Porto, 1987.
5. R. Eckert, D. Randall, G. Augustine, *Animal Physiology - mechanisms and adaptations*, 3ª Edição, Freeman, 1988, cap. 9.
6. Goodman & Gilman, *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 5ª Edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1976.
7. E. Peres, *Revista Portuguesa de Clínica Geral*, **11** (1994) 284-295.
8. L. Eliasson, E. Renström, C. Åmmälä, P.-O. Berggren, A. M. Bertorello, K. Bokvist, A. Chibalin, J. T. Deeney, P. R. Flatt, J. Gäbel, J. Gromada, O. Larsson, P. Lindström, C. J. Rhodes, P. Rorsman, *Science* **271** (1996) 813-815.
9. M. A. Soares, *Diabetes Mellitus*, 2ª Edição, Associação Nacional das Farmácias, CEDIME, 1992.
10. A. C. Guyton, *Tratado de Fisiologia Médica*, 6ª Edição, Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1986.
11. R. E. Rakel, *Conn's Current Therapy*, W. B. Saunders Company, 1986.
12. C. Manso, A. Freire, M. Azevedo, *Introdução à Bioquímica Humana*, 3ª Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1986.
13. P. Petrides, L. Weiss, G. Löffler, O. Wieland, *Diabetes Mellitus: Theory and Management*, Urban & Schwarzenberg, Baltimore-Munich, 1978.
14. M. S. Azevedo, Dissertação de Doutoramento, Faculdade de Medicina da Universidade Clássica de Lisboa, 1981.
15. L. M. Rosário, *Colóquio/Ciências* **15** (1994) 17-30.
16. E. L. Smith, R. L. Hill, I. R. Lehman, R. J. Lefkowitz, P. Handler, A. White, *Principles of Biochemistry- Mammalian Biochemistry*, McGraw-Hill International Editions, 1988.
17. J. H. Weil, *Bioquímica geral*, 4ª Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1983.
18. N. Tietz, *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd Edition, W. B. Saunders Company, 1987.
19. H. C. Hagedorn, B. Norman Jensen, N. B. Krarup, I. Wodstrup, *J. Am. Med. Assoc.* **106** (1936) 177-80.
20. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Ed. Barbara Elvers, VCH, 5ª Edição, 1989.
21. P. J. Guillausseau, *La Revue du Practicien* **XLII** (1992) 1069-124.
22. C. K. Watanabe, *J. Biol. Chem.* **33** (1918) 253-68.
23. M. Janbon, P. Lazergues, J. -H. Métropolitanski, *Presse méd.* **51(4)** (1943) 37.
24. a) A. Loubatières, *Compt. Rend. Soc. biol.* **138** (1944) 766-7; correcção *Compt. Rend. Soc. biol.* **139** (1945) 150; b) A. Loubatières, *Compt. Rend. Soc. biol.* **138** (1944) 830-1; correcção *Compt. Rend. Soc. biol.* **139** (1945) 150.
25. H. Franke, J. Fuchs, *Deut. Med. Wochschr.* **80** (1955) 1449-52.
26. D. L. Kaufman, M. Clare-Salzer, J. Tian, T. Forsthuber, G. S. P. Ting, P. Robinson, M. A. Atkinson, E. E. Sercarz, A. J. Tobin, P. V. Lehmann, *Nature* **366** (1993) 69-72.
27. *Handbook of Metal-Ligand Interaction in Biological Fluids Bioinorganic Medicine*, vol. I e II, Ed. Guy Berthoin, Marcel Dekker Inc., 1995 e referências aí incluídas.
28. J. H. McNeill, H. L. M. Delgatty, M. L. Battell, *Diabetes* **40** (1991) 1675-78.
29. A.-S. Abdul-Ghani, A. L. Abu Hijleh, N. Nahas N., R. Amin, LAICM1242P, Santiago de Compostela (Espanha) 13-17 Setembro 1993.

1 Universidade da Madeira

2 Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

3 Centro de Química Estrutural - Instituto Superior Técnico

30. K. Schwarz, W. Mertz, *Arch. Biochem. Biophys.* **85** (1959) 292-95.
31. R. A. Anderson, M. M. Polansky, N. A. Bryden, E. E. Roginski, W. Mertz, W. Glinsmann, *Metabolism* **32** (1983) 894-99.
32. W. Mertz, E. Morris, J. C. Smith, E. Udomkesmalee, M. Fields, O. Lavander, R. Anderson, *Nutrition, Aging and the Elderly*, Eds. H. Munro, D. Danford, Plenum, New York, 1989.
33. G. Cros, J. J. Mongold, J. J. Serrano, S. Ramanadham, J. H. McNeill, *Flammarion Médecine-Sciences - Journées de Diabétologie* 1991, 193-201.
34. S. M. Brichard, J. Lederer, J. C. Henquin, *Diabete & Metabolisme* **17** (1991) 435-440.
35. J. A. Fagin, K. Ikejiri, S. R. Levin, *Diabetes* **36** (1987) 1448-52.
36. R. A. Pederson, S. Ramanadham, A. M. J. Buchan, J. H. McNeill, *Diabetes* **38** (1989) 1390-95.
37. Y. Shechter, J. Meyerovitch, S. Amir, *Biochemical Pharmacology* **37** (1988) 1891-1896.
38. Diversos artigos de *Molecular and Cellular Biochemistry* **153** (1995).
39. F. G. Hamel, S. S. Solomon, A. S. Jespersen, A. Blotcky, E. Rack, W. C. Duckworth, *Metabolism* **42** (1993) 1503-1505.
40. Y. Shechter, J. Meyerovitch, Z. Farfel, J. Sack, R. Bruck, S. Bar-Meir, S. Amir, H. Degani, S. J. D. Karlsh, em *Vanadium in Biological Systems - physiology and biochemistry*, Ed. N. D. Chasteen, Kluwer Academic Publishers, 1990, 129-142.
41. K. Werdan, G. Bauriedel, B. Fischer, W. Krawietz, E. Erdmann, W. Schmitz, H. Scholz, *Biochimica et Biophysica Acta* **687** (1982) 79-93.
42. H. Degani, M. Gochin, S. J. D. Karlsh, Y. Shechter, *Biochemistry* **20** (1981) 5795-5799.
43. B. Leighton, G. J. S. Cooper, C. Dacosta, E. A. Foot, *Diabetologia* **33** (suppl.), A70, 1990. (Abstract).
44. Y. Shechter, *Diabetes* **39** (1990) 1-5.
45. D. J. Paulson, S. J. Kopp, J. P. Tow, D. G. Peace, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **240** (1987).
46. O. Blondel, D. Bailbe, B. Portha, *Diabetologia* **32** (1989) 185-190.
47. N. L. Ferguson, B. S. Donahue, K. A. Tenney, E. T. Morgan, *Drug Metabolism and Disposition* **21** (1993) 745-746.
48. R. Bruck, H. Prigozin, Z. Krepel, P. Rotenberg, Y. Shechter, S. Bar-Meir, *Hepatology* **14** (1991) 540-544.
49. S. M. Brichard, C. J. Bailey, J. Henquin, *Diabetes* **39** (1990) 1326-32.
50. U. H. Malabu, S. Dryden, H. D. McCarthy, A. Kilpatrick, G. Williams, *Diabetes* **43** (1994) 9-15.
51. B. I. Posner, R. Faure, J. W. Burgess, A. P. Bevan, D. Lachance, G. Zhang-Sun, I. G. Fantus, J. B. Ng, D. A. Hall, B. S. Lum, A. Shaver, *The Journal of Biological Chemistry* **269** (1994) 4596-4604.
52. A. Shaver, J. B. Ng, D. A. Hall, B. S. Lum, B. I. Posner, *Inorg. Chem.* **32** (1993) 3109-3113.
53. S. Ramanadham, J. J. Mongold, R. W. Brownsey, G. H. Cros, J. McNeill, *Am. J. Physiol.* **257** (1989) H904-H911.
54. K. H. Thompson, J. Leichter, J. H. McNeill, *Biochemical and Biophysical Research Communications* **197** (1993) 1549-1555.
55. A. T. Özçelikay, C. Pekiner, N. Ari, Y. Öztürk, A. Özüari, V. M. Altan, *Diabetologia* **37** (1994) 572-578.
56. M. C. Cam, R. A. Pederson, R. W. Brownsey, J. H. McNeill, *Diabetologia* **36** (1993) 218-224.
57. J. H. McNeill, V. G. Yuen, H. R. Hoveyda, C. Orvig, *Journal of Medicinal Chemistry* **35** (1992) 1489-91.
58. Y. Shechter, A. Shisheva, R. Lazar, J. Libman, A. Shanzer, *Biochemistry* **31** 1992.
59. *Chemistry in Britain* **30** (1994) 886.
60. J. L. Domingo, M. Gómez, J. M. Llobet, J. Corbella, C. Keen, *Pharmacology & Toxicology* **68** (1991) 249-253.
61. J. L. Domingo, M. Gomez, D. J. Sanchez, J. M. Llobet, C. L. Keen, *Life Sciences* **50** (1992) 1311-1317.
62. S. Bhanot, M. Bryer-Ash, A. Cheung, J. H. McNeill, *Diabetes* **43** (1994) 857-861.
63. Fraústo da Silva *et al.* em preparação.
64. J. Costa Pessoa *et al.* em preparação.
65. P. Buglyó, A. Dessi, T. Kiss, G. Micera, D. Sanna, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1993) 2057-63.



Equipamento de Laboratório
 Balanças - Centrífugas - Aparelhos de pH - Tituladores
 Condutímetros - Agitadores - Espectrofotômetros
 Microscópios - etc.

Vidros e Plásticos de Laboratório
 Distribuidores NORMAX

Material Didático
 Ensino Secundário e Superior
 Representantes exclusivos SISTEDUC - Sistemas Educativos S.A.

Rua Soeiro Pereira Gomes, 15 r/c Frente
 Bom Sucesso - 2615 Alverca
 Telef. (01) 957 04 20/1/2 - Fax (351-1-957 04 23) - Portugal