

# Aspectos atuais do efeito da leucina sobre o controle glicêmico e a resistência à insulina

## *Current aspects of leucine effect on glucose control and insulin resistance*

### ABSTRACT

TORRES-LEAL, F. L.; VIANNA, D.; TEODORO, G. F. R.; CAPITANI, M. D.; TIRAPEGUI, J. Current aspects of leucine effect on glucose control and insulin resistance. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v. 35, n. 2, p. 131-143, ago. 2010.

*The incidence of obesity and type 2 diabetes mellitus is increasing in epidemic proportions. Currently, several studies have suggested that signals from amino acids and hormones present convergence that can lead to changes in glucose metabolism and insulin sensitivity, thus having effects on the maintenance of body weight. Although in vitro and in vivo studies show considerable effects of leucine on energy homeostasis, by possible effects on satiety and on energy expenditure increase, as well as on genes and on protein expression in several tissues mainly in adipocytes, other effects have been noted to impair glucose homeostasis by promoting insulin resistance and increased gluconeogenesis. Furthermore, leucine signaling is integrated by the protein target of rapamycin in mammals (mTOR), a sensor of energy that phosphorylates S6K protein, which is able to phosphorylate serine 307 of the insulin receptor 1 substrate as a negative feedback and therefore favor insulin resistance. Thus, the understanding of integrated transductional, hormonal and nutrient (leucine) signals may favor the clarification over new approaches to the treatment of various metabolic diseases such as obesity and diabetes. In conclusion, the objective of this study was to review the role of leucine in glycemic control and insulin resistance.*

**Keywords: Adipocytes. Leucine. Blood Glucose. Insulin Resistance.**

**FRANCISCO LEONARDO TORRES-LEAL<sup>1</sup>; DAIANA VIANNA<sup>1</sup>; GABRIELA FULLIN RESENDE TEODORO<sup>1</sup>; MARIANA DUTILH DE CAPITANI<sup>1</sup>; JULIO TIRAPEGUI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo

**Endereço para correspondência:**

Julio Tirapegui  
Av. Prof. Lineu Prestes, 580,  
Bloco 14 - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo  
CEP 05508-900  
São Paulo - SP - Brasil  
e-mail: tirapegu@usp.br

**Agradecimentos:**

à FAPESP pela concessão da bolsa de mestrado de Francisco Leonardo Torres-Leal  
(Processo: 07-51964-9)  
e ao apoio financeiro (Processo: 07-592913).

## RESUMEN

*La incidencia de obesidad y diabetes mellitus tipo 2 esta aumentando en proporciones epidémicas. Actualmente diversos estudios sugieren que señales convergentes originados de aminoácidos y hormonas pueden favorecer alteraciones en el metabolismo de la glucosa y en la sensibilidad a la insulina afectando la mantención del peso corporal. A pesar de estudios in vitro e in vivo que presentan importantes efectos de la leucina en la homeostasis energética, por posibles acción sobre la saciedad y el aumento del gasto energético, como también en los genes y la expresión de proteínas en varios tejidos, principalmente el adiposo, otros efectos se han destacados por perjudicar la homeostasis de la glucosa, promoviendo resistencia a insulina y aumento de la gluconeogénesis. Además, la señalización de la leucina es integrada por la proteína alvo de rapamicina en mamíferos (mTOR), un sensor energético que fosforila la proteína S6k, esta, capaz de actuar por feedback negativo, fosforilando la serina 307 del sustrato del receptor de insulina-1 y consecuentemente, favorece la resistencia a la insulina. Así, el entendimiento integrado de las señales transduccionales, hormonales y por nutrientes (leucina), pueden favorecer el entendimiento de nuevos enfoques para el tratamiento de varias enfermedades metabólicas, tales como la obesidad y la diabetes. El objetivo de este estudio fue revisar el papel de la leucina en el control de la glucemia y en la resistencia a la insulina.*

**Palabras clave: Adipocitos. Leucina. Glucemia. Resistencia a la Insulina.**

## RESUMO

*A incidência da obesidade e do diabetes mellitus tipo 2 está aumentando em proporções epidémicas. Atualmente, diversos estudos têm sugerido que sinais oriundos de aminoácidos e hormônios apresentam convergência, podendo favorecer mudanças no metabolismo da glicose e na sensibilidade à insulina e, portanto, exercem efeitos sobre a manutenção do peso corporal. Embora estudos in vitro e in vivo apresentem importantes efeitos da leucina na homeostase energética, por possíveis efeitos na saciedade e no aumento do gasto energético, bem como nos genes e na expressão de proteínas em vários tecidos principalmente nos adiposos, outros efeitos têm sido destacados por prejudicar a homeostase da glicose, promovendo a resistência à insulina e o aumento da gluconeogênese. Além disso, a sinalização da leucina é integrada pela proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), um sensor energético, que fosforila a proteína S6k, sendo esta capaz de agir por feedback negativo, fosforilando na serina 307 o substrato do receptor de insulina-1 e, consecuentemente, favorecendo a resistência à insulina. Desse modo, o entendimento integrado dos sinais transduccionais, hormonais e por nutrientes (leucina), podem favorecer o esclarecimento sobre novas abordagens para o tratamento de várias doenças metabólicas, tais como a obesidade e o diabetes. Posto isso, o objetivo deste estudo foi revisar o papel da leucina no controle glicêmico e na resistência à insulina.*

**Palavras-chave: Adipócitos. Leucina. Glicemia. Resistência à Insulina.**

## INTRODUÇÃO

As células eucarióticas, as macromoléculas e o metabolismo energético são regulados por uma complexa rede de sistemas, responsiva a metabólitos, nutrientes e hormônios. Alguns hormônios (cortisol, glucagon e catecolaminas) e outras moléculas (citocinas) apresentam efeitos catabólicos, enquanto que a insulina e o aminoácido de cadeia ramificada (ACR) leucina apresentam ações capazes de estimular a síntese protéica, o metabolismo da glicose e a produção de energia (ARAUJO et al., 2006; DONATO Jr.; PEDROSA; TIRAPÉGUI, 2004; DONATO et al., 2006; DONATO et al., 2007; MANDERS et al., 2006). No entanto, as vias intracelulares catabólicas e anabólicas são muito complexas e estão envolvidas com inúmeras moléculas que podem influenciar umas às outras, dificultando a compreensão do exato funcionamento de tais vias (BEUGNET et al., 2003; DANN; THOMAS, 2006; PROUD, 2004; RODGERS et al., 2005; TOKUNAGA; YOSHINO; YONEZAWA, 2004; TREMBLAY; MARETTE, 2001).

Nesse contexto, a literatura atual deixa poucas dúvidas de que os aminoácidos (AA) agem como moléculas sinalizadoras e desempenham papéis cruciais em múltiplas funções biológicas. Entre estas está a regulação do metabolismo proteico, bem como os efeitos sobre a homeostase da glicose ou na regulação de genes que participam na transcrição. Por muito tempo, os aminoácidos eram vistos como agentes sinérgicos em outras vias de sinalização. Por exemplo, a contribuição de aminoácidos, mais precisamente dos aminoácidos de cadeia ramificada, sobre a via de sinalização da insulina é claramente demonstrada, mas alguns aspectos continuam controversos.

Considerando a relevância do tema, bem como a existência de discordância nos resultados obtidos por meio de diversos estudos, o objetivo deste trabalho foi revisar os aspectos atuais do efeito da leucina sobre o controle glicêmico e a resistência à insulina, assim como a sinalização da mTOR na resistência à insulina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para atender ao objetivo principal, buscou-se analisar, nesta revisão, todos os artigos que tinham como objetivo direto a investigação dos efeitos da suplementação de aminoácidos – em especial os ACR e/ou leucina – na sinalização da insulina em adipócitos e que poderiam, de acordo com a experiência dos autores, responder quais fatores metodológicos explicariam a divergência observada na literatura. Também foram selecionadas revisões que traziam opiniões de especialistas, ainda que fragmentadas, sobre o tema discutido neste trabalho. Utilizou-se, para tanto, a base de dados *Pubmed*. Os termos empregados na busca foram: *amino acids and insulin signaling, insulin resistance, glucose transport, PKB/mTOR pathway, adipocytes*. Além disso, estudos resumidos que contribuiriam para o entendimento do tema, também foram incluídos.

## POTENCIAL FUNÇÃO DOS AMINOÁCIDOS NO CONTROLE GLICÊMICO

A interação dos AA com o metabolismo dos carboidratos tem sido pesquisada ao longo dos anos. Entretanto, ainda não está bem estabelecido se o aumento da quantidade de proteína na dieta tem efeito positivo ou negativo no controle glicêmico (LAYMAN; WALKER, 2006).

Alguns estudos sugerem que os AA aumentam a glicemia de jejum (KREBS et al., 2002), causam hiperinsulinemia (FERRANNINI et al., 1988), inibem a ação periférica da insulina (KREBS et al., 2002) e reduzem o transporte de glicose (FERRANNINI et al., 1988). Por outro lado, dietas hiperprotéicas reduzem a glicemia pós-prandial e a secreção de insulina, estabilizam a glicose sanguínea em indivíduos com diabetes tipo II (GANNON et al., 2001) e/ou obesos e promovem perda de gordura corporal (LAYMAN et al., 2003).

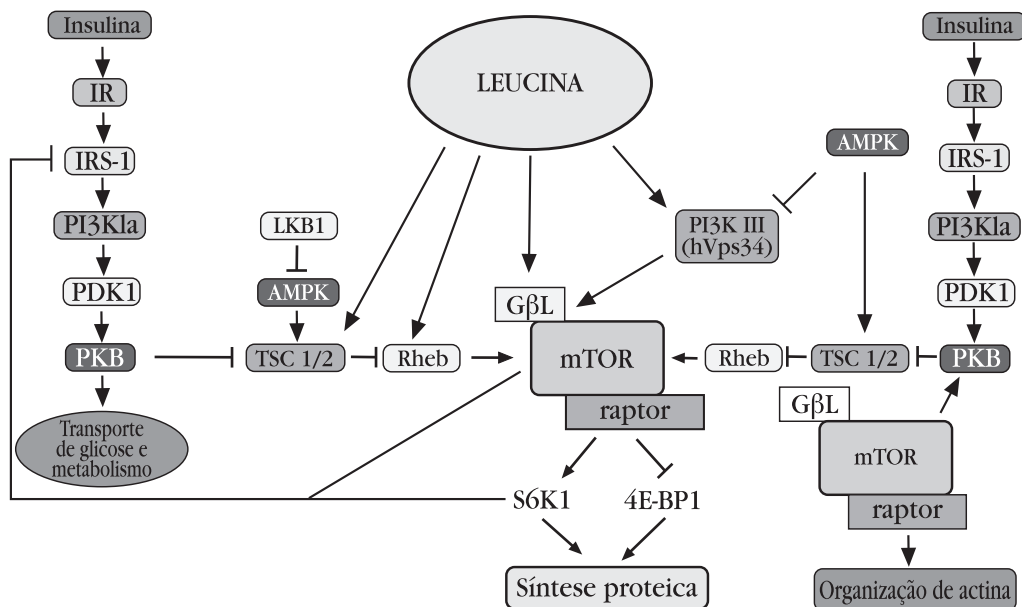
Os AA contribuem para a homeostase glicêmica e para a síntese hepática de glicose (MANDERS et al., 2006; ROSSI; TIRAPEGUI, 2005). Neste contexto, Jungas, Halperin e Brosnan (1992) observaram que os AA são utilizados como fontes de energia pelo fígado, doando sua cadeia carbônica para a gliconeogênese hepática. Nessa perspectiva, pesquisadores demonstraram que a gliconeogênese é responsável por 46 a 70% da liberação hepática da glicose de jejum, tendo os AA fornecendo suas cadeias carbônicas para esse processo (BALASUBRAMANYAM et al., 1999). Estima-se que a contribuição da cadeia carbônica dos AA de 1g da proteína da dieta para a síntese *de novo* de glicose seja de 0,6 a 0,7g de glicose (GANNON et al., 2001).

Em função disso, os ACR, sobretudo a leucina, têm sido estudados devido ao seu papel-chave nesse processo e por serem considerados sensores metabólicos para a seleção do combustível energético (ROGERO; TIRAPEGUI, 2008). A leucina estimula a síntese proteica pela modulação de elementos que atuam na tradução da via de sinalização da insulina via fosfatidilinositol 3 quinase (PI3-K) (Figura 1). Esse aminoácido inibe a sinalização da insulina e diminui a utilização de glicose muscular (KREBS et al., 2002), possivelmente por ativar a proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), a qual estimula a fosforilação dos substratos do receptor de insulina-1 (IRS-1) em serina 307 que, por sua vez, reduz a atividade da PI3-K (BAUM et al., 2005).

Nessa perspectiva, observou-se que a modulação da atividade da PI3-K não altera a captação de glicose pelo músculo esquelético, sugerindo que a fosforilação da IRS-1 realizada pela mTOR é um componente de regulação de *feedback* normal que pode limitar a sinalização da insulina (BAUM et al., 2005), afetando a disposição e a síntese de glicose no fígado (KREBS et al., 2002).

Recentemente, Zhang et al. (2007) observaram em camundongos que consumiam ração hiperlipídica mais suplementação com leucina, redução na glicemia de jejum. Este efeito pode estar relacionado com a melhora da sensibilidade à insulina, o que se associou à diminuição da adiposidade. Todavia, o envolvimento de outros mecanismos não deve ser descartado, como o decréscimo das concentrações plasmáticas de glucagon

e de AA glicogênicos e a regulação negativa (*downregulation*) da enzima hepática glicose-6-fosfatase. Estes resultados sugerem que a síntese de glicose hepática pode estar diminuída em camundongos que consomem dieta rica em gordura suplementada com leucina, o que poderia contribuir para a otimização do controle glicêmico.



4E-BP1, proteína 1 ligante do fator de iniciação eucariótico 4E; AMPK, proteína quinase ativada por AMP; GβL, G protein β-subunit-like protein; IR, Receptor de insulina; IRS-1, substrato do receptor de insulina; LKB1, proteína quinase treonina/serina supressora de tumor-1; mTOR, proteína alvo da rapamicina em mamíferos; PDK1, Fosfatidil inositol 3 quinase; PI3K1a, classe 1a da Fosfatidilinositol 3-quinase; PI3KIII, classe 3 da Fosfatidilinositol 3-quinase; PKB, proteína quinase B, Raptor, Proteína regulatória associada ao mTOR; Rheb, homólogo de ras enriquecido no cérebro; S6k1, proteína ribossomal S6; TSC1/2: proteína hamartina/tuberina.

**Figura 1 – Regulação da via mTOR pela insulina e leucina. Adaptado de Hinault; Van Obberghen e Mothe-Satney (2006b)**

A leucina possui efeito bifásico na secreção do hormônio glucagon, sendo estimulatória quando as concentrações de glicose estão baixas; porém, inibitória quando as concentrações de glicose estão elevadas (LECLERCQ-MEYER et al., 1985), o que pode suprimir a secreção de glucagon indiretamente pela diminuição das concentrações de secretagogos do glucagon, tais como a glutamina, a glicina e a alanina (KUHARA et al., 1991).

A leucina também pode afetar o metabolismo da glicose pela estimulação da secreção de insulina (KUHARA et al., 1991; LECLERCQ-MEYER et al., 1985). No estudo supracitado foi verificado que, embora as concentrações de insulina de jejum fossem menores nos camundongos, provavelmente a sensibilidade à insulina era potencializada. Desse modo, não deve ser descartada a hipótese de que a leucina pode, transitoriamente, estimular a secreção desse hormônio nesses animais (ZHANG et al., 2007).

## PAPEL DA LEUCINA NA SINALIZAÇÃO DA INSULINA EM ADIPÓCITOS E NO TRANSPORTE DE GLICOSE

Diversos estudos avaliaram o papel dos AA na captação de glicose, bem como o seu impacto na sinalização da insulina (Tabela 1). Foi observado que alguns AA inibiam a atividade da PI3-K em resposta à insulina; efeito este decorrente da ativação da mTOR, que exerce, por *feedback* negativo, a sinalização da insulina por fosforilação do IRS-1 em resíduos de serina, encontrada previamente em diferentes tipos de células, incluindo adipócitos (TREMBLAY et al., 2005a; TZATSOS; KANDROR, 2006). Entretanto, os AA não apresentaram nenhum efeito na fosforilação da proteína quinase B (PKB ou Akt) via insulina, o que tem sido correlacionado com o fato de que esta via não proporciona danos no transporte de glicose (HINAULT et al., 2004).

**Tabela 1 – Estudos envolvendo estímulos por leucina, proteína e mistura de AA em vias que podem influenciar a captação de glicose**

<b>Autores</b>	<b>Características da amostra</b>	<b>Estímulos</b>	<b>Efeitos</b>
Leclercq-Meyer et al., 1985	soro de humanos	leucina	↑ [ ] de insulina
Lynch et al., 2000	adipócitos	leucina	↑ atividade da mTOR
Gannon et al., 2001	humanos com diabetes tipo 2	proteína	↑ insulina e glucagon,
Krebs et al., 2002	músculo esquelético de humanos e soro	aminoácidos (leucina)	↓ da sensibilidade à insulina
Hinault et al., 2004	tecido adiposo e cultura de tecido adiposo de camundongos <i>db/db</i>	aminoácidos (leucina) e/ ou insulina	↑ atividade da mTOR, PKB, IRS-1, captação de glicose, lipogênese
Baum et al., 2005	músculo e soro de ratos	leucina	↑ atividade da mTOR, PI3K
Tremblay et al., 2005a	adipócitos de humanos e 3T3-L1	aminoácidos + insulina	↑ o transporte de glicose
Donato et al., 2006	composição química da carcaça e músculo de ratos	leucina	↓ gordura corporal ↑ proteína hepática e RNA muscular
Hinault et al., 2006	cultura primária e 3T3-L1	aminoácidos (leucina) e/ ou insulina	↑ atividade da mTOR, PKB, captação de glicose
Manders et al., 2006	humanos com diabetes tipo 2	proteína (leucina)	↑ [ ] de insulina ↓ [ ] de glicose posprandial
Tzatsos e Kandror, 2006	3T3-L1 e L6	–	↑ atividade da mTOR leva a resistência à insulina
Donato et al., 2007	soro de ratos	leucina	↔ insulina e glicose
Krebs et al., 2007	músculo esquelético de humanos	aminoácidos (leucina) e/ ou insulina	↓ da sensibilidade à insulina ↑ atividade da mTOR leva a resistência à insulina
Tremblay et al., 2007b	camundongos <i>S6k1<sup>-/-</sup></i> e cultura de células musculares L6	aminoácidos	↓ da sensibilidade à insulina ↑ a fosforilação da ser 1101 do IRS-1
Zhang et al., 2007	camundongos	leucina	↓ [ ] glicose, glucagon e insulina ↓ HOMA e teste de tolerância à insulina

Paralelamente, os autores observaram que a adição de AA diminuiu a ação da *wortmannin* – um inibidor da PI3-K que diminui de forma acentuada o transporte de glicose realizado pela insulina – em adipócitos de ratos tratados com esse composto. A inibição da ação do *wortmannin* também foi observada igualmente com a leucina, sendo que este aminoácido é o sinalizador mais potente da mTOR em adipócitos (LYNCH et al., 2000), dentre os ACR.

Outro aspecto oportuno a ser destacado é a ação da PKB – proteína responsável pela restauração do transporte de glicose – quando a PI3-K é inibida. Nestas condições, ambos os locais de fosforilação da PKB (treonina-308 e serina-473) são fosforilados e a atividade da isoforma- $\beta$  – que é a isoforma mais ativada em resposta à insulina em adipócitos de ratos – é parcialmente restaurada (WALKER et al., 1998). Nessa perspectiva, pesquisadores revelaram que a insulina e a leucina estimulam a via da mTOR na presença de *wortmannin*, como evidenciado pela fosforilação da proteína ribossomal S6 (S6K1) e da proteína 1 ligante do fator de iniciação eucariótico 4E (4E-BP1) na treonina-389 e treonina-36/45, respectivamente (HINAULT et al., 2004).

## **A LEUCINA E A VIA DE SINALIZAÇÃO DA mTOR NA RESISTÊNCIA À INSULINA**

Defeitos na sinalização da insulina são as maiores causas da resistência em tecidos periféricos à ação deste hormônio em indivíduos obesos e com diabetes tipo II (SCHINNER et al., 2005). Nesse sentido, um dos principais alvos envolvidos neste processo são os IRS (GUAL; LE MARCHAND-BRUSTEL; TANTI, 2005; ZICK, 2004). O IRS-1 e o IRS-2 são proteínas citoplasmáticas que apresentam sítios de fosforilação em resíduos de tirosina com a sequência repetida YMXM ou YXXM, onde Y é tirosina, M é metionina e X é qualquer aminoácido (WHITE, 1997). A fosforilação da tirosina permite sua associação a proteínas que possuem domínios SH2 e SH3 de reconhecimento específico para fosfotirosina.

Dessa forma, as proteínas IRS-1 e IRS-2 desempenham função essencial na transmissão do sinal insulínico, sendo que a fosforilação desses substratos permite a interação com diversas proteínas adaptadoras ou com a atividade enzimática, caracterizando as várias influências da insulina sobre diversas quinases. Adicionalmente, há estreita associação entre a enzima PI3-K com IRS-1 e IRS-2 após a estimulação com insulina (FOLLI et al., 1992). A PI3-K é uma enzima que contém dois sítios SH2 e um SH3 (CARPENTER; CANTLEY, 1990), além de ser a mais estudada molécula sinalizadora ativada pela IRS-1. As proteínas IRS-1 e IRS-2 participam da ativação das vias PI3-K/PKB.

Quando as funções da insulina são inibidas, a maioria das respostas metabólicas realizadas por este hormônio é interrompida. Nessa perspectiva, tem sido mostrado que o IRS-1 regula algumas vias por diferentes mecanismos: (a) aumento da fosforilação da serina, levando sua dissociação do receptor de insulina ou da subunidade reguladora da PI3-K; (b) elevação da degradação via proteasoma – que é um complexo capaz de



degradar praticamente qualquer proteína em oligopeptídios de sete a nove aminoácidos com consumo de ATP; e (c) diminuição da transcrição do mRNA da IRS-1. Recentemente, a sinalização da mTOR tem sido envolvida nestes diferentes mecanismos que conduzem o bloqueio da IRS-1. Conseqüentemente, a mTOR e a S6K1 podem induzir a fosforilação da serina IRS-1 e, assim, afetar o *turnover* desta proteína. Além disso, S6K1 e S6K2 foram apontadas como responsáveis por reduzir a transcrição do IRS-1 (HARRINGTON; FINDLAY; LAMB, 2005).

Alguns estudos têm mostrado que o consumo excessivo de proteínas está associado com o aumento do risco de desenvolvimento da resistência à insulina e com o diabetes tipo II (PROMINTZER; KREBS, 2006; TREMBLAY et al., 2007a), sugerindo que os diferentes estados de resistência à insulina possam estar associados com a ativação crônica da via mTOR/S6K. No estudo de Krebs et al. (2007), os autores observaram que a via mTOR/S6K é ativada de forma aguda por discreto aumento nas concentrações de insulina plasmática e de AA em indivíduos saudáveis e sensíveis à insulina. Portanto, não se pode excluir que a resistência à insulina, associada à ativação crônica da via da mTOR/S6K, não responda rapidamente à inibição da mTOR. Dentro desse contexto, destaca-se que a via da mTOR pode modular a sensibilidade à insulina em seres humanos e que a via mTOR/S6K apresenta papel relevante na diminuição da sensibilidade à insulina na presença de excesso de nutrientes, podendo ser alvo na prevenção e no tratamento dos efeitos de drogas e determinados nutrientes que possam levar a um estado de resistência à insulina por ativação crônica desta via.

Recentemente, Tremblay et al. (2007b) levantaram a hipótese de que a resistência à insulina induzida por AA estivesse ligada à fosforilação da IRS-1 (serina-1101) mediada pela S6K1. Nesse sentido, os autores observaram que a infusão de insulina favoreceu discreto aumento na atividade da S6K1. Já o efeito combinado de insulina com AA desencadeou maior ativação da S6K1, acarretando maior fosforilação da IRS-1 (serina-1101). Estes resultados indicam que a S6K1 é responsável por promover um estado de resistência à insulina em humanos e em camundongos na presença de excesso de nutrientes como, por exemplo, da leucina. Entretanto, é atualmente desconhecido se a maior ativação da S6K1 é uma característica comum em indivíduos obesos e resistentes à insulina. Por outro lado, a prescrição de anticorpos fosfoespecíficos para IRS-1 (ser-1101) e S6K1 (treonina-389) pode ser usada como estratégia para futuros tratamentos nesta condição patofisiológica.

Um aspecto oportuno a ser ressaltado diz respeito à via da mTOR que aparece como reguladora negativa da ação da insulina. Recentemente, tem sido proposto que, por *feedback* negativo, esta via pode participar na resistência à insulina em modelos de animais obesos (TREMBLAY et al., 2005b). Estes resultados sugerem que os AA, consumidos em quantidade excessiva na obesidade, conduzam à hiperatividade na via da mTOR e, conseqüentemente, à maior inibição da IRS-1. Entretanto, a importância desta regulação no desenvolvimento e/ou na manutenção da resistência à insulina permanece pouco elucidada.



Nesse contexto, foram observados diferentes efeitos dos AA em adipócitos em situações fisiopatológicas. Além disso, tem sido encontrado na literatura que AA apresentam efeitos estimulantes no transporte de glicose realizado pela insulina em adipócitos de ratos alimentados com dieta hiperlipídica, semelhantemente aos efeitos encontrados nos ratos controles (HINAULT et al., 2006a).

Em explantes de tecido adiposo de camundongos *db/db*, não foram observados efeitos significativos com uma mistura de AA, porém, com a leucina, observou-se melhora na ativação da PKB induzida pela insulina (HINAULT et al., 2004). Outros resultados do mesmo autor mostram que os AA poderiam ter efeitos benéficos em situações patológicas nas quais a via de sinalização da insulina é prejudicada, especialmente na ação da PI3-K.

No estudo de Walker et al. (1998), foi demonstrado que AA em combinação com a insulina podem ativar a PKB independentemente da PI3-K. Nessa perspectiva, pode-se destacar esta via como uma “via silenciosa” em situações normais, podendo ter papel importante na resistência à insulina. Dessa maneira, acredita-se que ela esteja envolvida na rota clássica da PI3-K, permitindo a ativação da PKB e restaurando o transporte de glicose pela insulina.

Ainda não se sabe como os AA e a insulina poderiam contribuir para essa resposta, porém seus efeitos têm sido observados somente em condições específicas. Outra explicação poderia estar relacionada ao efeito específico exercido pelos AA em adipócitos. Além disso, outros tipos de células têm sido testadas – incluindo adipócitos 3T3-L1, hepatócitos de ratos e tecido muscular – na restauração da via PKB/mTOR na presença de insulina e de leucina, quando a PI3-K é inibida; destacando que somente foram observados estes efeitos em adipócitos isolados de ratos e explantes do tecido adiposo (HINAULT et al., 2006a).

Desta forma, os dados atuais da literatura permitem assinalar o papel relevante dos AA na sinalização da insulina, mais precisamente, o efeito positivo da leucina na melhora da resistência à insulina. Esta via tem papel importante na restauração do transporte de glicose e na sinalização da insulina, uma vez que a rota clássica da PI3-K é prejudicada pela resistência à insulina. Porém, o efeito combinado da insulina e da leucina parece ser específico para o tecido adiposo e não depende do complexo TOR sensível à rapamicina, que, por sua vez, é considerado como um regulador negativo da ação da insulina nesse tecido.

Ressalta-se ainda que apesar dos AA apresentarem múltiplas respostas biológicas, a resposta destes compostos, em especial da leucina, é dependente do tipo de tecido e da condição fisiológica e/ou fisiopatológica. Por exemplo, os AA podem desempenhar papéis opostos na homeostase da glicose em adipócitos, contudo é importante determinar qual efeito é prevalente nas diversas situações fisiológicas. Nessa perspectiva, torna-se relevante determinar se os AA, em destaque a leucina, poderiam ser usados como estratégias no tratamento da resistência à insulina e nos defeitos do metabolismo da glicose.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre todos os AA, o efeito anabólico da leucina sobre a síntese proteica é de grande interesse nutricional, por reduzir a perda de massa magra que ocorre em estados catabólicos e em situações fisiológicas específicas, como no envelhecimento. Este nutriente é eficaz em estimular a síntese proteica, reduzir a proteólise e, portanto, favorecer o balanço nitrogenado positivo.

As evidências destacam que o uso prolongado em altas doses de leucina favorece a resistência à insulina, a qual resulta em hiperglicemia, o que, conseqüentemente, afetaria a estimulação da síntese protéica. Embora partes das vias de sinalização da insulina e da síntese protéica estejam envolvidas na regulação do metabolismo da glicose, é possível que altas doses de leucina possam ocasionar anormalidades no metabolismo da glicose. Por outro lado, a administração de leucina pode ser benéfica, porém o período e as concentrações a serem utilizadas são parâmetros fundamentais para o controle da homeostase glicêmica. Diante do exposto, mais pesquisas são necessárias no sentido de investigar a dose exata de leucina e o período de administração, para que se alcancem os efeitos desejados no metabolismo da glicose e na via de sinalização da insulina, podendo esta estratégia ser uma ferramenta útil a ser aplicada para o tratamento da obesidade e do diabetes.

## REFERÊNCIAS/REFERENCES

- ARAUJO, Jr. J.; FALAVIGNA, G.; ROGERO, M. M.; PIRES, I. S. O.; PEDROSA, R. G.; CASTRO, I. A.; TIRAPEGUI, J. Effect of chronic supplementation with branched-chain amino acids on the performance and hepatic and muscle glycogen content in trained rats. *Life Sci.*, v. 79, n. 14, p. 1343-1348, 2006.
- BALASUBRAMANYAM, A.; MCKAY, S.; NADKARNI, P.; RAJAN, A. S.; GARZA, A.; PAVLIK, V.; HERD, J. A.; JAHOR, F.; REEDS, P. J. Ethnicity affects the postprandial regulation of glycogenolysis. *Am. J. Physiol.*, v. 277, n. 5, pt. 1, p. E905-914, 1999.
- BAUM, J. I.; O'CONNOR, J. C.; SEYLER, J. E.; ANTHONY, T. G.; FREUND, G. G.; LAYMAN, D. K. Leucine effects on PI3-kinase and insulin signaling in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, v. 288, n. 1, p. E86-E91, 2005.
- BEUGNET, A.; TEE, A. R.; TAYLOR, P. M.; PROUD, C. G. Regulation of targets of mTOR (mammalian target of rapamycin) signalling by intracellular amino acid availability. *Biochem. J.*, v. 372, pt 2, p. 555-566, 2003.
- CARPENTER, C. L.; CANTLEY, L. C. Phosphoinositide kinases. *Biochemistry*, v. 29, n. 51, p. 11147-11156, 1990.
- DANN, S. G.; THOMAS, G. The amino acid sensitive TOR pathway from yeast to mammals. *FEBS Lett.*, v. 580, n. 12, p. 2821-2829, 2006.
- DONATO, J. J.; PEDROSA, R. G.; ARAÚJO, J. A. J.; PIRES, I. S. O.; TIRAPEGUI, J. Effects of leucine and phenylalanine supplementation during intermittent periods of food restriction and refeeding in adults rats. *Life Sci.*, v. 81, n. 1, p. 31-39, 2007.

DONATO, J. J.; PEDROSA, R. G.; CRUZAT, V. F.; PIRES, I. TIRAPEGUI, J. Effects of leucine supplementation on the body composition and protein status of rats submitted to food restriction. *Nutrition*, v. 22, n. 5, p. 520-527, 2006.

DONATO, Jr. J.; PEDROSA, R. G.; TIRAPEGUI, J. Consequências da avaliação do peso corporal e da suplementação de L-leucina e L-fenilalanina na composição corporal e em parâmetros metabólicos em ratos. *Rev. Bras. Ciências Farm.*, v. 40, p. 124-127, 2004.

FERRANNINI, E.; BEVILACQUA, S.; LANZONE, L.; BONADONNA, R.; BRANDI, L.; OLEGGINI, M.; BONI, C.; BUZZIGOLI, G.; CIOCIARO, D.; LUZI, L.; DEFRONZO, R. A. Metabolic interactions of amino acids and glucose in healthy humans. *Diab. Nutr. Metab.*, v. 3, p. 175-186, 1988.

FOLLI, F.; SAAD, M. J. A.; BACKER, J. M.; KAHN, C. R. Insulin stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase and association with insulin receptor substrate 1 in liver and muscle of the intact rat. *J. Biol. Chem.*, v. 267, n. 31, p. 22171-22177, 1992.

GANNON, M. C.; NUTTALL, J. A.; DAMBERG, G.; GUPTA, V.; NUTTALL, F. Q. Effect of protein ingestion on the glucose appearance rate in people with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 86, n. 3, p. 1040-1047, 2001.

GUAL, P.; LE MARCHAND-BRUSTEL, Y.; TANTI, J. F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie*, v. 87, n. 1, p. 99-109, 2005.

HARRINGTON, L. S.; FINDLAY, G. M.; LAMB, R. F. Restraining PI3K: mTOR signalling goes back to the membrane. *Trends. Biochem. Sci.*, v. 30, n. 1, p. 35-42, 2005.

HINAULT, C.; MOTHE-SATNEY, I.; GAUTIER, N.; LAWRENCE, J. C.; VAN OBBERGHEN, E. Amino acids and leucine allow insulin activation of the PKB/mTOR pathway in normal adipocytes treated with wortmannin and in adipocytes from db/db mice. *FASEB J.*, v. 18, n. 15, p. 1894-1896, 2004.

HINAULT, C.; MOTHE-SATNEY, I.; GAUTIER, N.; VAN OBBERGHEN, E. Amino acids require glucose to enhance, through phosphoinositide-dependent protein kinase 1, the insulin-activated protein kinase B cascade in insulin-resistant adipocytes. *Diabetologia*, v. 49, n. 5, p. 1017-1026, 2006a.

HINAULT, C.; VAN OBBERGHEN, E.; MOTHE-SATNEY, I. Role of amino acids in insulin signaling in adipocytes and their potential to decrease insulin resistance of adipose tissue. *J. Nutr. Biochem.*, v. 17, n. 6, p. 374-378, 2006b.

JUNGAS, R. L.; HALPERIN, M. L.; BROSNAN, J. T. Quantitative analysis of amino acid oxidation and related gluconeogenesis in humans. *Physiol. Rev.*, v. 72, n. 2, p. 419-448, 1992.

KREBS, M.; BRUNMAIR, B.; BREHM, A.; ARTWOHL, M.; SZENDROEDI, J.; NOWOTNY, P.; ROTH, E.; FÜRNSINN, C.; PROMINTZER, M.; ANDERWALD, C.; BISCHOF, M.; RODEN, M. The Mammalian Target of Rapamycin Pathway Regulates Nutrient-Sensitive Glucose Uptake in *Man*. *Diabetes*, v. 56, n. 6, p. 1600-1607, 2007.

KREBS, M.; KRSSAK, M.; BERNROIDER, E.; ANDERWALD, C.; BREHM, A.; MEYERSPEER, M.; NOWOTNY, P.; ROTH, E.; WALDHAUSL, W.; RODEN, M. Mechanism of amino acid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes*, v. 51, n. 3, p. 599-605, 2002.

KUHARA, T.; IKEDA, S.; OHNEDA, A.; SASAKY, Y. Effects of intravenous infusion of 17 amino acids on the secretion of GH, glucagon, and insulin in sheep. *Am. J. Physiol.*, v. 260, n. 1, pt 1, p. E21-E26, 1991.

LAYMAN, D. K.; BOILEAU, R. A.; ERICKSON, D. J.; PAINTER, J. E.; SHIUE, H.; SATHER, C.; CHRISTOU, D. D. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women. *J. Nutr.*, v. 133, n. 2, p. 411-417, 2003.

- LAYMAN, K. L.; WALKER, D. A. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. *J. Nutr.*, v. 136, n. 1, p. 319s-323s, 2006. Supplement.
- LECLERCQ-MEYER, V.; MARCHAND, J.; WOUSSEN-COLLE, M. C.; GIROIX, M. H.; MALAISSE, W. J. Multiple effects of leucine on glucagon, insulin, and somatostatin secretion from the perfused rat pancreas. *Endocrinology*, v. 116, n. 3, p. 1168-1174, 1985.
- LYNCH, C. J.; FOX, H. L.; VARY, T. C.; JEFFERSON, L. S.; KIMBALL, S. R. Regulation of amino acid-sensitive TOR signaling by leucine analogues in adipocytes. *J. Cell. Biochem.*, v. 77, n. 2, p. 234-251, 2000.
- MANDERS, R. J.; KOOPMAN, R.; SLUIJSMANS, W. E.; VAN DEN BERG, R.; VERBEEK, K.; SARIS, W. H.; WAGENMAKERS, A. J.; VAN LOON, L. J. Co-ingestion of a protein hydrolysate with or without additional leucine effectively reduces postprandial blood glucose excursions in type 2 diabetic men. *J. Nutr.*, v. 136, n. 5, p. 1294-1299, 2006.
- PROMINTZER, M.; KREBS, M. Effects of dietary protein on glucose homeostasis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, v. 9, n. 4, p. 463-468, 2006.
- PROUD, C. G. mTOR-mediated regulation of translation factors by amino acids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 313, n. 2, p. 429-436, 2004.
- PROUD, C. G. Regulation of protein synthesis by insulin. *Biochem. Soc. Trans.*, v. 34, pt. 2, p. 213-216, 2006.
- RODGERS, J. T.; LERIN, C.; HAAS, W.; GYGI, S. P.; SPIEGELMAN, B. M.; PUIGSERVER, P. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 and SIRT1. *Nature*, v. 434, n. 7029, p. 113-118, 2005.
- ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, v. 44, n. 4, p. 563-575, 2008.
- ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Aminoácidos de cadeia ramificada e atividade física. In: TIRAPEGUI, J. *Nutrição, metabolismo e suplementação na atividade física*. São Paulo: Atheneu, 2005. cap. 13, p. 153-161.
- SCHINNER, S.; SCHERBAUM, W. A.; BORNSTEIN, S. R.; BARTHEL, A. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabetes Med.*, v. 22, n. 6, p. 674-682, 2005.
- TOKUNAGA, C.; YOSHINO, K.; YONEZAWA, K. mTOR integrates amino acid and energy-sensing pathways. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 313, n. 2, p. 443-446, 2004.
- TREMBLAY, F.; BRÛLÉ, S.; UM, S.H.; LI, Y.; MASUDA, K.; RODEN, M.; SUN, X. J.; KREBS, M.; POLAKIEWICZ, R. D.; THOMAS, G.; MARETTE, A. Identification of IRS-1 Ser-1101 as a target of S6K1 in nutrient- and obesity-induced insulin resistance. *PNAS*, v. 104, n. 35, p. 14056-14061, 2007a.
- TREMBLAY, F.; GAGNON, A.; VEILLEUX, A.; SORISKY, A.; MARETTE, A. Activation of the mammalian target of rapamycin pathway acutely inhibits insulin signaling to Akt and glucose transport in 3T3-L1 and human adipocytes. *Endocrinology*, v. 146, n. 3, p. 1328-1337, 2005a.
- TREMBLAY, F.; JACQUES, H.; MARETTE, A. Modulation of insulin action by dietary proteins and amino acids: role of the mammalian target of rapamycin nutrient sensing pathway. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, v. 8, n. 4, p. 457-462, 2005b.
- TREMBLAY, F.; LAVIGNE, C.; JACQUES, H.; MARETTE, A. Role of dietary proteins and amino acids in the pathogenesis of insulin resistance. *Annu. Rev. Nutr.*, v. 27, p. 293-310, 2007b.
- TREMBLAY, F.; MARETTE, A. Amino acid and insulin signaling via the mTOR/p70 S6 kinase pathway: a negative feedback mechanism leading to insulin resistance in skeletal muscle cells. *J. Biol. Chem.*, v. 276, n. 41, p. 38052-38060, 2001.

TZATSOS, A.; KANDROR, K. V. Nutrients suppress phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling via raptor-dependent mTOR-mediated insulin receptor substrate 1 phosphorylation. *Mol. Cell. Biol.*, v. 26, n. 1, p. 63-76, 2006.

WALKER, K. S.; DEAK, M.; PATERSON, A.; HUDSON, K.; COHEN, P.; ALESSI, D. R. Activation of protein kinase B beta and gamma isoforms by insulin in vivo and by 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 in vitro: comparison with protein kinase B alpha. *J. Biochem.*, v. 331, pt 1, p. 299-308, 1998.

WHITE, M.F. The insulin signaling system and the IRS proteins. *Diabetologia*, v. 40, Supplement 2, p. S2-S17, 1997.

ZHANG, Y.; GUO, K.; LEBLANC, R. E.; LOH, D.; SCHWARTZ, G. J.; YU, Y. Increasing dietary leucine intake reduces diet-induced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms. *Diabetes*, v. 56, n. 6, p. 1647-1654, 2007.

ZICK, Y. Uncoupling insulin signalling by serine/threonine phosphorylation: a molecular basis for insulin resistance. *Biochem. Soc. Trans.*, v. 32, pt. 5, p. 812-816, 2004.

Recebido para publicação em 01/12/08.

Aprovado em 16/04/10.