

## Señalización de la secreción de insulina por las células beta del páncreas. Una revisión

Signaling of insulin secretion by pancreatic  $\beta$  cell. A review

**Corro, Ana<sup>1</sup>, Medina Iraima<sup>2,3</sup>, Matheus Nyurky<sup>2,3</sup>.**

1Departamento de Medicina y Cirugía. Decanato de Ciencias Veterinarias. UCLA.

e-mail: [anacorro@ucla.edu.ve](mailto:anacorro@ucla.edu.ve).

2Departamento de Ciencias Básicas. Decanato de Ciencias Veterinarias. UCLA.

3Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales "Dr. Haity Moussatche"

### RESUMEN

Sustancias como la glucosa, ácidos grasos libres y aminoácidos se metabolizan en la célula  $\beta$  cuando sus concentraciones intracelulares alcanzan determinados niveles para proporcionar factores de acoplamiento metabólicos reguladores (R- MCF) y efectores (E-MCF). Los R-MCF (por ejemplo, citrato, NADH/NAD<sup>+</sup>, malonil-CoA, GTP, compuestos acil CoA de cadena larga, glutamato, nucleótidos de adenina), directa o indirectamente mejoran la producción de E-MCF (por ejemplo, ATP, cAMP, monoacilglicerol, NADPH, ROS, compuestos acilo-CoA de cadena corta), que tienen un impacto directo sobre la exocitosis de los gránulos de insulina. Los E-MCF activan los componentes finales de la maquinaria de la exocitosis, incluyendo el canal K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>/SUR1/Ca<sup>2+</sup>, Munc13-1, entre otros., iniciando así la liberación de insulina. Ahora bien, con el fin de prevenir la secreción excesiva de insulina, las células  $\beta$  también están equipadas con mecanismos que controlan producción excesiva de R-MCF y E-MCF. Estos mecanismos incluyen vías metabólicas que actúan como moduladores negativos (AMPK, la carnitina palmitoiltransferasa I, glucosa-6-fosfatasa, y proteínas de desacoplamiento 2, que disminuyen la generación de R-MCF, y de señales que controlan los niveles de E-MCF. Así pues, actualizar el conocimiento de algunas vías de señalización involucradas en la secreción de insulina, resulta importante para comprender mejor la patogenia de la diabetes mellitus tipo 2, donde además, el estrés oxidativo juega un rol significativo. Finalmente se considera ésta, un área importante de investigación, ya que puede generar nuevos conocimientos en la patogénesis molecular de la hiperglucemia e identifica blancos farmacológicos para el tratamiento y/o prevención de complicaciones diabéticas a largo plazo.

**Palabras clave:** Insulina, MCF, estrés oxidativo.

### ABSTRACT

Substances such as glucose, free fatty acids and amino acids are metabolized in the  $\beta$  cell when their intracellular concentrations reach certain levels to provide regulatory metabolic coupling factors (R-MCF) and effector (E-FCM). The R-MCF (eg, citrate, NADH/NAD<sup>+</sup>, malonyl-CoA, GTP, acyl compounds CoA long chain, glutamate, adenine nucleotides), directly or indirectly improve the production of E-MCF (eg, ATP, cAMP, monoacylglycerol, NADPH, ROS, acyl-CoA short-chain compounds), which have a direct impact on the exocytosis of insulin granules. The E-MCF activate the final components of the machinery of exocytosis, including the K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>/SUR1/Ca<sup>2+</sup>, Munc13-1 channel, among others, initiating insulin release. However, in order to prevent excessive secretion of insulin,  $\beta$  cells are also equipped with mechanisms that control excessive production of R-MCF and MCF-E. These mechanisms include metabolic pathways which act as negative modulators (AMPK, palmitoiltransferasa I carnitine, glucose-6-phosphatase, and uncoupling proteins 2, which decreases the generation of R-MCF, and signals controlling the levels of E-MCF. Thus, knowledge of some update signaling pathways involved in insulin secretion is important to better understand the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus, where, in addition, oxidative stress plays a significant role. Finally it is considered, an important research area as it can generate new insights into the molecular pathogenesis of hyperglycemia and identify pharmacological targets for treatment and/or prevention of long-term diabetic complications.

**Key words:** Insulin, MCF, oxidative stress.

## INTRODUCCIÓN

Las células del páncreas son responsables de la secreción de insulina en respuesta a la disponibilidad de nutrientes. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es el resultado de la insuficiencia de las células  $\beta$  del páncreas para suministrar una cantidad suficiente de insulina, acompañada de una disminución de la sensibilidad de los tejidos del cuerpo para responder a la insulina. Esto está relacionado con la susceptibilidad genética y los cambios epigenéticos en el contexto de los factores ambientales tales como, la desnutrición y la reducción de la actividad física [1, 2].

El aparato de secreción de insulina por las células  $\beta$  está conformado por múltiples pasos de señalización metabólica que están bajo un riguroso control. La maquinaria metabólica de las células  $\beta$  está diseñada para detectar las fluctuaciones en los niveles de glucosa en sangre y el suministro de insulina de acuerdo a las necesidades del cuerpo [3]. Además de la glucosa, los aminoácidos incluyendo ácido glutámico y leucina, así como también, los ácidos grasos pueden estimular directamente a las células  $\beta$  o potenciar la secreción de insulina en respuesta a estímulos de glucosa (SIEG) [4]. Esto está vinculado con la producción de ATP que se necesita para la inhibición los canales de  $K_{ATP}$ , así como, de la afluencia de calcio, necesario para la exocitosis de los gránulos de insulina, tal como lo refiere Zou *et al.* [5], en una revisión sobre el mantenimiento de la regulación de la secreción de insulina por las células  $\beta$ .

En dicha revisión, los autores además señalan que a diferencia de la mayoría de los tipos de células, donde la activación de un proceso biológico consume energía (por ejemplo, la contracción muscular) y disminuye la relación ATP/ADP, lo que a su vez promueve el metabolismo celular para producir ATP, en las células  $\beta$  la activación metabólica es impulsada principalmente por la disponibilidad del sustrato (combustible) [6, 7] en lugar de como un efecto secundario para mejorar la liberación de insulina [8]. El metabolismo de la glucosa

en las células  $\beta$  está ligada a la producción de ATP, y a un aumento en la relación ATP/ADP citoplasmático, que es necesario para la inhibición del canal de  $K_{ATP}$  y la despolarización de la membrana plasmática. La importancia del cierre del canal de  $K_{ATP}$  es la apertura los canales de calcio voltaje dependientes de tipo L en la membrana plasmática, con el resultante flujo de  $Ca^{2+}$ , como uno de los eventos principales para la exocitosis de los gránulos de insulina [2, 9]. El metabolismo de la glucosa impulsado por la inhibición del canal de  $K_{ATP}$  también ha sido implicado en la regulación de células  $\beta$  en masas [10].

Además del metabolismo de la glucosa, el metabolismo de aminoácidos, el metabolismo de los lípidos y otros metabolitos median la óptima respuesta de las células  $\beta$  para secretar adecuadamente insulina en respuesta a los niveles de glucosa. Los metabolitos derivados de nutrientes secretores que directa o indirectamente participan en la mejora de la SIEG son considerados como factores de acoplamiento metabólico [5].

### Factores de acoplamiento metabólico (MCF por sus siglas en Inglés).

Considerando la importancia de la secreción de insulina, la célula  $\beta$  alberga rutas metabólicas que generan estos múltiples MCF para asegurar una adecuada secreción de insulina [5]. Se ha sugerido recientemente que las señales metabólicas pueden ser "efectores tempranos o tardíos", sobre la base de que si el paso correspondiente es un evento temprano o tardío en el proceso exocitosis de insulina [11]. Un MCF puede ser una señal que contribuye al proceso de regulación de la secreción de insulina estimulada por nutrientes, ya sea, por la modulación del metabolismo de los nutrientes (reguladores) o por influir directamente en los componentes de la maquinaria exocitótica (efectores). En la Tabla I se observan ejemplos de varios MCF, su blanco de acción y funciones en la secreción de insulina.

MCF	Blanco de acción	Modo y sitio de acción
AMP (E)	AMPK	Regulación negativa de la SIEG
ATP (E)	$K_{ATP}$	Señalización de $Ca^{2+}$
AMP <sub>c</sub> (E)	PKA, Epac2	$Ca^{2+}$ , canales, exocitosis de proteínas
Diacilglicerol (E)	PKC, Munc 13-1	Canales, exocitosis
Monoacilglicerol (E)	Munc 13-1	Fusión de vesículas, exocitosis
ROS (E)	Exocitosis de proteínas	Control redox del complejo de exocitosis
Citrato (R)	ACL, ACC	Ciclo del piruvato
NADPH (R)	Glutaredoxina	Control redox de la exocitosis, $Ca^{2+}$
Glutamato (R)	GDH	Anaplerosis
GTP (R)	GDH, GTP	Anaplerosis, señalización de $Ca^{2+}$

Tabla I. Factores de acoplamiento metabólico implicados en la secreción de insulina.

## Señalización de la secreción de insulina.

---

Se conoce además, que las afinidades relativamente bajas de GLUT 1 y 2 y de la glucoquinasa para controlar el flujo del metabolismo de la glucosa en la célula  $\beta$ , determina la tasa y magnitud de la secreción de insulina en respuesta a los niveles de glucosa en sangre. La producción de ATP en la mitocondria se ve facilitada por la transferencia eficiente de NADH derivado de la glucosa desde el citosol a las mitocondrias por las lanzaderas del glicerol-3 fosfato y malato/aspartato. El metabolismo de la glucosa produce ATP, el cual cierra el canal  $K_{ATP}$  con la resultante flujo de  $Ca^{2+}$  que promueve la exocitosis de los gránulos de insulina. El metabolismo mitocondrial activado, que consta de anaplerosis y cataplerosis, es fundamental para una mejor actividad del ciclo de Krebs y la producción de ATP, así como también para la generación de MCF adicionales que participan en la amplificación de SEIG [5].

La anaplerosis es un proceso que contribuye al reemplazo de los intermediarios del ciclo de Krebs. Cuando ciertos intermediarios del ciclo de Krebs, como el citrato, están elevados, mejora la actividad catalítica del ciclo, y además este intermediario participa en vías metabólicas adicionales que conducen a la producción de diferentes MCF en el citoplasma (por ejemplo, malonil-CoA, glutamato, NADPH). Este proceso se complementa por cataplerosis, que se refiere a la salida de productos intermedios del ciclo de Krebs de la matriz mitocondrial al citoplasma. Varios transportadores ubicados en la membrana interna mitocondrial facilitan el movimiento transmitocondrial de los intermedios del ciclo de Krebs, como el di- y tri-carboxilato. En el citoplasma, algunos de los productos intermedios del ciclo de Krebs (citrato, isocitrato,  $\alpha$ -cetoglutarato y malato) participan en los procesos de reciclaje del piruvato, que generan NADPH citoplasmático, un importante MCF [11].

El metabolismo del piruvato a través de la piruvato carboxilasa (PC), que está altamente expresado en células  $\beta$  [12, 13] es importante para la anaplerosis. Muchos estudios han demostrado que comparando las tasas de descarboxilación y oxidación del piruvato [14], la tasa de carboxilación de piruvato se correlaciona bien con la dosis de glucosa dependiente de la SEIG [15, 16]. Los estudios que utilizan un inhibidor de la PC como el ácido fenilacético [16], RNAi knockdown y la sobreproducción de PC en células e islotes INS-1 demuestran claramente la importancia de PC en SEIG [17, 18]. Además de la formación de oxaloacetato por PC, la desaminación oxidativa del glutamato a  $\alpha$ -cetoglutarato por la glutamato deshidrogenasa (GDH) mitocondrial también es un importante contribuyente a la anaplerosis por los aminoácidos [19]. La GDH mitocondrial es importante para inducir la secreción de insulina por aminoácidos (glutamina más leucina) y a su vez, la función de la mutación de GDH se asocia con un síndrome hiperinsulinémico e hipoglucémico [20].

Por otra parte, el Acetil-CoA formado por la ATP-citrato liasa (ACL) es carboxilado por la acetil-CoA carboxilasa (ACC) a malonil-CoA, el cual tiene un rol de señalización en el control de SEIG [7] por inhibición de la carnitina palmitoyl transferasa-1 (CPT-1). La inhibición de la CPT-1 desvía los ácidos grasos de la  $\beta$ -oxidación a la síntesis de lípidos, y algunos de estos lípidos juegan un papel importante en la amplificación de SEIG [7]. La acumulación de acil-CoA debido a la inhibición de CPT-1, puede conducir a la activación de la proteína quinasa C [21] y del canal de  $K_{ATP}$  para estimular SEIG [22]. El hecho de que la interacción del malonil-CoA/CPT-1 es necesaria para una óptima SEIG fue demostrado por estudios que revelan un deterioro de la SEIG en células INS que sobreexpresan un CPT-1 mutante que es insensible a malonil-CoA [23]. Sin embargo, la sobreexpresión de malonil-CoA descarboxilasa en el citosol parece reducir SEIG, sólo en la presencia de ácidos grasos [24, 25].

Asimismo, en la medida en que la inhibición del canal  $K_{ATP}$  por la ATP es un paso necesario para la secreción de insulina, las alteraciones en la relación ATP/ADP en las proximidades del canal  $K_{ATP}$  son relevantes y están regulados por la ciclase quinasa-1, lo que probablemente se asocia con la subunidad Kir 6.2 del canal de  $K_{ATP}$  [26]. Los nucleótidos de adenina, cuyos niveles celulares son dependientes del estado metabólico de la célula  $\beta$ , influyen directamente en la maquinaria de exocitosis de insulina en la membrana plasmática. La regulación general de canales de  $K^+$  por los nucleótidos de adenina depende del efecto neto inhibitorio del ATP y del efecto neto de activación de MgADP en el componente SUR1 del canal [27]. Asimismo, la relación ATP/AMP también es importante en la regulación global de la secreción de insulina en las células  $\beta$ , ya que esto influye en la actividad de la proteína quinasa activada AMP (AMPK), que es un controlador maestro de metabolismo energético celular [28].

Los niveles celulares de AMP están regulados a través de su utilización por la adenilato quinasa y a través de su formación durante la activación de ácidos grasos y aminoácidos. La activación de disparadores de AMPK mejora la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos libres y reduce la lipólisis, disminuyendo así la producción de señales de lípidos para la amplificación de SEIG [29]. Un trabajo reciente indica que la activación de AMPK produce una desaceleración metabólica en la células  $\beta$ , al disminuir el metabolismo de la glucosa y, por lo tanto, la secreción de insulina en las concentraciones de glucosa  $<10$  mM, mientras que en niveles de glucosa por encima de 16 mM, este efecto metabólico de desaceleración está ausente [30], lo que sugiere que la activación de AMPK ofrece protección a la células  $\beta$  de la toxicidad de los excedentes de combustible y sobreestimulación exhaustiva [30]. Estudios recientes sugieren que es probable que la

AMPK controle la actividad de SIRT1, que es conocido que regula la secreción de insulina en células  $\beta$  [30, 31]. Las enzimas LKB1/AMPK han sido implicadas como reguladores negativos de la secreción de insulina [31].

Los ácidos grasos libres y triglicéridos también intervienen en la secreción de insulina debido a que la lipólisis es la tercera vía principal de fraccionamiento intracelular de AG. La lipólisis intracelular de triglicéridos se refiere a la eliminación hidrolítica de los grupos acilo de la cadena principal de glicerol por las enzimas lipasas. De particular interés para esta discusión sobre la señalización de AG es el reciente descubrimiento de que tanto la esterificación de AG como la lipólisis son procesos sensibles a la glucosa en las células beta. Recientemente se ha demostrado que la glucosa aumenta la lipólisis, determinado por la liberación de glicerol, en islotes procedentes de ratones [32]. Otro grupo demostró de manera similar estimulación de la lipólisis a partir de glucosa en islotes aislados de ratas [33]. Además, recientemente se ha demostrado que los procesos de esterificación AG y la lipólisis en respuesta a la glucosa se incrementan en aproximadamente tres veces en islotes de ratas Zucker obesas no diabética severamente resistentes a la insulina que, a diferencia de la rata Zucker obesa diabética, mantiene la normoglucemia por sostenida compensación de la células beta con hipersecreción de insulina [34]. Estos hallazgos son consistentes con la presencia del ciclo de TG/AGL en respuesta a la glucosa, en las células beta pancreáticas.

Los niveles elevados de glucosa, particularmente en presencia de AGL exógenos, se traducirá en un aumento de los niveles de todas las fracciones de lípidos dentro del ciclo, incluyendo Acil CoA de cadena larga (LC-CoA), DAG, fosfolípidos y ácidos grasos libres. La exocitosis de vesículas de insulina es un proceso complejo que implica muchos pasos, incluyendo el movimiento de la vesícula, el acoplamiento, el cebado, y finalmente la fusión con la membrana plasmática [35]. Algunos de estos pasos podrían ser modulados por intermediarios del ciclo de TG/FFA que actúan como moléculas de señalización lipídica. Por ejemplo, LC-CoA se puede utilizar para acilar proteínas, tales como la proteína sinaptosomal asociada [36] y synaptogamina [37] que puede mejorar su asociación con las membranas diana. Los niveles de DAG que se elevan en las células beta en respuesta a la glucosa, no sólo activan la proteína quinasa C, que está implicada en la secreción de insulina, sino que también se unen al dominio C1 de la proteína Munc-13 de la vesícula sináptica de cebado [38], que recientemente ha demostrado ser importante para la secreción normal de insulina [39].

Hay dos razones para que la célula beta utilice la glucosa de esta manera. En primer lugar el uso de la glucosa a través del Ciclo de TG/AGL proporciona una

vía alternativa por la cual el metabolismo de la glucosa puede estar acoplado a la secreción de insulina, que, a través de la provisión de moléculas de señalización de lípidos permite la amplificación de la vía de activación para la exocitosis. En segundo lugar, está relacionado con la preservación masiva células beta en cara al exceso de combustible como ocurre en la obesidad y la diabetes. Por lo tanto, la toxicidad de nutrientes a las células se produce cuando el flujo de metabolitos a través de la oxidación mitocondrial es alto, lo que provoca la producción de superóxidos perjudiciales y especies reactivas del oxígeno [40, 41].

Otro MCF que interviene en la secreción de insulina es el AMPc, y hasta hace poco se pensaba que su acción que era principalmente mediada por la proteína quinasa A (PKA), que fosforila varias proteínas asociadas con el proceso de secreción [42]. El Kir6.2, subunidad formadora de poros de los canales de  $K_{ATP}$ , y la  $\alpha$ -subunidad de canal de  $Ca^{2+}$  voltaje dependiente pueden ser fosforilados por PKA en estimulación de líneas celulares beta [43]. El GLUT2 también puede ser fosforilado por GLP-1 en células beta purificadas [44]. Recientemente se encontró que en las células MIN6, el Rip11 un efector de la pequeña proteína G Rab11, participa en la potenciación de la exocitosis por AMPc, más estimulación de la glucosa, pero no en la de estimulación de la glucosa sola [45]. Además, el Rip11 encontrado es fosforilado por PKA en células MIN6. Estos hallazgos indican que Rip11, es un sustrato de PKA, y está involucrado en la regulación de la secreción de insulina potenciada por el AMPc en las células beta pancreáticas [46].

Ahora bien, se sabe que el AMPc también potencia la secreción de insulina estimulada por glucosa (SIEG), mecanismo independiente de PKA [42]. Este mecanismo está mediado por la proteína de unión de AMPc Epac2, (también denominada cAMP-GEFII. Dos proteínas EPAC se han identificado, Epac1 (cAMP-GEFI) y Epac2, Ambas proteínas Epac poseen factor intercambiador de nucleótidos de guanina de (GEF) con actividad hacia las pequeñas proteínas G Rap1 y Rap2 de una manera dependiente de AMPc [47]. Esto pone de manifiesto que las proteínas Epac son sensores de AMPc que regulan varios procesos celulares de forma independiente de PKA. El RNAm de Epac1 se expresó en cualquier célula, mientras que el RNAm de Epac2 se expresa principalmente en las neuronas, células neuroendocrinas y células endocrinas [48, 49]. Epac1 y Epac2 están cada una codificada por dos genes. Estructuralmente, las proteínas Epac tienen características comunes: una región reguladora amino-terminal que alberga dominios de unión de AMPc, un dominio Pleckstrin (DEP) y una región catalítica carboxilo-terminal que alberga un dominio de intercambio Ras (REM), un dominio de asociación de Ras (RA), y un dominio CDC25 con homología de actividad GEF [46].

## Señalización de la secreción de insulina.

---

Sin embargo, el Epac1 posee un dominio de unión de AMPc, mientras que el Epac2 posee dos dominios de unión de AMPc. La unión del AMPc a EPAC provoca un cambio conformacional, provocando así la actividad GEF hacia las proteínas Rap [50]. Recientemente, una nueva variante de empalme se encontró en glándulas suprarrenales de ratón. Esta variante de empalme, que carece del dominio de unión AMPc /amino-terminal de Epac2, se designa Epac2B (tipo adrenal), mientras que el Epac2 original se llama ahora Epac2A (cerebro/célula de tipo beta). Epac2A se localiza a la membrana plasmática a través de la interacción del dominio RA con las proteínas Ras activadas [51, 52]. El dominio de unión a AMPc- aminoterminal de Epac2A también se localiza en la membrana plasmática [53]. La localización de Epac2A en la membrana plasmática es independiente de su unión a cAMP. Estudios en células beta de ratones clonados (Epac2a -/-) y knockout para Rap1 indican que la señalización por Epac2A/Rap1 es necesaria para la primera fase de potenciación de exocitosis de los gránulos de insulina inducidas por la glucosa en la vía de AMPc [54]. Se ha encontrado además que Rim2 $\alpha$  es esencial para la potenciación de SIEG mediada por Epac2A en la vía AMPc [56]. También se ha demostrado que Epac2A está involucrado en la movilización de Ca<sup>2+</sup> intracelular en las células beta del páncreas. El efecto de Epac2A en la movilización de Ca<sup>2+</sup> es mediada por los receptores de rianodina y receptores de IP<sub>3</sub>, esto se ha demostrado mediante el estudio de ratones carentes de los receptores de rianodina y fosfolipasa C $\epsilon$ , respectivamente [57].

Los ROS como factores de acoplamiento metabólico. La gluco y lipotoxicidad generada en la célula  $\beta$  pancreática por estados de hiperglicemia e hiperlipidemia crónica producen fenómenos de estrés oxidativo [58], debido a un desequilibrio entre la producción de especies altamente reactivas (típicamente dependientes de oxígeno-ROS y nitrógeno-RNS), y las defensas antioxidantes, que a menudo conduce a la lesión del tejido [59]. Es por ello, que debido a su capacidad para oxidar directamente lípidos, proteínas y ADN, se cree que la ROS desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de las complicaciones más tardías en los diabéticos [59, 60], Además de la capacidad de infligir daño macromolecular, las ROS pueden funcionar como moléculas de señalización que activan diversos procesos bioquímicos sensibles al estrés, y pueden generar cambios celulares que, en este último caso, son también responsables de la aparición de complicaciones diabéticas. Estos procesos fisiológicos intracelulares habitualmente se presentan como consecuencia de la resistencia a la insulina y de la disminución de la secreción de insulina [61].

Asimismo, Lenzen et al. estudiaron los niveles de expresión de las enzimas antioxidantes como la

catalasa y el glutatión (GSH), encontraron que éstas fueron muy bajas en las células  $\beta$  del páncreas en comparación con los otros tejidos, lo que confirma que estas células son afectadas fácilmente por un entorno oxidativo nocivo conferido por la presencia de radicales libres [62]. En consecuencia, la hipótesis de que los fenómenos de estrés oxidativo están relacionados con un deterioro progresivo de las células  $\beta$  del páncreas parece ganar fuerza.

Un artículo publicado por Pi *et al.*, [63] reporta que las mitocondrias son una de las principales fuentes de ROS en condiciones basales. La producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup> de la matriz mitocondrial es muy sensible a la fuerza motriz de los protones y un desacoplamiento leve puede disminuir sustancialmente la producción de ROS derivadas de las mitocondrias, por lo cual se cree que ayuda en la prevención del daño oxidativo [64, 65]. La UCP2 es una proteína transportadora de la membrana interna mitocondrial ampliamente expresada, que fue descubierta a través de su homología con la grasa parda UCP1, que disipa la energía calórica en la respiración mitocondrial por desacoplamiento de la producción de ATP [66]. La UCP2 no es una proteína desacopladora fisiológicamente relevante como lo es la UCP1 y no contribuye a la termogénesis adaptativa [67]. Sin embargo, hay pruebas de que la UCP2 aumenta la conductancia de protones de la membrana mitocondrial interna cuando ésta es activada por O<sub>2</sub><sup>•</sup>[68], y/o radicales libres derivados tales como 4-hidroxi-2-nonenal (HNE).

Dado que las mitocondrias son una de las principales fuentes de ROS en las células y la producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup> es sensible al desacoplamiento de la respiración, la regulación de la retroalimentación mediada por UCP2 en la generación de ROS puede ser considerado como un mecanismo de compensación para aliviar el estrés oxidativo [69]. En consonancia con esta idea, la ablación de UCP2 en ratones mostró un aumento en la producción de ROS en los macrófagos y una mayor susceptibilidad al daño inducido por ROS [70, 71, 72]. En contraste, la sobreexpresión de UCP2 protege a las células del daño oxidativo [73]. Además, como en la mayoría de las respuestas antioxidantes, la transcripción del gen de la UCP2 es altamente inducible bajo condiciones de estrés oxidativo. Por ejemplo, los tratamientos con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lipopolisacárido, TNF- $\alpha$ , ácidos grasos libres, y la irradiación aumentan la expresión de UCP2 *in vitro* e *in vivo*. Por lo tanto, hay buena evidencia de que una función importante de la UCP2 es atenuar la producción de ROS mitocondrial y la activación/inducción de la UCP2 puede funcionar como una respuesta adaptativa alternativa a la generación de ROS y al daño oxidativo derivado de la mitocondria [62].

Numerosos estudios han indicado que la UCP2 regula negativamente la generación de ROS derivados de la mitocondria [72]. Por lo tanto, la eliminación de UCP2 *in*

vivo dirigida por un gen "knockout" tiene potencial para promover el estrés oxidativo y activar respuesta adaptativa antioxidante [62].

### **La hiperglucemia y las cascadas de señalización sensibles al estrés oxidativo.**

Varios estudios in vivo han demostrado que el estrés oxidativo, secundario a la hiperglucemia (y tal vez a los ácidos grasos libres) se produce antes de que las complicaciones tardías de la diabetes se manifiesten clínicamente, lo que sugiere que el estrés oxidativo desempeña un papel particularmente importante en la patogénesis de esta enfermedad [74, 75]. Un área mucho más explorada ha sido la regulación de las vías celulares sensibles al estrés, incluyendo NF- $\kappa$ B (Factor Nuclear- $\kappa$ B), p38 MAPK, las JUN quinasas NH2-terminales/proteína quinasas activadas por el estrés (JNK/SAPK) [58].

Datos recientes demuestran que la activación de estas cascadas de señalización celular se relacionan no sólo con el desarrollo de las complicaciones diabéticas a largo plazo, sino también con la resistencia a la insulina y la disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas [76]. La importancia de las ROS en la inducción de daño celular promovido por la hiperglucemia ha sido señalada en diferentes estudios. Por ejemplo, un estudio realizado por Nishikawa et al [77], demostraron que en células endoteliales bovinas, la exposición a un ambiente hiperglucemiante llevó a un aumento de la producción ROS intracelular y la activación NF- $\kappa$ B.

Cada uno de estos enfoques bloqueó o aumentó la producción de ROS inducida por la hiperglucemia, así como la activación de las vías subcelulares descritas (NF- $\kappa$ B AGE, PKC y sorbitol). Además, los efectos de la hiperglucemia en la formación de ROS y la activación de NF- $\kappa$ B antes de la estimulación de otros sistemas, permitieron inferir que la estimulación de NF- $\kappa$ B es el evento señalización celular inicial [77].

La extrapolación de estos resultados a otros tipos celulares sugiere que el estrés oxidativo es un proceso inducido tempranamente en presencia de niveles elevados de glucosa en sangre, seguido por la activación de otras vías celulares que contribuyen a la disfunción y daño celular [78].

La cascada de señalización que implica el factor de transcripción NF- $\kappa$ B es un objetivo de las vías intracelulares de la hiperglucemia. Su activación puede ser inducida por una serie de estímulos endógenos y exógenos, además del exceso de ácidos grasos libres (AGL), de TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ), de IL-1 $\beta$  (interleucina 1 $\beta$ ) y otras citoquinas proinflamatorias, los AGE ligados a los RAGE, el p38 MAPK, el daño en el ADN, la infección viral y la radiación ultravioleta [79]. El NF- $\kappa$ B desempeña un papel clave como intermediario de las respuestas inmunes e inflamatorias, así como de apoptosis. El factor nuclear

es responsable de la regulación de la expresión de un gran número de genes, incluyendo los relacionados con complicaciones de la diabetes (por ejemplo, en el caso de factor de crecimiento endotelial vascular - VEGF) [78].

La activación de NF- $\kappa$ B se produce a través de una vía común que implica tanto la inducción de la fosforilación de I $\kappa$ B, como su degradación a través del proteosoma, esta subunidad inhibidora (I $\kappa$ B) experimenta fosforilación por una serina quinasa, I $\kappa$ B cinasa B (IKK- $\beta$ ), que luego es fosforilada y activada por quinasas de serina adicionales [79].

Al respecto, un estudio llevado a cabo por Jia et al. [80] examinó los efectos del ácido úrico en la viabilidad de células  $\beta$  y su función a través de la vía de señalización NF- $\kappa$ B. En dicho trabajo se administró solución de ácido úrico o solución salina normal por vía intraperitoneal a ratones diariamente durante 4 semanas. Los ratones tratados con ácido úrico exhibieron intolerancia a la glucosa de manera significativa y niveles de insulina inferiores en respuesta a la glucosa, con respecto a los ratones controles. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la sensibilidad a la insulina entre los dos grupos. En comparación con los islotes de ratones controles, los islotes de ratones tratados con ácido úrico fueron marcadamente más pequeños en tamaño y contenían menos insulina. El tratamiento de las células  $\beta$  in vitro con ácido úrico activó la vía de señalización del NF- $\kappa$ B a través de la fosforilación de I $\kappa$ Ba, resultando en una sobre regulación inducible de la expresión de la óxido nítrico sintasa (iNOS) y excesiva producción de óxido nítrico (NO). Además, se observó una reducción en la secreción de insulina bajo demanda de glucosa en islotes de ratones tratados con ácido úrico. En conjunto, sus datos sugieren que un nivel elevado de ácido úrico causa lesión de células  $\beta$  a través de la vía de señalización de NF- $\kappa$ B-iNOS-NO.

Asimismo, las JNKs/SAPK son miembros de una superfamilia compleja de quinasa de proteínas serina/treonina. Esta familia también incluye las MAP quinasas p38 (p38 MAPKs) [78]. Estas quinasas son activadas por el estrés, respondiendo a una variedad de estímulos tanto endógenos como exógenos, entre los que se destacan la hiperglucemia, ROS, estrés osmótico, radiación, UV y el choque térmico. Las JNKs/SAPK activadas se unen al factor de transcripción cJun, fosforilándolo y éste se integra al complejo factor de transcripción activador proteína (AP)-1. La transactivación del cJun 1 por JNKs/SAPKs fortalece la expresión de ciertos sitios de reconocimiento de genes por AP-1, incluyendo el propio gen cJun, iniciando un ciclo de retroalimentación positiva. Estas quinasas están implicadas en la apoptosis, por ejemplo a nivel de las células endoteliales humanas, el bloqueo de esta vía celular conduce a un aumento de la supervivencia celular,

## Señalización de la secreción de insulina.

efecto que también logra recurriendo al uso de ciertos antioxidantes tales como ascorbato (Vitamina C) [78, 81].

Es de destacar que la MAPK p38 regula rápidamente otras quinasas de serina [61]. En el caso de la diabetes tipo 2, a menudo esta vía celular es activada por episodios de hiperglucemia. Begum *et al.* [82], observaron que las células musculares lisas vasculares tratadas con insulina (100 nM) y un alto contenido de glucosa (25 mM) durante 12-24h, mostraron inducción de la activación de la vía p38 MAPK [82].

Asimismo, un estudio publicado por Lingling *et al.*, [83] señala que las células  $\beta$  de ratones IKO (con ablación específica de MIRO1) sometidas a alto estrés de nutrientes promueve el desarrollo de hiperglicemia. Estas células muestran una inhibición de la mitofagia bajo condiciones de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial inducida. La mitofagia disfuncional en ratones IKO está representada por daño mitocondrial de las células beta de los islotes, así como, alteración de la capacidad secretoria.

Teniendo en cuenta toda la información acerca de estas tres vías de señalización intracelular, es posible considerar que los sistemas de NF- $\kappa$ B, JNK/SAPK y p38 MAPK son sistemas de señalización sensibles al estrés que, cuando se presentan características de cronicidad pueden conducir a complicaciones tardías de la diabetes mellitus tipo 2.

Al respecto, estudios recientes llevados a cabo por Liu *et al.*, [84] demostraron que la vaspina (adipocitoquina de reciente descubrimiento) mejora la función de la célula  $\beta$  pancreática, debido a que incrementa los niveles de mRNA y de proteínas totales de IRS-2, y disminuye los niveles de fosforilación del IRS-2 en los residuos de serina, además incrementa los niveles de fosforilación de la proteína Akt lo cual fue revertido por el inhibidor PI3K. Adicionalmente, la vaspina incrementó los niveles de fosforilación de mTOR y redujo los niveles de mRNA de NF- $\kappa$ B, e incrementó los niveles de secreción de insulina estimulada por glucosa, disminuyendo los niveles de glucosa sanguínea y mejorando la tolerancia a la glucosa, y la sensibilidad a la insulina en ratas que consumieron dietas altas en grasa.

### Consideraciones finales

Las células  $\beta$  pancreáticas funcionan como sensores que en respuesta a ciertos estímulos de glucemia, secretan una cantidad adecuada de insulina a la sangre. Estos estímulos se consiguen mediante diversos mecanismos: Los GLUT2 (transportador de glucosa), la glucoquinasa (sensor de glucosa), y su propio metabolismo de glucosa. Sin embargo, en todo este proceso, la percepción del estímulo-secreción, es bastante compleja e implica una serie de eventos que involucran distintas vías metabólicas importantes ya

antes descritas, y donde el metabolismo mitocondrial de la glucosa juega un papel importante, porque funciona como un enlace entre estos fenómenos.

Por otra parte, las mitocondrias que forman radicales libres, responsables de los procesos oxidativos resultan ser un blanco fácil de éstas mismas moléculas altamente reactivas y, por lo tanto, la capacidad de los ROS y RNS de causar daño mitocondrial y posteriormente atenuar la secreción de la insulina a nivel de las células  $\beta$ , no es de sorprender. En pacientes con diabetes tipo 2, la hiperglucemia crónica parece ser una causa importante de daño en las células  $\beta$ , junto con un mecanismo de activación del estrés oxidativo. Por esta razón, no es de extrañar que la información reciente sugiera la utilidad potencial de utilizar los antioxidantes en la prevención de esta disfunción pancreática, así como el uso de vaspina como un potencial agente para la prevención y tratamiento de DM2.

### AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" a través del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (C.D.C.H.T.) por el financiamiento al proyecto 013-VE-2012 del cual forma parte esta revisión.

Al Dr. Rafael Bonfante Cabarca por sus acertadas sugerencias a este manuscrito.

### BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ashcroft FM, Rorsman P. Diabetes mellitus and the beta cell: the last ten years. *Cell* 2012; 148:1160-1171.
- [2] Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: From pathophysiology to prevention and management. *Lancet* 2011; 378:169-181.
- [3] Nolan CJ, Prentki M. The islet beta-cell: fuel responsive and vulnerable. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19: 285-291 (Abstract).
- [4] Nolan CJ, Madiraju MS, Delghingaro-Augusto V, Peyot ML, Prentki M. Fatty acid signaling in the beta-cell and insulin secretion. *Diabetes* 2006; 55:S16-S23.
- [5] Zou C, Gon GY, Liang J. Metabolic signaling of insulin secretion by pancreatic  $\beta$ -cell and its derangement in type 2 diabetes. *Eur Rev Med Pharmacol Sc* 2014; 18:2215-2227.
- [6] Matschinsky FM. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes* 1996; 45:223-241. (Abstract)
- [7] Prentki M. New insights into pancreatic beta-cell metabolic signaling in insulin secretion. *Eur J Endocrinol* 1996; 134:272-286. (Abstract)



- [8] Peyot ML, Gray JP, Lamontagne J, Smith PJ, Holz GG, Madiraju SR et al. Glucagonlike peptide-1 induced signaling and insulin secretion do not drive fuel and energy metabolism in primary rodent pancreatic beta-cells. *PLoS One* 2009; 4:e6221.
- [9] Nichols CG, Remedi MS. The diabetic beta-cell: hyperstimulated vs. hyperexcited. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14(Suppl 3):129-135.
- [10] Schyr-Ben-Haroush R, Hija A, Stolovich-Rain M, Dadon D, Granot Z, Ben-Hur V et al. Control of pancreatic beta cell regeneration by glucose metabolism. *Cell Metab* 2011; 13:440-449.
- [11] Prentki M, Matschinsky FM, Madiraju SR. Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion. *Cell Metab* 2013; 18:162-185.
- [12] Macdonald MJ. Feasibility of a mitochondrial pyruvate malate shuttle in pancreatic islets. Further implication of cytosolic NADPH in insulin secretion. *J Biol Chem* 1995; 270:20051-20058.
- [13] Schuit F, De Vos A, Farfari S, Moens K, Pipeleers D, Brun T M et al. Metabolic fate of glucose in purified islet cells. Glucose-regulated anaplerosis in  $\beta$ -cells. *J Biol Chem* 1997; 272:18572-18579.
- [14] Srinivasan M, Choi CS, Ghoshal P, Pliss L, Pandya JD, Hill D, et al.  $\beta$ -Cell-specific pyruvate dehydrogenase deficiency impairs glucose-stimulated insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299:E910-E917.
- [15] Cline GW, Lepine RL, Papas KK, Kibbey RG, Shulman GI. <sup>13</sup>C Nmr isotopomer analysis of anaplerotic pathways in INS-1 cells. *J Biol Chem* 2004; 279:44370-44375.
- [16] Farfari S, Schulz V, Corkey B, Prentki M. Glucoseregulated anaplerosis and cataplerosis in pancreatic beta-cells: possible implication of a pyruvate/citrate shuttle in insulin secretion. *Diabetes* 2000; 49:718-726.
- [17] Hasan NM, Longacre MJ, Stoker SW, Boonsaen T, Jitrapakdee S, Kendrick MA et al. Impaired anaplerosis and insulin secretion in insulinoma cells caused by small interfering RNA-mediated suppression of pyruvate carboxylase. *J Biol Chem* 2008; 283:28048-28059.
- [18] Macdonald MJ, Longacre MJ, Langberg EC, Tibell A, Kendrick MA, Fukao T et al. Decreased levels of metabolic enzymes in pancreatic islets of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2009; 52:1087-1091.
- [19] Maechler P, Li N, Casimir M, Vetterli L, Frigerio F, Brun T. Role of mitochondria in beta-cell function and dysfunction. *Adv Exp Med Biol* 2010; 654:193-216.
- [20] Stanley CA. Two genetic forms of hyperinsulinemic hypoglycemia caused by dysregulation of glutamate dehydrogenase. *Neurochem Int* 2011; 59:465-472.
- [21] Prentki M, Madiraju SR. Glycerolipid metabolism and signaling in health and disease. *Endocr Rev* 2008; 29:647-676.
- [22] Yaney GC, Corkey BE. Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. *Diabetologia* 2003; 46:1297-1312.
- [23] Herrero L, Rubi B, Sebastian D, Serra D, Asins G, Maechler P et al. Alteration of the malonyl-CoA/carnitine palmitoyltransferase I interaction in the beta-cell impairs glucose-induced insulin secretion. *Diabetes* 2005; 54:462-471.
- [24] Roduit R, Nolan C, Alarcon C, Moore P, Barbeau A, Delghingaro-Augusto V et al. A role for the malonyl-CoA/long-chain acyl-CoA pathway of lipid signaling in the regulation of insulin secretion in response to both fuel and nonfuel stimuli. *Diabetes* 2004; 53:1007-1019.
- [25] Antinozzi PA, Segall L, Prentki M, MCGarry JD, Newgard CB. Molecular or pharmacologic perturbation of the link between glucose and lipid metabolism is without effect on glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem* 1998; 273:16146-16154.
- [26] Schulze Du, Dufer M, Wieringa B, Krippeit-Drews P, Drews G. An adenylate kinase is involved in KATP channel regulation of mouse pancreatic beta cells. *Diabetologia* 2007; 50:2126-2134.
- [27] Drews G, Krippeit-Drews P, Dufer M. Electrophysiology of islet cells. *Adv Exp Med Biol* 2010; 654:115-163.
- [28] Ruderman N, Prentki M. AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3:340-351.
- [29] Prentki M, Madiraju SR. Glycerolipid/free fatty acid cycle and islet beta-cell function in health, obesity and diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 353:88-100.
- [30] Lamontagne J, Pepin E, Peyot ML, Joly E, Ruderman NB, Poitout V et al. Pioglitazone acutely reduces insulin secretion and causes metabolic deceleration of the pancreatic beta-cell at submaximal glucose concentrations. *Endocrinology* 2009; 150:3465-3474.
- [31] Fu A, Eberhard CE, Srean RA. Role of AMPK in pancreatic beta cell function. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 366:127-134
- [32] Nolan CJ, Leahy JL, Delghingaro-Augusto V, Moibi J, Soni K, Peyot ML et al. Beta-cell compensation for insulin resistance in Zucker fatty rats: increased lipolysis and fatty acid signalling. *Diabetologia* 2006 49:2120-2130.
- [33] Peyot ML, Nolan CJ, Soni K, Joly E, Lussier R, Corkey BE et al. Hormone-sensitive lipase has a role in lipid signaling for insulin secretion but is nonessential for the incretin action of glucagon-like peptide 1. *Diabetes* 2004; 53:1733-1742.
- [34] Mulder H, Yang S, Winzell MS, Holm C, Ahren B. Inhibition of lipase activity and lipolysis in rat islets reduces insulin secretion. *Diabetes* 2004; 53:122-128.
- [35] Bratanova-Tochkova TK, Cheng H, Daniel S, Gunawardana S, Liu YJ, Mulvaney-Musa J. et al. Triggering and augmentation mechanisms, granule



pools, and biphasic insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51 (Suppl. 1):S83-S90.

[36] Gonzalo S, Linder ME. SNAP-25 palmitoylation and plasma membrane targeting require a functional secretory pathway. *Mol Biol Cell* 1998; 9:585-597.

[37] Chapman ER, Blasi J, An S, Brose N, Johnston PA, Sudhof TC, Jahn R. Fatty acylation of synaptotagmin in PC12 cells and synaptosomes. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225:326-332.

[38] Rhee JS, Betz A, Pyott S, Reim K, Varoqueaux F, Augustin I. Beta phorbol ester- and diacylglycerol-induced augmentation of transmitter release is mediated by Munc13s and not by PKCs. *Cell* 2002; 108:121-133.

[39] Kwan EP, Xie L, Sheu L, Nolan CJ, Prentki M, Betz A et al. Munc13-1 deficiency reduces insulin secretion and causes abnormal glucose tolerance. *Diabetes* 2006; 55:1421-1429.

[40] Brownlee M. A radical explanation for glucose-induced beta cell dysfunction. *J Clin Invest* 2003; 112:1788-1790.

[41] Krauss S, Zhang CY, Scorrano L, Dalgaard LT, St-Pierre J, Grey ST et al. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. *J Clin Invest* 2003; 112:1831-1842.

[42] Seino S, Shibasaki T. PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. *Physiol Rev* 2005; 85:1303-1342.

[43] Safayhi H, Haase H, Kramer U. L-type calcium channels in insulin-secreting cells: biochemical characterization and phosphorylation in RINm5F cells. *Mol Endocrinol* 1997; 11:619-629.

[44] Thorens B, Deriaz N, Bosco D. Protein kinase A dependent phosphorylation of GLUT2 in pancreatic  $\beta$  cells. *J Biol Chem* 1996; 271:8075-8081.

[45] Sugawara K, Shibasaki T, Mizoguchi A, Saito T, Seino S. Rab11 and its effector Rip11 participate in regulation of insulin granule exocytosis. *Genes Cells* 2009; 14:445-456.

[46] Seino S. Cell signalling in insulin secretion: the molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea. *Diabetología* 2012; 55:2096-2108.

[47] De Rooij J, Rehmann H, Van Triest M, Cool RH, Wittinghofer A, Bos JL. Mechanism of regulation of the Epac family of cAMP-dependent RapGEFs. *J Biol Chem* 2000; 275:20829-20836.

[48] De Rooij J, Zwartkruis FJ, Verheijen MH. Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature* 1998; 396:474-477.

[49] Kawasaki H, Springett GM, Mochizuki N. A family of cAMP-binding proteins that directly activate Rap1. *Science* 1998; 282:2275-2279.

[50] Gloerich M, Bos JL. Epac: defining a new mechanism for cAMP action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2010; 50:355-375.

[51] Li Y, Asuri S, Rebhun JF, Castro AF, Paravavita NC, Quilliam LA. The RAP1 guanine nucleotide exchange factor Epac2 couples cyclic AMP and Ras signals at the plasma membrane. *J Biol Chem* 2006; 281:2506-2514.

[52] Liu C, Takahashi M, Li Y. Ras is required for the cyclic AMP-dependent activation of Rap1 via Epac2. *Mol Cell Biol* 2008; 28:7109-7125.

[53] Niimura M, Miki T, Shibasaki T, Fujimoto W, Iwanaga T, Seino S. Critical role of the N-terminal cyclic AMP-binding domain of Epac2 in its subcellular localization and function. *J Cell Physiol* 2009; 219:652-658.

[54] Shibasaki T, Takahashi H, Miki T. Essential role of Epac2/Rap1 signaling in regulation of insulin granule dynamics by cAMP. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:19333-19338.

[56] Yasuda T, Shibasaki T, Minami K. Rim2 $\alpha$  determines docking and priming states in insulin granule exocytosis. *Cell Metab* 2010; 12:117-129.

[57] Leech CA, Dzshura I, Chepurny OG. Molecular physiology of glucagon-like peptide-1 insulin secretagogue action in pancreatic  $\beta$  cells. *Prog Biophys Mol Biol* 2011; 107:236-247.

[58] Lopes P, Oliveira SM, Soares Fortunato J. Stress oxidativo e seus efeitos na insulino-resistência e disfunção das células  $\beta$ -pancreáticas. Relação com as complicações da diabetes mellitus tipo 2. *Acta Med Port* 2008; 21:293-302.

[59] Rösen P, Nawroth PP, King G, Möller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes/Metabol Res Rev* 2001; 17:189-212.

[60] Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414:813-820.

[61] Evans JL, Golfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction? *Diabetes* 2003; 52:1-8.

[62] Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M: Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Rad Biol Med*. 1996; 20:463-6.

[63] Pi J, Zhang Q, Fua J, Woods C, Houa Y, Corkey BE et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010; 244(1):77-83.

[64] Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S et al. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med* 2004; 37:755-767.

- [65] Jezek P, Zackova M, Ruzicka M, Skobisova E, Jaburek M. Mitochondrial uncoupling proteins-facts and fantasies. *Physiol Res* 2004; 53(Suppl 1):S199-S211.
- [66] Ricquier D, Bouillaud F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J* 2000; 345(Pt 2):161-179.
- [67] Rousset S, Alves-Guerra MC, Mozo J, Miroux B, Cassard-Doulcier AM, Bouillaud F et al. The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes* 2004; 53(Suppl 1):S130-S135.
- [68] Echtay KS, Roussel D, St-Pierre J, Jekabsons MB, Cadenas S, Stuart JA et al. Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. *Nature* 2002; 415:96-99.
- [69] Ruzicka M, Skobisova E, Dlaskova A, Santorova J, Smolkova K, Spacek T et al. Recruitment of mitochondrial uncoupling protein UCP2 after lipopolysaccharide induction. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37:809-821.
- [70] Krauss S, Zhang CY, Scorrano L, Dalgaard LT, St-Pierre J, Grey ST, Lowell BB. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. *J Clin Invest* 2003; 112:1831-1842.
- [71] Horimoto M, Fulop P, Derdak Z, Wands JR, Baffy G. Uncoupling protein-2 deficiency promotes oxidant stress and delays liver regeneration in mice. *Hepatology* 2004; 39:386-392.
- [72] Bai Y, Onuma H, Bai X, Medvedev AV, Misukonis M, Weinberg JB et al. Persistent nuclear factor-kappa B activation in Ucp2<sup>-/-</sup> mice leads to enhanced nitric oxide and inflammatory cytokine production. *J Biol Chem* 2005; 280:19062-19069.
- [73] Ryu JW, Hong KH, Maeng JH, Kim JB, Ko J, Park JY, Lee KU, Hong MK, Park SW, Kim YH, Han KH. Overexpression of uncoupling protein 2 in THP1 monocytes inhibits beta2 integrin-mediated firm adhesion and transendothelial migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:864-870.
- [74] Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G: Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? *Metabolism* 1995; 44:363-368.
- [75] Hamilton SJ, Chew GT, Watts GF. Therapeutic regulation of endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4:89-102.
- [76] Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:816-823.
- [77] Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404:787-790.
- [78] Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 Diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23:599-622.
- [79] Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336:1066-1071.
- [80] Jia L, Xing J, Ding Y, Shen Y, Shi X. Hyperuricemia causes pancreatic b cell death and dysfunction through NF-kB signaling pathway. *PLoS ONE* 2013; 8(10): e78284.
- [81] Ho FM, Liu SH, Liao CS, Huang PJ, Lin-Shiau SY. High glucose-induced apoptosis in human endothelial cells is mediated by sequential activations of c-Jun NH(2)-terminal kinase and caspase-3. *Circulation* 2000; 101:2618-2624.
- [82] Begum VS. MKP-1 expression by blocking iNOS via p38 MAPK activation. *Am J Physiol* 2000; 278:81-91.
- [83] Lingling C, Chunyan L, Jianfeng G, Zhiwen X, Lawrence W.C, Damien JK et al. Inhibition of Miro1 disturbs mitophagy and pancreatic  $\beta$ -cell function interfering insulin release via IRS-Akt-Foxo1 in diabetes. *Oncotarget* 2017; 8(53):90693-90705.
- [84] Liu S, Li X, Wu Y, Duan R, Zhang J, Du F, Zhang Q et al. Effects of vaspin on pancreatic  $\beta$  cell secretion via PI3K/Akt and NF-kB signaling pathways. *PLoS ONE* 2017; 12(12):e0189722.