



## Efeito do tratamento precoce com insulina e sua ação protetora sobre o estresse de retículo endoplasmático na célula beta

Marina dos Santos Carvalho\*, Emílio Marconato Júnior, Karina Rodrigues dos Santos, Helena C. L. Barbosa-Sampaio

### Resumo

O tratamento precoce com insulina é uma alternativa de terapia para pacientes com diabetes mellitus tipo 2 que tem sido testada em diversos ensaios clínicos mostrando como resultado um bom controle glicêmico a longo prazo nos pacientes. Ao menos em parte, acreditamos que esta melhora do quadro clínico se deva à reversão do quadro danoso do estresse de retículo endoplasmático nas células beta, tendo como mediadores da ação da insulina a interação das proteínas Grb2 e FAK. Para avaliação da hipótese, células INS-1E foram submetidas à tratamento com insulina para avaliar se haveria mudança na viabilidade celular além de serem levadas ao estresse de retículo com uso de CPA e posteriormente tratadas com insulina, para avaliar se houve reversão do estresse.

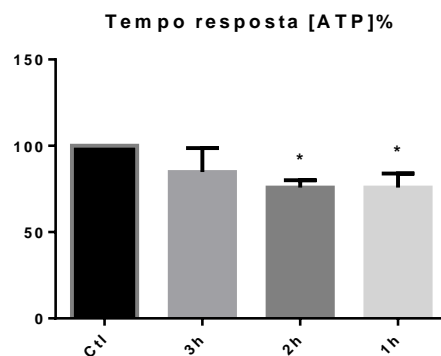
**Palavras-chave:** Insulina, Célula Beta Pancreática, Estresse de Retículo.

### Introdução

Tratamento precoce com insulina é uma terapia para pacientes recém diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) que tem sido utilizada em diversos ensaios clínicos. Os pacientes submetidos a esta terapia, atingem rapidamente a normoglicemia, mantendo-a a longo prazo<sup>1</sup>. Acredita-se que esta reversão se dê a melhora da célula beta pancreática, contudo, se tratando de ensaios clínicos, não se sabe ao certo quais os mecanismos ativados nesta célula. Acreditamos que possíveis mediadores da ação da insulina na célula beta sejam as proteínas Grb2<sup>2</sup> e FAK, uma vez que a primeira, Gbr2, se mostra importante nas vias de sinalização de crescimento, proliferação e sobrevivência, enquanto a FAK apresenta papel importante sobre mecanismos relacionados à sobrevivência e crescimento celular. Nossa hipótese é de que esta melhora do DM2, se deva a reversão, ao menos em parte, do quadro danoso do estresse de retículo endoplasmático, via interação entre GBR2-FAK, em resposta ao tratamento precoce com insulina, evitando, assim, declínio da função da célula beta, e a longo prazo, morte celular.

### Resultados e Discussão

Para teste da hipótese do projeto, foram utilizadas linhagens celulares INS1-E. Estas foram primeiramente submetidas ao tratamento com insulina em diferentes tempos, para avaliação da viabilidade celular e do melhor tempo de exposição da célula ao hormônio. A viabilidade celular foi testada por meio da verificação da concentração de ATP, e as células foram expostas a uma mesma concentração de insulina (100nM) nos tempos de 1h, 2h e 3h. Os resultados obtidos deste ensaio (Figura 1.) mostram que não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo tratado por 3 horas com insulina, comparado ao controle. Entretanto, os grupos tratados por 1 e 2 horas com o hormônio, foram encontradas diferenças significativas. Acreditamos que isto se deva ao fato de que os efeitos da insulina podem ser mais duradouros quando o tempo de exposição ao hormônio é maior, sendo que após a exposição com insulina, as células foram mantidas por 3h para recuperação.



**Figura 1.** Gráfico do percentual de ATP em relação ao grupo controle. Análises estatísticas foram realizadas utilizando Ordinary one-way ANOVA, o \* representa diferenças significativas em relação ao controle, considerando  $p < 0,05$ .

Estes resultados estão sendo utilizados para as próximas etapas do desenvolvimento do projeto, onde as células estão sendo tratadas com CPA, e insulina por 3h. As células serão expostas também ao siRNA contra Grb2 para avaliar seu papel na melhora das células. Western blotting e PRC estão sendo utilizados para avaliar marcadores do estresse e se há melhora com tratamento com insulina, bem como se há alterações nestes padrões após o uso do siRNA.

### Conclusões

Até o momento, concluímos que o tempo mais adequado de exposição in vitro das células ao hormônio seria de 3h, uma vez que, observando os níveis de ATP apresentados, que são próximos ao grupo controle, vemos que não houve alterações significativas da viabilidade celular.

### Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de iniciação científica e financiamentos através de auxílios Regular, Temático e CEPID.

<sup>1</sup> Chon S. *et al.* The effect of early insulin therapy on pancreatic beta cell function and term glycemic control in newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Korean journal of internal medicine*, **2010**, 27, 273-281.

<sup>2</sup> Tari, Ana M., Lopez-Berestein, Gabriel. Grb2: a pivotal protein in signal transduction. *Seminars in Oncology*, **2001**, 28, 1953-1955.