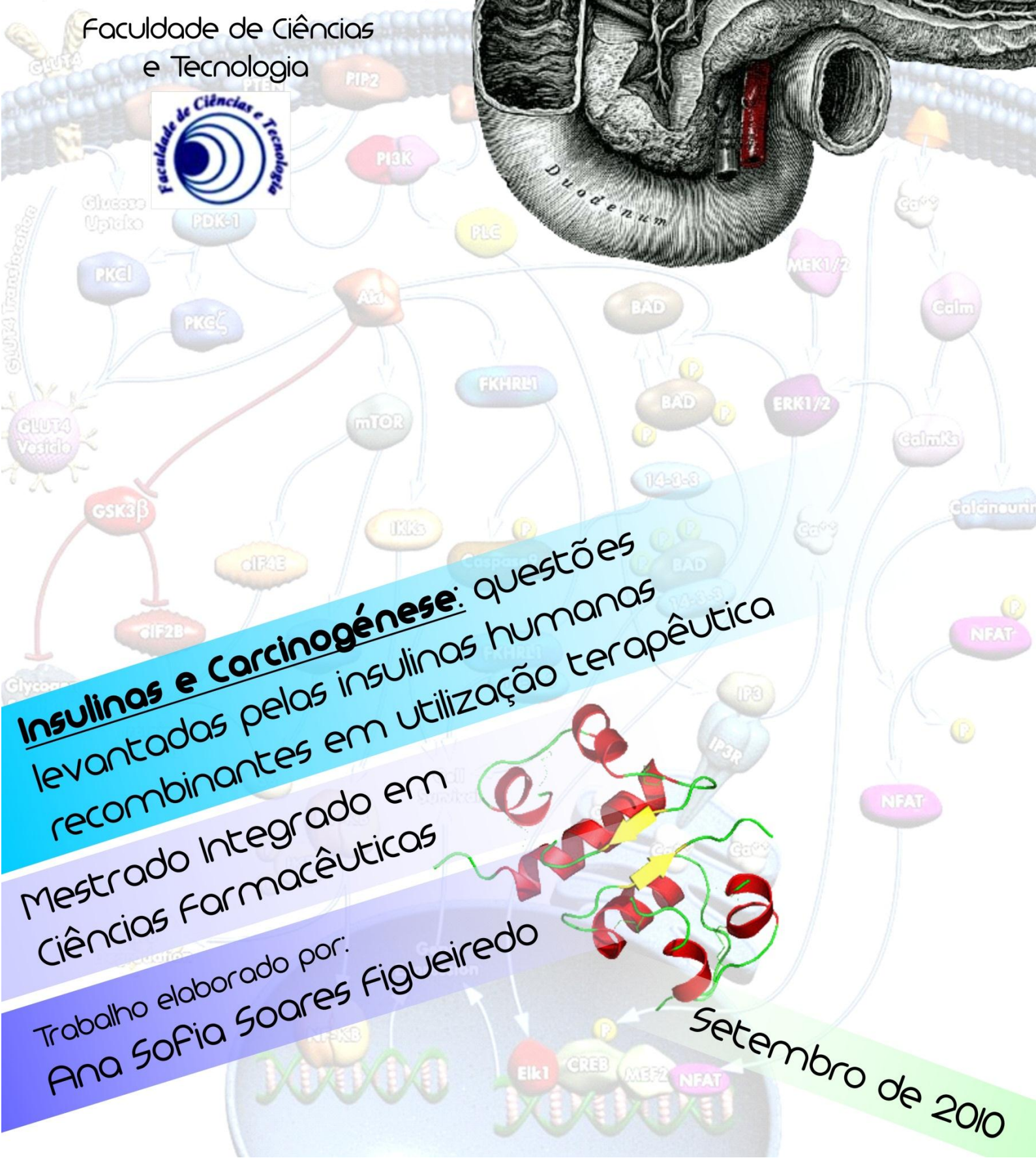
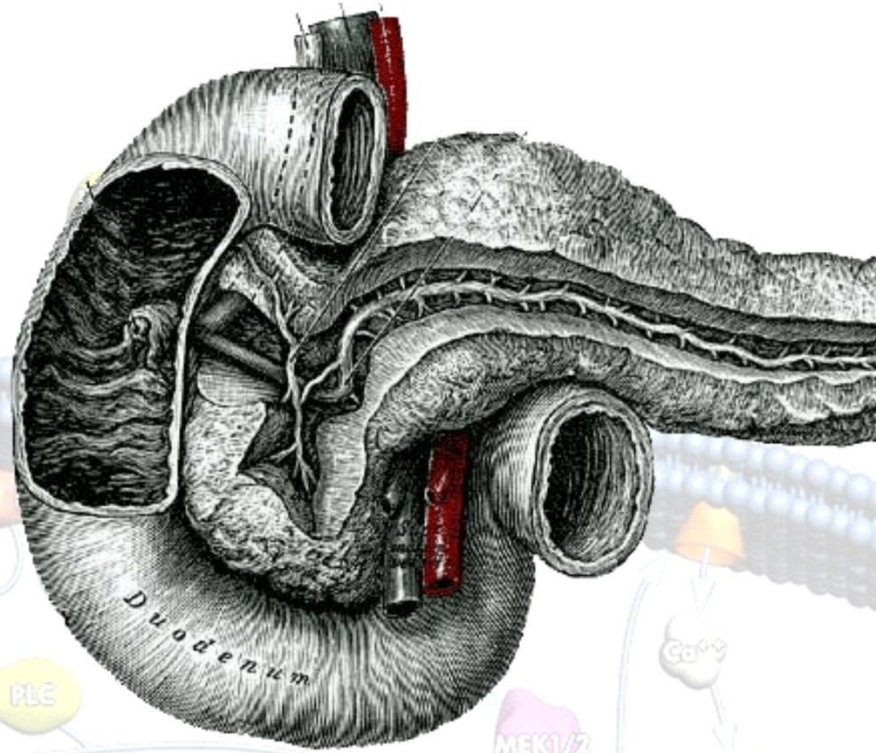


Universidade do Algarve

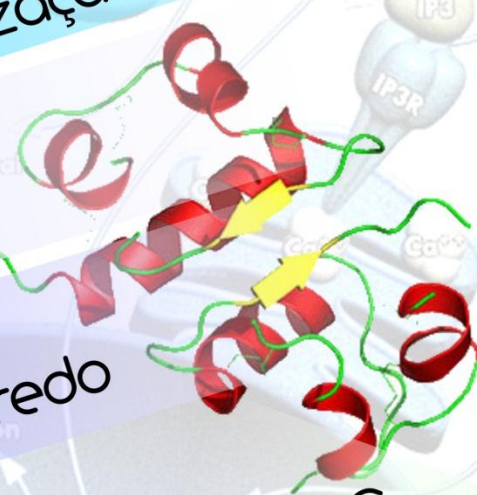
Faculdade de Ciências
e Tecnologia



Insulinas e Carcinogénese: questões levantadas pelas insulinas humanas recombinantes em utilização terapêutica

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

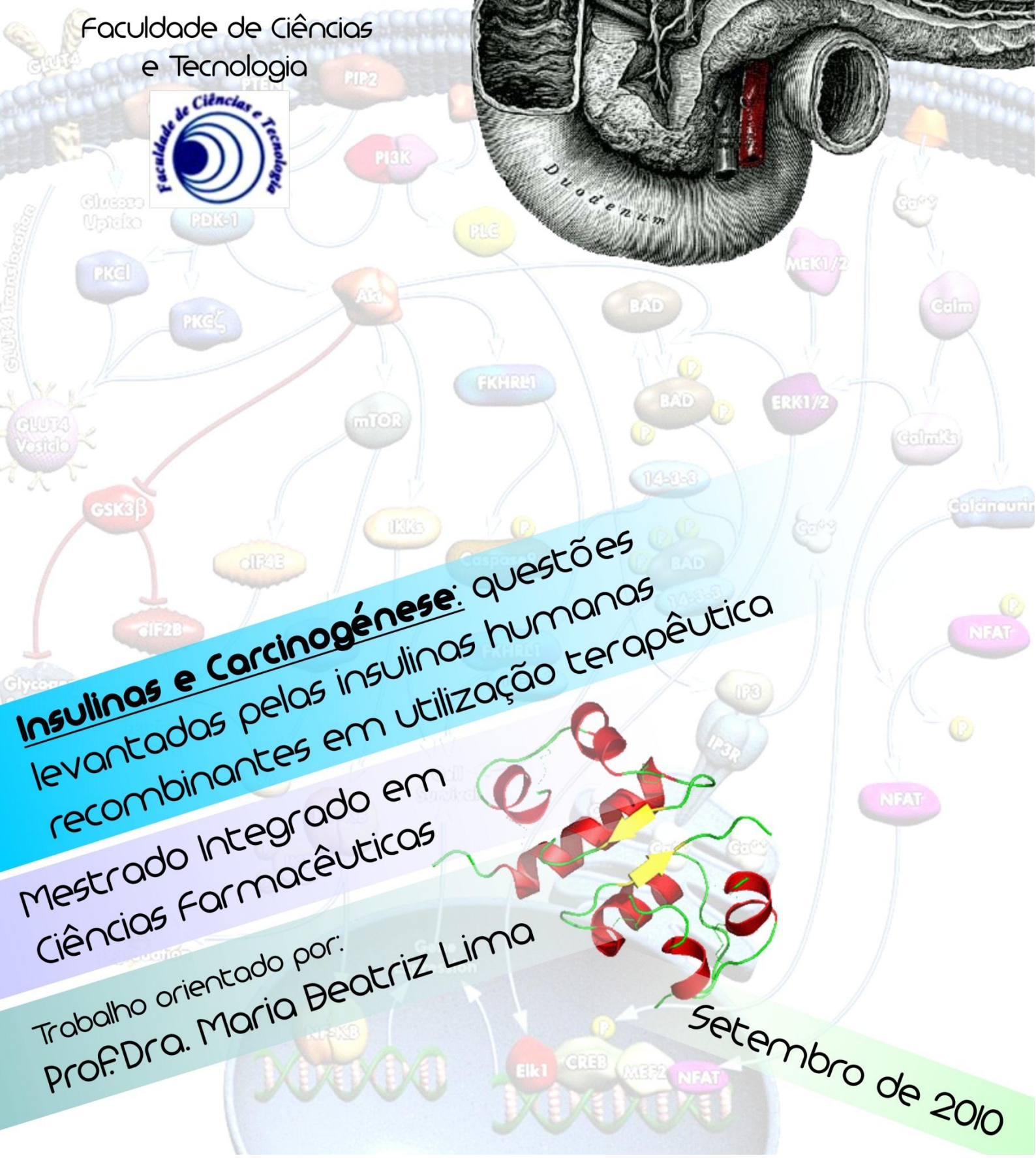
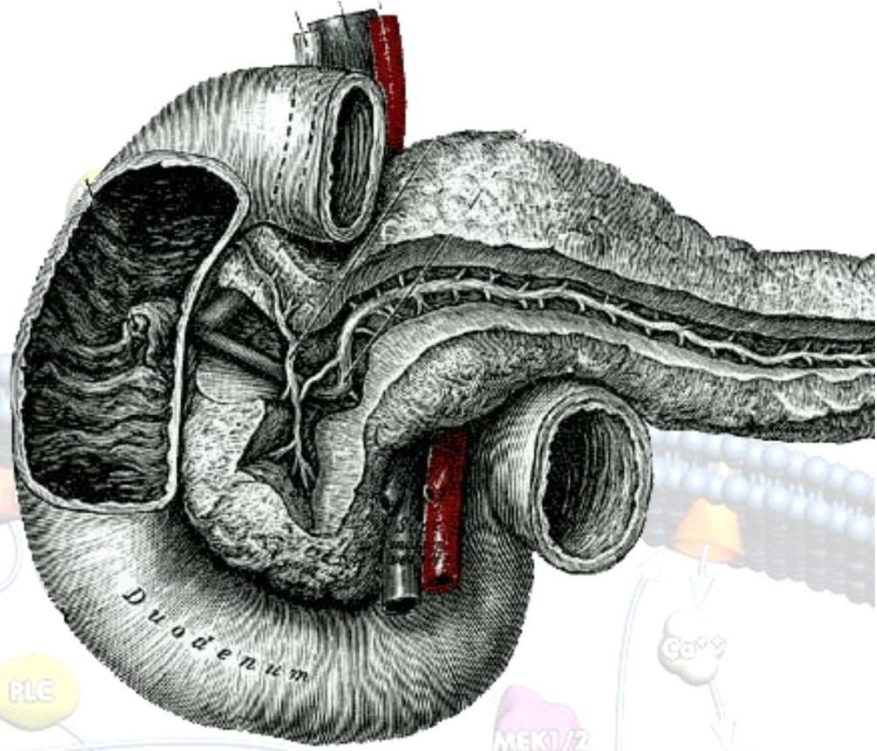
Trabalho elaborado por:
Ana Sofia Soares Figueiredo



Setembro de 2010

Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências
e Tecnologia



Insulinas e Carcinogénese: questões levantadas pelas insulinas humanas recombinantes em utilização terapêutica

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por:
Prof. Dra. Maria Beatriz Lima

Setembro de 2010

AGRADECIMENTOS:

Ao longo do tempo de realização deste trabalho foram muitos os contributos de várias pessoas, que ajudaram a que a concretização deste trabalho fosse possível.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora de monografia, Prof. Doutora Beatriz Lima, da Faculdade de Farmácia de Lisboa, pela disponibilidade que demonstrou para me poder orientar nesta fase tão importante. Agradecer ainda, o facto de ter disponibilizado o seu tempo para me orientar em tudo o que foi necessário e ainda o apoio dado no acesso a material bibliográfico.

Agradecer o apoio de alguns colegas da Farmácia Aguiar, farmácia onde realizei o estágio em comunitária, nomeadamente, à Dra. Maria Abreu, por me ter ajudado a perceber como se elabora uma monografia. Agradecer ainda à Dra. Ana Palhinha, farmacêutica adjunta da farmácia, ao Dr. Hugo Pereira, ao António Moniz e à Joana Ventura.

Agradeço aos meus pais, irmão, cunhada, sobrinhos o apoio incondicional nesta fase importante, a compreensão pelos momentos em que não estive presente, toda a atenção e paciência dispensada.

Por último, mas não menos importantes, gostaria de agradecer aos meus amigos todo o apoio prestado ao longo de todo este tempo, o que contribuiu para ultrapassar este novo desafio. Em especial, gostaria de agradecer aos meus amigos Ana Catarina Mesquita, Jorge Ferreira, Maura Martins, Rita Leitão, Joana Castro e Manuela Jesus que sempre estiveram prontos para ajudar a ultrapassar as limitações encontradas.

A todos, muito OBRIGADA!!!

ÍNDICE:

Índice de Figuras.....	iii
Índice de Quadros.....	vi
Resumo.....	vii
Abstract.....	viii
Lista de Abreviaturas.....	ix
Definições.....	x
1. Introdução.....	1
2. Métodos.....	13
3. Desenvolvimento.....	15
3.1 Breve História da Insulina.....	16
3.2 Insulina.....	18
3.3 Secreção da Insulina.....	20
3.4 Receptor da Insulina.....	23
3.5 Família IGF's (Insulin-like Growth Factor).....	25
3.6 IGF-I (Insulin-like Growth Factor).....	26
3.7 Secreção de IGF-I.....	27
3.8 Receptor de IGF-I.....	29
3.9 Inibição do IGF-I para modificar a actividade da doença.....	31
3.9.1 IGF-I e Aterosclerose.....	31
3.9.2 IGF-I e Cancro.....	32
3.10. Tipos de Insulina.....	36
3.11 Análogos de Insulina.....	38
3.11.1 Análogos de insulina de acção rápida.....	40
3.11.2 Análogos de insulina de acção prolongada.....	46
3.12 Efeito carcinogénico de análogos da insulina.....	50
4. Conclusão.....	61
5. Bibliografia.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1.

Mortalidade atribuída à Diabetes (%).....2

Figura 2.

Prevalência de Diabetes em Portugal (2009).....3

Figura 3.

Prevalência da Diabetes Mellitus (%), a nível mundial, em pessoas entre 35 – 64 anos.....3

Figura 4.

Representação da Diabetes Mellitus tipo 1.....4

Figura 5.

Representação da Diabetes Mellitus tipo 2.....6

Figura 6.

Representação das principais complicações crónicas da Diabetes Mellitus.....10

Figura 7.

Experiência realizada por Banting e Best na descoberta da insulina.....16

Figura 8.

Processo proteolítico da insulina.....18

Figura 9.

Secreção de insulina estimulada pela glicose.....21

Figura 10.

Acções da insulina e glicagina sobre os diferentes tecidos.....22

Figura 11.

Cascata de transdução de sinal da insulina.....24

Figura 12.

Elementos representativos da família IGF's.....25

Figura 13.

Alterações estruturais na molécula Proinsulina que originam a molécula de IGF-I.....26

Figura 14.

Acções autócrinas e parácrinas do IGF-I.....27

Figura 15.	
Regulação dos níveis de IGF's em circulação e nos tecidos.....	28
Figura 16.	
Activação do receptor da insulina e IGF-I.....	30
Figura 17.	
IGF-1 e Aterosclerose.....	31
Figura 18.	
Acções do IGF-I e mecanismos de desenvolvimento do tumor.....	32
Figura 19.	
Efeitos de IGF's e do receptor IGF-I em células normais e cancerosas e a sua relação com moléculas mitogénicas, gene supressor de tumor e estilo de vida.....	34
Figura 20.	
Extensão e duração de acção de vários tipos de insulina	37
Figura 21.	
Sequência de aminoácidos da insulina Lispro, evidenciando as modificações relativas à insulina humana.....	40
Figura 22.	
Sequência de aminoácidos da insulina Aspártico, evidenciando as modificações relativas à insulina humana.....	42
Figura 23.	
Sequência de aminoácidos da insulina Glulisina, evidenciando as modificações relativas à insulina humana.....	44
Figura 24.	
Comparação entre a Insulina Humana e os Análogos de Insulina de acção rápida.....	45
Figura 25.	
Sequência de aminoácidos da insulina Glargina, evidenciando as modificações relativas à insulina humana.....	46
Figura 26.	
Absorção da Insulina Glargina para a corrente sanguínea.....	46

Figura 27.

Sequência de aminoácidos da insulina Detemir, evidenciando as modificações relativas à insulina humana.....48

Figura 28.

Absorção da Insulina Detemir para a corrente sanguínea.....48

Figura 29.

Activação do receptor de insulina (a) e IGF-I (b), dependendo da dose de insulina glargina, insulina regular e IGF-I.....51

Figura 30.

Avaliação da activação do receptor da insulina (c) e do IGF-I (d) pela insulina glargina, por longos períodos de tempo. Activação do receptor de insulina pela insulina regular (e).....51

Figura 31.

Efeitos proliferativos dos análogos de insulina nas células de cancro cólon-rectal (HCT-116) (A). Comparação entre a insulina regular e a insulina lispro, na proliferação celular (B).....52

Figura 32.

Análise do efeito da insulina glargina e detemir na apoptose.....52

Figura 33.

Comparação da potência dos análogos de insulina para activar AKT (A) e ERK (B).....53

Figura 34.

HRs para neoplasias malignas (a-c) e mortalidade (d-f) para insulina aspártico (a, d), lispro (b, e) e glargina (c, f). Verica-se uma mudança do HRs em função da dose de insulina....55

Figura 35.

Células MCF7 foram tratadas com concentrações crescentes de insulina e análogos de insulina durante 72 horas.....58

Figura 36.

Activação da via PI3K pela insulina e análogos de insulina em células MCF10A (A) e MCF7 (B). Activação da via MAPK pela insulina e análogos de insulina em células MCF10A (C) e MCF7 (D).....59

ÍNDICE DE QUADROS:

Quadro I.

Critérios para o Diagnóstico de Diabetes Mellitus.....8

Quadro II.

Efeito proliferativo da insulina em células do epitélio mamário.....57

RESUMO:

Mundialmente, a Diabetes afecta mais de 200 milhões de pessoas. Cerca de 10% destas pessoas desenvolvem Diabetes tipo 1 e necessitam de insulino-terapia. Os restantes 90% desenvolvem Diabetes tipo 2, em que mantêm alguma síntese de insulina, o que significa que pode ser tratada com dieta e antidiabéticos orais em estágios iniciais, recorrendo-se à insulino-terapia, apenas, em estágios posteriores.

A insulina humana é utilizada há várias décadas e a sua segurança está acima de qualquer dúvida, no entanto, nos últimos anos surgiram algumas preocupações sobre uma possível ligação entre o uso de análogos de insulina e o desenvolvimento de cancro.

A insulina humana, para além das suas acções metabólicas, tem um fraco efeito mitogénico. Este efeito tornou-se importante na avaliação da segurança dos análogos da insulina, isto é, compostos e derivados de insulina, com uma composição molecular e/ou estrutural que tenha sido modificada em relação à insulina humana. As modificações estruturais verificadas nos análogos da insulina podem aumentar a potência mitogénica, resultando num estímulo do crescimento das neoplasias pré-existentes.

Os análogos da insulina que causam estimulação prolongada do receptor de insulina ou do receptor do IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1), são aqueles que apresentam efeitos mitogénicos. Alguns estudos epidemiológicos recentes demonstram estes resultados experimentais, sugerindo que pode haver diferentes riscos para o desenvolvimento de cancro associado com insulinas diferentes.

Uma vez que os análogos da insulina são administrados ao longo da vida nos doentes com diabetes, as insulinas que provocam um aumento do efeito mitogénico, em comparação com a insulina humana, constituem um grave problema de saúde pública.

Como tal, o objectivo deste trabalho é avaliar esta possível relação entre os análogos de insulina e o desenvolvimento de cancro, através da análise de diversos estudos.

Palavras-Chave: Análogos de insulina; Cancro; Diabetes; Receptor da insulina; Receptor do IGF-1; Insulina; IGF-1.

ABSTRACT:

Worldwide, diabetes affects over 200 million people. About 10% of this people develop type 1 diabetes and require insulin therapy. The remaining 90% develop type 2 diabetes, where they have some insulin synthesis, which means it can be treated with diet and oral antidiabetics in the early stages; on later stages they will need to have insulin therapy. Human insulin has been used for several decades and its safety is beyond doubt, however, in recent years some concerns have been raised about a possible link between the use of insulin analogues and the development of cancer.

Human insulin has, in addition to its metabolic actions, a weak mitogenic effect. This effect became important in assessing the safety of insulin analogues; which are, compounds and derivatives of insulin, with a molecular composition and / or structure that has been modified relative to human insulin. The structural changes vs. human insulin observed in insulin analogues may increase the mitogenic potency, resulting in stimulation of growth of preexisting tumors.

The insulin analogues that cause prolonged stimulation of insulin receptor or of the IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1) receptor are those that have mitogenic effects. Some recent epidemiological studies validate these experimental results, suggesting that there might be different risks for the development of cancer associated with different insulins.

Since the insulin analogues are administered throughout life in patients with diabetes, they might cause an increase of the mitogenic effect compared with human insulin, which can constitute a public health problem.

As such, the aim of this study is to evaluate this possible relationship between insulin analogues and the development of cancer through the analysis of several studies.

Keywords: Insulin analogues; Cancer; Diabetes; Insulin recetor; IGF-1 receptor; Insulin e IGF-1.

LISTA DE ABREVIATURAS:

DMID – Diabetes Mellitus Insulino-dependente

DMNID - Diabetes Mellitus Não Insulino-dependente

Hb A_{1c} – Hemoglobina Glicada

NPH – Neutral Protamine Hagedorn

IGF-I – Insulin-like Growth Factor I

IDF – International Diabetes Federation

EASD - European Association for the Study of Diabetes

IAPP – Islet Amyloid Polypeptide

Glut 2 – Glucose transporter type 2

IRS – Insulin Receptor Substrate

Glut 4 – Glucose transporter type 4

IGF's – Insulin-like Growth Factors

IGF-II – Insulin-like Growth Factor II

IGF-IR – Insulin-like Growth Factor I Receptor

IGF-IIR - Insulin-like Growth Factor II Receptor

IR – Insulin Receptor

IGFBP's – Insulin-like Growth Factor Binding Proteins

GH – Growth Hormone

GHRH – Growth Hormone Releasing Hormone

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor

PI3K – Phosphatidylinositol 3-Kinase

SMC's – Smooth Muscle Cells

SMS – Somatostatina

Tramp – Transgenic Adenocarcinoma of Mouse Prostate

PTGO – Prova de Tolerância à Glucose Oral

DEFINIÇÕES:

Angiogénese – mecanismo de crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes. Em neoplasias, a estimulação da angiogénese origina um aumento dos processos de divisão celular das células tumorais.

Apoptose - processo fisiológico de morte celular, necessária e totalmente regulada para a manutenção da saúde de todo o organismo.

Carcinogénese – conjunto de processos que levam à formação de um cancro.

Glicemia – concentração de glicose no sangue, mais precisamente no plasma.

Glicosúria – presença de glucose na urina.

Glicogénese – conversão de glicose em glicogénio (músculos, fígado).

Glicogenólise – quebra de glicogénio em glicose.

Gliconeogénese – formação de glucose a partir do excesso de aminoácidos, gorduras.

Lipogénese – síntese de ácidos gordos e triglicerídeos que serão armazenados no fígado e no tecido adiposo.

Lipólise – degradação de lípidos em ácidos gordos e glicerol.

Nefropatia – lesão ou doença no rim.

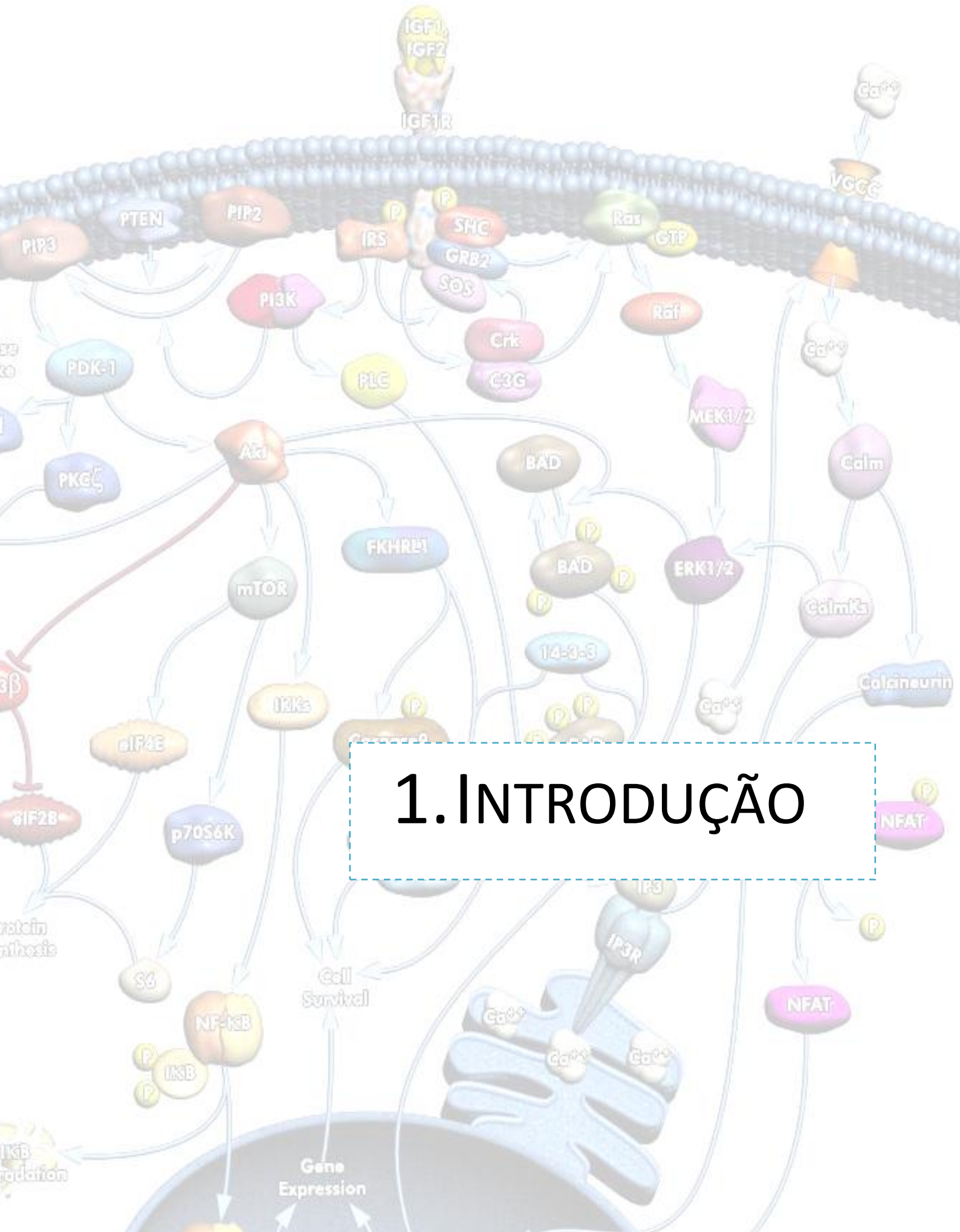
Neuropatia – doença do sistema nervoso.

Polidipsia - condição sintomatológica que leva o paciente a apresentar uma elevada sensação de sede.

Polifagia - fome excessiva.

Poliúria – excessiva secreção e descarga de urina.

Retinopatia – caracteriza-se por doenças degenerativas não inflamatórias da retina.



1. INTRODUÇÃO

Há 3000 anos atrás, características clínicas semelhantes às da Diabetes Mellitus eram descritas pelos antigos egípcios. O termo “Diabetes” foi atribuído pelo grego Araetus de Cappodocia (81-133 DC) no 1º século DC e, só em 1675, Thomas Willis adicionou a palavra “Mellitus” depois de descobrir que a urina e o sangue dos doentes eram doces ⁽¹⁾.

A Diabetes Mellitus é uma das doenças não transmissíveis mais comuns a nível mundial, sendo considerada uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos e uma epidemia em muitos países em desenvolvimento (Figura 1) ⁽²⁾.

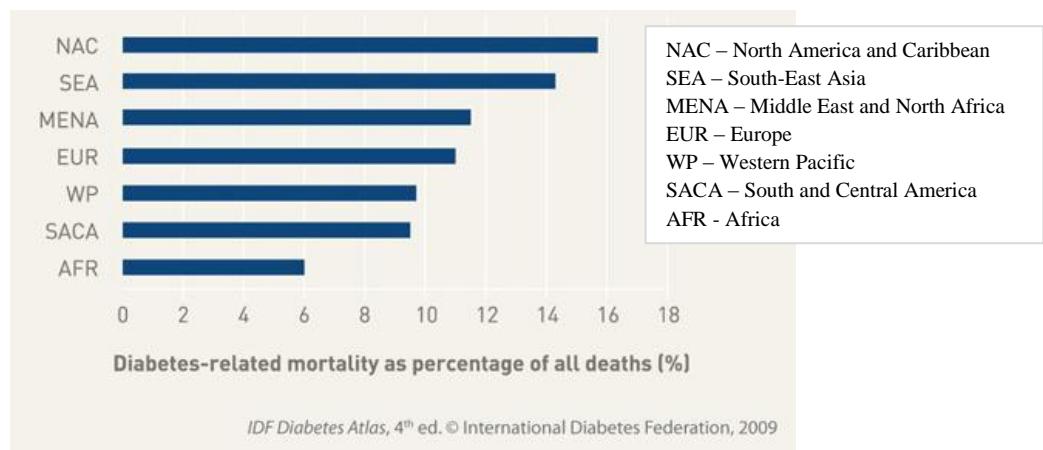


Figura 1 – Mortalidade atribuída à Diabetes (%) ⁽³⁾.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, no ano 2000, cerca de 171 milhões de pessoas no mundo tinham diabetes, prevendo-se que este valor passe para o dobro até 2030 (valor previsto para o ano 2030: 366,000,000). Este aumento da prevalência da diabetes, a nível mundial, ocorrerá devido ao envelhecimento da população, à elevada tendência para a obesidade, às dietas poucos saudáveis e aos estilos de vida sedentários ⁽⁴⁾.

Em Portugal, segundo o Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, a prevalência da Diabetes em 2009 é de 12,3% da população portuguesa com idades compreendidas entre os 20 e os 79, o que corresponde a um total de cerca de 983 mil indivíduos. Verifica-se ainda que cerca de 5,4% da prevalência da Diabetes diz respeito à Diabetes não diagnosticada. (Figura 2) ⁽⁵⁾.

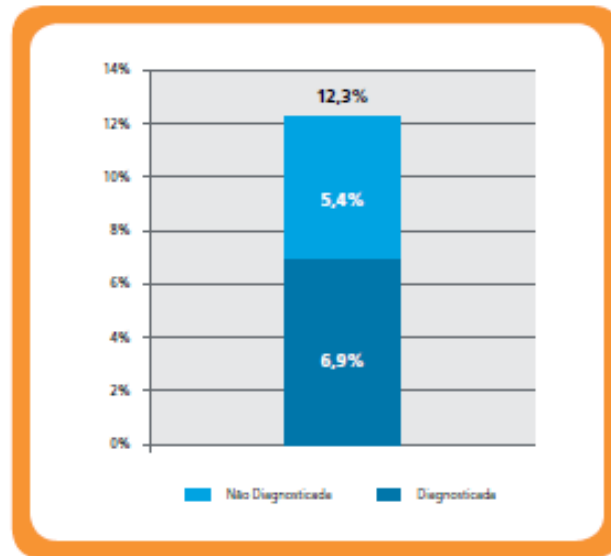


Figura 2 – Prevalência de Diabetes em Portugal (2009) ⁽⁵⁾.

Enquanto nos países desenvolvidos, a maioria das pessoas com diabetes tem idade superior à idade de reforma, nos países em desenvolvimento, verifica-se que esta patologia afecta, frequentemente, pessoas entre 35 e 64 anos. Nos países em desenvolvimento prevê-se um aumento de 150% das pessoas com Diabetes, nos próximos 25 anos ⁽⁴⁾. (Figura 3)

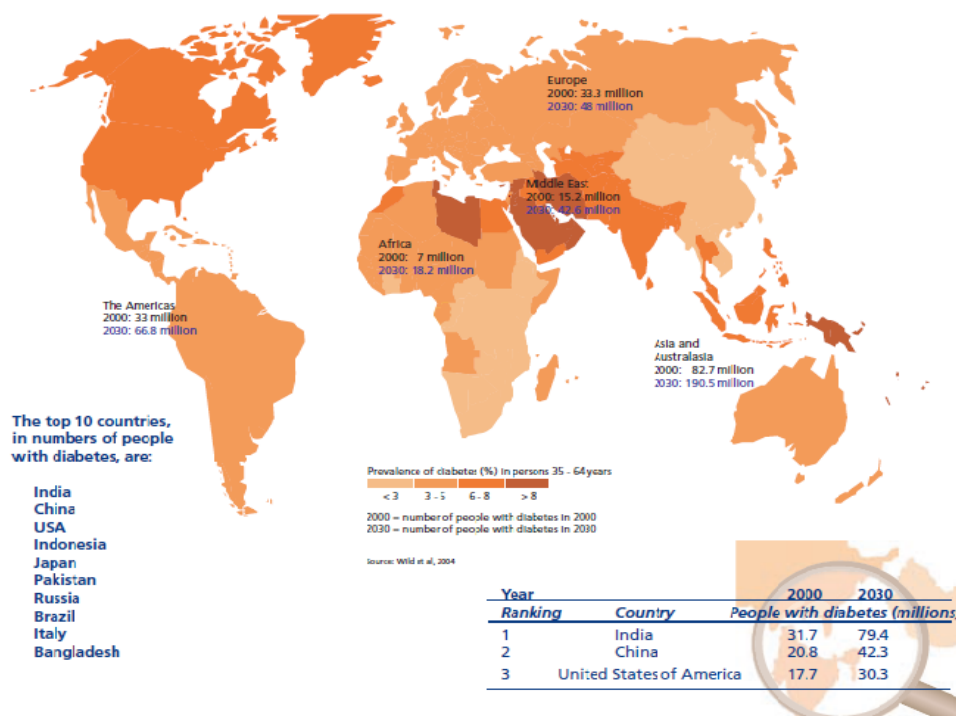


Figura 3 – Prevalência da Diabetes Mellitus (%), a nível mundial, em pessoas entre 35 – 64 anos ⁽⁶⁾.

As complicações adjacentes à Diabetes, como Doença Vascular Periférica, Acidente Vascular Cerebral, Neuropatia Diabética, Amputações, Insuficiência Renal e Cegueira, para além de serem responsáveis pela morte de 50% das pessoas com diabetes, traduzem-se também numa diminuição da esperança média de vida e em elevadas despesas de saúde. Sendo assim, a **Diabetes Mellitus é um dos problemas mais desafiadores do séc. XXI** ^(2, 3).

A Diabetes Mellitus é uma desordem crónica metabólica, caracterizada por níveis elevados de açúcar no sangue (hiperglicémia), devido a uma secreção inadequada de insulina ou à incapacidade dos tecidos para responderem à insulina ^(7, 8). Existem dois tipos principais de Diabetes:

DIABETES MELLITUS TIPO 1 OU DIABETES MELLITUS INSULINO-DEPENDENTE (DMID)

É caracterizada por uma diminuição da produção e secreção de insulina pelas células β do pâncreas e desenvolve-se devido à destruição auto-imune das células β do pâncreas ⁽⁸⁾. (Figura 4). A taxa de destruição é bastante variável, sendo mais rápida em crianças e mais lenta nos adolescentes e adultos jovens ⁽⁹⁾.

A Diabetes tipo 1 afecta cerca de 5 a 10% das pessoas com diabetes, e apesar de ser mais frequente em faixas etárias mais jovens, pode ocorrer em qualquer idade ⁽⁹⁾.

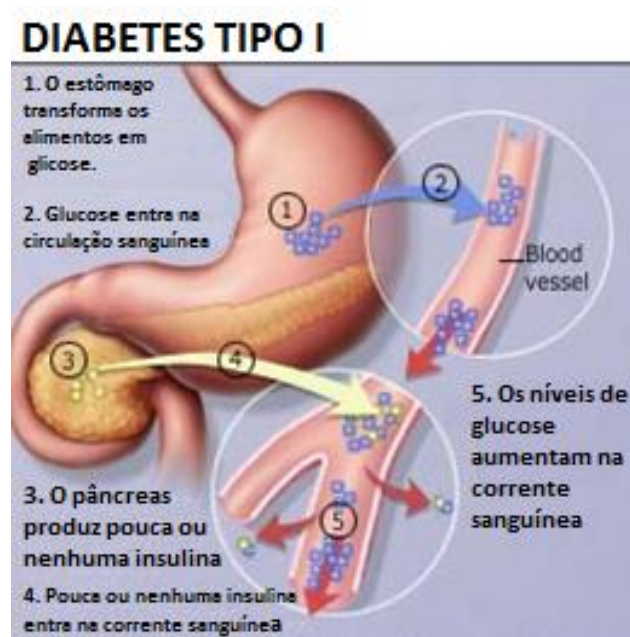


Figura 4 – Representação da Diabetes Mellitus tipo 1 ⁽¹⁰⁾.

O aparecimento da Diabetes tipo 1 é, geralmente, repentino e dramático e pode incluir os seguintes sintomas:

- Sede anormal e secura da boca;
- Micção frequente;
- Cansaço e falta de energia;
- Fome constante;
- Perda de peso súbita;
- Feridas de cicatrização lenta;
- Infecções recorrentes;
- Visão turva ⁽⁵⁾.

A insulina na Diabetes tipo 1 é vital, sem ela os níveis de açúcar no sangue tornam-se demasiado elevados, o que leva a um aumento da glicose na urina (glicosúria), e por sua vez à perda excessiva de líquidos e electrólitos na urina ⁽⁷⁾.

A ausência de insulina combinada com o aumento de hormonas (glicagina, cortisol, catecolaminas – aumentam a gliconeogénese) leva à libertação de ácidos gordos para a circulação (Lipólise) e à oxidação hepática dos ácidos gordos em corpos cetónicos, originando cetonemia e acidose metabólica. Este fenómeno designa-se de Cetoacidose Diabética, e é uma das complicações metabólicas agudas mais graves ⁽¹¹⁾.

Os sintomas da cetoacidose diabética incluem náuseas, vómitos e dor abdominal, e caso o tratamento médico não seja imediato, os doentes podem entrar em choque, coma e até mesmo morrer ⁽⁷⁾.

DIABETES MELLITUS TIPO 2 OU DIABETES MELLITUS NÃO INSULINO-DEPENDENTE (DMNID)

Ocorre quando o pâncreas não produz insulina suficiente ou quando o organismo não consegue utilizar eficazmente a insulina produzida ⁽⁵⁾. Este tipo de diabetes afecta cerca de 90 a 95% das pessoas com diabetes ⁽⁹⁾. (Figura 5)

DIABETES TIPO II

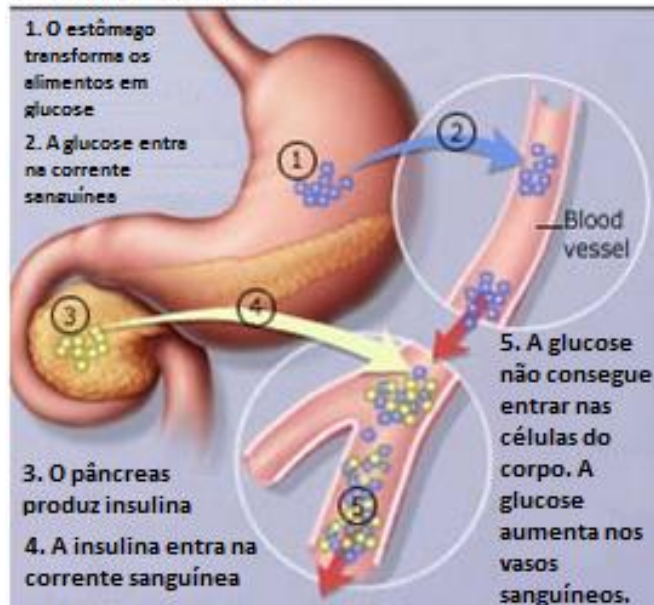


Figura 5 – Representação da Diabetes Mellitus tipo 2 ⁽¹⁰⁾.

Normalmente este tipo de Diabetes desenvolve-se maioritariamente em indivíduos com mais de 30 anos e a sua incidência aumenta com a idade, no entanto tem vindo a verificar-se um elevado número de jovens com Diabetes tipo II, sendo que muitos destes casos se devem a maus hábitos alimentares, peso corporal e falta de exercício físico ⁽⁷⁾.

Embora a etiologia específica deste tipo de Diabetes ainda não seja conhecida, existem muitas causas que poderão estar na origem desta forma de diabetes. Sabe-se que maioria dos doentes de Diabetes tipo II são obesos e a obesidade aumenta o grau de resistência à insulina, provocando níveis elevados de glicose no sangue ^(5, 12). A Diabetes tipo 2 tem uma forte componente de hereditariedade, mas os seus principais genes predisponentes ainda não foram identificados ⁽⁵⁾. Existem vários factores que podem desencadear o desenvolvimento da Diabetes tipo 2, nomeadamente:

- Obesidade, alimentação inadequada e inactividade física;
- Envelhecimento;
- Resistência à insulina;
- História familiar de Diabetes;
- Ambiente intra-uterino deficitário;
- Etnia ⁽⁵⁾.

A Diabetes tipo 2 apresenta uma evolução silenciosa, podendo não ser diagnosticada durante muitos anos, o que explica o estadió avançado das complicações macro e microvasculares na altura do diagnóstico ⁽⁹⁾.

Ao contrário da Diabetes tipo 1, as pessoas com Diabetes tipo 2 não são dependentes de insulina exógena e não são propensas a cetoacidose diabética, mas podem necessitar de insulina para o controlo da hiperglicemia se não o conseguirem através da dieta associada a antidiabéticos orais ⁽⁵⁾.

O Estado de Hiperglicémia Hiperosmolar é uma complicação aguda da Diabetes tipo II, em que a quantidade de insulina plasmática não é suficiente para permitir a utilização da glicose pelos tecidos, mas é suficiente para evitar a lipólise e a formação de corpos cetónicos. Os elevados níveis de glicose no sangue originam um aumento de glicose na urina, levando à diurese osmótica, com perda de água, sódio, potássio e outros electrólitos. À semelhança da cetoacidose diabética, se não for tratada de imediato provoca uma grave desidratação, com alteração do estado mental e perda de consciência. Embora os doentes com diabetes tipo 2 não desenvolvam normalmente cetoacidose diabética, esta poderá ocorrer em caso de trauma, cirurgia ou infecção ⁽¹¹⁾.

Desde há varias décadas que as diversas associações internacionais se debatem com a necessidade de definir critérios uniformes para o diagnóstico da Diabetes Mellitus. Os critérios padrão de diagnóstico baseiam-se em determinações da glicemia em jejum, ao acaso ou durante a Prova de Tolerância à Glucose Oral (PTGO) ⁽⁹⁾.

A glicemia plasmática em jejum consiste na medição da concentração de glucose no sangue após um período de ausência de ingestão calórica de, pelo menos, 8 horas, sendo considerado Diabetes caso a glicemia seja $\geq 126\text{mg/dl}$ ⁽⁹⁾.

Se a medição casual da glicemia for $\geq 200\text{mg/dl}$ num individuo com sintomas de diabetes, como poliúria (excessiva secreção e descarga de urina), polifagia (fome excessiva) e polidipsia (sede excessiva) é indicativo de Diabetes ⁽¹³⁾.

A prova de tolerância oral à glucose consiste na medição da glicose plasmática em jejum e depois a cada 30 minutos, durante 2 horas, após uma carga de glucose oral (75g ou 1,75g/kg – dissolver em 300 mL de água e ingerir durante 5 minutos). Durante os 3 dias

que precedem o teste, os utentes devem fazer uma dieta (pelo menos 150g de hidratos de carbono por dia) e exercício físico. É essencial descontinuar, se possível, medicamentos que possam afectar a tolerância à glicose, como contraceptivos orais, corticosteróides. O teste deve ser realizado pela manhã (entre as 7 e as 9 da manhã) e após um jejum de 10 a 16 horas ⁽¹³⁾. (Quadro I)

Em 2010, a American Diabetes Association aceitou o parecer de um Comité de peritos que recomendava o doseamento da hemoglobina glicosilada (Hb A_{1c}) para o diagnóstico da Diabetes. A hemoglobina glicosilada resulta da glicosilação não-enzimática da cadeia beta da hemoglobina A. Como a semi-vida eritrocitária é aproximadamente 120 dias, a Hb A_{1c} reflecte a glicemia média durante os últimos 2 a 3 meses. Assim sendo a Hb glicosilada é um indicador do controlo da glicemia a longo prazo ⁽⁹⁾.

Os valores da HbA_{1c} apresentam uma boa correlação com as complicações microvasculares e, em menor extensão, com as macrovasculares, o que contribui para o seu papel fundamental na monitorização da eficácia do tratamento ⁽⁹⁾.

Quadro I – Critérios para o Diagnóstico de Diabetes Mellitus ⁽⁹⁾

Critérios para o Diagnóstico de Diabetes Mellitus

1. Hemoglobina A_{1c} ≥ 6,5%

O doseamento deverá ser realizado num laboratório que use um método certificado pelo NGSP e padronizado pelo DCCT.

Ou

2. Glicemia plasmática em jejum ≥ 126 mg/dL

Jejum significa ausência de ingestão calórica por um período mínimo de 8 horas.

Ou

3. Duas horas após a carga de glucose, a glicemia ≥ 200 mg/dL durante uma PTGO, utilizando 75g de glucose dissolvida em água.

Ou

4. Sintomas de Diabetes associados a uma concentração de glucose casual ≥ 200 mg/dL

Casual é definido como qualquer hora do dia sem tem em conta o tempo desde a última refeição. Os sintomas clássicos da Diabetes incluem poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso inexplicável.

A longo prazo existem várias complicações que podem afectar um Diabético, nomeadamente problemas relacionados com os vasos sanguíneos. Os elevados níveis de açúcar provocam o estreitamento dos pequenos e grandes vasos sanguíneos, o que provoca uma diminuição no fluxo sanguíneo em muitas partes do organismo, originando graves problemas⁽¹⁴⁾.

Assim sendo, as **principais complicações crónicas da Diabetes** são:

- **Doença Cardiovascular** (as Doenças Cardiovasculares que acompanham a Diabetes são: Angina, Enfarte do miocárdio, Acidente vascular cerebral, Doença arterial periférica e Insuficiência cardíaca congestiva)⁽¹⁵⁾.
- **Nefropatia** (origina falência renal, sendo necessário realização de diálise e em último caso Transplante Renal)^(12, 15).
- **Neuropatia** (traduz-se por perda de sensibilidade nos pés e dedos, o que pode ser muito grave, uma vez que não permite sentir pequenos ferimentos, que podem evoluir para infecções graves levando à amputação)⁽¹⁵⁾.
- **Amputações** (a diminuição da circulação sanguínea pode provocar úlceras e infecções nos pés e pernas que cicatrizam muito lentamente, podendo levar a amputações do pé e parte da perna)⁽¹⁴⁾.
- **Retinopatia** (a diabetes prejudica a visão e para além de poder causar cegueira, aumenta o risco de cataratas e glaucoma)⁽¹⁵⁾.

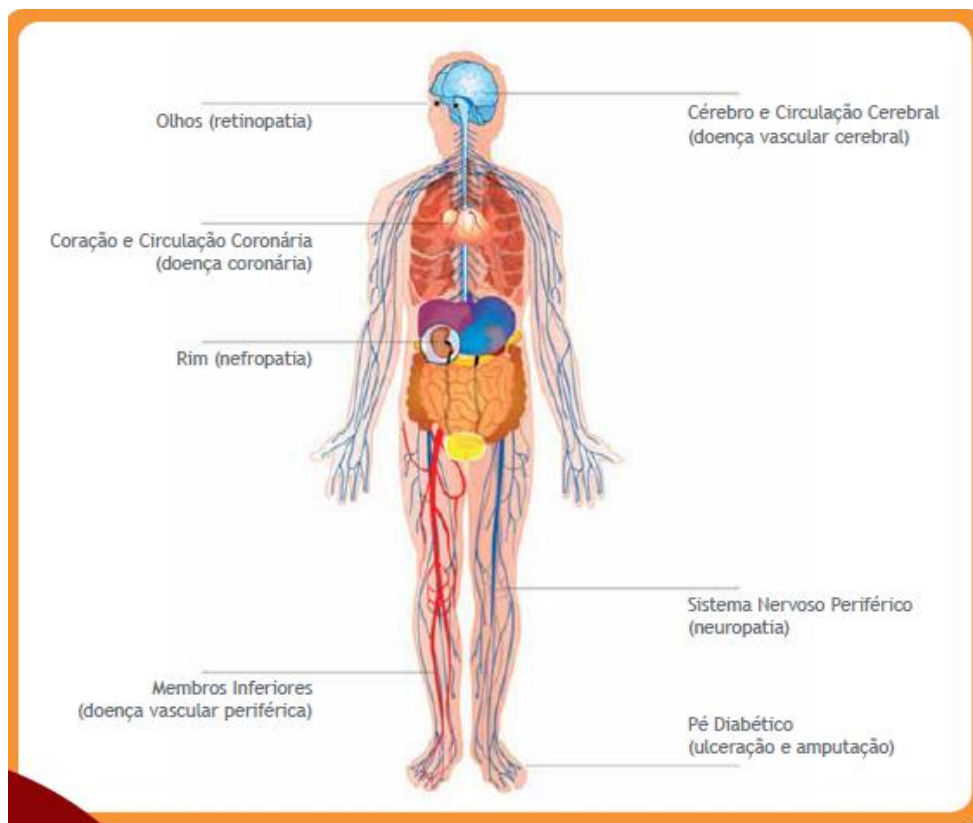


Figura 6 – Representação das principais complicações crônicas da Diabetes Mellitus ⁽⁵⁾.

O tratamento da Diabetes Mellitus tem como principal objectivo a diminuição dos elevados níveis de açúcar no sangue, sem que para isso cause níveis anormalmente baixos de açúcar no sangue. Enquanto a Diabetes Mellitus tipo I é tratada com insulina, exercício físico e dieta; a Diabetes Mellitus tipo II é tratada primariamente com redução de peso, dieta e exercício físico, e apenas quando estas medidas não são suficientes, são utilizados medicamentos anti-diabéticos, e caso estes não sejam suficientes para controlar os níveis de açúcar no sangue, poderá considerar-se a utilização de insulina ⁽¹⁶⁾.

A insulina é uma hormona essencial para o desenvolvimento adequado dos tecidos, crescimento e manutenção da homeostasia da glicose em todo o corpo. A insulina é segregada pelas células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, em resposta ao aumento dos níveis circulantes de glicose e aminoácidos, após uma refeição ⁽¹⁷⁾.

A insulina regula a homeostasia da glicose em muitos locais, actuando através da resposta química ao receptor existente nas células dos tecidos alvo. Ou seja, no músculo, a

insulina estimula a entrada de glicose para as células, aumentando a glicogénese (conversão de glicose em glicogénio); no tecido adiposo, a insulina estimula a entrada de glicose nas células, aumentando a lipogénese; no fígado, a insulina tem um efeito negativo, inibindo a gluconeogénese (formação de glicose a partir do excesso de aminoácidos, glicerol) e a glicogenólise (quebra de glicogénio em glicose) ⁽¹³⁾.

As insulinas convencionais incluem a insulina humana regular (ou insulina solúvel) e a insulina intermédia NPH (Neutral Protamine Hagedorn). No entanto, estas insulinas não reproduzem o padrão de secreção endógena basal e pós-prandial de insulina. Assim sendo, foram desenvolvidos análogos de insulina, a partir da modificação da insulina humana, a fim de ultrapassar esta limitação ⁽¹⁸⁾.

Os análogos de insulina de acção rápida descritos são: insulina Lispro, insulina Aspártico e insulina Glulisina. Os análogos de insulina de acção longa são a insulina Glargina e insulina Detemir, como insulina basal ⁽¹⁸⁾.

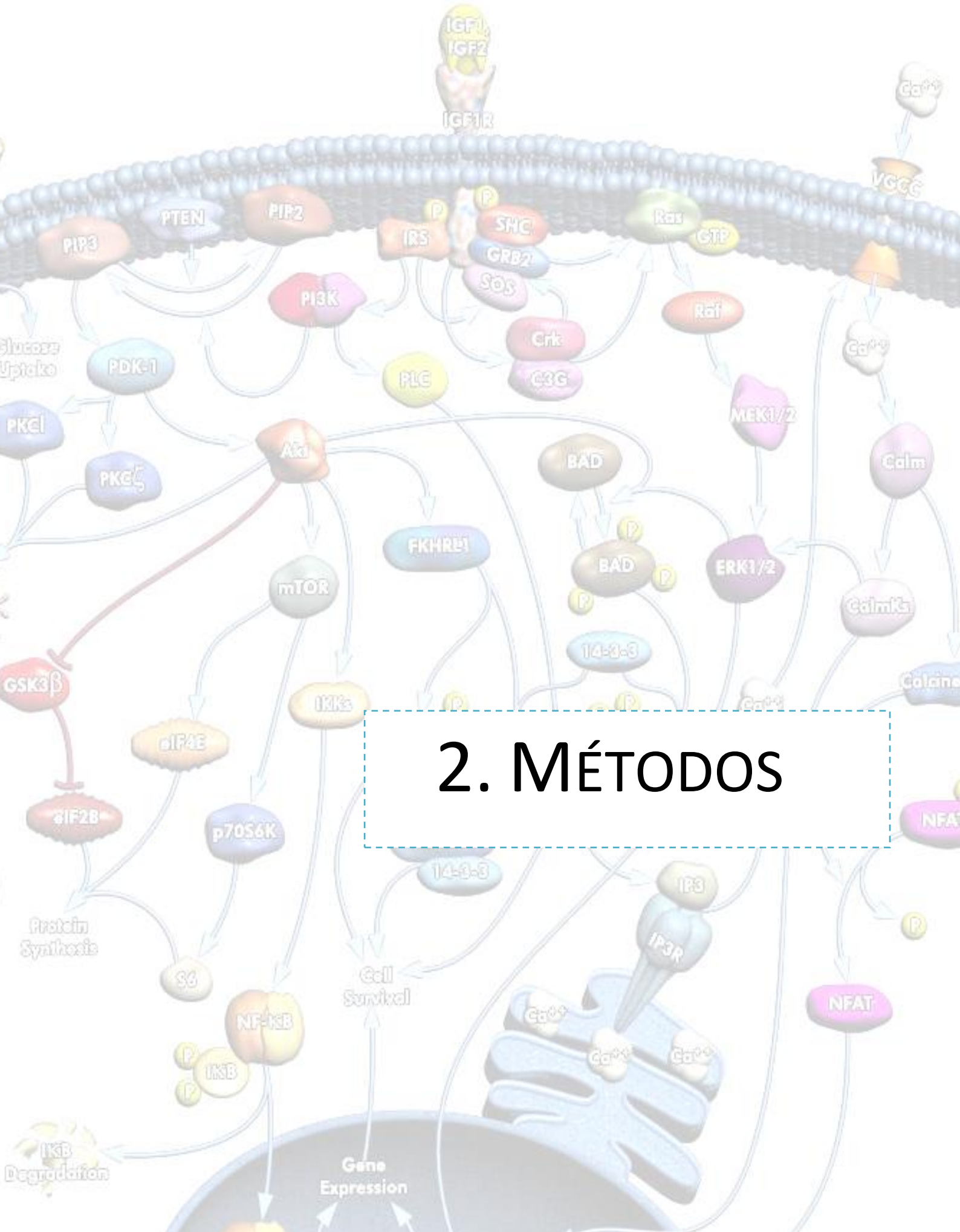
A insulina humana nativa, para além das suas acções metabólicas anteriormente descritas, tem um fraco efeito mitogénico. Este efeito tornou-se importante na avaliação da segurança dos análogos da insulina, uma vez que as modificações estruturais da molécula de insulina podem aumentar a potência mitogénica, resultando num estímulo de crescimento de neoplasias pré-existentes ⁽¹⁹⁾.

A hipótese mais plausível, sobre o mecanismo subjacente à potencial ligação entre os análogos da insulina e o desenvolvimento de cancro, é que estes causam uma estimulação prolongada do receptor da insulina e do receptor do IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1 – factor de crescimento tipo a insulina) estimulando o crescimento celular e inibindo a apoptose ⁽²⁰⁾.

Uma vez que os análogos da insulina são administrados ao longo da vida, e a exposição a estes constituintes é elevada nos doentes com diabetes, as insulinas que provocam um aumento do efeito mitogénico, em comparação com a insulina humana de uso corrente, poderão constituir um grave problema de saúde pública ⁽¹⁹⁾.

Assim sendo, o objectivo deste trabalho passou por, fornecer uma revisão dos análogos de insulina existentes, bem como analisar as alterações estruturais destes relativamente à insulina humana, e de que forma estas alterações poderão influenciar o potencial

carcinogénico das insulinas recombinantes. O potencial carcinogénico dos análogos da insulina está relacionado com a afinidade que cada um dos análogos tem para os receptores da insulina e do IGF-1. Como tal, ao longo deste trabalho um dos objectivos será também a elucidação dos mecanismos de acção da insulina e do IGF-1, bem como a importância que têm os seus receptores.



2. MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, houve a necessidade de começar por realizar uma pesquisa em livros de anatomia/fisiologia, medicina, bioquímica clínica e farmacologia, de carácter mais geral, que permitiram a extracção de ideias e conceitos chave para a realização da introdução do trabalho em causa.

A pesquisa foi executada de forma sistemática, desde Março a Agosto de 2010, de acordo com um plano que consistiu nos seguintes passos:

1. Pesquisa das fontes primárias
2. Avaliação das fontes
3. Notas de pesquisa
4. Redacção do texto

As fontes consultadas para a elaboração do trabalho consistiram em livros, artigos científicos, páginas de internet de organizações de relevo e motores de pesquisa, bem como bibliografias de artigos consultados.

Importante será dizer que grande parte dos artigos foram retirados do Jornal oficial da Associação Europeia de Estudos da Diabetes (EASD) – Diabetologia. As pesquisas foram efectuadas mediante utilização das seguintes palavras-chave em várias associações: insulin analogues; Cancer; Diabetes; insulin recetor; IGF-1 receptor.

Foram também realizadas pesquisas através da opção “related articles” disponibilizada pelo PubMed. Para além disso, foi possível limitar a pesquisa por critérios como data de publicação, função disponibilizada no Jornal oficial de EASD – Diabetologia.

Recorreu-se ainda ao motor de busca Google para mais fácil acesso a sites de organizações relacionadas com o tema, nomeadamente a Organização Mundial de Saúde, a Federação Internacional de Diabetes (IDF) e a Sociedade Portuguesa de Diabetologia (SPD), bem como a outras páginas direccionadas para a saúde que permitiram extrair alguma informação primária (Manual Merck, MedicineNet, entre outros). Para além disso, utilizou-se o motor de busca Google Imagens para a pesquisa de algumas imagens a incluir no trabalho, mediante pesquisa por palavras-chaves.



3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Breve história da Insulina

Em 1857, assistiu-se a uma descoberta importante na história da Diabetes, quando Claude Bernard (França) descobriu o importante papel do fígado na gluconeogénese (síntese de glicose) e o conceito de que a diabetes é devido ao excesso de produção de glicose ⁽¹⁾.

Em 1889, Mering e Minkowski (Áustria) descobriram o papel do pâncreas na patogénese da diabetes. Esta descoberta foi importante, pois constituiu a base do isolamento da insulina e o seu uso clínico, por Banting e Best (Canadá), em 1921 ⁽¹⁾.

A ideia de Banting foi bloquear o ducto pancreático para isolar as células dos ilhéus de Langerhans do pâncreas de um cão; quimicamente extrair as secreções provenientes das células dos ilhéus e administrar o extracto purificado no cão que se tornou diabético devido à extracção do pâncreas ⁽²¹⁾. (Figura 7)

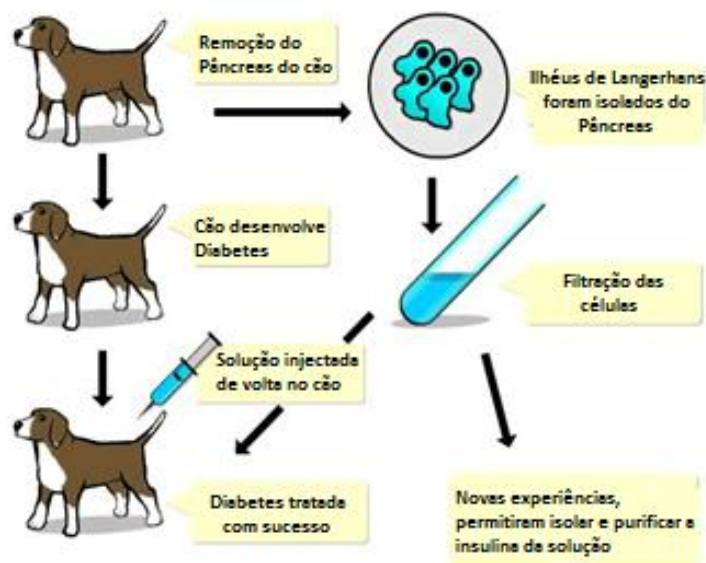


Figura 7 – Experiência realizada por Banting e Best na descoberta da insulina ⁽¹⁰⁾.

No Verão de 1921, após explicar a sua ideia a J. J. R. MacLeod, um professor da Universidade de Toronto, este ofereceu a Banting um pequeno laboratório para que conseguisse colocar em prática a sua ideia, e ainda o apoio de um assistente, Charles Best. Banting e Best conseguiram isolar um extracto de pâncreas que tinha características anti-

diabéticas. Poucos meses depois, o professor MacLeod, colocou toda a sua equipa de pesquisa a tentar produzir e purificar insulina. Collip juntou-se à equipa e com os conhecimentos técnicos dos 4 descobridores conseguiram purificar insulina para uso em doentes diabéticos ^(21, 22). No início do ano de 1922, eram realizados os primeiros testes de insulina em doentes diabéticos, que tiveram um enorme sucesso, permitindo recuperações em alguns deles que estavam em risco de morrer ⁽²²⁾.

3.2 Insulina

A insulina é a principal hormona para o controlo da glicose no sangue. Actua através da estimulação do influxo de glicose para as células, do metabolismo nas células musculares e adipócitos e da inibição da gluconeogénese pelo fígado ⁽²³⁾.

A insulina é produzida nas células β dos ilhéus pancreáticos de Langerhans em resposta ao aumento dos níveis circulantes de glicose e aminoácidos, após uma refeição ⁽¹⁷⁾.

Inicialmente a insulina é sintetizada como uma cadeia única de 86 aminoácidos, um polipéptido precursor que se designa por **Preproinsulina**. Em seguida, ocorre a clivagem do péptido aminoterminal, por um processo de proteólise, dando origem à **Proinsulina**. A clivagem de um fragmento com 31 aminoácidos da proinsulina origina o **péptido C** e duas cadeias da **insulina**, cadeia A (21 aminoácidos) e cadeia B (30 aminoácidos), que se ligam por ligações dissulfeto ⁽²⁴⁾. (Figura 8)

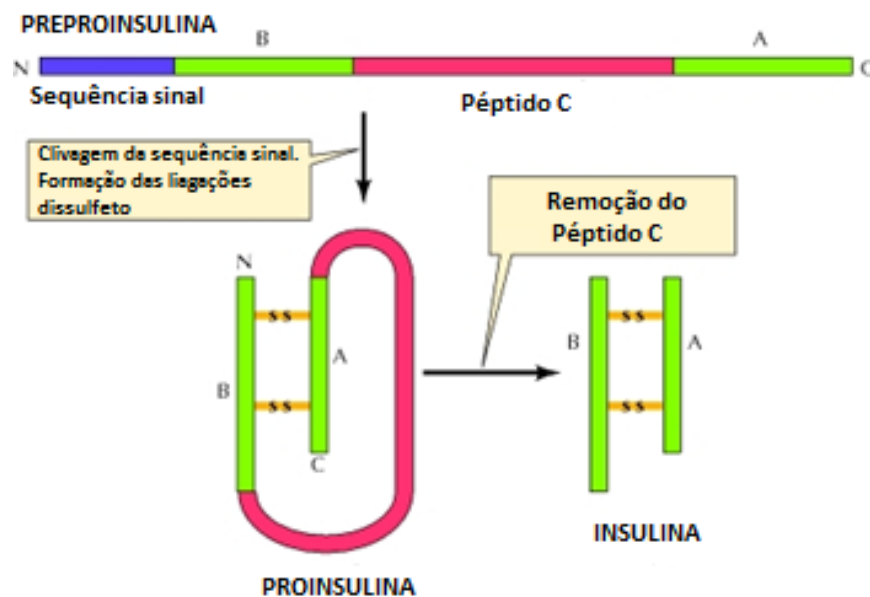


Figura 8 – Processo proteolítico da insulina ⁽²⁵⁾.

A proinsulina apresenta alguma acção hipoglicémica, e como tal ocorre também libertação de uma pequena quantidade de proinsulina não processada ou parcialmente hidrolisada. Por outro lado, o péptido C não desempenha nenhuma função fisiológica conhecida ⁽²⁶⁾.

Nas células β pancreáticas verifica-se ainda a secreção do polipéptido amilóide (IAPP) ou amilina, conjuntamente com a insulina, um péptido com 37 aminoácidos sintetizado aquando da subida da glicemia ⁽²⁴⁾. A amilina está envolvida na gluco-regulação, ao intervir na modulação do esvaziamento gástrico, regulando a velocidade de absorção dos nutrientes ⁽²⁷⁾. Para além disso, a amilina estimula a glucogénese hepática, promovendo o armazenamento hepático da glucose sobre a forma de glicogénio ⁽²⁷⁾.

3.3 Secreção de insulina

A secreção de insulina é controlada através dos níveis sanguíneos de nutrientes, por estimulação nervosa e por controlo hormonal ⁽⁹⁾.

A **hiperglicemia** (corresponde a um nível elevado de glicose no sangue) afecta directamente as células β e estimula a secreção de insulina ⁽⁹⁾. A **hipoglicemia** (corresponde a um nível baixo de glicose no sangue) inibe directamente a secreção de insulina ⁽⁹⁾. Assim, os níveis de glicose no sangue são a chave da regulação da secreção de insulina pelas células do pâncreas ⁽²⁴⁾. Alguns aminoácidos (ex. arginina, leucina) também estimulam a secreção de insulina agindo directamente sobre as células β ⁽⁹⁾.

Após uma refeição, os níveis de glicose e de aminoácidos aumentam no sistema circulatório, aumentando a secreção de insulina pelas células β , enquanto nos períodos de jejum, em que os níveis de glicemia são baixos a secreção de insulina decresce ⁽⁹⁾.

A estimulação da secreção de insulina inicia-se com o transporte da glicose para o interior das células β , através do transportador de glicose GLUT2. Após a entrada da glucose nas células verifica-se a fosforilação da glucose pela glucocinase, passo limitante que controla a secreção de insulina ⁽²⁴⁾.

O metabolismo glucose-6-fosfato via glicólise origina ATP, que inibe a actividade do canal de K^+ sensível ao ATP. Este canal é composto por duas proteínas distintas, sendo uma delas o local de ligação para alguns medicamentos hipoglicemiantes (ex. sulfonilureias). A inibição do canal K^+ induz a despolarização da membrana das células β , que origina a abertura de canais de Ca^{2+} , levando a um influxo de cálcio e estimulando a secreção de insulina ⁽²⁴⁾. (Figura 9)

As incretinas são libertadas das células neuroendócrinas do tracto gastrointestinal após a ingestão de alimentos, amplificam a secreção de insulina estimulada pela glucose e suprimem a secreção de glicagina ⁽²⁴⁾.

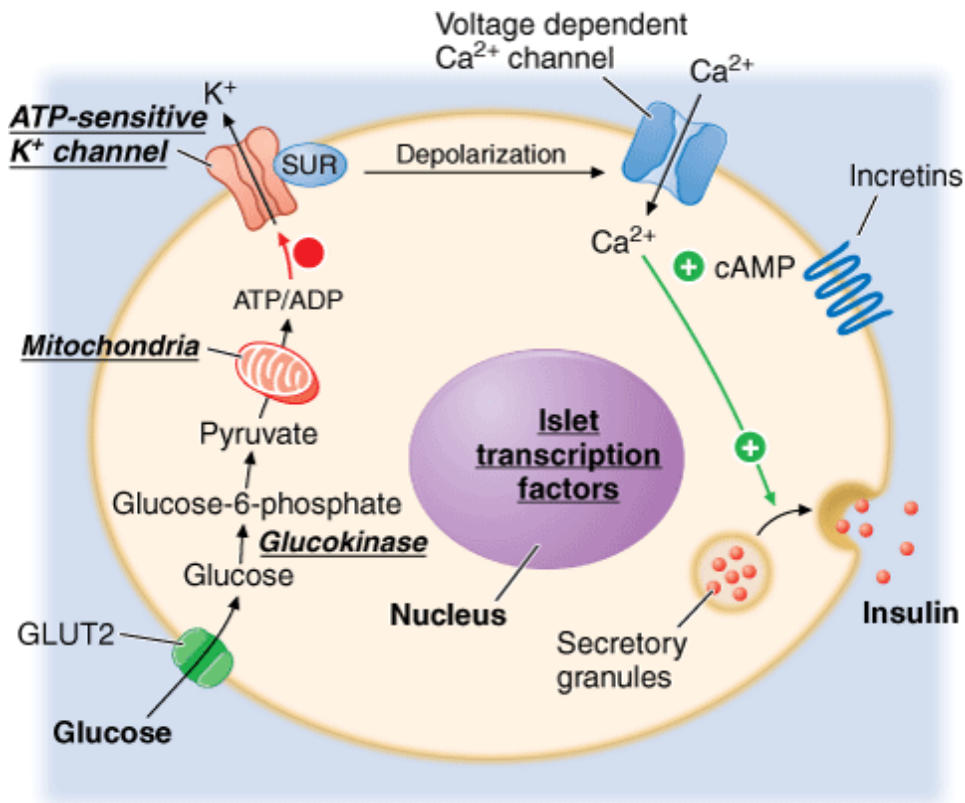


Figura 9 – Secreção de insulina estimulada pela glicose ⁽²⁴⁾.

Os níveis baixos de glicose no sangue estimulam a secreção de glicagina, enquanto a glicemia elevada a inibe. A glicagina é segregada pelas células α dos ilhéus pancreáticos, e é responsável pela degradação do glicogénio e o aumento da síntese de glicose no fígado, sendo que também está relacionada com o aumento da degradação de gorduras ⁽⁹⁾.

No fígado, a insulina promove a síntese de glicogénio (através da estimulação da glucogénese e inibição da glucogénólise); no músculo-esquelético, a insulina promove a síntese proteica (através da estimulação da proteinogénese e inibição da proteinólise); no tecido adiposo estimula a lipogénese e inibição de lipólise ⁽²⁷⁾. (Figura 10)

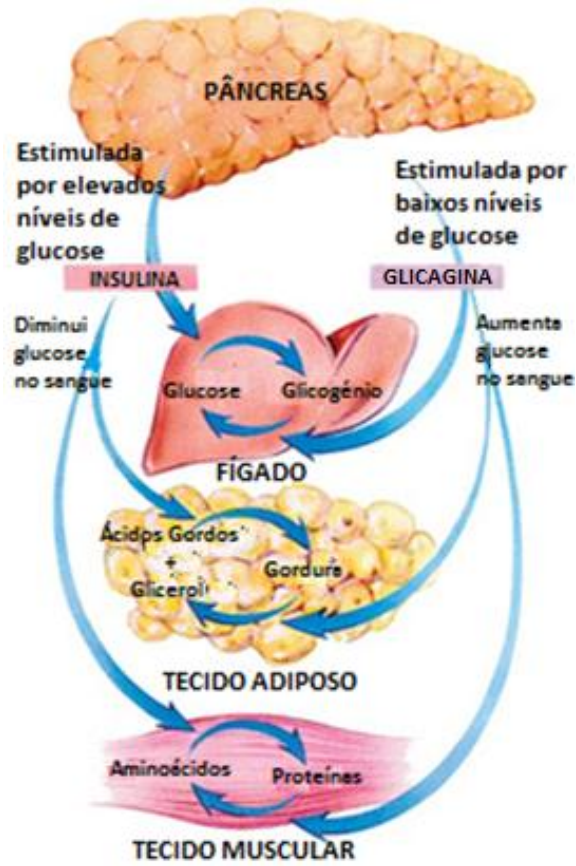


Figura 10 – Acções da insulina e glicagina sobre os diferentes tecidos ⁽¹⁰⁾.

3.4 O receptor da insulina

Após entrar em circulação, a insulina difunde-se para os tecidos, onde se liga a receptores especializados presentes nas membranas da maioria dos tecidos ⁽²⁶⁾. A acção da insulina inicia-se através da ligação e activação do seu receptor na superfície celular ⁽¹⁷⁾.

O receptor da insulina é uma glicoproteína transmembranar constituída por duas subunidades α e duas subunidades β que estão unidas por ligações dissulfeto, originando um complexo heterodímero $\alpha_2\beta_2$ ^(17, 23).

A insulina liga-se à subunidade extracelular α , transmitindo um sinal através da membrana plasmática que activa o domínio tirosina cinase intracelular da subunidade β ⁽¹⁷⁾. As proteínas tirosina cinase são enzimas que catalisam a transferência de fosfato do ATP para resíduos de tirosina em polipeptidos ⁽²⁸⁾.

A ligação de uma molécula de insulina às subunidades α , na superfície externa da célula, activa o receptor e, através de uma alteração conformacional, determina uma estreita aproximação das subunidades β , com actividade catalítica ⁽²⁶⁾. Esta aproximação facilita as reacções de transfosforilação intramolecular em que cada uma das subunidades β fosforila a parceira adjacente sobre resíduos específicos de tirosina ⁽¹⁷⁾.

A ligação da insulina ao seu receptor, para além, de levar à autofosforilação do receptor, estimula o recrutamento de moléculas sinalizadoras intracelulares, tais como substratos do receptor de insulina (IRS e Shc). IRS e outras proteínas iniciam uma complexa cascata de reacções de fosforilação e desfosforilação, originando os efeitos metabólicos e mitogénicos da insulina ⁽²⁴⁾.

A activação do fosfatidilinositol-3-cinase (PI3-cinase) estimula a translocação de vesículas, contendo o transportador de glicose (GLUT4), para a superfície da célula, essencial para a absorção de glicose pelo músculo-esquelético e gordura ⁽²⁴⁾. (Figura 11)

A activação de outras vias de sinalização do receptor de insulina inicia várias funções metabólicas da insulina, tais como, a síntese de glicogénio, síntese de proteínas, lipogénese ⁽²⁴⁾.

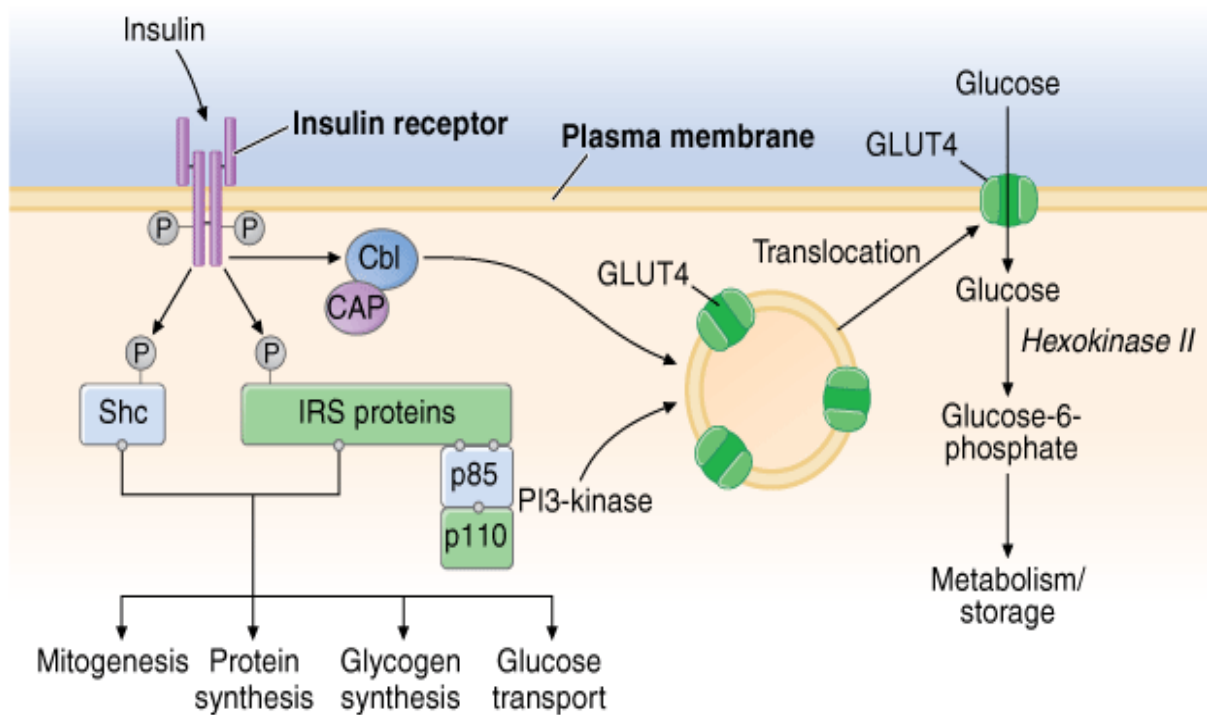


Figura 11 – Cascata de transdução de sinal da insulina ⁽²⁴⁾.

O receptor da insulina humana existe em duas isoformas, IR-A e IR-B, que derivam do splicing alternativo do exão 11 do gene do receptor da insulina ^(29, 30). O exão 11 consiste em 36 nucleótidos, que codificam 12 aminoácidos na zona terminal da subunidade α do receptor, que podem estar ausentes, originando a isoforma A ou presentes, originando a isoforma B ^(29, 30). A isoforma A do receptor da insulina é expressa, predominantemente, no sistema nervoso central e nas células hematopoiéticas, enquanto a isoforma B do receptor da insulina é expresso no tecido adiposo, fígado e músculo, os maiores tecidos alvo dos efeitos metabólicos da insulina ⁽²⁹⁾.

3.5 Família IGF's (factores de crescimento tipo insulina)

A família de IGF's tem um papel importante na regulação da proliferação celular, diferenciação e apoptose ⁽³¹⁾.

É constituída por dois polipeptídeos ligandos, IGF-I e IGF-II; dois tipos de receptores membranares (IGF-IR e IGF-IIR) e seis proteínas ligantes (IGFBP-1 até IGFBP-6). Além disso, existe ainda um grande grupo de proteases IGFBP que hidrolisam as IGFBP's, provocando a libertação de IGF's, o que faz com que estes fiquem livres para interagir com os respectivos receptores ⁽³¹⁾. (Figura 12)

No plasma, 99% dos IGF's são complexados com as proteínas ligantes, modulando a disponibilidade de IGF-I livre para os tecidos. Nos seres humanos, cerca de 80% do IGF-I em circulação apresenta-se ligado à IGFBP-3 ⁽³²⁾.

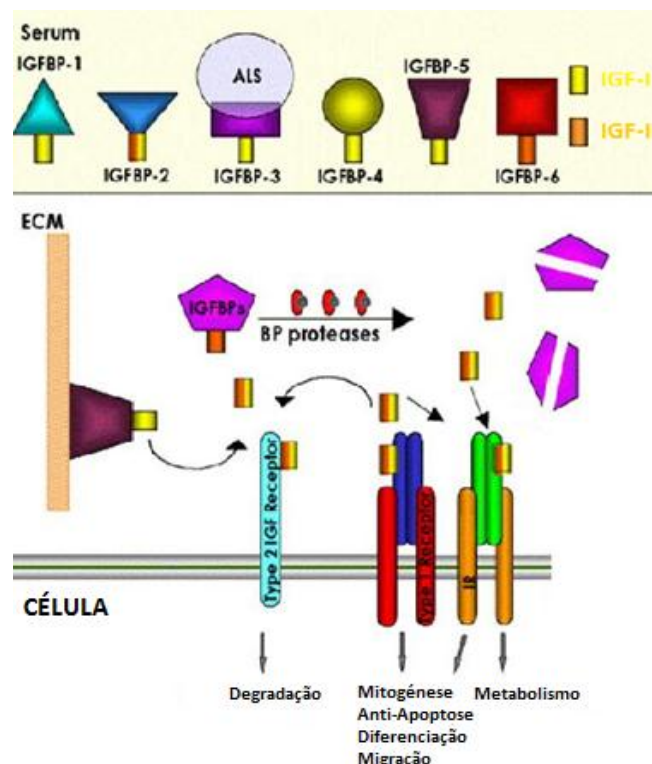


Figura 12 – Elementos representativos da família IGF's ⁽¹⁰⁾.

3.6 IGF-I (Insulin-like growth factor I)

O IGF-I é um polipéptido com 70 aminoácidos que induz a proliferação e diferenciação de vários tipos de células ⁽³³⁾. É uma molécula de cadeia simples com três pontes dissulfeto, sendo que os domínios A e B apresentam 45-50% de homologia com as cadeias A e B da insulina ⁽³³⁾. A estrutura do IGF-I apresenta homologia com a proinsulina: as posições 1-29 são homólogas da cadeia B da insulina; as posições 42-62 são homólogas da cadeia A da insulina ⁽³²⁾. Ao contrário da insulina, os domínios A e B do IGF-I estão ligados através de um domínio C constituído por 12 aminoácidos (posições 30-41) ^(33, 34). Para além disso, a molécula de IGF-I contém ainda um octapéptido na zona terminal COOH, característica não encontrada na proinsulina ⁽³⁴⁾. (Figura 13) A semelhança estrutural com a insulina explica a capacidade que o IGF-I tem para se ligar, embora com baixa afinidade, ao receptor da insulina ⁽³²⁾.

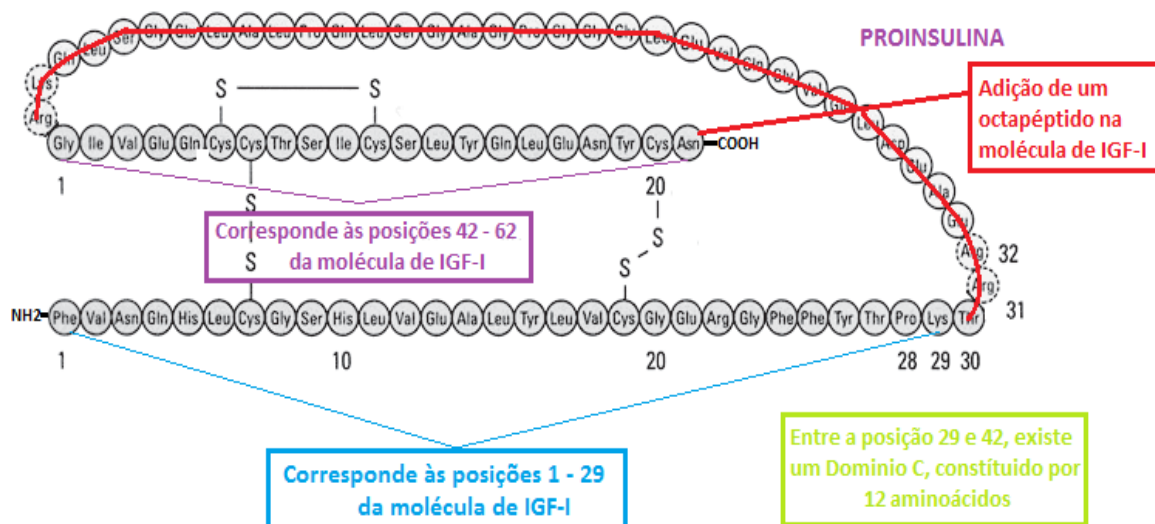


Figura 13 – Alterações estruturais na molécula Proinsulina que originam a molécula de IGF-I ⁽²⁶⁾.

3.7 Secreção de IGF-I

O IGF-I possui características tanto de hormona circulante como de factor de crescimento do tecido ⁽³⁵⁾. É sintetizado em vários tecidos, incluindo o fígado, músculo-esquelético, ossos e cartilagens ⁽³⁶⁾.

Cerca de 80% do IGF-I em circulação é produzido pelo fígado, e o restante do IGF-I é sintetizado na periferia, por células do tecido conjuntivo, designadas de células do estroma, presentes na maioria dos tecidos. O IGF-I sintetizado na periferia pode ser utilizado para regular o crescimento, por meio de mecanismos autócrinos e parácrinos. Nestes tecidos, o recém-sintetizado IGF-I pode-se ligar aos receptores presentes nas células do tecido conjuntivo e estimular o crescimento (Autócrina) ou pode ligar-se a receptores nas células adjacentes (frequentemente células epiteliais), que não sintetizam IGF-I, mas que são estimuladas para o crescimento, pelo IGF-I segregado localmente (Parácrina) ⁽³⁶⁾. (Figura 14)

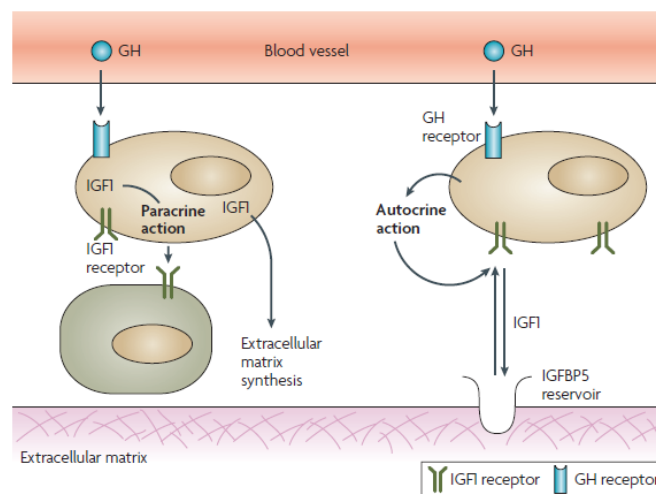


Figura 14 – Ações autócrinas e parácrinas do IGF-I ⁽³⁶⁾.

As células do tecido conjuntivo com capacidade para síntese de IGF-I, contêm receptores da hormona de crescimento (GH – growth hormone), e o aumento da secreção da hormona de crescimento pela hipófise estimula a síntese de IGF-I. Esta estimulação da síntese de IGF-I pela hormona de crescimento, nos tecidos periféricos, é determinante no crescimento somático, enquanto a síntese hepática é determinante na manutenção das concentrações plasmáticas de IGF-I ⁽³⁶⁾.

A hormona de crescimento (GH) tem um papel fundamental na estimulação da expressão do IGF-I, no entanto, esta influência estimulatória diminui em caso de malnutrição ⁽³⁵⁾. Após 5 dias de jejum, a síntese hepática de IGF-I é resistente à estimulação pela hormona de crescimento, e a concentração de IGF-I no plasma diminui cerca de 50% ⁽³⁶⁾.

O aumento de IGF-I no sangue actua como supressor da síntese da hormona de crescimento pela hipófise, através de um processo de feedback negativo, que representa um importante mecanismo na manutenção da concentração normal de IGF-I no sangue ⁽³⁶⁾.

A hormona de crescimento é produzida pela glândula pituitária (hipófise), através da regulação de hormonas hipotalâmicas, como a hormona de libertação da hormona de crescimento (growth-hormone-releasing hormone - GHRH) e a somatostatina (SMS), que por sua vez, são a chave da estimulação da produção de IGF-I ⁽³⁵⁾. (Figura 15)

A somatostatina é uma hormona hipotalâmica que inibe, a partir da hipófise anterior, a libertação da somatotropina (ou hormona de crescimento). É produzida pelas células δ dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, sendo que a sua secreção é estimulada pelo aumento da glucose extracelular. Também inibe a libertação de insulina e glicagina do pâncreas ⁽³⁷⁾.

As proteínas ligantes IGFBP's, tal como o IGF-1 são produzidas pelo fígado. Os ligantes IGF-I e IGF-II, bem como as suas proteínas ligantes (IGFBP's) podem ser libertados da circulação hepática para determinados tecidos onde interagem com os respectivos receptores ⁽³⁵⁾.

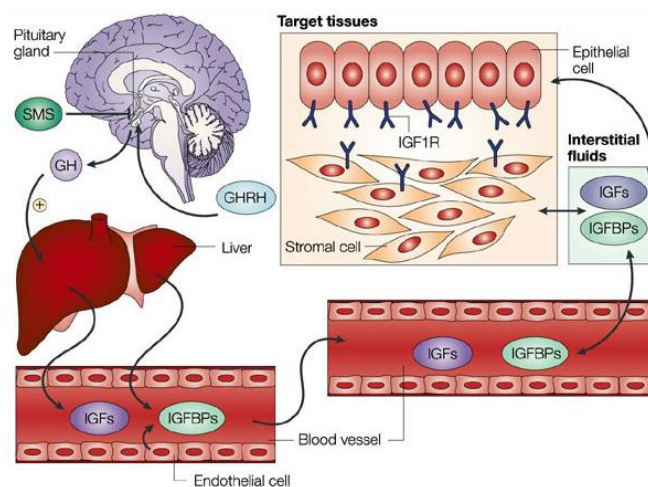


Figura 15 – Regulação dos níveis de IGF's em circulação e nos tecidos ⁽³⁵⁾.

3.8 Receptor de IGF-I

O IGF-I exerce as suas acções através da interacção com um receptor específico, ou seja, o receptor do IGF-I (IGF-IR), sendo que esta interacção é regulada por um grupo de proteínas de ligação específicas ⁽³¹⁾.

O receptor do IGF-I é uma glicoproteína localizada na membrana celular. É um heterodímero constituído por duas subunidades α extracelulares e duas subunidades β transmembranares ⁽³²⁾.

As subunidades α contêm os locais de ligação para o IGF-I e estas subunidades unem-se às subunidades β através de pontes dissulfeto ⁽³²⁾.

As subunidades β são constituídas por um pequeno domínio extracelular e um domínio intracelular que contém uma tirosina cinase, responsável pelo mecanismo de transdução de sinal do IGF-I ⁽³²⁾.

Os receptores da insulina e do IGF-I apresentam homologia estrutural significativa e ambos os ligantes têm afinidade para o outro receptor ⁽³³⁾. O IGF-I liga-se ao seu receptor com 6-8 vezes mais afinidade que o IGF-II, e ambos os péptidos têm muito maior afinidade (100 vezes mais) para o receptor do IGF-I do que para o da insulina ⁽³⁶⁾. Por outro lado, a insulina tem muito maior afinidade para o seu receptor que qualquer um deles ⁽³⁶⁾.

A biodisponibilidade dos ligantes (IGF's) no local do receptor é sujeita a uma regulação fisiológica complexa, e provavelmente, encontra-se anormalmente elevada em muitos cancros. Os ligantes podem ser libertados em determinados locais de produção a partir da circulação ou podem ser produzidos localmente ⁽³⁵⁾.

As proteínas de ligação do IGF (IGFBP's) têm afinidade para o IGF-I comparável à afinidade que o IGF-I tem para o seu receptor, facto que poderá explicar a função inibidora das IGFBP's na sinalização do IGF-I, uma vez que impede que a forma livre do IGF-I se ligue ao seu receptor. Assim sendo, a ligação às proteínas ligantes faz com que o IGF-I não exerça as suas funções, ao nível da regulação da proliferação celular, diferenciação e apoptose ⁽³⁵⁾.

À semelhança do receptor da insulina, o receptor do IGF-I quando activado pelo seu ligante, sofre autofosforilação ⁽³²⁾. O receptor do IGF-I activado é capaz de fosforilar outros substratos contendo tirosina, nomeadamente o substrato do receptor de insulina (IRS-1) ⁽³²⁾. O IRS-1, através da interacção com várias proteínas sinalizadoras, consegue activar várias cascatas de sinalização, nomeadamente a cascata do fosfatidilinositol-3 cinase (PI3K) e da proteína cinase activada por um mitogénico (MAPK), essenciais no desenvolvimento das acções metabólicas e de crescimento do IGF-I e IGF-II ⁽³⁶⁾. (Figura 16)

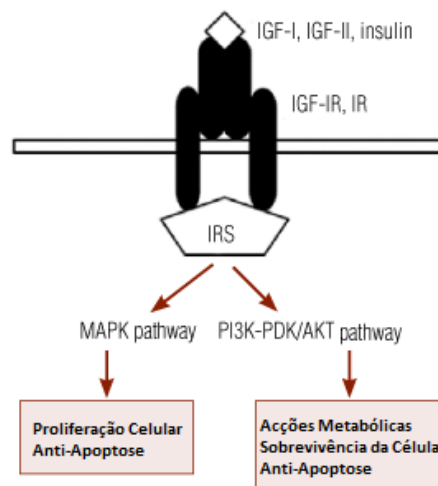


Figura 16 – Activação do receptor da insulina e IGF-I ⁽¹⁰⁾.

IRS – Insulin receptor substrate; MAPK – mitogen-activated protein-kinase; PI3K – phoshatidylinositol 3-kinase; PDK – phosphoinositide-dependent protein Kinase

O receptor do IGF-II não tem actividade tirosina-cinase e estabelece ligação apenas com o IGF-II ⁽³¹⁾. Esta ligação resulta na degradação do IGF-II, pois o seu receptor actua como antagonista do IGF-II, reduzindo a sua actividade biológica ⁽³¹⁾. Devido a este efeito, o **receptor do IGF-II tem sido considerado um potencial supressor de tumor**, uma vez que, reduz a quantidade disponível de IGF-II para a ligação com o receptor do IGF-I ^(35, 38).

3.9 Inibição do IGF-I para modificar a actividade da doença

3.9.1 *IGF-I e Aterosclerose*

O IGF-I sintetizado localmente pode funcionar de forma autócrina e parácrina para estimular a progressão das lesões ateroscleróticas. (Figura 17) Evidências obtidas a partir de modelos animais mostraram que o IGF-I pode estar envolvido na estimulação da aterogénese ⁽³⁶⁾.

Os macrófagos activados que são depositados nos vasos sanguíneos, são responsáveis pela síntese e libertação do IGF-I, que por sua vez, activa a proliferação e migração das células musculares lisas, factor chave para o início da aterosclerose ^(36, 39).

Nas células musculares lisas (smooth muscle cells – SMC's), os receptores de IGF-I existem em elevadas concentrações e os factores que estimulam a aterosclerose, como a angiotensina, provocam uma elevada expressão do IGF-I. A estimulação do IGF-I, provoca a divisão e migração das células musculares lisas (SMC's), levando à formação da placa aterosclerótica, que por sua vez, reduz o fluxo sanguíneo ⁽³⁶⁾.

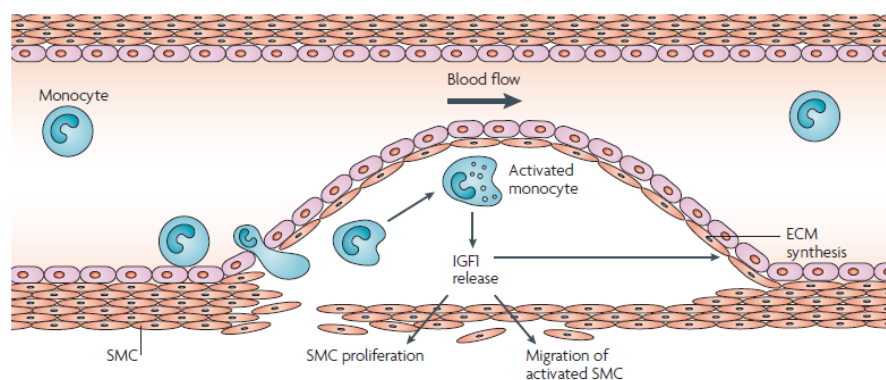


Figura 17 – IGF-1 e aterosclerose ⁽³⁶⁾.

Alguns análogos de insulina apresentam um aumento de afinidade para o receptor do IGF-I e elevada potência mitogénica, o que pode representar um risco para a segurança da aterogénese. Eckardt *et al.* (2007) verificaram que o receptor do IGF-I é o mediador da elevada actividade de promoção de crescimento, dos análogos da insulina, nas células musculares lisas e fibroblastos ⁽³⁹⁾.

3.9.2 IGF-I e Cancro

Devido ao facto do IGF-I ter uma importante função como factor de crescimento e porque muitas células tumorais possuem receptores do IGF-I, este tem sido alvo de um intensivo estudo relacionado com o desenvolvimento de cancro ⁽³⁶⁾.

Vários estudos realizados têm demonstrado que a deleção do receptor do IGF-I, em células tumorais que apresentam outros factores de crescimento, é incapaz de transformar as células, uma vez que não se verifica a expressão do receptor do IGF-I ⁽³⁶⁾.

Estudos directamente relacionados com tumores malignos, têm demonstrado que existe um aumento da expressão do IGF-I e do seu receptor no cancro da mama, pulmão, tiróide, tracto gastrointestinal, próstata, entre outros ⁽³⁶⁾.

Nos tumores verifica-se um aumento do número de vasos sanguíneos, que por sua vez, aumentam a fonte de IGF-I, que pode ser sintetizado pelas células do estroma. IGF-I actua directamente nas células cancerosas que possuem receptores do IGF-I e estimulam o crescimento das células tumorais. Para além disso, a migração das células pode ser estimulada, pois o IGF-I estimula a alteração da capacidade que as células tumorais têm para penetrar a parede vascular, verificando-se a formação de metástases ⁽³⁶⁾. (Figura 18)

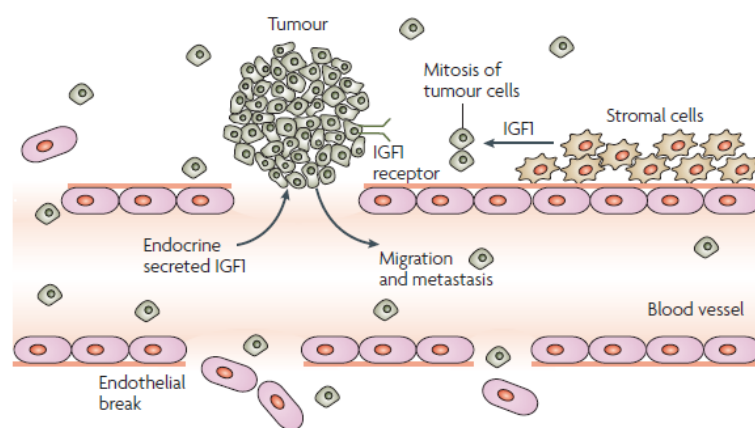


Figura 18 – Acções do IGF-I e mecanismos de desenvolvimento do tumor ⁽³⁶⁾.

Para além dos efeitos directos no crescimento e/ou metástases das células tumorais, o IGF-I está relacionado com a angiogénese, isto porque uma sinergia entre o IGF-I e o factor responsável pela hipoxia (hypoxia inducible factor 1 – baixos níveis de oxigénio), promove a replicação das células tumorais ⁽³⁶⁾.

Outra das principais acções do IGF-I em células normais e células tumorais é a inibição da apoptose. Na terapia para o cancro, a radiação e quimioterapia, frequentemente induzem a apoptose, no entanto, o excesso de IGF-I torna as células radioresistentes e inibe a apoptose nas células tumorais a seguir à exposição a agentes quimioterápicos ⁽³⁶⁾.

No cancro, as proteínas de ligação do IGF (IGFBP's) regulam a acção de IGF's, pois em muitas situações a ligação destas proteínas suprime a acção mitogénica de IGF's e promove a apoptose. No entanto, a acção das IGFBP's pode ser suprimida, devido à acção das proteases IGFBP, que por um mecanismo de proteólise separam as IGFBP's do IGF-I, ficando este livre para se ligar ao seu receptor ⁽³¹⁾.

O receptor do IGF-I e da insulina, a nível estrutural são muito semelhantes, no entanto, é o receptor do IGF-I, o receptor predominante na mitogénese, transformação e protecção contra a apoptose. Todas estas características aumentam a proliferação celular, essencial nas células cancerígenas ⁽⁴⁰⁾.

Existem vários estudos realizados para comprovar a associação do IGF-I com o desenvolvimento de cancro, sendo mencionados alguns deles de seguida.

Em alguns estudos realizados constatou-se que alguns membros da família IGF têm alguma interacção com moléculas que se sabe que estão envolvidas no desenvolvimento de cancro. Em geral, IGF's interagem sinergisticamente com outros factores de crescimento mitogénico e esteróides, antagonizando os efeitos de moléculas antiproliferativas nas células cancerígenas. Nas células do cancro da mama, os estrogénios aumentam o efeito mitogénico do IGF-I, induzindo a expressão de IGF-I e estimulando a produção do receptor do IGF-I. Para além disso, os estrogénios diminuem a síntese de proteínas de ligação de IGF-I, aumentando a fracção livre de IGF-I no tecido da mama ⁽³¹⁾.

Agentes antiestrogênicos, como o Tamoxifeno, aumentam a expressão de IGFBP's, e reduzem os efeitos dos estrogênios no IGF-I, inibindo a sua transcrição e atenuando a resposta do receptor de IGF-I para os IGF's⁽³¹⁾.

Estudos em ratinhos transgênicos, revelaram que o IGF-I tem um papel importante na carcinogênese mamária. Verificou-se que os ratinhos transgênicos com expressão de IGF-I tiveram um aumento da incidência de tumores mamários, com 53% dos ratinhos a desenvolverem adenocarcinomas mamários pelos 23 meses de idade. Enquanto os ratinhos que expressam uma deficiência em IGF-I têm uma menor capacidade para desenvolver tumores mamários⁽⁴¹⁾.

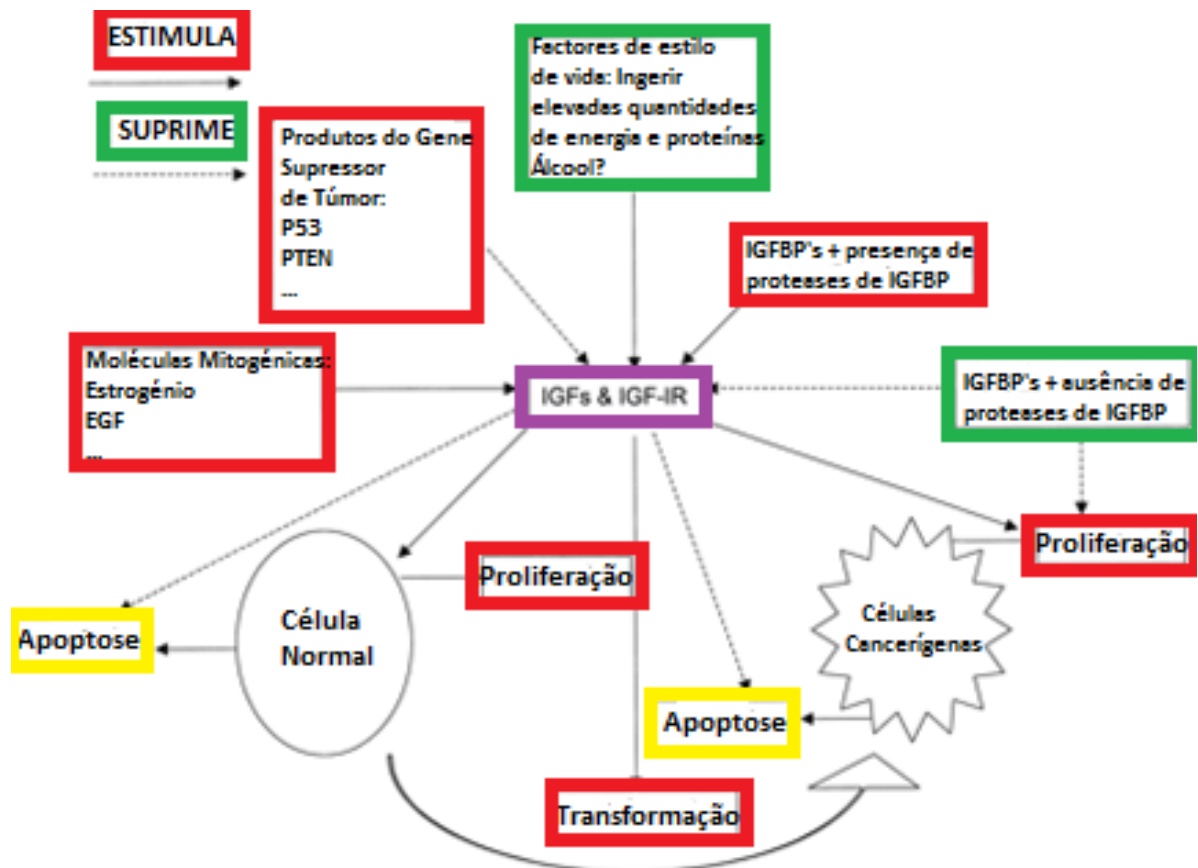


Figura 19 – Efeitos de IGF's e do receptor IGF-I em células normais e cancerosas e a sua relação com moléculas mitogênicas, gene supressor de tumor e estilo de vida⁽³¹⁾.

Outros estudos têm verificado também que os elevados níveis de IGF-I estão relacionados com o risco de cancro da próstata. Kaplan *et al.* (1999), avaliaram a expressão temporal do IGF-I no adenocarcinoma transgénico de próstata de rato (TRAMP), a fim de avaliar a progressão do cancro da próstata em humanos ⁽⁴²⁾.

Neste estudo verificaram que a expressão do IGF-I prostático aumentou durante a progressão do cancro nos ratinhos TRAMP e foi elevada durante as lesões metastáticas. A expressão do IGF-II, por outro lado, foi reduzida no cancro da próstata e durante as lesões metastáticas ⁽⁴²⁾.

Um possível mecanismo para o IGF-I contribuir para a iniciação e progressão do cancro da próstata, é o facto dos níveis elevados de IGF-I promoverem a angiogénese (formação de novos vasos sanguíneos), uma vez que o IGF-I induz o VEGF (factor de crescimento vascular endotelial). No estudo realizado os elevados níveis séricos de IGF-I aumentaram a densidade média dos vasos sanguíneos, e por sua vez, a vascularização da próstata ⁽⁴²⁾.

Para além da ligação do IGF-I ao desenvolvimento de cancro, existem evidências genéticas verificadas em ratinhos mutantes ou em mutações que ocorrem naturalmente em humanos, que indicam que tanto o receptor da insulina como o receptor do IGF-I são necessários para o normal crescimento embrionário. O crescimento intra-uterino e desenvolvimento de ratinhos sem receptores de insulina parecem normais, verificando-se apenas uma redução de 10% no seu tamanho. No entanto, em poucos dias, os ratinhos mutantes morrem devido ao desenvolvimento de cetoacidose diabética. Em contraste com os ratinhos, os humanos desenvolvem hipoglicemia em jejum e verifica-se um atraso no crescimento ⁽³⁸⁾.

Em animais modelo sem o gene responsável pela expressão do receptor da insulina verifica-se um atraso no crescimento e anormalidades metabólicas letais, enquanto nos animais sem o gene responsável pela expressão do receptor do IGF-I existe um atraso no crescimento intra-uterino grave sem anormalidades metabólicas ⁽³⁸⁾.

3.10 Tipos de Insulina

A insulina pode ser extraída do pâncreas de porco e purificada por cristalização; pode ser extraída do pâncreas da vaca, no entanto, actualmente a insulina bovina é pouco utilizada. A sequência da insulina humana pode ser produzida semisinteticamente por modificação enzimática da insulina porcina ou biossinteticamente por tecnologia de DNA recombinante, utilizando bactérias ou leveduras ⁽⁴³⁾.

As preparações de insulina disponíveis diferem de acordo com as suas características farmacocinéticas, ou seja, consoante o seu início de acção, a sua duração de acção e o tempo necessário para atingir a concentração máxima ⁽⁴⁴⁾. Assim sendo, as insulinas são divididas em 3 tipos:

- **Insulina de acção curta:** tem um início de acção relativamente rápido, incluindo-se neste grupo, a insulina solúvel (ou regular) e os análogos de insulina de acção rápida (insulina aspártico, insulina glulisina e insulina lispro) ⁽⁴³⁾.

Insulina solúvel (Actrapid[®], Insuman[®] Rapid, etc) é a forma de insulina mais apropriada para usar em emergências diabéticas, como cetoacidose diabética. Quando administrada através da via sub-cutânea, a insulina solúvel tem um início de acção rápido (30 a 60 minutos), um pico de acção entre 2 a 4 horas e uma duração de acção até 8 horas ⁽⁴³⁾.

Os análogos de insulina de acção rápida apresentam um início de acção mais rápido e uma duração mais curta que as insulinas solúveis. Assim sendo, em comparação com as insulinas solúveis, verifica-se que a glicemia em jejum e pré-prandial é pouco elevada; a glicemia pós-prandial é um pouco mais baixa e a hipoglicemia ocorre com menor frequência com os análogos de insulina. ⁽⁴³⁾

- **Insulina de acção intermédia:** neste grupo inclui-se a insulina isofânica ou NPH (Insulatard[®] Penfill, Humulin[®] Nph) que é uma suspensão de insulina com protamina, uma proteína que prolonga a duração de acção da insulina. Tem sido utilizada, particularmente, no início de regimes terapêuticos de 2 administrações por dia ^(43, 44).

Devido ao facto de se apresentar sob a forma de suspensão com um aspecto ligeiramente turvo, podendo haver formação de depósito, recomenda-se a sua agitação antes de ser administrada ⁽⁴⁴⁾.

Existem pré-misturas de insulinas designadas por insulinas bifásicas, que resultam da mistura em proporções variáveis de insulina de acção curta com insulinas de acção intermédia ⁽⁴⁴⁾.

- **Insulina de acção prolongada:** neste grupo incluem-se dois análogos de insulina, a insulina glargina e a insulina detemir ⁽⁴³⁾.

Quando administradas pela via sub-cutânea, as insulinas de acção intermédia e de acção prolongada apresentam um início de acção entre 1 a 2 horas, um efeito máximo de 4 a 12 horas e uma duração de acção que se prolonga de 16 a 35 horas ⁽⁴³⁾.

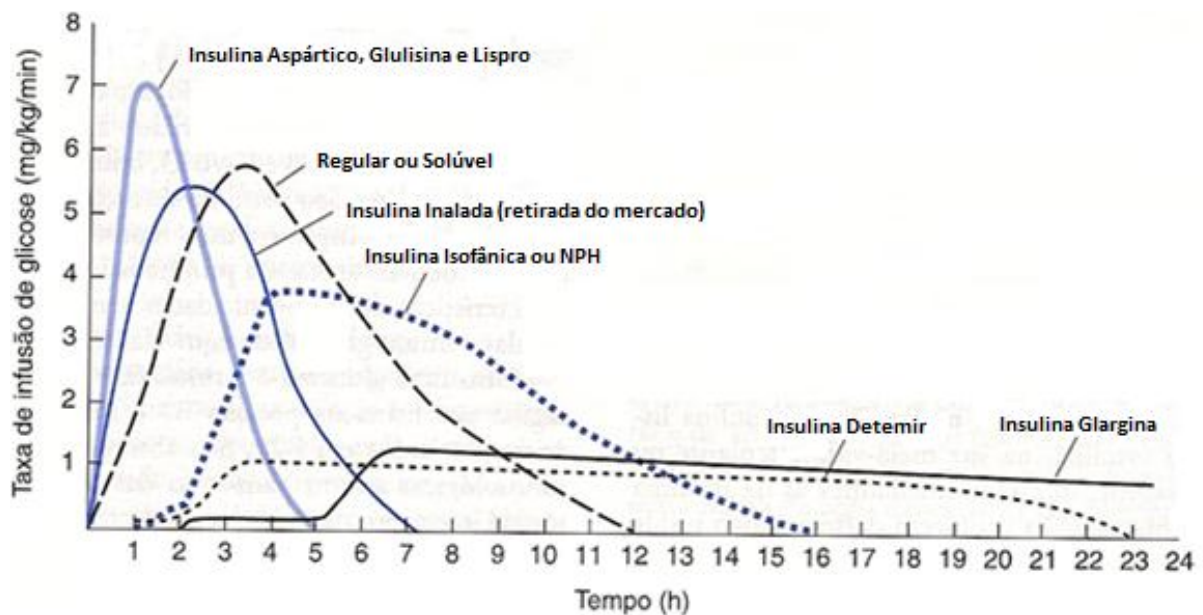


Figura 20 – Extensão e duração de acção de vários tipos de insulina ⁽²⁶⁾.

3.11 Análogos de Insulina

O principal objectivo no tratamento da Diabetes Mellitus tipo I (insulino-dependente), tanto no início como vários anos após o seu diagnóstico, é a manutenção da normoglicémia, para prevenir o aparecimento ou atrasar a progressão de complicações a longo prazo, como doenças cardiovasculares que podem levar à morte, retinopatia e nefropatia ^(18, 45).

A insulino-terapia intensiva está associada ao aumento do risco de hipoglicemia diária ou nocturna, devido às propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas das preparações de insulina humana tradicional ⁽⁴⁶⁾.

As moléculas de insulina disponíveis comercialmente têm tendência para se agregarem entre si formando hexâmeros, no entanto, para as moléculas serem absorvidas para os capilares é necessário haver a sua dissociação em dímeros e monómeros ⁽⁴⁶⁾. A taxa de dissociação da insulina humana em monómeros é lenta no local da injeção sub-cutânea e, consequentemente a sua absorção também é lenta, pois a insulina é absorvida predominantemente sob a forma monomérica ⁽¹⁸⁾.

Teoricamente, o aumento da acção da insulina pode ser obtido através do aumento da velocidade do processo de dissolução no tecido subcutâneo e / ou redução do processo de associação das moléculas de insulina na preparação ⁽⁴⁷⁾.

Assim sendo, para aumentar a velocidade de absorção das preparações de insulina regular através de injeção sub-cutânea, utilizaram-se técnicas de engenharia genética para desenvolver análogos de insulina ⁽⁴⁸⁾.

Isto foi possível através da alteração da sequência de aminoácidos da molécula de insulina em posições específicas, a fim de diminuir a tendência de adesão entre as moléculas de insulina ⁽⁴⁸⁾.

As insulinas convencionais incluem a insulina solúvel de acção curta e a insulina NPH de acção intermédia. No entanto, estes agentes não replicam o padrão de secreção endógena de insulina basal e pós-prandial. Como tal, foram desenvolvidos análogos da insulina, que resultam da modificação da insulina humana, para ultrapassar esta limitação.

Os análogos da insulina existentes podem ser: de acção curta (insulina lispro, insulina aspártico e insulina glulisina) e de acção prolongada (insulina glargina e a insulina detemir) ⁽¹⁸⁾.

Os esquemas de insulina mais populares incluem uma insulina de acção prolongada (início de acção lento, mas de longa duração, que permite controlar a glicemia basal, havendo menos probabilidade de ocorrerem hipoglicemias nocturnas) e uma insulina de acção rápida (rápido início de acção e menor tempo de duração), para a manutenção dos níveis de insulina pós-prandial ⁽⁴⁹⁾.

3.11.1 Análogos de insulina de acção curta

Insulina Lispro (Humalog®):

Foi o primeiro análogo de insulina de acção rápida a ser desenvolvido geneticamente, tendo sido aprovado para uso clínico em 1996. Relativamente à estrutura da insulina humana, a insulina lispro difere apenas na cadeia B, onde a prolina da posição 28 e a lisina da posição 29 são invertidas, levando a uma redução da capacidade que a molécula tem para se auto-associar em solução. (Figura 21) Assim sendo, a insulina lispro é absorvida mais rapidamente, com um pico mais elevado dos níveis de insulina e uma duração de acção mais curta, comparativamente à insulina regular ⁽⁴⁹⁾.

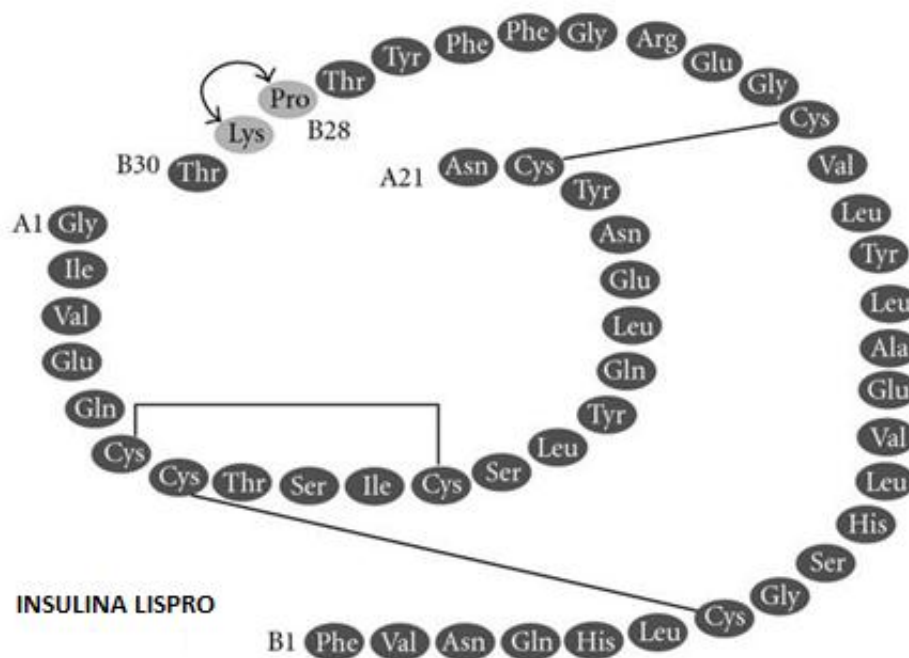


Figura 21 – Sequência de aminoácidos da insulina Lispro, evidenciando as modificações relativas à insulina humana ⁽⁴⁹⁾.

A modificação da insulina lispro a partir da insulina humana foi inspirada na molécula de IGF-I. Esta hormona não tem a capacidade para se auto-associar, apesar de ser homóloga da insulina ⁽⁴⁵⁾.

A sequência normal Pro-Lys nas posições 28 e 29 na molécula de insulina estão invertidas na molécula de IGF-I. Assim sendo, foi colocada a hipótese de que a sequência Lys-Pro torna o IGF-I incapaz de auto-associação, e a inversão da Pro-Lys na molécula de insulina originava um análogo de insulina incapaz de se auto-associar ⁽⁴⁵⁾.

Ao contrário do que seria de esperar, a insulina lispro, tal como a insulina regular, existe na forma de hexâmero, estabilizado por iões zinco e conservantes fenólicos, que asseguram os 2 anos de prazo de validade. No entanto, a insulina lispro dissocia-se em subunidades monoméricas instantaneamente aquando da injeção sub-cutânea ⁽⁴⁵⁾.

A insulina lispro é produzida por tecnologia de DNA recombinante. É produzida pela bactéria *E. coli* que recebeu um gene (ADN) que a torna capaz de produzir a insulina lispro ⁽⁵⁰⁾.

Quando comparada com a insulina humana regular, na ligação ao receptor da insulina, a insulina lispro parece ser equipotente ou até menos potente do que a insulina humana regular. No que diz que respeito à ligação ao receptor do IGF-I, a insulina lispro é ligeiramente mais potente que insulina humana regular ⁽⁴⁵⁾.

A insulina lispro tem um rápido início de acção (aproximadamente 15 minutos), o que permite que seja administrada mais perto da refeição (0 a 15 minutos antes da refeição) quando comparada com a insulina solúvel humana (30 a 45 minutos antes). Actua rapidamente e tem uma duração de actividade mais curta (2 a 5 horas), quando comparada com a insulina solúvel. Devido ao facto da insulina lispro ser rapidamente absorvida atinge picos máximos no sangue, 30 a 70 minutos após administração subcutânea ⁽⁵¹⁾.

Os produtos farmacêuticos com insulina lispro (Humalog® e Liprolog®) encontram-se disponíveis em vários formatos:

- Forma solúvel, que tem uma acção rápida (mais ou menos imediata após a injeção)
- Forma de suspensão protamina (absorvida muito mais lentamente durante o dia e proporciona uma acção mais prolongada – análogo de insulina de acção intermédia)
- Mistura da forma solúvel e protamina ⁽⁵¹⁾.

Insulina Aspártico (NovoRapid® e NovoMix®):

A insulina aspártico é formada através da substituição da prolina, na posição 28 da cadeia B, por uma molécula de ácido aspártico carregada negativamente ^(26, 45). Esta modificação estrutural permite que a absorção da insulina aspártico seja duas vezes mais rápida que a insulina humana ⁽⁴⁹⁾. A alteração na posição 28 para ácido aspártico leva a uma pequena alteração conformacional na região C-terminal da cadeia B, o que provoca uma diminuição na interacção normal entre os monómeros ProB28 e GlyB23, inibindo assim a auto-agregação da insulina ^(26, 45). (Figura 22) A repulsão devido à carga negativa do ácido aspártico, para além de, contribuir para a diminuição da associação entre as moléculas, aumenta a velocidade de dissociação dos monómeros logo depois da injeção sub-cutânea do análogo ⁽⁴⁵⁾.

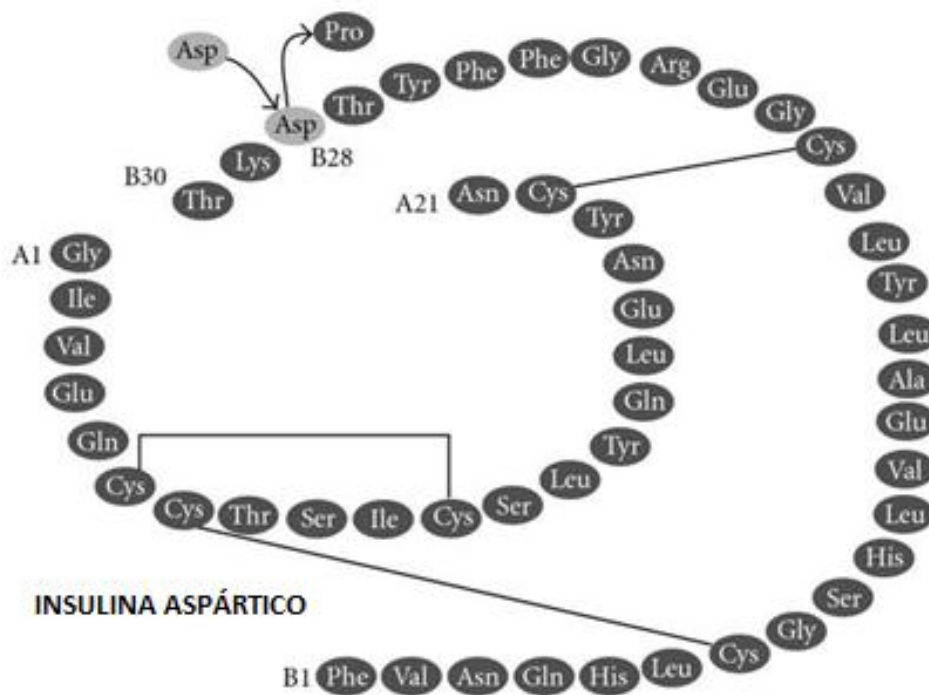


Figura 22 – Sequência de aminoácidos da insulina Aspártico, evidenciando as modificações relativas à insulina humana ⁽⁴⁹⁾

A insulina aspártico é produzida através de tecnologia de DNA recombinante, em que uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) recebe ADN, que lhe permite começar a produzir insulina aspártico ⁽⁵²⁾.

Por via sub-cutânea, a insulina aspártico inicia o seu efeito 10 a 20 minutos após a injeção, o efeito máximo é atingido 1 a 3 horas depois e a sua duração de acção é de 3 a 5 horas ⁽⁵³⁾.

Comercialmente, a insulina aspártico existe em duas apresentações: NovoRapid e NovoMix. Enquanto NovoRapid é uma solução injectável que contém insulina aspártico, a NovoMix é uma suspensão injectável constituída por insulina aspártico de duas formas, forma solúvel (actua de forma rápida, 10 minutos após a injeção) e forma cristalizada com protamina (absorção muito mais lenta ao longo do dia, semelhante à insulina humana NPH). O NovoMix tem um início de acção rápido permitindo a sua administração perto de uma refeição, e a duração de acção é de 24 horas, no máximo ^(52, 54).

Insulina Glulisina (Apidra®)

A insulina glulisina é o análogo de acção rápida mais recente, e foi lançado no mercado no ano de 2004. A sua estrutura difere da insulina humana em dois pontos: a asparagina na posição 3 é substituída por lisina e a lisina na posição 29 é substituída por ácido glutâmico. (Figura 23) Estas alterações reduzem a formação de hexâmeros e aumentam a absorção subcutânea ⁽⁴⁹⁾.

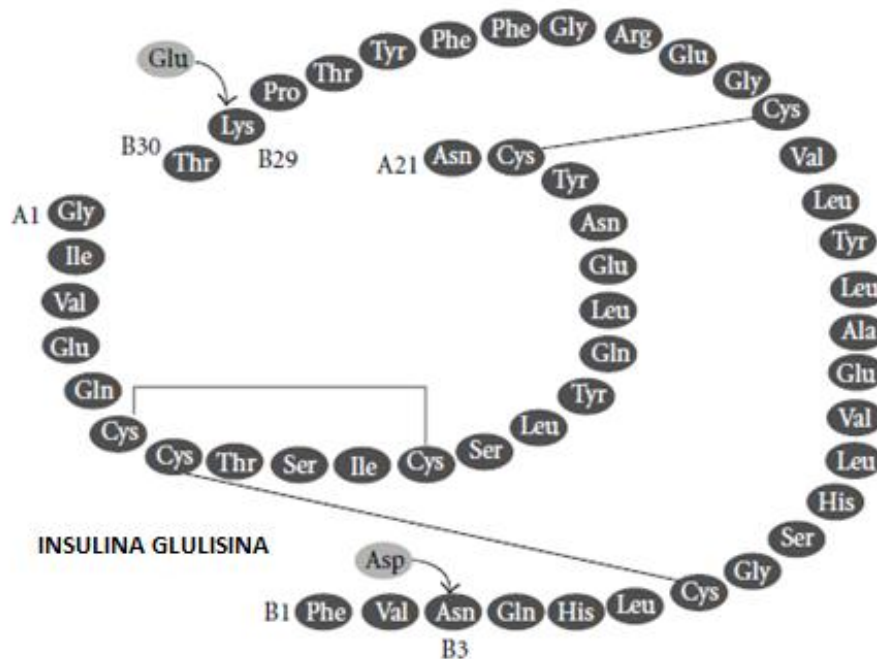


Figura 23 – Sequência de aminoácidos da insulina Glulisina, evidenciando as modificações relativas à insulina humana ⁽⁴⁹⁾

Tal como os outros análogos de acção rápida, a insulina glulisina é produzida por um método de DNA recombinante, por meio de uma bactéria (*Escherichia coli*) que recebe um gene, tornando-a capaz de produzir a insulina glulisina ⁽⁵⁵⁾.

A insulina glulisina tem um início de acção mais rápido, sendo que o seu efeito hipoglicemiante tem início 10 a 20 minutos após a injeccção, e uma duração de acção mais curta do que a insulina humana ⁽⁵⁶⁾.

A insulina lispro e glulisina têm o mesmo impacto no controlo glicémico dos doentes com Diabetes tipo I e tipo II, no entanto, quando se avalia o seu potencial em doentes com

Diabetes tipo II obesos, o aumento da concentração de insulina e o início de actividade é mais rápido para a insulina glulisina ⁽⁴⁹⁾.

Vantagens dos análogos da insulina de acção curta:

As principais vantagens do tratamento da Diabetes com análogos de insulina de curta acção são:

- Melhor controlo glicémico
- Redução da incidência de episódios de hipoglicemia
- Melhoria na qualidade de vida dos doentes com Diabetes ⁽⁵⁷⁾.

Comparativamente à insulina humana regular, os análogos de insulina de acção curta têm menor tendência para se agregarem, o que permite uma absorção mais rápida e um início de acção mais rápido; e atingem concentrações plasmáticas mais elevadas, e em metade do tempo ⁽⁵⁷⁾. (Figura 24).

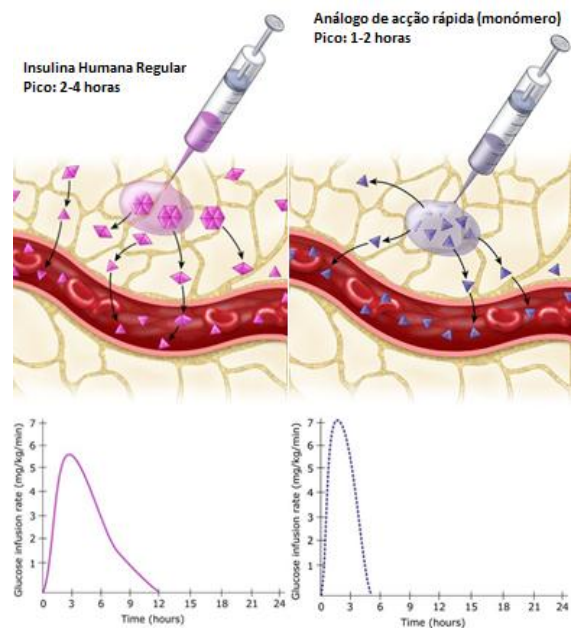


Figura 24 – Comparação entre a Insulina Humana e os Análogos de Insulina de acção rápida ⁽⁵⁸⁾

3.11.2 Análogos de insulina de acção prolongada

Insulina Glargina (Lantus®):

A insulina glargina resulta de duas modificações na molécula da insulina humana: adição de duas moléculas de arginina (carga positiva) à extremidade carboxi-terminal da cadeia B e a substituição da asparagina pela glicina na posição 21 da cadeia A ^(26, 45). (Figura 25)

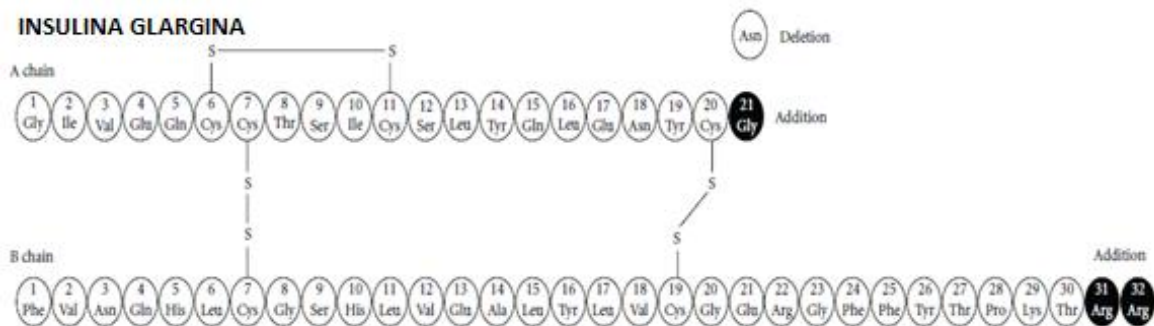


Figura 25 – Sequência de aminoácidos da insulina Glargina, evidenciando as modificações relativas à insulina humana ⁽⁴⁹⁾

A adição das duas moléculas de arginina origina uma mudança do ponto isoelétrico para pH neutro, provocando uma diminuição da solubilidade em pH fisiológico. Após a injeção no tecido subcutâneo, a solução ácida é neutralizada, conduzindo à formação de micro-precipitados, a partir dos quais são constantemente libertadas pequenas quantidades de insulina glargina para a circulação ^(49, 59). (Figura 26)

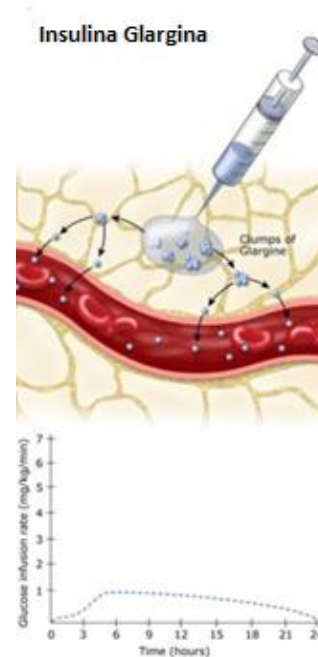


Figura 26 – Absorção da Insulina Glargina para a corrente sanguínea ⁽⁵⁸⁾

As mudanças estruturais originam um análogo com absorção lenta e um fornecimento de insulina basal constante ⁽⁴⁵⁾. O início de acção da insulina glargina ocorre duas horas após a injeção, não se verificam picos pronunciados, e a sua actividade pode durar até 24 horas, sendo aconselhado a sua administração uma vez por dia, em que a hora deve ser a mesma todos os dias ^(49, 59).

Para manter a sua solubilidade, a insulina glargina é formulada numa solução extremamente ácida (pH 4), e não deve ser misturada com outras insulinas, como a insulina regular (pH neutro) ^(26, 45).

A insulina glargina é produzida por um método de recombinação de DNA, em que um gene de pró-insulina modificado é inserido em *Escherichia coli*, tornando-a capaz de produzir insulina glargina ^(26, 59).

A interacção da insulina glargina com o receptor da insulina é semelhante à insulina endógena, no entanto, a sua ligação ao receptor do IGF-I é seis a sete vezes maior do que a insulina endógena, o que pode estar relacionado com um aumento da actividade mitogénica e do crescimento ^(26, 45).

Insulina Detemir (Levemir®):

A insulina Detemir é o análogo de longa acção mais recente, tendo sido autorizado para introdução no mercado em 2004 ^(26, 60). Resulta da acilação do ácido mirístico (cadeia de ácido gordo C14) ao resíduo de lisina na posição 29 da cadeia B e a deleção do último resíduo de treonina na posição 30 da cadeia B ⁽⁴⁹⁾. (Figura 27)

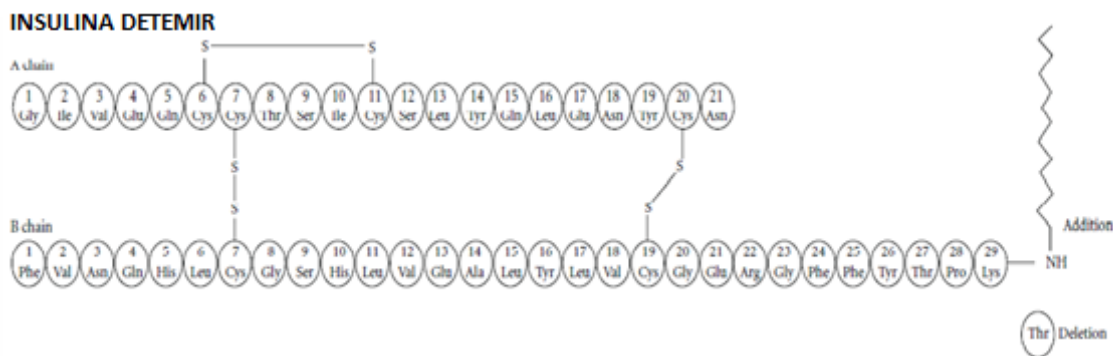


Figura 27 – Sequência de aminoácidos da insulina Detemir, evidenciando as modificações relativas à insulina humana ⁽⁴⁹⁾

A sua acção prolongada é conseguida através da reabsorção tardia, causada pelo aumento da auto-associação das moléculas de insulina detemir no local da injeção e pela ligação reversível à albumina através da cadeia secundária de ácidos gordos ^(49, 61). (Figura 28)

A insulina detemir proporciona um efeito metabólico durante cerca de 17 horas, permitindo a opção entre administração uma ou duas vezes por dia, para obter um nível basal de insulina ^(26, 49, 61).

Relativamente à insulina NPH, a insulina detemir distribui-se mais lentamente nos tecidos-alvo periféricos e o seu uso está associado a um menor risco de hipoglicemia ^(26, 61).

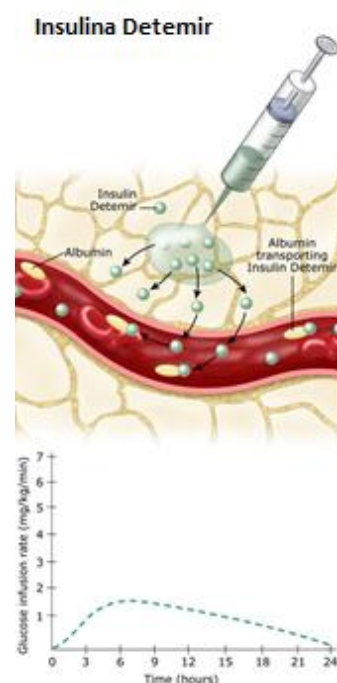


Figura 28 – Absorção da Insulina Detemir para a corrente sanguínea ⁽⁵⁸⁾

A insulina detemir é produzida através da tecnologia DNA recombinante, em que uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) que recebeu um gene a torna capaz de produzir insulina detemir ^(60, 61).

3.12 Efeito carcinogénico de análogos da insulina

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidos análogos de insulina para melhorar as propriedades farmacológicas da insulina injectável e para mimetizar a produção endógena de insulina. No entanto, alguns estudos recentes sugerem que doentes com diabetes, a fazer tratamento com análogos de insulina de longa acção, como a insulina glargina, têm um maior potencial para o risco de cancro. Existem também estudos em que não foi verificada a correlação entre os análogos de insulina e o risco de cancro, como tal, irão ser mencionados alguns estudos importantes acerca deste tema ⁽⁶²⁾.

As modificações da molécula de insulina na posição 10 e na região 26-30 da cadeia B são capazes de alterar a afinidade para o receptor do IGF-I. Geralmente, o potencial mitogénico de alguns análogos de insulina pode resultar do aumento de afinidade para o receptor do IGF-I, do tempo de ocupação do receptor de insulina pelo seu análogo e da combinação de processos mediados pelo receptor da insulina e o IGF-I ⁽³⁹⁾.

Yehezkel *et al.* (2010), realizaram um estudo para identificar qual o receptor e cascata de transdução de sinal responsável pelas acções biológicas da insulina glargina e insulina detemir. Para isso, utilizaram células derivadas de cancro do cólon, com doses elevadas de insulina glargina, insulina detemir, insulina regular ou IGF-I ⁽⁶²⁾.

Em experimentos dependentes da dose, constataram que a insulina glargina é capaz de fosforilar o receptor do IGF-I com uma concentração 5 vezes inferior à necessária para activar o receptor da insulina. (Figura 29) A insulina glargina pode levar à activação prolongada dos receptores de insulina (até 6 horas), enquanto a activação do receptor do IGF-I é bifásica, com picos de activação aos 5 minutos e 2 horas. (Figura 30 – c,d) Em comparação, a insulina regular induz uma rápida fosforilação do receptor da insulina ⁽⁶²⁾ (Figura 30 - e).

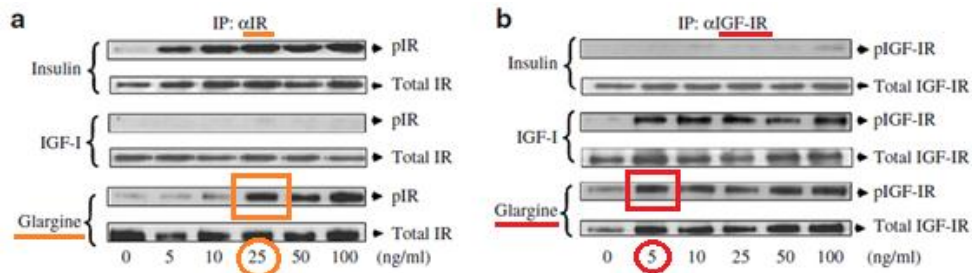


Figura 29 – Activação do receptor de insulina (a) e IGF-I (b), dependendo da dose de insulina glargina, insulina regular e IGF-I ⁽⁶²⁾.

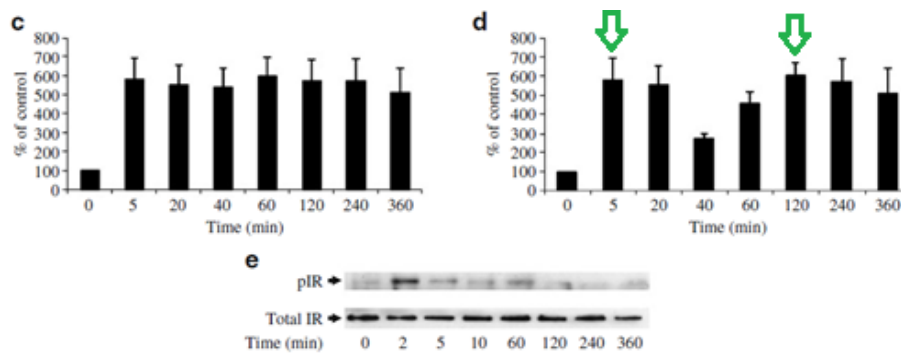


Figura 30 – Avaliação da activação do receptor da insulina (c) e do IGF-I (d) pela insulina glargina, por longos períodos de tempo. Activação do receptor de insulina pela insulina regular (e) ⁽⁶²⁾.

Tal como a insulina glargina, a insulina detemir mostrou activar o receptor do IGF-I, no entanto, este análogo de longa acção foi menos potente que a insulina glargina ⁽⁶²⁾.

Weinstein *et al.* (2009), realizou um estudo, onde o seu objectivo foi investigar se a insulina glargina, a insulina detemir, a insulina lispro e insulina aspártico exibiam actividade semelhante ao IGF-I em culturas de células HCT-116 (cancro cólon-rectal), PC-3 (cancro da próstata) e MCF-7 (adenocarcinoma da mama), em comparação com IGF-I e a insulina regular humana ⁽⁶³⁾.

Os resultados mostraram que a insulina glargina, a insulina detemir e o análogo de curta acção, insulina lispro, estimularam a proliferação celular das três culturas de células. Embora o efeito proliferativo dos análogos da insulina tenha sido inferior ao verificado com o IGF-I, é suficientemente superior ao efeito da insulina regular humana, que praticamente não tinha efeito mitogénico na dose utilizada ⁽⁶³⁾. (Figura 31)

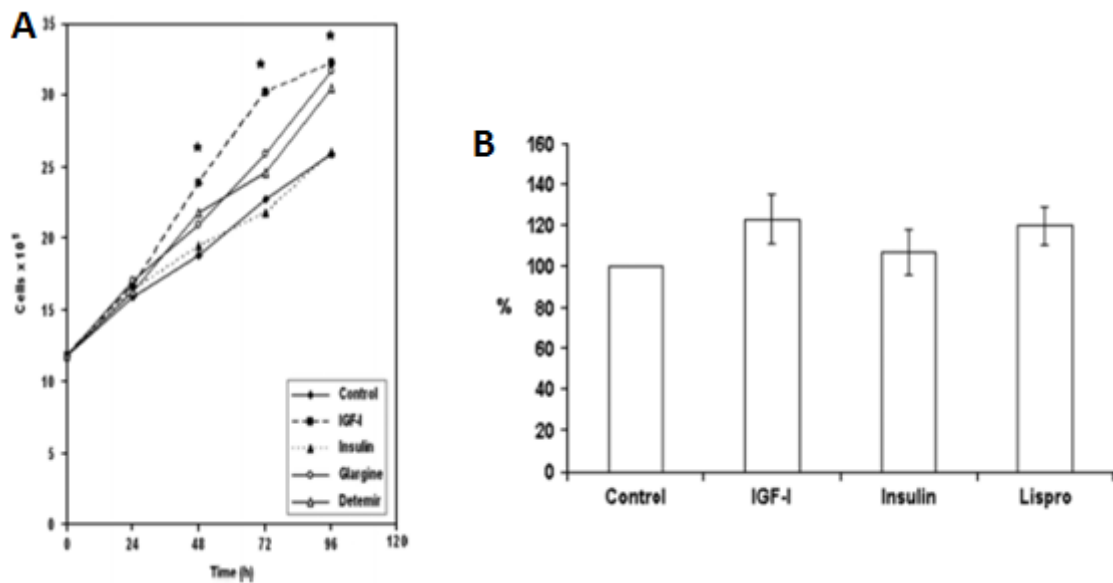


Figura 31 – Efeitos proliferativos dos análogos de insulina nas células de cancro cólon-rectal (HCT-116) (A). Comparação entre a insulina regular e a insulina lispro, na proliferação celular das células HCT-116 (B) ⁽⁶³⁾

Para além da capacidade para aumentar a proliferação celular, ambos os análogos de insulina de longa acção, previnem a apoptose nas células HTC-116, sendo esta uma característica típica do IGF-I. Como tal, é possível verificar que a % de apoptose das células é muito menor na presença da insulina detemir e glargina, em comparação com o grupo controlo ⁽⁶³⁾. (Figura 32)

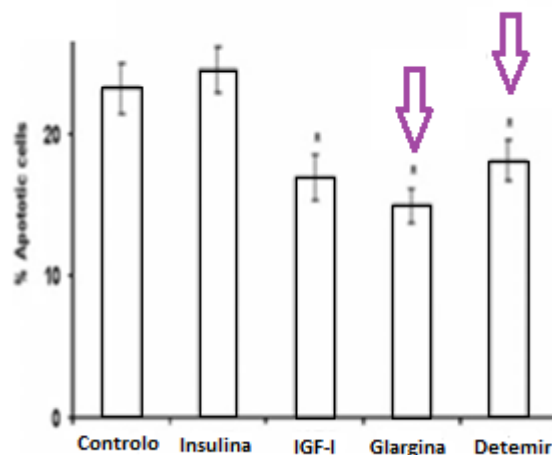


Figura 32 – Análise do efeito da insulina glargina e detemir na apoptose ⁽⁶³⁾.

Tanto o receptor da insulina como o receptor do IGF-I estão ligados a duas grandes vias de sinalização: PI3-cinase/AKT e MAPK/ERK. A insulina glargina, assim como a insulina regular, induzem fortemente a fosforilação da molécula AKT, uma cinase citoplasmática envolvida na transdução de muitas actividades metabólicas importantes. A insulina detemir, por outro lado, tem menor capacidade para induzir a fosforilação da AKT ⁽⁶³⁾. (Figura 33-A)

Na activação da molécula ERK, uma cinase citoplasmática principalmente envolvida na transdução de efeitos mitogénicos, tanto a insulina glargina como a insulina detemir, mostraram ter uma actividade semelhante ao IGF-I ⁽⁶³⁾ (Figura 33-B).

Os resultados deste estudo permitiram concluir que a insulina glargina e a insulina detemir, têm a capacidade para activar tanto o receptor da insulina como o receptor do IGF-I ⁽⁶³⁾.

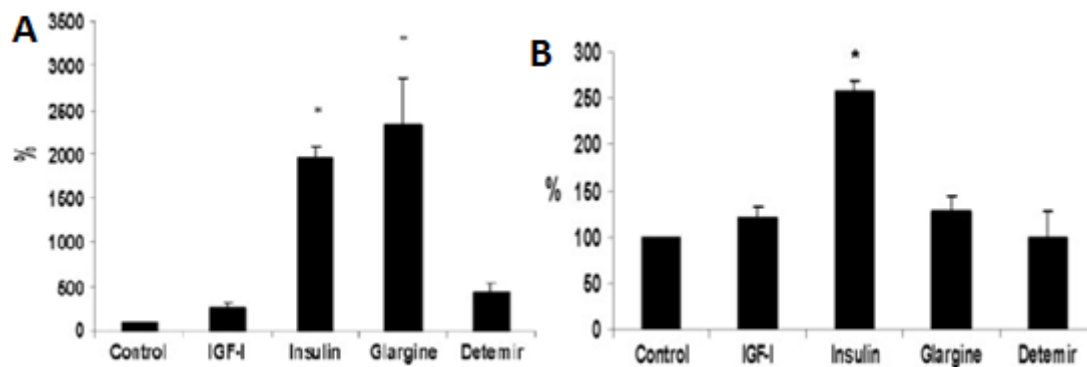


Figura 33 – Comparação da potência dos análogos de insulina para activar AKT (A) e ERK (B) ⁽⁶³⁾.

É importante não esquecer que doentes com Diabetes Mellitus tipo I necessitam, obrigatoriamente, de insulino-terapia, para limitar a morbilidade e a mortalidade. No que diz respeito ao risco de cancro é, relevante, saber se há possibilidade de escolhas a efectuar com base em diferenças de risco entre as insulinas. A evidência disponível é um pouco ambígua e inconsistente. Há, no entanto, algumas observações que acreditamos que indicam a necessidade de um estudo mais aprofundado ⁽²⁰⁾.

Hemkens *et al.* (2009) conduziram um estudo com mais de 127.000 doentes, na Alemanha, onde investigaram o risco de desenvolvimento de neoplasias malignas em

doentes diabéticos tratados ou com insulina humana ou com um análogo de insulina. O estudo foi realizado em utentes com mais de 18 anos, sem doenças malignas conhecidas, que receberam pela primeira vez insulino-terapia para a diabetes mellitus, exclusivamente com insulina humana ou um tipo de análogo de insulina. Foram definidos 4 grupos de acordo com o tratamento recebido: insulina humana, insulina aspártico, insulina lispro e insulina glargina. Os participantes elegíveis apenas poderiam estar expostos a uma destas insulinas ao longo do acompanhamento (1 de Janeiro de 2001 a 30 de Junho de 2005) ^(20, 64).

Os resultados deste estudo revelaram que, em doentes com diabetes, a dose de insulina está positivamente associada ao risco de neoplasias malignas, quer seja com a insulina humana ou com análogos de insulina. Comparando com a insulina humana, o risco de neoplasia dependente da dose de insulina foi maior para a insulina glargina, do que para a insulina lispro e aspártico ⁽⁶⁴⁾.

Foi analisada a taxa de risco (HR's) dos análogos de insulina, em comparação com a insulina humana, relativamente ao desenvolvimento de neoplasias malignas e mortalidade em função da dose de insulina. (Figura 34) Foi possível constatar que existe um elevado risco de cancro para elevadas concentrações de insulina glargina (HR 1,31 para 50UI), sendo que o mesmo não acontece para a insulina aspártico e insulina lispro. Para além disso, observaram uma taxa de mortalidade superior em utentes tratados com elevadas doses de insulina glargina (>40 IU), em comparação com doses equivalentes de insulina humana (14,79 vs. 9,17 por 100 doentes por ano) ⁽⁶⁴⁾.

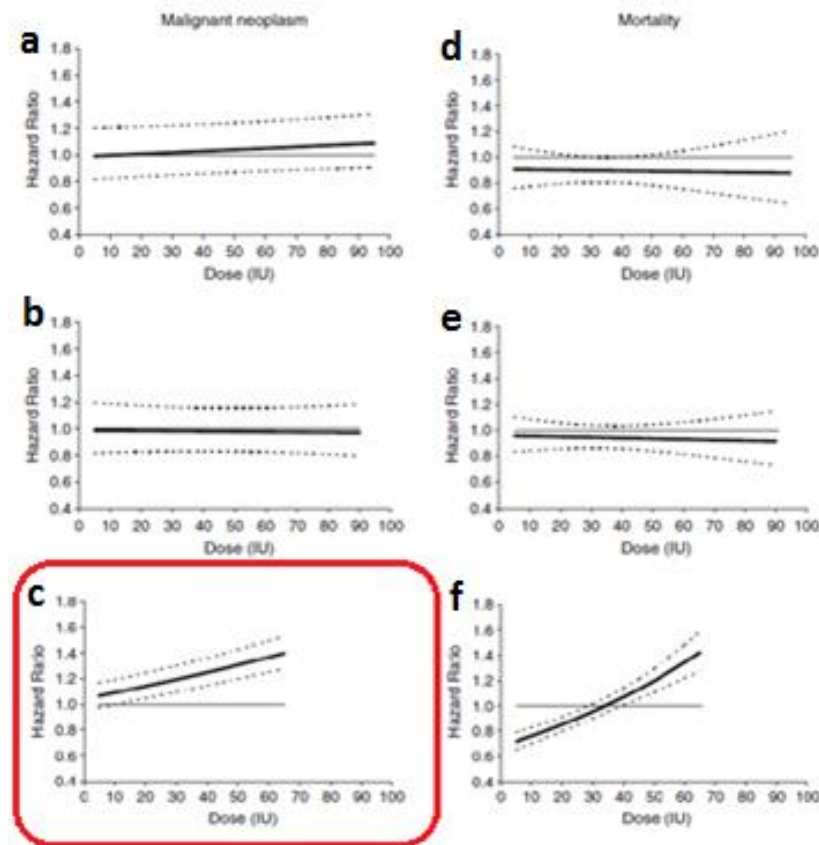


Figura 34 – HRs para neoplasias malignas (a-c) e mortalidade (d-f) para insulina aspártico (a, d), lispro (b, e) e glargina (c, f). Verifica-se uma mudança do HRs em função da dose de insulina ⁽⁶⁴⁾.

Apesar do carácter relativamente frágil dos dados utilizados ao longo deste estudo, os seus resultados despoletaram algumas preocupações, a nível de segurança, com a insulina glargina, devido ao seu potencial mitogénico e, conseqüentemente o desenvolvimento de neoplasias. Estes resultados confirmam a necessidade de um estudo prospectivo, randomizado, controlado, a longo prazo, projectado para avaliar os efeitos da insulina glargina sob a morbidade e mortalidade em doentes com diabetes ⁽⁶⁴⁾.

Com base nos resultados preliminares do estudo realizado por Hemkens *et al.* (2009), a EASD (European Association for the Study of Diabetes) solicitou a outros grupos de investigação em diabetes da Suécia, Escócia e Inglaterra, que determinassem se os achados do estudo efectuado na Alemanha podiam ser reproduzidos de forma independente ⁽⁶⁵⁾.

Jonasson *et al.* (2009), investigaram a taxa de incidência de cancro da mama, cancro gastrointestinal e cancro da próstata associada ao uso da insulina glargina, em comparação com taxas associadas à utilização de outros tipos de insulina ou à combinação da insulina

glargina com outra insulina. Este estudo foi realizado na Suécia, uma vez que este país oferece condições favoráveis para a avaliação dos efeitos adversos de determinado fármaco na população, através do acesso ao Registo de Fármacos prescritos (detalhes de todas as prescrições dispensadas na Suécia, que permite saber os utentes que têm a prescrição de insulina), Registo de Cancro (contém todos os novos casos de cancro) e Registo de causas de morte ⁽⁶⁶⁾.

Foram estudados 114.841 indivíduos com idades compreendidas entre os 35 e 84 anos no final de 2005 que tiveram pelo menos uma prescrição de insulina entre 1 de Julho e 31 de Dezembro de 2005, e que estavam vivos no início deste acompanhamento (1 de Janeiro de 2006) ⁽⁶⁶⁾.

Após a análise dos dados recolhidos, constataram que a taxa de incidência de cancro da próstata, cancro gastrointestinal e outro tipo de tumor maligno para os utentes que apenas usavam insulina glargina foi similar à taxa de incidência para os utentes que utilizavam outro tipo de insulinas. Durante o ano 2006 e 2007 (anos de acompanhamento), os utentes que utilizaram apenas insulina glargina tiveram uma maior taxa de incidência de cancro da mama do que os que utilizavam outro tipo de insulina, sem ser a insulina glargina ⁽⁶⁶⁾.

No entanto, os resultados obtidos relativamente á taxa de incidência de cancro da mama em terapias com insulina glargina, podem estar sujeitos a flutuações aleatórias e a variáveis de confundimento. Na recolha dos dados, foram utilizados apenas aqueles que estavam disponíveis nos registos, podendo haver dados importantes na avaliação deste problema que não estariam relatados no registo (por exemplo a informação da dose administrada) ^(20, 66).

Alguns indivíduos que tenham no registo de prescrição dispensada, a utilização de outros tipos de insulina, podem ter usado insulina glargina antes de 2005 ou durante o período de observação durante 2006 e 2007. Isto pode provocar uma incerteza, na medida em que a prescrição registada para a insulina glargina pode ou não reflectir o uso da insulina glargina, limitando a capacidade para detectar o efeito de desenvolvimento de neoplasias. Se fosse possível eliminar esta imprecisão, poderíamos estudar os utentes que realmente usavam insulina glargina e assim tirar uma conclusão fiável acerca do desenvolvimento de neoplasias ⁽⁶⁶⁾.

Colhoun *et al.* (2009) realizaram um estudo na Escócia, onde analisaram se os doentes com diabetes que utilizavam insulina glargina tinham um maior risco de cancro do que os que usavam outros tipos de insulina. A Escócia, tem um registo nacional de doentes com diabetes, que inclui dados da prescrição e outros dados de saúde de rotina, incluindo o registo de patologias (como cancro) e dados de mortalidade ⁽⁶⁷⁾.

Os autores concluíram que os utentes tratados apenas com insulina glargina tinham um maior risco de desenvolvimento de cancro, em comparação com os utentes que recebiam outro tipo de insulina que não a insulina glargina ou que recebiam a insulina glargina em combinação com outra insulina, verificando-se também um significativo aumento do risco de cancro da mama ⁽²⁰⁾.

Currie *et al.* (2009) realizaram um estudo em Inglaterra, onde analisaram o risco de desenvolvimento de tumores sólidos em utentes com Diabetes tipo 2 em tratamento com antidiabéticos orais ou insulina (insulina humana e análogos de insulina) ⁽⁶⁸⁾.

Verificaram que os utentes tratados com metformina tinham menor risco de desenvolvimento de tumores sólidos, em comparação com utentes tratados com sulfonilureias ou insulina ⁽²⁰⁾.

Concluíram que o tratamento com insulina (insulina glargina, insulina humana basal, insulina humana bifásica e análogos de insulina bifásico) não está associado ao aumento de risco da progressão de cancro, mas será necessário mais análises detalhadas para comprovar a segurança destas moléculas.

Shukla *et al.* (2009) realizaram uma análise detalhada da potência proliferativa da insulina regular em comparação com 4 análogos de insulina, aprovados para uso terapêutico. Tiveram especial interesse no estudo da contribuição da sinalização do receptor da insulina e do receptor do IGF-I para a capacidade mitogénica da insulina e análogos de insulina e a potencial correlação entre o efeito proliferativo e a razão IGF-IR/IR expressa nas células do epitélio mamário humano ⁽⁶⁹⁾.

Das células estudadas, apenas, as células MCF10A (células benignas do epitélio mamário) e MCF7 (células malignas do epitélio mamário) responderam fortemente ao tratamento com insulina e mostraram um crescimento de 1,7 a 2,2 vezes mais que o controlo ⁽⁶⁹⁾.

Quadro II – Efeito proliferativo da insulina em células do epitélio mamário ⁽⁶⁹⁾

Cell line	Proliferation (fold of control)
MCF10A	1.7 ± 0.20
BT474	0.9 ± 0.05
MCF7	2.2 ± 0.28
T47D	1.1 ± 0.04
ZR75-1	1.4 ± 0.20
MDA-MB231	1.3 ± 0.12
HCC1937	1.1 ± 0.05

As modificações da molécula de insulina nas posições 26 – 30 da cadeia B resultam numa forte afinidade para o receptor do IGF-I resultando num aumento da potência mitogénica do análogo da insulina. Neste estudo foram utilizados 3 análogos de insulina: a insulina glargina (Lantus®), insulina lispro (Humalog®) e insulina aspártico (NovoRapid®) que apresentam modificações nesta região da molécula ⁽⁶⁹⁾.

Em experiências com as células MCF7, a curva dose-resposta correspondente à insulina lispro foi similar à obtida para a insulina regular. Por outro lado, a insulina aspártico mostrou um efeito proliferativo ligeiramente superior à insulina regular (Actrapid®) em concentrações iguais ou superiores a 15nmol/l. (Figura 35) Este facto pode ser explicado pela interacção prolongada com o receptor da insulina.

Dos outros análogos de insulina em estudo, apenas a insulina glargina que tem sido descrita como apresentando 6-8 vezes mais afinidade para o receptor IGF-I que a insulina regular, mostrou potência proliferativa das células MCF7 significativamente mais forte, em comparação com a insulina regular ⁽⁶⁹⁾.

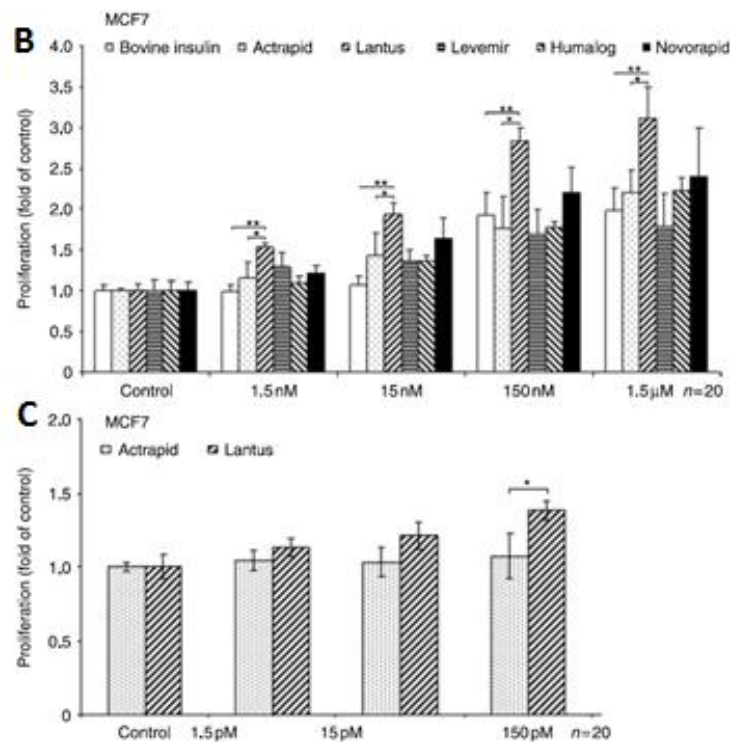


Figura 35 – Células MCF7 tratadas com concentrações crescentes de insulina e análogos de insulina durante 72 horas ⁽⁶⁹⁾.

É possível constatar que as células MCF7 se caracterizam por níveis elevados da razão IGF-IR/IR, no entanto as células benignas MCF10A, que mostraram um crescimento similar em resposta à insulina regular e insulina glargina, apresentam uma razão IGF-IR/IR reduzida ⁽⁶⁹⁾.

Estudaram também a activação das cascatas de sinalização da insulina e IGF-I, para uma melhor percepção do efeito mitogénico da insulina regular e insulina glargina nas células MCF-7. A activação da via PI3K/AKT implica a fosforilação das proteínas AKT e GSK α/β , enquanto a activação da cascata MAPK implica a forte fosforilação das proteínas ERK 1 e ERK 2 ⁽⁶⁹⁾.

Nas células MCF7, a insulina lispro e aspártico tiveram uma resposta similar à insulina regular, no que diz respeito à activação da via PI3K. A insulina glargina, por outro lado, mostrou ser mais forte na estimulação da cascata PI3K, com uma resposta similar à do IGF-I (Figura 36-A). Relativamente à cascata de sinalização MAPK, a insulina glargina à semelhança do IGF-I, provocou uma forte indução na fosforilação de ERK1 e 2, em comparação com a insulina regular e os restantes análogos de insulina (Figura 36-B) ⁽⁶⁹⁾.

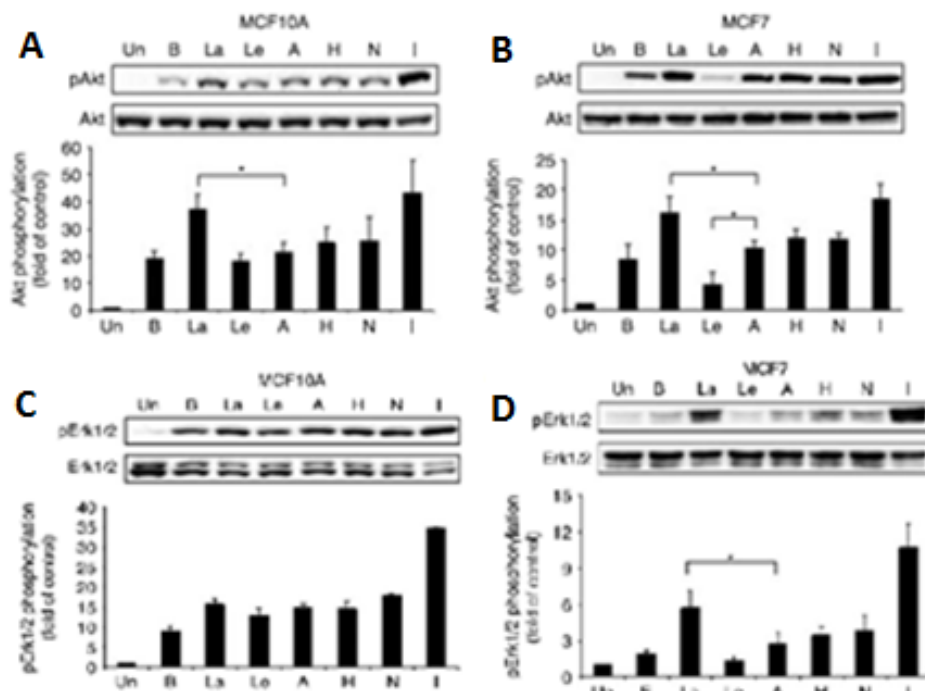


Figura 36 – Activação da via PI3K pela insulina e análogos de insulina em células MCF10A (A) e MCF7 (B). Activação da via MAPK pela insulina e análogos de insulina em células MCF10A (C) e MCF7 (D).⁽⁶⁹⁾
 B – bovine insulin; La – Lantus; Le – Levemir; A – Actrapid; H – Humalog; N – NovoRapid; I – IGF-I

Os resultados mostraram que a insulina regular activa principalmente o receptor da insulina e a via PI3K/AKT. O IGF-I através do seu receptor, activa ambas as vias de sinalização, PI3K/AKT e MAPK. A insulina glargina estimula tanto o receptor da insulina como do IGF-I, resultando na activação de ambas as cascatas de sinalização, PI3K e MAPK, em níveis elevados. A activação do receptor do IGF-I pela insulina glargina explica o seu forte efeito mitogénico sobre as células MCF7⁽⁶⁹⁾.

A Diabetes Mellitus é uma doença que afecta milhões de pessoas em todo mundo, e que se caracteriza por uma diminuição da produção de insulina (Diabetes Mellitus tipo II) ou uma completa ausência de insulina (Diabetes Mellitus tipo I), devido à destruição auto-imune das células β do pâncreas. A insulina é responsável por inúmeras funções importantes no organismo, nomeadamente, o desenvolvimento adequado dos tecidos, o crescimento e a manutenção da homeostasia da glicose em todo o corpo. Como tal, a presença desta patologia poderá constituir um grave problema de saúde, caso não seja diagnosticada rapidamente, uma vez que existem várias complicações adjacentes à Diabetes que podem aumentar a mortalidade e diminuir a esperança média de vida.

A insulina humana é utilizada há várias décadas no tratamento da Diabetes, e a sua segurança nunca foi colocada em causa. No entanto, nos últimos anos foram realizados alguns estudos que demonstraram que a utilização de análogos de insulina poderia estar relacionada com o risco de desenvolvimento de neoplasias. Os análogos de insulina são compostos derivados da insulina, com uma composição molecular e/ou estrutural que tenha sido modificada em relação à insulina humana, através de uma técnica de DNA recombinante. Estas modificações, para além, de provocarem alterações nos efeitos metabólicos da insulina podem alterar a sua potência mitogénica, resultando num estímulo para o crescimento de neoplasias pré-existentes.

Embora o mecanismo exacto associado ao potencial carcinogénico dos análogos de insulina ainda continue por esclarecer totalmente, sabe-se que o receptor da insulina e a sua cascata de sinalização são muito semelhantes ao receptor do IGF-I, o que leva a crer que as diferenças entre os análogos de insulina e a insulina humana, estão relacionadas com diferenças na afinidade para o receptor do IGF-I, uma vez que os efeitos do IGF-I são maioritariamente mitogénicos, ao contrário da insulina que tem uma acção metabólica.

Uma vez que os doentes diabéticos estão expostos ao longo da vida a elevadas quantidades de insulina, pois necessitam desta para manter os níveis adequados de glicemia, **as insulinas que provocam um aumento do efeito mitogénico em comparação com a insulina humana de uso corrente constituem uma preocupação em termos de saúde pública.** Sabe-se ainda que, actualmente, existe uma elevada tendência para o tratamento de diabetes com análogos de insulina, nomeadamente a **insulina glargina,**

devido às suas propriedades farmacocinéticas, uma vez que o seu início de acção ocorre duas horas após a administração e mantém-se durante aproximadamente 24 horas, mimetizando a secreção endógena de insulina basal.

Nos últimos anos foram realizados estudos na Alemanha, Suécia, Escócia e Inglaterra, (estudos descritos ao longo deste trabalho) que sugerem que um análogo de insulina, a insulina glargina, pode estar relacionado com o aumento do risco de desenvolvimento de cancro. No entanto, devido ao facto de se tratarem de estudos observacionais e não de ensaios clínicos há necessidade de uma interpretação cautelosa dos resultados obtidos ⁽⁶⁵⁾.

Um estudo clínico assegura que os doentes submetidos a tratamentos diferentes são exactamente semelhantes em todos os aspectos, à excepção do tratamento que estão a efectuar. Pelo contrário, um estudo observacional examina grupos de indivíduos que podem diferir de varias maneiras, tais como idade ou tipo de diabetes, e depois procede a ajustamentos estatísticos relativos a essas diferenças ⁽⁶⁵⁾.

O editor das publicações Diabetologia, Professor Edwin Gale, e o presidente da Associação Europeia para os Estudos da Diabetes, Professor Ulf Smith, consideram as descobertas destes estudos muito revelantes, no entanto consideram importante que sejam realizados mais estudos minuciosos de outros países, antes de anunciar oficialmente a relação entre alguns análogos de insulina e o desenvolvimento de cancro ⁽⁷⁰⁾.

"We believe people are entitled to know that use of Lantus insulin might be associated with greater risk, but this must also be balanced against the possibility that we might be causing unnecessary alarm by raising these concerns." (Prof. Gale e Prof. Smith) ⁽⁷⁰⁾

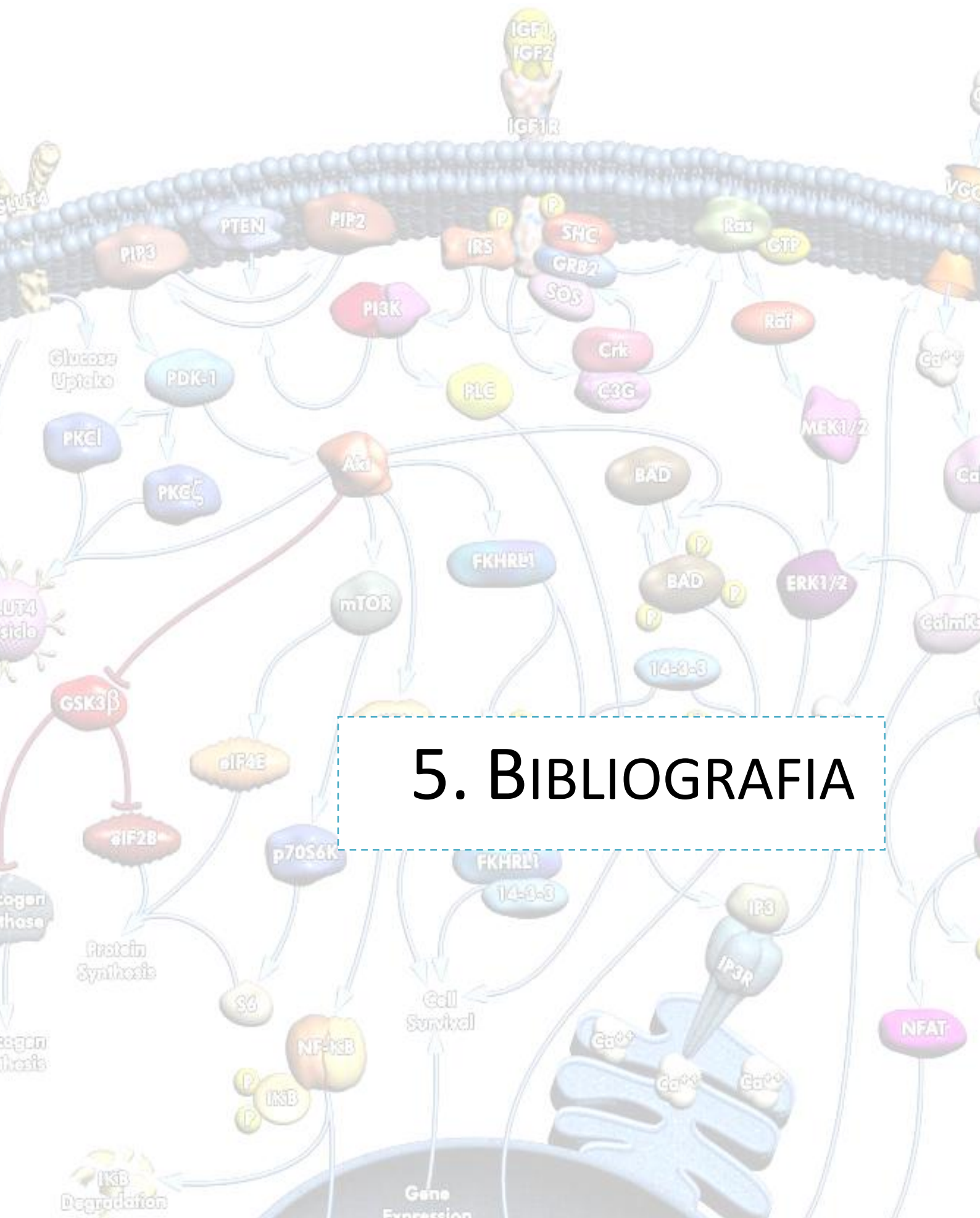
Para comprovar se as preocupações existentes, relativamente ao potencial carcinogénico de alguns análogos de insulina, se justificam ou não, a Associação Europeia para os Estudos da Diabetes tem reportado as suas conclusões à Agência Europeia do Medicamento e à Sanofi-Aventis (indústria responsável pela produção da insulina glargina - Lantus®). Apesar de um estudo prospectivo ser cientificamente o mais indicado, o Professor Edwin Gale e Ulf Smith acham que este estudo para além de mais lento, seria também anti-ético ⁽⁷⁰⁾.

"A large combined analysis of the best available databases worldwide is the best way forward, and EASD and sanofi-aventis are pledged to carry this investigation forward until we have either confirmed these preliminary observations or, more hopefully, finally put them to rest." (Prof. Gale e Prof. Smith) ⁽⁷⁰⁾

Enquanto não existem estudos que realmente comprovem as preocupações existentes, a EASD não recomenda que os doentes parem de tomar insulina glargina com base nas evidências apresentadas nos quatro estudos referidos. Se necessário, o clínico poderá substituir a insulina glargina por um plano terapêutico equivalente, nomeadamente a utilização de uma insulina humana de longa acção ou uma mistura de insulinas humanas de acção longa e acção curta, em vez de um análogo de insulina uma vez por dia ^(20, 65, 70).

Na presença de doentes diabéticos com neoplasia ou, no caso de mulheres diabéticas, com história familiar de cancro da mama, considera-se importante a substituição do análogo da insulina, uma vez que está comprovado que a insulina glargina aumenta a proliferação e divisão celular ^(20, 65, 70).

"People with diabetes do however have the option of using long acting human insulin or a mixture of long- and short-acting human insulin twice a day instead of the once-daily analogue. You may wish to consider this option if you already have a cancer, or, for women, if there is a family history of breast cancer. You should not make any change in your insulin treatment without consulting your own doctor, and you should on no account stop taking your insulin." (Prof. Gale e Prof. Smith) ⁽⁷⁰⁾



5. BIBLIOGRAFIA

1. Ahmed, Am. **History of Diabetes Mellitus**. Saudi Medical Journal. 2002 April; 23(4): pág. 373-378.
2. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, **Diabetes and Impaired Glucose Tolerance**. Consultado em 5 de Abril de 2010, através de: <http://www.diabetesatlas.org/content/diabetes-and-impaired-glucose-tolerance>
3. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, **Morbidity and Mortality**. Consultado em 5 de Abril de 2010, através de: <http://www.diabetesatlas.org/content/diabetes-mortality>
4. World Health Organization. **Diabetes Programme, Diabetes is a common condition and its frequency is dramatically rising all over the world**. Consultado em 6 de Abril de 2010, através de: <http://www.who.int/diabetes/commoncondition/en/>
5. Ministério da Saúde. Direcção-Geral da Saúde. **Diabetes: Factos e Números 2010**. Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. Portugal.
6. World Health Organization. **Prevalence of Diabetes – World map**. Consultado em 6 de Abril de 2010, através de: <http://www.who.int/diabetes/actionnow/en/mapdiabprev.pdf>
7. Mathur, R.; Shiel, W (Ed.). **Diabetes Mellitus**. Artigo consultado em 6 de Abril de 2010, através de: <http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=343>
8. Seeley, R.R; Stephens, T.D; Tate, P. **Anatomia e Fisiologia**. 6ª edição. McGraw-Hill Higher Education; 2003. Pág. 633 - 639
9. Saraiva, J.; Gomes, L.; Carvalheiro, M. **Classificação e Diagnóstico da Diabetes Mellitus – O que há de novo em 2010**. Revista Portuguesa de Diabetes. Nº 5, Vol. 2 (2010): p. 77-82.
10. Imagem retirada do motor de busca Google, através de pesquisa por palavras-chave.
11. Kitabchi, A.E.; Kreisberg, R.A.; Murphy, M.B.; Umpierrez, G.E. **Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes**. Diabetes Care, American Diabetes Association. December 2006: 29(12): pág. 2379 - 2748

12. American Diabetes Association. **Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.** Diabetes Care, American Diabetes Association. January 2004; **27** Suppl 1: pág. 5 – 10.
13. Arneson, W.; Brickell, J. **Clinical Chemistry, A Laboratory Perspective.** Philadelphia: F. A. Davis Company; 2007. Pág. 148 - 162
14. The Merck Manuals, online medical library. **Diabetes Mellitus – Complications.** Consultado em 4 de Junho de 2010, através de: <http://www.merck.com/mmhe/sec13/ch165/ch165a.html>
15. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, **What is Diabetes.** Consultado em 4 de Junho de 2010, através de: <http://www.diabetesatlas.org/content/what-is-diabetes>
16. Mathur, R.; Shiel, W.C (Ed.); Marks, J.W. (Ed.). **Diabetes Treatment.** Consultado em 6 de Abril de 2010, através de: <http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=77938>
17. Pessin, J.E.; Saliel, A.R. **Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance.** The Journal of Clinical Investigation. July 2000; **106**(2): pág. 165 - 169
18. Ahmad, F.; Bai, Z.; Bennett, H.; Lal, A.; Singh, S.R.; Yu, C. **Efficacy and safety of insulin analogues for the management of diabetes mellitus: a meta-analysis.** Canadian Medical Association Journal. February 2009; **180**(4): pág. 385 – 397
19. Committee for proprietary medicinal products (CPMP). **Points to consider document on the non-clinical assessment of the carcinogenic potencial of insulin analogues.** The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. London, November 2001.
20. Pollak, M.; Russell-Jones, D. **Insulin Analogues and Cancer Risk: Cause for Concern or Cause Célèbre?** The International Journal of Clinical Practice. April 2010; **64**(5): pág. 628-636.
21. Rutty, C.J. **Global Heroes: Banting and Best Discover Insulin.** Biology 11 (McGraw-Hill Ryerson). 2001. p. 70. Consultado em 10 de Abril de 2010, através de <http://www.healthheritageresearch.com/MHRBiology11-Insulin.html>

22. The official web site of the Nobel Prize. Diabetes and Insulina, **The Discovery of Insulin**. Consultado a 17 de Junho de 2010, através de: <http://nobelprize.org/educational/medicine/insulin/discovery-insulin.html>
23. Kahn, C.R.; Whites, M.F. **The Insulin Signalling system**. The Journal of Biology Chemistry. January 1994; 269(1): pág. 1 - 4
24. Kasper *et al.* **Harrison's Principles of Internal Medicine**. 17th edition (Digital Edition). The McGraw-Hill Companies. 2008. Chapter Diabetes Mellitus.
25. National Center for Biotechnology Information. **Protein Folding and Processing, Protein Cleavage**. Consultado a 15 de Abril de 2010, através de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=cooper&part=A1199#A1209>
26. Katzung, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10ª edição. São Paulo: McGraw-Hill; 2007. Pág. 617 – 624.
27. Gonçalves, A.M.; Esteves, M.C.; Caldeira, J.L. **Amylin: pancreatic hormone of glucose regulation**. Medicina Interna. 1998; 5(2): 122 - 125
28. Van Etten, R.A.; Krause, D.S. **Tyrosine Kinases as Targets for Cancer Therapy**. The New England Journal of Medicine. July 2005; 353: pág. 172-187
29. Frasca *et al.* **Insulin receptor isoform A, a newly recognized, high-affinity insulin-like growth factor II receptor in fetal and cancer cells**. Molecular and cellular biology. May 1999; 19(5): pág. 3278 – 3288
30. Serrano *et al.* **Differential gene expression of insulin receptor isoforms A and B and insulin receptor substrates 1, 2 and 3 in rat tissues: modulation by aging and differentiation in rat adipose tissue**. Journal of molecular Endocrinology. 2005; 34: pág. 153 – 161
31. Rohan, T.; Yu, H. **Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression**. Journal of the National Cancer Institute. Septiembre 2000; 92(18): pág.1472 – 1489

32. Laron, Z. **Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone.** Journal of Clinical Pathology: Molecular Pathology. 2001; 54: pág. 311–316
33. Brooke, G.S.; DiMarchi, R.D.; Sliker, L.J. et al, **Modifications in the B10 and B26–30 regions of the B chain of human insulin alter affinity for the human IGF-I receptor more than for the insulin receptor.** Diabetologia. 1997; 40: S54–S61
34. Humbert, R.E.; Rinderknecht, E. **The Amino Acid Sequence of Human Insulin-like Growth Factor I and Its Structural Homology with Proinsulin.** The Journal of Biological Chemistry. April 1978; (253)8: pág. 2769 – 2776.
35. Hankinson, S.E.; Pollak, M.N.; Schernhammer, E.S. **Insulin-Like Growth Factors and Neoplasia.** Nature Reviews, Cancer. July 2004; 4; pág. 505 - 518
36. Clemmons, D.R. **Modifying IGF1 activity: an approach to treat endocrine disorders, atherosclerosis and cancer.** Nature Reviews – Drug Discovery. October 2007; 6: pág. 821 – 833
37. Carmignac, D.; Hauge-Evans, A.C.; King, A.J. **Somatostatin Secreted by Islet δ -cells Fulfills Multiple Roles as a Paracrine Regulator of Islet Function.** American Diabetes Association. 2009 February; 58(2): pág. 403–411.
38. Accili, D.; Rother, K.I. **Role of insulin receptors and IGF receptors in growth and development.** International Pediatric Nephrology Association. 2000; 14: pág. 558–561
39. Eckardt, K.; Eckel, J.; Koenen, M.; May, C. **IGF-I receptor signaling determines the mitogenic potency of insulin analogues in human smooth muscle cells and fibroblasts.** Diabetologia. 2007; 50: pág. 2534 – 2543.
40. Baserga, R.; Peruzzi, F.; Reis, K. **The IGF-I receptor in cancer biology.** International Journal of Cancer. 2003; 107: pág. 873 – 877
41. Yee, D.; Zeng, X. **Insulin-Like Growth Factors and Breast Cancer Therapy.** National Center for Biotechnology Information. Consultado em 15 de Abril de 2010, através de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=eurekah&part=A53172>

42. Cohen, P.; Kaplan, P.J.; Mohan, S. **The Insulin-like Growth Factor Axis and Prostate Cancer: Lessons from the Transgenic Adenocarcinoma of Mouse Prostate (TRAMP) Model.** Cancer Research. May 1999; 59: pág. 2203 – 2209
43. British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. **British National Formulary.** BNF 58. Septiembre 2009.
44. INFARMED. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde. **Prontuário Terapêutico 9.** Março de 2010: p. 327-330
45. Bolli, G.B.; Koivisto, V.A.; Di Marchi, R.D.; Park, G.D.; Pramming, S. **Insulin analogues and their potential in the management of diabetes mellitus.** Diabetologia. 1999; 42: pág. 1151- 1167
46. Fontaine, P.; Gall, M.A.; Hermansen, K.; Kukolja, K.K.; Leth, G.; Peterkova, V. **Insulin analogues (insulin detemir and insulin aspart) versus traditional human insulins (NPH insulin and regular human insulin) in basal-bolus therapy for patients with Type 1 diabetes.** Diabetologia. 2004; 47: pág. 622 – 629
47. Berger, M.; Binder, C.; Johannesen, J.; Petersen, K.F. **New insulins and other possible therapeutic approaches.** Diabetologia. 1997; 40: pág. B89 – B93
48. Berger, M.; Heinemann, L. **Are presently available insulin analogues clinically beneficial?** Diabetologia. 1997; 40: pág. S91–S96
49. Valla, V. **Therapeutics of Diabetes Mellitus: Focus on Insulin Analogues and Insulin Pumps.** Experimental Diabetes Research. 2010; pág. 1 -14
50. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) do Humalog®.** Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_Summary_for_the_public/human/000088/WC500050328.pdf
51. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo das Características do Medicamento Humalog®.** Consultado a 20 de Junho de 2010, através de:

http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Product_Information/human/000088/WC500050332.pdf

52. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) do NovoRapid®**. Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Summary_for_the_public/human/000258/WC500030368.pdf

53. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo das Características do Medicamento NovoRapid®**. Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Product_Information/human/000258/WC500030372.pdf

54. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) do NovoMix®**. Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Summary_for_the_public/human/000308/WC500029434.pdf

55. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) da Apidra®**. Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Summary_for_the_public/human/000557/WC500025244.pdf

56. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo das Características do Medicamento Apidra®**. Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Product_Information/human/000557/WC500025250.pdf

57. Berghold, A.; Plank, J.; Siebenhofer, A. *et al.* **Systematic Review and Meta-analysis of Short-Acting Insulin Analogues in Patients With Diabetes Mellitus**. Archives of Internal Medicine. 2005; 165: pág. 1337 – 1344.

58. University of California. San Francisco. **Insulin Analogues**. Consultado através a 21 de Junho de 2010, através de: <http://www.deo.ucsf.edu/type1/diabetes-treatment/medications-and-therapies/type-1-insulin-rx/insulin-analog.html>

59. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo das Características do Medicamento Lantus®.** Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Product_Information/human/000284/WC500036082.pdf
60. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo do Relatório Público Europeu de Avaliação (EPAR) do Levemir®.** Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Summary_for_the_public/human/000528/WC500036661.pdf
61. Agência Europeia do Medicamento. **Resumo das Características do Medicamento Levemir®.** Consultado a 20 de Junho de 2010, através de: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR__Product_Information/human/000528/WC500036662.pdf
62. Yehezkel, E. *et al.* **Long-acting insulin analogues elicit atypical signalling events mediated by the insulin receptor and insulin like growth factor-I receptor.** Diabetologia. 2010.
63. Weinstein, D. *et al.* **Insulin analogues display IGF-I-like mitogenic and anti-apoptotic activities in cultured cancer cells.** Diabetes/Metabolism Research and Reviews. 2009; **25**: pág. 41 – 49
64. Hemkens, L.G.; Grouven, U.; Gunster, C. *et al.* **Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study.** Diabetologia. Junho 2009; 52: pág.1732 - 1744
65. Brito, C.P.; Duarte, R. **Análogos da Insulina e Cancro: Uma possível ligação que necessita de ser mais investigada.** Revista Portuguesa e Diabetes. 2009; 4 (3): p. 134-140
66. Jonasson, J.M.; Ljung, R.; **Insulin glargine use and short-term incidence of malignancies—a population-based follow-up study in Sweden** Talback, M. *et al.* Diabetologia. Maio 2009.

67. Colhoun, H.M.; SDRN Epidemiology Group. **Use of insulin glargine and cancer incidence in Scotland: a study from the Scottish Diabetes Research Network Epidemiology Group.** Diabetologia. Julho de 2009; 52: pág. 1755 – 1765.
68. Currie,C.J.; Poole,C.D.; Gale, A.M. **The influence of glucose-lowering therapies on câncer risk in type 2 Diabetes.** Diabetologia. 2009
69. Shukla, A.; Grisouard, J.; Ehemann,V. *et al.* **Analysis of signaling pathways related to cell proliferation stimulated by insulin analogs in human mammary epithelial cell lines.** Endocrine-Related Cancer. 2009; 16: pág. 429 - 441
70. **Possible link between insulin glargina and cancer prompts urgent call for more research.** Comunicado de Imprensa disponível em Diabetologia, Jornal da Associação Europeia para os Estudos da Diabetes. Consultado em 30 de Agosto, através de: <http://www.diabetologia-journal.org/cancer.html>