

---

# BASES GENÉTICAS DA RESISTÊNCIA À INSULINA, DA SÍNDROME METABÓLICA E DO DIABETES MELITO TIPO 2

HENRIQUE GOTTARDELLO ZECCHIN, JOSÉ BARRETO CAMPELLO CARVALHEIRA,  
MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD

Departamento de Clínica Médica — Faculdade de Ciências Médicas —  
Universidade Estadual de Campinas — UNICAMP

Endereço para correspondência: Cidade Universitária “Zeferino Vaz” —  
Barão Geraldo — CEP 13081-970 — Campinas — SP

Acredita-se atualmente que o diabetes tipo 2 ocorra em indivíduos geneticamente predispostos e expostos a uma série de influências ambientais, que precipitam o início da doença. O padrão de herança do diabetes melito tipo 2 é complexo e provavelmente poligênico. Apesar dos esforços, apenas alguns genes têm sido consistentemente relacionados a maior suscetibilidade à doença.

**Palavras-chave:** diabetes melito tipo 2, resistência à insulina, receptor de insulina, tirosina-quinase, genética, suscetibilidade à doença.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2004;3:508-20)  
RSCESP (72594)-1438

---

## PATOGÊNESE DA SÍNDROME METABÓLICA E DO DIABETES TIPO 2

Alterações metabólicas freqüentemente observadas em pacientes com resistência à insulina e diabetes melito tipo 2 estão individualmente associadas a maior risco de doença cardiovascular. Esses pacientes têm sido designados como portadores da síndrome X ou síndrome metabólica. Essa síndrome compreende hipertensão arterial, obesidade, diabetes tipo 2, dislipidemia e doença cardiovascular aterosclerótica, além da presença de partículas pequenas e densas de LDL, hipercoagulabilidade e hiperuricemia<sup>(1, 2)</sup>. A anormalidade central associada à síndrome metabólica parece ser a resistência à insulina, e algumas das anormalidades citadas podem contribuir para agravar a resistência a esse hormônio.

Não há consenso para a definição clínica da síndrome metabólica. Isso tem dificultado o estabelecimento de estudos epidemiológicos e de marcadores gené-

ticos associados a essa síndrome. Entretanto, as bases moleculares para a resistência à insulina da síndrome metabólica e do diabetes tipo 2 devem ser similares. Nesse sentido, este artigo enfocará a resistência à insulina do diabetes tipo 2, que certamente será relevante para o entendimento genético da síndrome metabólica.

A patogênese do diabetes tipo 2 é complexa e envolve a interação de fatores genéticos e ambientais. Diversos fatores ambientais desempenham papel crítico no desenvolvimento dessa doença, particularmente a ingestão calórica excessiva, levando à obesidade, e o hábito de vida sedentário. A apresentação clínica também é heterogênea, com grande variação na idade de início da doença, na gravidade da hiperglicemia associada e no grau de obesidade. Do ponto de vista fisiopatológico, pessoas com diabetes tipo 2 apresentam três anormalidades cardinais: 1) resistência à ação da insulina nos tecidos periféricos, particularmente no músculo e no fígado, podendo ocorrer também no teci-

**ZECCHIN HG  
e cols.**  
Bases genéticas  
da resistência à  
insulina, da síndrome  
metabólica e do  
diabetes melito tipo 2

do adiposo; 2) secreção de insulina deficiente, especialmente em resposta ao estímulo da glicose; e 3) produção hepática de glicose aumentada, que pode ser consequência da resistência à insulina no fígado.

Embora não se saiba ainda como ocorre precisamente a interação entre

esses fatores genéticos e ambientais que levam ao desenvolvimento clínico do diabetes tipo 2, o conhecimento atual desses processos tem avançado substancialmente. Com exceção das formas monogênicas específicas da doença, que podem resultar totalmente de defeitos confinados às vias que regulam a ação da insulina no músculo, fígado e tecido adiposo ou de defeitos na secreção de insulina na célula beta pancreática, existe consenso cada vez maior de que as formas comuns de diabetes tipo 2 são poligênicas e decorrem de uma combinação de secreção anormal de insulina e resistência à insulina. Do ponto de vista fisiopatológico, é a incapacidade da célula beta pancreática de se adaptar à redução da sensibilidade à insulina — que ocorre durante a vida em resposta à puberdade ou à gestação, ao sedentarismo ou à ingestão calórica excessiva levando à obesidade — que precipita o início do diabetes tipo 2. A predisposição genética parece ser um fator crítico na determinação da frequência com que isso ocorre e polimorfismos em diversos genes que codificam as proteínas envolvidas na sinalização de insulina, na secreção de insulina e no metabolismo intermediário podem estar envolvidos<sup>(3, 4)</sup>.

## **CADEIA DE SINALIZAÇÃO DA INSULINA: ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NA RESISTÊNCIA À INSULINA E NO DIABETES MELITO TIPO 2**

### **Etapas iniciais da sinalização insulínica**

#### *Receptor de insulina*

A Figura 1 mostra um esquema simplificado das etapas de sinalização intracelular, desde a ligação da insulina a seu receptor até a ativação do transporte de glicose. A sinalização intracelular da insulina começa com sua ligação a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase, composta por duas subunidades alfa e duas subunidades beta, que atua como uma enzima alostérica na qual a subunidade alfa inibe a atividade tirosina quinase da subunidade beta. A ligação da insulina à subunidade alfa permite que a subunidade beta adquira atividade quinase, levando a alteração conformacional e autofosforilação, o que aumenta ainda mais a ativida-

de quinase do receptor<sup>(5)</sup>.

#### *Substratos do receptor de insulina*

Uma vez ativado, o receptor de insulina fosforila vários substratos protéicos em tirosina. Atualmente, dez substratos do receptor de insulina já foram identificados. Quatro desses pertencem à família dos substratos do receptor de insulina, as proteínas IRS<sup>(6)</sup>. Outros substratos incluem Shc, Gab-1, p60dok, Cbl, JAK2 e APS<sup>(7)</sup>. A fosforilação em tirosina das proteínas IRS cria sítios de reconhecimento para moléculas contendo domínios com homologia a Src 2 (SH2). Dentre estas, destaca-se a fosfatidilinositol 3-quinase (PI 3-quinase). As funções fisiológicas do IRS-1/2 foram recentemente estabelecidas por meio da produção de camundongos que não expressam os genes que codificam o IRS-1 e o IRS-2 (camundongos “knockout” para IRS-1 e IRS-2). O camundongo que não expressa IRS-1 apresenta resistência à insulina e retardo de crescimento, mas não é hiperglicêmico<sup>(8)</sup>. Foi demonstrado que o IRS-2 poderia compensar parcialmente a ausência de IRS-1, o que explicaria o fenótipo de resistência à insulina sem hiperglicemia do camundongo “knockout” para IRS-1. O camundongo que não expressa o IRS-2 foi gerado há alguns anos e apresenta um fenótipo diferente do camundongo sem IRS-1: hiperglicemia acentuada decorrente de diversas anormalidades na ação da insulina nos tecidos periféricos e falência da atividade secretória das células beta acompanhada de redução significativa da massa de células beta pancreáticas<sup>(9)</sup>. Em contraste, camundongos “knockout” para IRS-3 e IRS-4 têm crescimento e metabolismo de glicose quase normais<sup>(10, 11)</sup>.

#### *PI 3-quinase*

A PI 3-quinase é importante na regulação da mitogênese, na diferenciação celular e no transporte de glicose estimulado pela insulina<sup>(12-15)</sup>. A PI-3 quinase foi originalmente identificada como um dímero composto de uma subunidade catalítica (p110) e uma subunidade regulatória (p85). A ligação dos sítios YMXM e YXXM (onde Y = tirosina, M = metionina e X = qualquer aminoácido) fosforilados das proteínas IRS ao domínio SH2 da subunidade p85 da PI 3-quinase ativa o domínio catalítico associado<sup>(16)</sup>. A enzima catalisa a fosforilação dos fosfoinosítídeos na posição 3 do anel de inositol, produzindo fosfatidilinositol-3-fosfato, fosfatidilinositol-3,4-difosfato e fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato<sup>(17)</sup>. Atualmente, a PI 3-quinase é a única molécula intracelular considerada essencial para o transporte de glicose<sup>(18)</sup>. As proteínas-alvo conhecidas dessa enzima são a Akt e as isoformas atípicas da PKC ( $\zeta$  e  $\lambda$ ), porém a função dessas proteínas no transporte de glicose ainda não está bem estabelecida<sup>(19-23)</sup>.

#### *Cascatas de fosforilação estimuladas pela insulina*

Semelhante a outros fatores de crescimento, a insulina estimula a “mitogen-activated protein” (MAP)

ZECCHIN HG  
e cols.

Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

quinase. Essa via inicia-se com a fosforilação das proteínas IRS e/ou Shc, que interagem com a proteína Grb2<sup>(24)</sup>. A Grb2 está constitutivamente associada à SOS, proteína que troca GDP por GTP da Ras, ativando-a. A ativa-

téica via aumento da translação de proteínas<sup>(27)</sup>.

A resistência à insulina na obesidade e no diabetes tipo 2 é caracterizada por defeitos moleculares em múltiplos níveis, com redução da concentração e da atividade quinase do receptor de insulina, da concentração e da fosforilação do IRS-1 e -2, da atividade da PI 3-quinase, da translocação dos transportadores de glicose (GLUTs) e da atividade de enzimas intracelulares<sup>(7)</sup>. A ativação da via da MAP quinase pela insulina

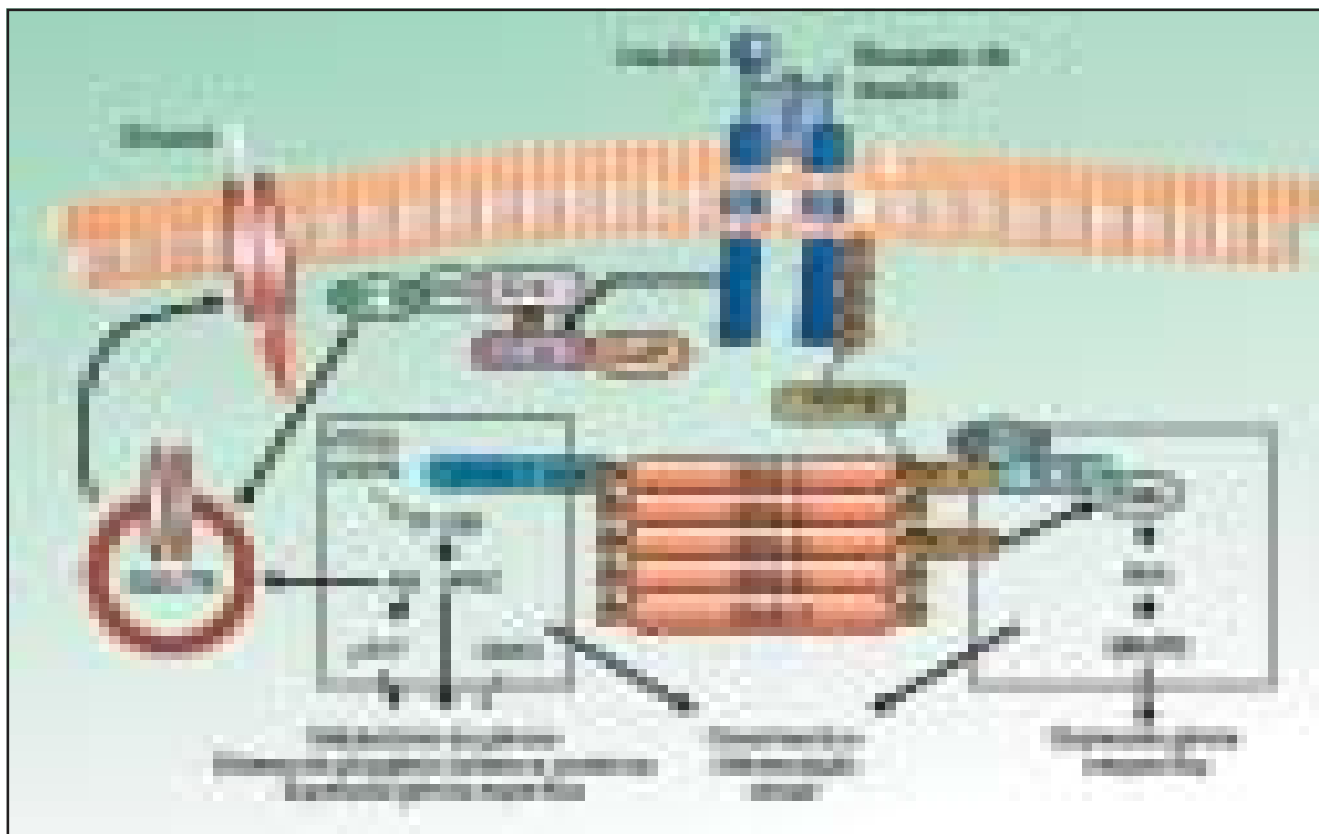


Figura 1. As vias de sinalização da insulina.

ção da Ras requer a participação da SHP2. Uma vez ativada, Ras estimula a fosforilação em serina da cascata da MAP quinase, o que leva à proliferação e à diferenciação celulares<sup>(25)</sup>. O bloqueio farmacológico dessa via previne a ação da insulina no crescimento celular, mas não tem efeito nas ações metabólicas do hormônio<sup>(26)</sup>. A insulina aumenta a síntese e bloqueia a degradação de proteínas por meio da ativação da mTOR. mTOR controla a translação de proteínas diretamente por meio da fosforilação da p70-ribossomal S6 quinase (p70rsk), que ativa a síntese ribossomal de proteínas pela fosforilação da proteína S6<sup>(26)</sup>. A mTOR também fosforila a PHAS1, que aumenta a síntese pro-

teína não está reduzida no diabetes tipo 2 e em outros estados de resistência à insulina, podendo até mesmo estar aumentada, talvez permitindo que a hiperinsulinemia crônica possa exercer efeitos deletérios sobre o crescimento celular na vasculatura, resultando em doença cardiovascular<sup>(28-30)</sup>.

#### FATORES GENÉTICOS NO DESENVOLVIMENTO DO DIABETES TIPO 2 (POSSÍVEIS GENES PARA RESISTÊNCIA À INSULINA)

Embora o diabetes tipo 2 não esteja associado a tipos específicos de HLA, estudos em gêmeos idênti-

**ZECCHIN HG e cols.**  
Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

cos indicam que existe uma concordância de mais de 95% para essa doença<sup>(31)</sup>. Evidências substanciais de que o diabetes tipo 2 é uma doença hereditária também têm sido demonstradas por meio de estudos de agrupamentos familiares de diabetes e de grupos étnicos com alta prevalência

da doença<sup>(32-34)</sup>.

No sistema de classificação de diabetes melito anterior, havia famílias nas quais o diabetes estava presente em crianças, adolescentes e adultos e nos quais uma herança autossômica dominante havia sido bem estabelecida<sup>(35,36)</sup>. Essa forma de diabetes foi chamada MODY (“maturity-onset diabetes of the young”) e era considerada um subtipo de diabetes tipo 2. No novo sistema de classificação, no entanto, MODY é agrupado dentro de um grupo distinto do diabetes tipo 2 denominado “outros tipos específicos de diabetes”, porque atualmente sabe-se que existem vários defeitos genéticos diferentes da função da célula beta responsáveis por esse tipo de diabetes. Embora relativamente incomuns (menos de 3% dos diabéticos), essas formas monogênicas do diabetes são importantes, pois vários dos genes envolvidos foram identificados e caracterizados. Nas formas monogênicas do diabetes, o gene envolvido é necessário e suficiente para causar a doença. Em outras palavras, fatores ambientais desempenham pouco ou nenhum papel para determinar se um indivíduo geneticamente predisposto desenvolve ou não diabetes. Atualmente, anormalidades de seis genes funcionais em diferentes cromossomos foram identificadas, e cada anormalidade leva a alterações na secreção de insulina (Tab. 1).

No entanto, a maioria dos diabéticos tipo 2 comuns apresenta herança poligênica bastante difícil de se identificar e caracterizar. As tentativas para identificar os fatores genéticos que predisõem ao diabetes tipo 2 têm sido baseadas nas técnicas do gene candidato e em estudos de análise de ligação (“linkage analysis”)<sup>(37)</sup>. Inúmeros rastreamentos do genoma (“genomewide scans”) foram completados, dos quais surgiram várias regiões cromossômicas com evidências significativas ou sugestivas de ligação com o diabetes tipo 2<sup>(38-52)</sup>. Entretanto, apesar dos esforços para clonar os genes que conferem suscetibilidade à doença, a identificação desses genes tem tido pouco sucesso, com exceção da calpaína-10 (CAPN10) ou NIDDM1<sup>(53)</sup>.

Achados inconsistentes têm dificultado a clonagem de loci que conferem suscetibilidade ao diabetes tipo 2. Evidências para ligação com o diabetes tipo 2 têm

**Tabela 1.** Formas monogênicas de diabetes.

*Associadas à resistência à insulina*

- Mutações no gene do receptor de insulina
  - a) Resistência à insulina tipo A
  - b) Leprechaunismo
  - c) Síndrome de Rabson-Mendenhall
- Diabetes lipoatrófico
- Mutações no gene do PPAR- $\gamma$

*Associadas à redução na secreção de insulina*

- Mutações nos genes da insulina ou pró-insulina
- Mutações de genes mitocondriais
- “Maturity-onset diabetes of the young” (MODY)
  - a) Mutações nos genes de:
    - HNF-4 $\alpha$  (MODY 1)
    - Glicoquinase (MODY 2)
    - HNF-1 $\alpha$  (MODY 3)
    - IPF-1 (MODY 4)
    - HNF-1 $\beta$  (MODY 5)
    - NeuroD1/Beta2 (MODY 6)

HNF = “hepatocyte nuclear factor”; IPF = “insulin promoter factor”; MODY = “maturity-onset diabetes of the young”; NeuroD1/Beta2 = “neurogenic differentiation 1/ beta cell E-box trans-activator 2”; PPAR = “peroxisome proliferator-activated receptor”.

sido relatadas na maioria dos autossomos<sup>(54)</sup>; porém, tem havido pouca sobreposição entre os resultados obtidos, com notáveis exceções nos cromossomos 1q<sup>(39, 43, 50, 52)</sup> e 20q<sup>(55-57)</sup>. Fatores que podem dificultar a reprodutibilidade dos resultados de análises de ligação incluem a presença de fenocópias de diabetes tipo 2 determinadas pelo ambiente bem como a natureza complexa da herança da doença, a qual inclui heterogeneidade genética e alélica, epístase (interação gene-gene) e interações gene-ambiente<sup>(58)</sup>.

**PESQUISA DE GENES CANDIDATOS PARA RESISTÊNCIA À INSULINA E DIABETES TIPO 2**

Nos estudos de genes candidatos, vários genes têm sido investigados pelo seu papel potencial na patogênese da resistência à insulina<sup>(35)</sup>. Como um amplo espectro de efeitos da insulina é mediado pelo seu receptor e seus substratos (IRS-1 e IRS-2), bem como pela enzima PI 3-quinase, esses genes foram alvo de vários estudos. Essa técnica envolve identificar e então clonar genes conhecidos e que estão envolvidos em vias celulares que regulam o metabolismo da glicose, rastrear variantes nesses genes e avaliar a frequência dessas variantes em casos e em controles.

*Mutações no receptor de insulina*

Mais de 70 mutações foram identificadas no gene

**ZECCHIN HG  
e cols.**  
Bases genéticas  
da resistência à  
insulina, da síndrome  
metabólica e do  
diabetes melito tipo 2

do receptor de insulina em vários pacientes resistentes à insulina<sup>(59)</sup>. Mutações em ambos os alelos do receptor de insulina ocorrem em casos muito raros e causam síndromes de resistência à insulina graves (como, por exemplo, leprechaunismo e síndrome de Rabson-Mendenhall), geralmente resul-

tando em morte no primeiro ano de vida<sup>(60-66)</sup>. Mutações em apenas um alelo do receptor de insulina são compatíveis com a vida e causam síndromes de resistência à insulina graves (chamada “resistência à insulina tipo A” e definida pela presença de resistência à insulina, “acanthosis nigricans” e hiperandrogenismo), geralmente sem desenvolvimento de hiperglicemia até o início da fase adulta<sup>(67)</sup>. Essas mutações podem alterar a função do receptor de insulina por meio de diversos mecanismos, incluindo a redução do número de receptores expressos na superfície celular (por exemplo, pela redução da taxa da biossíntese do receptor, da aceleração da taxa de degradação do receptor ou da inibição do transporte de receptores para a membrana plasmática). A função intrínseca do receptor pode ser anormal se sua afinidade à insulina estiver reduzida ou se sua atividade quinase estiver inativada.

Diferenças na apresentação clínica podem ser consequência da gravidade do defeito genético, da habilidade dos receptores mutantes em formar híbridos com receptores de IGF-I ou outros receptores, e de outros fatores genéticos e adquiridos de base que podem modificar o estado de resistência à insulina. Diante desses estudos de formas monogênicas de diabetes que demonstraram claramente que mutações no receptor de insulina poderiam induzir resistência à insulina, pacientes com diabetes tipo 2 foram estudados com relação à presença de mutações no gene do receptor de insulina. Várias mutações do receptor (Lys1068Glu, Arg1152Gln, Val985Met) foram encontradas em 1% a 5% dos diabéticos tipo 2<sup>(68-70)</sup>. Apenas um estudo populacional, na Holanda, demonstrou uma mutação Val985Met do receptor de insulina em uma taxa relativamente alta de 5,6%<sup>(69)</sup>, o que não foi encontrado em outros grupos populacionais<sup>(70)</sup>. A caracterização funcional dos indivíduos diabéticos tipo 2 com essas mutações no receptor de insulina demonstrou apenas defeitos discretos na sinalização de insulina. No entanto, o diabetes melito pode ocorrer nesses indivíduos em combinação com outros defeitos genéticos. Em resumo, mutações do receptor de insulina não foram comumente encontradas no diabetes melito tipo 2 e somente um pequeno número de indivíduos pode apresentar

mutações que podem contribuir para a resistência à insulina, provavelmente em conjunto com outros defeitos genéticos ainda não identificados.

#### *IRS-1 e IRS-2*

Mutações dos substratos 1 e 2 do receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2) também têm sido descritas em humanos. Entretanto, a maioria dessas mutações foi encontrada na mesma frequência em indivíduos não-diabéticos comparados aos diabéticos (~12% para a mutação Gly972Arg no gene do IRS-1 e 33% para a mutação Gly1057Asp no gene do IRS-2)<sup>(71, 72)</sup>.

Existem pelo menos 11 polimorfismos conhecidos do IRS-1. A variante mais comum consiste de uma substituição do aminoácido glicina por arginina no códon 972 (Arg972-IRS-1) e é mais prevalente em indivíduos de diversos grupos étnicos com resistência à insulina, associada ou não ao diabetes tipo 2<sup>(71, 73-76)</sup>. Estudos de células em cultura 32D indicaram que a mutação no códon 972 do IRS-1 altera a sinalização intracelular da insulina<sup>(77, 78)</sup>. Recentemente, foi demonstrado que esse polimorfismo nas células beta pancreáticas resulta em redução da secreção de insulina estimulada por glicose<sup>(79)</sup>. Em indivíduos com esse polimorfismo, observa-se também reduzida secreção de insulina induzida por glicose ou por arginina<sup>(80)</sup>. Um estudo recente demonstrou que esse polimorfismo está associado a baixo peso ao nascimento em uma população brasileira<sup>(81)</sup>. Como o baixo peso ao nascer está associado à resistência à insulina e ao diabetes tipo 2<sup>(82, 83)</sup>, pode-se supor que os mesmos fatores genéticos que causam alteração na secreção de insulina e/ou resistência à insulina podem alterar tanto o crescimento intra-uterino como a tolerância à glicose na vida adulta, estabelecendo, assim, ligação entre esses dois fenótipos<sup>(84)</sup>. Assim, em humanos, o polimorfismo Gly972Arg pode contribuir tanto para a resistência à insulina como para a redução da secreção de insulina.

Além do IRS-1, um polimorfismo de aminoácidos do gene do IRS-2 causando troca da glicina por asparato na posição 1057 foi encontrado em alta frequência (33%) em uma população não-selecionada da Escandinávia. Essa troca de aminoácidos, entretanto, não foi associada ao diabetes tipo 2<sup>(72)</sup>. Além disso, o rastreamento genômico do locus do IRS-2 tem sido realizado em famílias com diabetes tipo 2 autossômico dominante de início precoce<sup>(85)</sup>. Os resultados desse estudo não sugerem que o gene do IRS-2 represente um fator patogênico maior nesse grupo altamente selecionado.

Em resumo, mutações dos genes do IRS-1 e IRS-2 parecem ocorrer em uma frequência relativamente alta (12% a 33%) em humanos saudáveis não-obesos, assim como em diabéticos tipo 2<sup>(71, 72)</sup>. Embora alguns dados sugiram redução da ação da insulina em decorrência dessas mutações, a alta prevalência em indivíduos saudáveis não lhes confere papel principal no

**ZECCHIN HG  
e cols.**  
Bases genéticas  
da resistência à  
insulina, da síndrome  
metabólica e do  
diabetes melito tipo 2

desenvolvimento do diabetes tipo 2 em humanos.  
*PI 3-quinase*

Mutações no gene da PI 3-quinase também têm sido estudadas. A pesquisa de mutações no gene da PI 3-quinase pode ser complicada pela existência de várias isoformas das subunidades catalítica (p110) e regulatória (p85),

que compõem a proteína<sup>(86)</sup>. No músculo esquelético humano, mais de quatro variantes de subunidades regulatórias são expressas e diferentemente reguladas pela insulina<sup>(87)</sup>. Foi demonstrado que uma variante do tipo "splice" de aproximadamente 50kDa da subunidade regulatória p85 $\alpha$  da PI 3-quinase é altamente sensível à insulina no músculo esquelético humano<sup>(87)</sup>. Embora a ativação da PI 3-quinase seja crucial para o transporte de glicose estimulado pela insulina, camundongos que não expressam a subunidade p85 $\alpha$  da PI 3-quinase são surpreendentemente mais sensíveis à insulina e discretamente hipoglicêmicos<sup>(88)</sup>. A hipótese para explicar essa observação é uma possível troca da subunidade p85 $\alpha$  pela variante p50 $\alpha$ , mais sensível à insulina, gerando maior quantidade de 3,4,5-fosfato na musculatura esquelética<sup>(88)</sup>. Esse resultado demonstra que a interpretação de possíveis mutações na subunidade regulatória da PI 3-quinase não pode deixar de considerar a atividade total da PI 3-quinase e o estado funcional e o grau de expressão de outras isoformas das subunidades regulatórias da enzima.

A triagem para mutações na PI 3-quinase em humanos revelou uma mutação no códon 326 com substituição da metionina por isoleucina na subunidade regulatória. Essa mutação foi documentada em uma população insulino-resistente da Escandinávia na frequência de 30% na forma heterozigota e de 2% na forma homozigota. A mutação homozigótica foi associada a uma grande redução da sensibilidade à insulina<sup>(89)</sup>. Essa mutação não foi detectada em pacientes japoneses diabéticos tipo 2<sup>(90)</sup>. Em índios Pima, essa mutação na subunidade regulatória da PI 3-quinase não foi associada à resistência à insulina, mas sim ao aumento da resposta aguda de insulina após administração de glicose<sup>(91)</sup>. Também foi sugerido, por esses investigadores, que a mutação Met326Iso poderia até mesmo proteger portadores homozigotos na população Pima feminina contra o desenvolvimento do diabetes tipo 2. Isso poderia estar de acordo com dados obtidos do estudo de camundongos que não expressam a subunidade p85 $\alpha$ , os quais apresentam aumento da sensibilidade à insulina e hipoglicemia, em vez de desenvolver diabetes.

#### *Outros genes candidatos*

Além desses elementos iniciais da sinalização da insulina, mutações do promotor da glicoquinase hepática, do GLUT4, da glicogênio sintetase e da proteína-fosfatase-1, entre outros, também foram identificadas, mas nenhuma delas foi consistentemente associada à resistência à insulina ou ao diabetes tipo 2, exceto em alguns poucos casos<sup>(3)</sup>.

#### **RASTREAMENTO DO GENOMA PARA IDENTIFICAÇÃO DE GENES QUE PODEM CONFERIR SUSCETIBILIDADE À RESISTÊNCIA À INSULINA E DIABETES TIPO 2**

Enquanto a técnica de pesquisa de genes candidatos serve para identificar mutações em genes conhecidos, o método de rastreamento do genoma em coortes familiares ou em irmãos pode revelar genes previamente desconhecidos que podem predispor ao diabetes tipo 2<sup>(39-42, 46, 49, 55-57, 92-98)</sup>. Esse método identificou novos loci para o diabetes tipo 2 em diferentes cromossomas, listados na Tabela 2. Esses loci estão parcialmente localizados próximos a genes conhecidos, como o gene do HNF 1 $\alpha$  ("hepatic nuclear factor 1 $\alpha$ "), do receptor de sulfoniluréia, da apolipoproteína A-2 e de outros. No entanto, esses loci estão geralmente restritos a determinados grupos étnicos, o que significa que eles provavelmente não indicam suscetibilidade para resistência à insulina ou diabetes tipo 2 na população em geral. Tem sido sugerido papel mais importante para um locus no cromossoma 20, próximo ao gene do HNF 1 $\alpha$ , na suscetibilidade ao diabetes tipo 2 comum, mas novos estudos ainda são necessários para avaliar seu papel potencial no desenvolvimento do diabetes.

#### **VARIAÇÕES GENÉTICAS NO GENE QUE CODIFICA A CALPAÍNA-10 (OU NIDDM1) E SUA RELAÇÃO COM O DIABETES TIPO 2**

Como a técnica da pesquisa de genes candidatos não tem sido produtiva na identificação de genes para as formas poligênicas comuns do diabetes tipo 2, a análise de ligação tem sido usada<sup>(99)</sup>. Essa técnica envolve definir regiões do DNA cromossômico compartilhadas em excesso por membros de famílias afetadas. Os genitores são genotipados com relação a um determinado marcador e a descendência é avaliada no tocante ao compartilhamento de nenhum, um ou dois alelos herdados de seus pais. Os marcadores são genotipados nos membros das famílias nas regiões de repetições de polimorfismos chamadas microssatélites ou "simple tandem repeats". Como no caso do diabetes tipo 2 (assim como em outras doenças humanas poligênicas) não há um conhecimento inicial do defeito genético, os microssatélites em localizações cromos-

**ZECCHIN HG  
e cols.**

Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

sômicas definidas são tipados ou em membros de famílias de doentes ou em irmãos afetados. A fim de rastrear todo o genoma, 300 a 400 microssatélites são genotipados nos indivíduos em estudo em intervalos de 10 centimorgan (cM). Isso é geralmen-

dores<sup>(100)</sup> demonstraram que o polimorfismo na calpaína-10, responsável pela ligação com o diabetes tipo 2, está associado à redução do mRNA no músculo e à resistência à insulina em índios Pima, uma população com altíssimo risco para o desenvolvimento de diabetes tipo 2. Para simular os efeitos fisiológicos da redução da atividade ou expressão da calpaína, ilhotas pancreáticas ou fragmentos de músculos de roedores foram expostos a vários inibidores da calpaína por 4-6 ou 48 horas<sup>(101)</sup>. Os efeitos nas ilhotas pancreáticas fo-

**Tabela 2.** Rastreamento de genoma para suscetibilidade à resistência à insulina e diabetes tipo 2.

População	Localização no cromossoma	Referência
Índios Pima	4q	Prochazka e cols., 1993 <sup>(95)</sup>
Índios Pima	1p	Thompson e cols., 1995 <sup>(97)</sup>
Mexicano-americanos	2q	Hanis e cols., 1996 <sup>(41)</sup>
Mexicano-americanos	11p, 6	Stern e cols., 1996 <sup>(96)</sup>
Finlandeses botnianos	12q	Mahtani e cols., 1996 <sup>(46)</sup>
Caucasóides de Utah	11q	Elbein e cols., 1996 <sup>(92)</sup>
Caucasóides norte-americanos	20q	Ji e cols., 1997 <sup>(56)</sup>
Caucasóides norte-americanos	20q	Bowden e cols., 1997 <sup>(55)</sup>
Famílias francesas	20q	Zouali e cols., 1997 <sup>(57)</sup>
Índios Pima	3q, 4p, 9q, 22q	Pratley e cols., 1998 <sup>(49)</sup>
Índios Pima	11q, 1q, 7q	Hanson e cols., 1998 <sup>(94)</sup>
Caucasóides de Utah	1q	Elbein e cols., 1999 <sup>(39)</sup>
Famílias finlandesas	20q	Ghosh e cols., 1999 <sup>(40)</sup>

te adequado para definir regiões cromossômicas que compartilham defeitos genéticos únicos. A evidência para ligação geralmente se estende sobre uma região maior, a qual pode ser de 10 cM a 20 cM, e estratégias de clonagem posicionais são então utilizadas para encontrar o gene dentro dessa região mais ampla.

Por meio dessa técnica, demonstrou-se que uma variação genética no gene que codifica um membro de expressão ubíqua da família das cisteína-proteases calpaína-like, calpaína-10 (CAPN10), no cromossoma 2q, está associado a risco elevado de diabetes tipo 2<sup>(53)</sup>.

Até que essa observação tivesse sido feita com base em estudos genéticos, a possibilidade de a calpaína estar envolvida na fisiopatologia do diabetes não havia sido considerada. Agora é necessário que o papel das calpaínas na regulação das vias metabólicas responsáveis pela manutenção da secreção e da ação da insulina seja definido. Dados obtidos a partir de estudos iniciais começam a levantar pistas sobre os mecanismos envolvidos.

Parece que os efeitos dos polimorfismos de alto risco são mediados pela redução da expressão da calpaína-10 em tecidos relevantes. Assim, Baier e colabora-

ram dependentes da duração da exposição. Após 4 a 6 horas, a inibição da atividade da calpaína foi associada ao aumento da secreção de insulina induzida por glicose, que parece ter sido mediado por efeitos no próprio processo de secreção. Exposição de ilhotas de camundongos a inibidores de calpaína com diferentes estruturas e mecanismos de ação por 48 horas suprimiu reversivelmente a secreção de insulina induzida por glicose em 40% a 80%. A exposição de ilhotas a outros inibidores de protease (catepsina B e proteossomo) não gerou resultados semelhantes. A incubação por 48 horas com inibidores da calpaína também atenuou a secreção de insulina em resposta ao combustível mitocondrial  $\alpha$ -cetoisocaproato e ao desencadeador de exocitose cálcio-independente mastoparan. O metabolismo de glicose e o cálcio intracelular, a resposta à glicose ou ao  $\alpha$ -cetoisocaproato, e a exocitose de grânulos de insulina (medido por capacitância celular) foram reduzidos em células beta isoladas. Assim, a inibição da atividade da calpaína nas ilhotas atenua a secreção de insulina, possivelmente pela limitação da taxa do metabolismo da glicose e da exocitose de insulina.

**ZECCHIN HG  
e cols.**  
Bases genéticas  
da resistência à  
insulina, da síndrome  
metabólica e do  
diabetes melito tipo 2

Exposição de fibras musculares de roedores a inibidores da calpaína induziu resistência à insulina por meio da redução no transporte de glicose induzido pela insulina e na síntese de glicogênio. Portanto, esses resultados preliminares sugerem que vias sensíveis à calpaína estão presentes nas ilhotas pan-

creáticas e no músculo, mas pesquisas mais detalhadas ainda são necessárias para definir os alvos celulares específicos da calpaína e seu papel no controle normal da secreção e ação da insulina, bem como sua possível contribuição nos processos fisiopatológicos responsáveis pelo diabetes tipo 2.

A experiência adquirida recentemente com os estudos sobre a CAPN10 provavelmente antecipa os desafios que ainda serão enfrentados pelos pesquisadores na identificação dos genes responsáveis pelas formas poligênicas do diabetes tipo 2<sup>(102)</sup>.

A primeira questão importante que se coloca é que a variante da CAPN10 implicada na suscetibilidade ao diabetes tipo 2 foi localizada em uma seqüência “non-coding” e não em uma seqüência “coding” e está associada a uma redução significativa dos níveis de mRNA da calpaína-10 no músculo esquelético assim como à resistência à insulina.

A segunda questão é que o mecanismo para explicar os efeitos da CAPN10 é complexo e combinações de variantes estão mais fortemente associadas com doenças que polimorfismos individuais. No caso da CAPN10, indivíduos heterozigotos para os dois diferentes haplótipos que formam a combinação haplótipa de alto risco têm risco aproximadamente três vezes maior que indivíduos com quaisquer outras combinações de haplótipos, e risco aproximadamente oito vezes maior comparado à combinação haplótipa de menor risco. Indivíduos homozigotos para qualquer um dos

haplótipos na combinação de alto risco não apresentaram maior risco de desenvolver diabetes tipo 2.

A terceira questão é que o(s) mecanismo(s) fisiológico(s) por meio dos quais os loci de suscetibilidade genética causam doença podem não ser claros e ser difíceis de determinar. Esse é certamente o caso com a CAPN10 e com as calpaínas em geral, cuja função fisiológica primária ainda é incerta.

Uma quarta questão é que, como múltiplos mecanismos genéticos e fatores ambientais estão envolvidos na patogênese da doença, a reprodução dos achados e resultados pode ser difícil, visto que variações genéticas específicas podem diferir muito entre as diversas populações. Assim, até o momento, o haplótipo de alto risco nesse locus tem sido raramente documentado em populações não-hispânicas.

## CONCLUSÃO

Embora vários genes ainda necessitem de investigação pelo seu potencial para desencadear resistência à insulina, pode-se concluir, a partir dos estudos já realizados, que as mutações heterozigotas nas moléculas pertencentes às vias de sinalização da insulina são freqüentes em humanos e, na maioria dos casos, não são suficientes para causar resistência à insulina ou diabetes tipo 2. Entretanto, se essas mutações forem homozigotas, o que ocorre raramente, ou se existirem em associação com outras mutações na via de sinalização da insulina ou com a obesidade, podem conferir maior risco de desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes tipo 2. Em resumo, portanto, ao nos movermos dos estudos das formas monogênicas do diabetes para estudos que buscam compreender as bases genéticas, moleculares e fisiológicas das formas poligênicas dessa síndrome, vários novos desafios deverão ser encontrados. Entretanto, em vista da natureza complexa desses distúrbios, o conhecimento de suas bases genéticas ainda é a via com maior possibilidade de solucionar a etiopatogenia do diabetes melito tipo 2 e da resistência à insulina.

ZECCHIN HG  
e cols.  
Bases genéticas  
da resistência à  
insulina, da síndrome  
metabólica e do  
diabetes melito tipo 2

## THE GENETIC BASIS OF INSULIN RESISTANCE, METABOLIC SYNDROME AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

HENRIQUE GOTTARDELLO ZECCHIN, JOSÉ BARRETO CAMPELLO CARVALHEIRA,  
MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD

Although the pathogenesis of type 2 diabetes is controversial, it is generally agreed that the disease has strong genetic and environmental (acquired) components. Its inheritance is polygenic, meaning that the simultaneous presence of several abnormal genes or polymorphisms is necessary for the development of the disease. However, despite the efforts to identify potential type 2 diabetes genes, only a few have consistently been associated with a higher susceptibility to this syndrome.

**Key words:** type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, insulin receptor, receptor protein-tyrosine kinase, genetics, disease susceptibility.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2004;3:508-20)  
RSCESP (72594)-1438

### REFERÊNCIAS

1. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition. *Annu Rev Med.* 1993;44:121-31.
2. Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Nutrition.* 1997;13:65.
3. Kahn CR, Vicent D, Doria A. Genetics of non-insulin-dependent (type-II) diabetes mellitus. *Annu Rev Med.* 1996;47:509-31.
4. Stern MP. Strategies and prospects for finding insulin resistance genes. *J Clin Invest.* 2000;106:323-7.
5. Patti ME, Kahn CR. The insulin receptor — a critical link in glucose homeostasis and insulin action. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 1998;9:89-109.
6. White MF. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Mol Cell Biochem.* 1998;182:3-11.
7. Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106:165-9.
8. Araki E, Lipes MA, Patti ME, et al. Alternative pathway of insulin signaling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 1994;372:186-90.
9. Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature.* 1998;391:900-4.
10. Liu SC, Wang Q, Lienhard GE, Keller SR. Insulin receptor substrate 3 is not essential for growth or glucose homeostasis. *J Biol Chem.* 1999;274:18093-9.
11. Fantin VR, Wang Q, 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: E127-E133.
12. 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;267:22171-7.
13. Saad MJ, Araki E, Miralpeix M, Rothenberg PL, White MF, Kahn CR. Regulation of insulin receptor substrate-1 in liver and muscle of animal models of insulin resistance. *J Clin Invest.* 1992;90:1839-49.
14. Saad MJ, Folli F, Kahn JA, Kahn CR. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *J Clin Invest.* 1993;92:2065-72.
15. Shepherd PR, Nave BT, Siddle K. Insulin stimulation of glycogen synthesis and glycogen synthase activity is blocked by wortmannin and rapamycin in 3T3-L1 adipocytes: evidence for the involvement of phos-

**ZECCHIN HG  
e cols.**

Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

- phoinositide 3-kinase and p70 ribosomal protein-S6 kinase. *Biochem J.* 1995; 305:25-8.
16. Backer JM, Myers MG Jr, Shoelson SE, et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. *EMBO J.* 1992;11:3469-79.
17. Lietzke SE, Bose S, Cronin T, et al. Structural basis of 3-phosphoinositide recognition by pleckstrin homology domains. *Mol Cell.* 2000;6:385-94.
18. Czech MP, Corvera S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. *J Biol Chem.* 1999;274:1865-8.
19. Kim YB, Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Henry RR, Kahn BB. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. [see comments.]. *J Clin Invest.* 1999;104:733-41.
20. Kitamura T, Ogawa W, Sakaue H, et al. Requirement for activation of the serine-threonine kinase Akt (protein kinase B) in insulin stimulation of protein synthesis but not of glucose transport. *Mol Cell Biol.* 1998;18:3708-17.
21. Bandyopadhyay G, Standaert ML, Zhao L, et al. Activation of protein kinase C (alpha, beta, and zeta) by insulin in 3T3/L1 cells. Transfection studies suggest a role for PKC-zeta in glucose transport. *J Biol Chem.* 1997;272:2551-8.
22. Kohn AD, Summers SA, Birnbaum MJ, Roth RA. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *J Biol Chem.* 1996;271:31372-8.
23. Kotani K, Ogawa W, Matsumoto M, et al. 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;18:6971-82.
24. Paez-Espinosa EV, Rocha EM, Velloso LA, Boschero AC, Saad MJ. Insulin-induced tyrosine phosphorylation of Shc in liver, muscle and adipose tissue of insulin resistant rats. *Mol Cell Endocrinol* 1999;156:121-9.
25. Boulton TG, Nye SH, Robbins DJ, et al. ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. *Cell.* 1991;65:663-75.
26. Lazar DF, Wiese RJ, Brady MJ, et al. Mitogen-activated protein kinase inhibition does not block the stimulation of glucose utilization by insulin. *J Biol Chem.* 1995;270: 20801-7.
27. Miron M, Verdu J, Lachance PE, Birnbaum MJ, Lasko PF, Sonenberg N. The translational inhibitor 4E-BP is an effector of PI(3)K/Akt signaling and cell growth in *Drosophila*. *Nat Cell Biol.* 2001;3:596-601.
28. Cusi K, Maezono K, Osman A, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest.* 2000;105:311-20.
29. Jiang ZY, Lin YW, Clemont A, et al. Characterization of selective resistance to insulin signaling in the vasculature of obese Zucker (fa/fa) rats. *J Clin Invest.* 1999;104:447-57.
30. Zecchin HG, Bezerra RM, Carnevali JB, et al. Insulin signaling pathways in aorta and muscle from two animal models of insulin resistance-the obese middle-aged and the spontaneously hypertensive rats. *Diabetologia.* 2003;46:479-91.
31. Medici F, Hawa M, Ianari A, Pyke DA, Leslie RD. Concordance rate for type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis. *Diabetologia.* 1999;42:146-50.
32. Kahn CR. Banting Lecture. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes.* 1994;43:1066-84.
33. Rich SS. Mapping genes in diabetes. Genetic epidemiological perspective. *Diabetes.* 1990;39:1315-9.
34. Weijnen CF, Rich SS, Meigs JB, Krolewski AS, Warram JH. (2002) Risk of diabetes in siblings of index cases with Type 2 diabetes: implications for genetic studies. *Diabet Med.* 2002;19:41-50.
35. Almind K, Doria A, Kahn CR. Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nat Med.* 2000;7:277-9.
36. Bell GI, Polonsky KS. Diabetes mellitus and genetically programmed defects in beta-cell function. *Nature* 2001;414:788-91.
37. Stern MP. The search for type 2 diabetes susceptibility genes using whole-genome scans: an epidemiologist's perspective. *Diab Metab Res Rev.* 2002;18:106-13.
38. Duggirala R, Blangero J, Almasy L, et al. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet.* 1999;64:1127-40.
39. Elbein SC, Hoffman MD, Teng K, Leppert MF, Hassstedt SJ. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians. *Diabetes.* 1999;48:1175-82.
40. Ghosh S, Watanabe RM, Valle TT, et al. The Finland-United States investigation of non-insulin-dependent diabetes mellitus genetics (FUSION) study. I. An autosomal genome scan for genes that predispose to type 2 diabetes. *Am J Hum Genet.*

ZECCHIN HG  
e cols.

Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

- 2000;67:1174-85.
41. Hanis CL, Boerwinkle E, Chakraborty R, et al. A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nat Genet.* 1996;13:161-6.
42. Hegele RA, Sun F, Harris SB, Anderson C, Hanley AJ, Zinman B. Genome-wide scanning for type 2 diabetes susceptibility in Canadian Oji-Cree, using 190 microsatellite markers. *J Hum Genet.* 1999;44:10-4.
43. Hsueh WC, St Jean PL, Mitchell BD, et al. Genome-wide and fine-mapping linkage studies of type 2 diabetes and glucose traits in the Old Order Amish: evidence for a new diabetes locus on chromosome 14q11 and confirmation of a locus on chromosome 1q21-q24. *Diabetes* 2003;52:550-7.
44. Lindgren CM, Mahtani MM, Widen E, et al. (2002) Genomewide search for type 2 diabetes mellitus susceptibility loci in Finnish families: the Botnia study. *Am J Hum Genet.* 2002;70:509-16.
45. Luo TH, Zhao Y, Li G, et al. A genome-wide search for type II diabetes susceptibility genes in Chinese Hans. *Diabetologia.* 2001;44:501-6.
46. Mahtani MM, Widen E, Lehto M, et al. Mapping of a gene for type 2 diabetes associated with an insulin secretion defect by a genome scan in Finnish families. *Nat Genet.* 1996;14:90-4.
47. Meigs JB, Panhuysen CI, Myers RH, Wilson PW, Cupples LA. A genome-wide scan for loci linked to plasma levels of glucose and HbA(1c) in a community-based sample of Caucasian pedigrees: The Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2002;51:833-40.
48. Parker A, Meyer J, Lewitzky S, et al. A gene conferring susceptibility to type 2 diabetes in conjunction with obesity is located on chromosome 18p11. *Diabetes.* 2001;50:675-80.
49. Pratley RE, Thompson DB, Prochazka M, et al. An autosomal genomic scan for loci linked to prediabetic phenotypes in Pima Indians. *J Clin Invest.* 1998;101:1757-64.
50. Vionnet N, Hani E, Dupont S, et al. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1470-80.
51. Watanabe RM, Ghosh S, Langefeld CD, et al. The Finland-United States investigation of non-insulin-dependent diabetes mellitus genetics (FUSION) study. II. An autosomal genome scan for diabetes-related quantitative-trait loci. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1186-200.
52. Wiltshire S, Hattersley AT, Hitman GA, et al. A genomewide scan for loci predisposing to type 2 diabetes in a U.K. population (the Diabetes UK Warren 2 Repository): analysis of 573 pedigrees provides independent replication of a susceptibility locus on chromosome 1q. *Am J Hum Genet.* 2001;69:553-69.
53. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, et al. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet.* 2000;26:163-75.
54. Altmuller J, Palmer LJ, Fischer G, Scherb H, Wjst M. Genomewide scans of complex human diseases: true linkage is hard to find. *Am J Hum Genet.* 2001;69:936-50.
55. Bowden DW, Sale M, Howard TD, et al. Linkage of genetic markers on human chromosomes 20 and 12 to NIDDM in Caucasian sib pairs with a history of diabetic nephropathy. *Diabetes.* 1997;46:882-6.
56. Ji L, Malecki M, Warram JH, Yang Y, Rich SS, Krolewski AS. New susceptibility locus for NIDDM is localized to human chromosome 20q. *Diabetes.* 1997;46:876-81.
57. Zouali H, Hani EH, Philippi A, et al. A susceptibility locus for early-onset non-insulin dependent (type 2) diabetes mellitus maps to chromosome 20q, proximal to the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Hum Mol Genet.* 1997;6:1401-8.
58. Pezzolesi MG, Nam M, Nagase T, et al. Examination of candidate chromosomal regions for type 2 diabetes reveals a susceptibility locus on human chromosome 8p23.1. *Diabetes.* 2004;53:486-91.
59. Taylor SI, Arioglu E. Genetically defined forms of diabetes in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4390-6.
60. Donohue WL, Uchida I. Leprechaunism: a euphemism for a rare familial disorder. *J Pediatr.* 1954;45:505-19.
61. Elders MJ, Schedewie HK, Olefsky J, et al. Endocrine-metabolic relationships in patients with leprechaunism. *J Natl Med Assoc.* 1982;74:1195-210.
62. Rabson SM, Mendenhall EN. Familial hypertrophy of pineal body, hyperplasia of adrenal cortex and diabetes mellitus; report of 3 cases. *Am J Clin Pathol.* 1956;26:283-90.
63. Rosenberg AM, Haworth JC, Degroot GW, Trevenen CL, Rechler MM. A case of leprechaunism with severe hyperinsulinemia. *Am J Dis Child.* 1980;134:170-5.
64. Taylor SI, Underhill LH, Hedro JA, Roth J, Rios MS, Blizzard RM. Decreased insulin binding to cultured

**ZECCHIN HG  
e cols.**

Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

- cells from a patient with the Rabson-Mendenhall syndrome: dichotomy between studies with cultured lymphocytes and cultured fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983; 56:856-61.
65. Taylor SI. Receptor defects in patients with extreme insulin resistance. *Diab Metab Rev.* 1985;1:171-202.
66. Taylor SI, Kadowaki T, Accili D, et al. Mutations in the insulin receptor gene in genetic forms of insulin resistance. *Recent Prog Horm Res.* 1990;46:185-213.
67. Kahn CR, Flier JS, Bar RS, et al. The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. *Insulin-receptor disorders in man.* *N Engl J Med.* 1976;294:739-45.
68. Coccozza S, Porcellini A, Riccardi G, et al. NIDDM associated with mutation in tyrosine kinase domain of insulin receptor gene. *Diabetes.* 1992;41:521-6.
69. Hart LM, Stolk RP, Heine RJ, Grobbee DE, van der Does FE, Maassen JA. Association of the insulin-receptor variant Met-985 with hyperglycemia and non-insulin-dependent diabetes mellitus in the Netherlands: a population-based study. *Am J Hum Genet.* 1996;59:1119-25.
70. O'Rahilly S, Choi WH, Patel P, Turner RC, Flier JS, Moller DE. Detection of mutations in insulin-receptor gene in NIDDM patients by analysis of single-stranded conformation polymorphisms. *Diabetes.* 1991;40:777-82.
71. Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Echwald S, Pedersen O. Aminoacid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet.* 1993;342:828-32.
72. Bernal D, Almind K, Yenush L, et al. Insulin receptor substrate-2 amino acid polymorphisms are not associated with random type 2 diabetes among Caucasians. *Diabetes.* 1998;47:976-9.
73. Imai Y, Philippe N, Sesti G, Accili D, Taylor SI. Expression of variant forms of insulin receptor substrate-1 identified in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:4201-7.
74. Hitman GA, Hawrami K, McCarthy MI, et al. Insulin receptor substrate-1 gene mutations in NIDDM; implications for the study of polygenic disease. *Diabetologia.* 1995;38:481-6.
75. Zhang Y, Wat N, Stratton IM, et al. UKPDS 19: heterogeneity in NIDDM: separate contributions of IRS-1 and beta 3-adrenergic-receptor mutations to insulin resistance and obesity respectively with no evidence for glycogen synthase gene mutations. *UK Prospective Diabetes Study. Diabetologia.* 1996;39:1505-11.
76. Ura S, Araki E, Kishikawa H, et al. Molecular scanning of the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene in Japanese patients with NIDDM: identification of five novel polymorphisms. *Diabetologia.* 1996;39:600-8.
77. Almind K, Inoue G, Pedersen O, Kahn CR. A common amino acid polymorphism in insulin receptor substrate-1 causes impaired insulin signaling. Evidence from transfection studies. *J Clin Invest.* 1996;97:2569-75.
78. Hribal ML, Federici M, Porzio O, et al. The Gly—>Arg972 amino acid polymorphism in insulin receptor substrate-1 affects glucose metabolism in skeletal muscle cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2004-13.
79. Porzio O, Federici M, Hribal ML, et al. The Gly972—>Arg amino acid polymorphism in IRS-1 impairs insulin secretion in pancreatic beta cells. *J Clin Invest.* 1999;104:357-64.
80. Stumvoll M, Fritsche A, Volk A, et al. The Gly972Arg polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene contributes to the variation in insulin secretion in normal glucose-tolerant humans. *Diabetes.* 2001;50:882-5.
81. Bezerra RM, de C, V, Sales T, et al. The Gly972Arg polymorphism in insulin receptor substrate-1 is associated with decreased birth weight in a population-based sample of Brazilian newborns. *Diab Care.* 2002;25:550-3.
82. Hales CN, Barker DJ, Clark PM, et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *Br Med J.* 1991;303:1019-22.
83. Lithell HO, McKeigue PM, Berglund L, Mohsen R, Lithell UB, Leon DA. Relation of size at birth to non-insulin dependent diabetes and insulin concentrations in men aged 50-60 years. *Br Med J.* 1996;312:406-10.
84. Rasmussen SK, Urhammer SA, Hansen T, et al. Variability of the insulin receptor substrate-1, hepatocyte nuclear factor-1alpha (HNF-1alpha), HNF-4alpha, and HNF-6 genes and size at birth in a population-based sample of young Danish subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2951-3.
85. Bektas A, Warram JH, White MF, Krolewski AS, Doria A. Exclusion of insulin receptor substrate 2 (IRS-2) as a major locus for early-onset autosomal dominant type 2 diabetes. *Diabetes.* 1999;48:640-2.
86. Shepherd PR, Withers DJ, Siddle K. Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signaling. *Biochem J.* 1998;333(Pt 3):471-90.
87. Sherwood DJ, Dufresne SD, Markuns JF, et al. Differential regulation of MAP kinase, p70(S6K), and

**ZECCHIN HG  
e cols.**

Bases genéticas da resistência à insulina, da síndrome metabólica e do diabetes melito tipo 2

- Akt by contraction and insulin in rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1999;276:E870-E878.
88. Terauchi Y, Tsuji Y, Satoh S, et al. Increased insulin sensitivity and hypoglycaemia in mice lacking the p85 alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase. *Nat Genet.* 1999;21:230-5.
89. Hansen T, Andersen CB, Echwald SM, et al. Identification of a common amino acid polymorphism in the p85alpha regulatory subunit of phosphatidylinositol 3-kinase: effects on glucose disappearance constant, glucose effectiveness, and the insulin sensitivity index. *Diabetes.* 1997;46:494-501.
90. Kawanishi M, Tamori Y, Masugi J, et al. Prevalence of a polymorphism of the phosphatidylinositol 3-kinase p85 alpha regulatory subunit (codon 326 Met—>Ile) in Japanese NIDDM patients. *Diab Care.* 1997;20:1043.
91. Baier LJ, Wiedrich C, Hanson RL, Bogardus C. Variant in the regulatory subunit of phosphatidylinositol 3-kinase (p85alpha): preliminary evidence indicates a potential role of this variant in the acute insulin response and type 2 diabetes in Pima women. *Diabetes.* 1998;47:973-5.
92. Elbein SC, Bragg KL, Hoffman MD, Mayorga RA, Leppert MF. Linkage studies of NIDDM with 23 chromosome 11 markers in a sample of whites of northern European descent. *Diabetes.* 1996;45:370-5.
93. Hager J, Dina C, Francke S, et al. A genome-wide scan for human obesity genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 10. *Nat Genet.* 1998;20:304-8.
94. Hanson RL, Ehm MG, Pettitt DJ, et al. An autosomal genomic scan for loci linked to type II diabetes mellitus and body-mass index in Pima Indians. *Am J Hum Genet.* 1998;63:1130-8.
95. Prochazka M, Lillioja S, Tait JF, et al. Linkage of chromosomal markers on 4q with a putative gene determining maximal insulin action in Pima Indians. *Diabetes.* 1993;42:514-9.
96. Stern MP, Duggirala R, Mitchell BD, et al. Evidence for linkage of regions on chromosomes 6 and 11 to plasma glucose concentrations in Mexican Americans. *Genome Res.* 1996;6:724-34.
97. Thompson DB, Janssen RC, Ossowski VM, Prochazka M, Knowler WC, Bogardus C. Evidence for linkage between a region on chromosome 1p and the acute insulin response in Pima Indians. *Diabetes.* 1995;44:478-81.
98. Wolford JK, Bogardus C, Prochazka M. Genome-wide scan for CAG/CTG repeat expansions in Pimas with early onset of type 2 diabetes mellitus. *Mol Genet Metab.* 1999;66:62-7.
99. Permutt MA, Hattersley AT. Searching for type 2 diabetes genes in the post-genome era. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11:383-93.
100. Baier LJ, Permana PA, Yang X, et al. A calpain-10 gene polymorphism is associated with reduced muscle mRNA levels and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106:R69-R73.
101. Sreenan SK, Zhou YP, Otani K, et al. Calpains play a role in insulin secretion and action. *Diabetes.* 2001;50:2013-20.
102. Cox NJ. Challenges in identifying genetic variation affecting susceptibility to type 2 diabetes: examples from studies of the calpain-10 gene. *Hum Mol Genet.* 2001;10:2301-5.